



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

### Thèse

Pour l'obtention du diplôme de doctorat de troisième cycle (LMD)

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** Biologie

**Spécialité :** Biotechnologie alimentaire

**Thème :**

**Etude de l'effet préventif et cardio-protecteur de  
*Cinnamomum zeylanicum*. (Cannelle) et/ou *Zingiber officinale*.  
(Gingembre) et/ou *Artemisia herba alba Asso*. (Armoise blanche)  
contre les désordres métaboliques et le stress oxydatif associés à  
l'obésité nutritionnellement induite chez le rat *Wistar***

**Présentée par : Mme AYAD Noura**

Soutenue le : 25/02/2024

Devant le Jury composé de :

<b>Président :</b>	Pr. HAMMOUDI Abedl Hamid	Université de Tiaret
<b>Directrice de thèse :</b>	Pr. BENARABA Rachida	Université de Tiaret
<b>Co-directeur de thèse :</b>	Pr. HEMIDA Houari	Université de Tiaret
<b>Examineurs :</b>	Pr. BEKADA Ahmed Mouhamed Ali	Université de Tissemsilt
	Pr. BOUNACEUR Farid	Université de Tissemsilt
	Dr. SMAIL Fadhéla	Université de Tiaret

**Année universitaire 2023-2024**

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents*

*Sources de mes joies, secrets de ma force*

*Vous serez toujours le modèle Papa, dans ta détermination, ta  
force et ton honnêteté*

*Maman dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour Nous  
Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants Grandissent et  
prospèrent*

*A mes chères sœurs et mon cher frère.*

*A mon neveu et mes nièces : Ibrahim, Nardjiss, Noura, Mélina  
et Liliane*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au  
fond de mon cœur et de ma pensée*

## Remerciement

*Tout d'abord, Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience de mener à terme le présent travail.*

*C'est avec un réel plaisir que je profite de ces quelques lignes pour rendre hommage aux personnes qui ont participé à leur manière à la réalisation et à l'aboutissement de cette thèse.*

*Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à Mme BENARABA Rachida, Professeur à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret, Les mots me manquent pour exprimer ma gratitude. L'idée de voler de ses propres ailes est un peu effrayante, mais j'ai l'impression d'avoir grandi, d'avoir acquis une certaine confiance grâce à vous. D'un point de vue relationnel, j'ai trouvé une relation cordiale, une écoute et ce que j'ai aimé par-dessus tout une franchise à toute épreuve. J'ai énormément appris à vos côtés. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée et de m'avoir accepté dans votre laboratoire et de m'avoir encadré et suivi durant la réalisation de ce travail, pour vos multiples conseils et pour toutes les heures que vous avez consacrées à diriger cette recherche. Grâce à vous, cette expérience de thèse aura été unique, diversifiée et enrichissante tant d'un point de vue scientifique qu'humain.*

*Je tiens à présenter ma profonde gratitude à Mr HEMIDA Houari professeur aux Institut des sciences vétérinaires d'université Ibn Khaldoun-Tiaret d'avoir Co-encadré ce travail de thèse. C'est également grâce à votre collaboration et votre disponibilité malgré vos nombreuses charges. Votre compétence, votre rigueur scientifique et votre clairvoyance, votre esprit d'analyse m'ont permis d'acquérir des compétences dans plusieurs domaines et qui m'ont permis d'évoluer dans ma vision de la recherche. Merci pour le soutien que vous m'avez apporté pendant ces années.*

*J'adresse vifs remerciements à Mr HAMMOUDI Abedl Hamid, Professeur aux Institut des sciences vétérinaires d'université Ibn Khaldoun-Tiaret, pour m'avoir honoré en présidant mon jury de thèse.*

*Je remercie également Mr BEKADA Ahmed Mouhamed Ali, Professeur à l'université de Tissemsilt, pour avoir accepté de participer à mon jury et d'apporter ses critiques scientifiques à mon travail.*

*Mr BOUNACEUR Farid, Professeur à l'université de Tissemsilt, a eu l'amabilité d'accepter d'examiner cette thèse ; qu'il trouve ici l'expression de mes vifs remerciements.*

*Mme SMAIL Fadhéla, Docteur aux Institut des sciences vétérinaires d'université Ibn Khaldoun-Tiaret, a accepté de participer à l'examen de ma thèse, je lui adresse mes remerciements pour les critiques constructives qu'elle pourra apporter à ce travail.*

*J'exprime ma profonde gratitude et mon plus vif remerciement à Mme BENGUIAR Rachida, Docteur à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret pour leurs soutiens, leur aide et surtout pour leurs disponibilités.*

*Mes vifs remerciements vont également à Mme CHIKHAOUI Mira docteur aux Institut des sciences vétérinaires d'université Ibn Khaldoun-Tiaret de m'avoir aidé dans l'expérimentation animale et l'étude des paramètres biochimiques.*

*J'adresse toute ma gratitude à Mme ABDALLAH Fatiha ingénieure du laboratoire Amélioration et valorisation des productions animales locales Université Ibn Khaldoun Tiaret de m'avoir aidé dans mon chemin de recherche et pour m'avoir initié aux études in-vitro.*

*Je tiens à exprimer mes gratitudes et mes respects à Mr. ABDALI Mustapha ingénieurs de laboratoire d'hygiène et pathologie animal d'Université Ibn Khaldoun, pour sa gentillesse, sa disponibilité. Je remercie particulièrement Mr. DOUCENE Radhouane ingénieur de laboratoire de Reproduction des Animaux de la Ferme-Université Ibn Khaldoun Tiaret pour son soutien, son aide pour réaliser la partie microbiologie.*

*Et enfin j'exprime ma gratitude et ma reconnaissance à toute personne qui m'a encouragé et m'a aidé de près ou de loin à réaliser ce projet de recherche qui va surement enrichir ma future carrière professionnelle.*

*Merci à mes chères amies qui m'ont soutenu tout au long de mon chemin : Rachida, Halima, Chanez.*

## Résumé

L'obésité, en tant que facteur clé des maladies cardiovasculaires et du syndrome métabolique, est actuellement considérée comme la première maladie non infectieuse en raison de sa prévalence et des pathologies chroniques qu'elle engendre. Face à l'échec de sa prise en charge, la prévention de l'obésité est devenue un enjeu sanitaire et socio-économique primordial. Actuellement, la recherche scientifique se concentre de plus en plus sur des approches préventives visant à manipuler les différentes voies métaboliques impliquées dans le développement de cette épidémie, en mettant particulièrement l'accent sur le stress oxydatif et la dysbiose intestinale. Cette étude vise, dans un premier temps, à évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante, *in vitro*, des extraits polyphénoliques issus de trois plantes médicinales, à savoir la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), le gingembre (*Zingiber officinale*) et l'armoise blanche (*Artemisia herba alba Asso.*). Dans un deuxième temps, elle cherche à développer une stratégie nutritionnelle préventive, basée sur une combinaison de probiotiques et de polyphénols, contre l'obésité et ses complications, nutritionnellement induite chez le rat Wistar. Au cours de cette étude, l'activité antioxydante a été évaluée par quatre techniques complémentaires, à savoir la technique de FRAP, de piégeage du radical DPPH•, de neutralisation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et de TBARS. L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis des bactéries Gram positives et négatives, en utilisant les méthodes de diffusion sur gélose et l'incorporation au gélose. Parallèlement, une expérimentation *in vivo* a été réalisée sur 49 rats mâles Wistar répartis en 7 groupes. Le premier groupe, le témoin négatif, est constitué d'animaux soumis à un régime standard (ST). Les groupes 2 et 3, les témoins positifs, sont composés de rats soumis à un régime hypergras associé (HGP) ou non aux probiotiques (HG). Les rats des groupes 4 et 5 ont été nourris par un régime HG supplémenté de 2 % (p/p) de gingembre seul (HGG) ou bien nourris par le même régime associé à un mélange de probiotiques (HGCP). Enfin, les rats constituant les groupes 6 et 7 ont été soumis à un régime hypergras additionné de 2 % (p/p) de cannelle seul (HGC) ou bien soumis au même régime associé à un mélange de probiotiques (HGCP). Après 16 semaines d'expérimentation, une estimation des paramètres biochimiques, oxydatifs et microbiologiques ainsi qu'un examen histopathologique du foie a été effectué. Les résultats de l'étude *in vitro* montrent que les extraits méthanoliques issus de la cannelle et du gingembre possèdent des activités antioxydantes et antibactérienne supérieures aux celles de l'extrait issu de l'armoise blanche. Une capacité antioxydante très élevée et de manière hautement significative a été constatée avec l'EMC en comparant avec l'EMG et ce pour l'ensemble des techniques utilisées. Les CE<sub>50</sub> déterminées par le test FRAP sont de 108.56 ± 4.18 µg/ml *versus* 310.07 ± 6.94 µg/ml respectivement. Aussi l'EMC présente une concentration inhibitrice du radical DPPH• inférieure à celle du gingembre (CI<sub>50</sub> = 5.27 ± 0.11 µg/ml *versus* CI<sub>50</sub> = 22.50 ± 0.45 µg/ml). Il va de même pour la capacité de neutraliser le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Un potentiel d'inhibition de la peroxydation lipidique très significatif a été obtenu avec la EMC par rapport à la EMG les pourcentages d'inhibition des MDA obtenus sont 57.82 ± 1.20% et 53.91 ± 2.15% dans l'ordre. L'EMC, en comparaison avec l'EMG, exerce une forte activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positive (*S. aureus*, *B. cereus*) et bactéries à Gram négatives (*E. coli* et *P. aeruginosa*), avec des CMI évaluée entre 5 et 6 mg/ml et des CMB entre 16 et 20 mg/ml. Cependant l'effet l'antibactérien de l'EMG est caractérisé par des CMI entre 8 et 12 mg/ml et des CMB entre 16 et 22 mg/ml pour *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, respectivement. Parallèlement les résultats de l'expérimentation *in vivo* révèlent que l'association des plantes médicinales, (gingembre ou cannelle) aux probiotiques à des répercussions positives sur les troubles du profil lipidique induits par le régime HG, cela se reflète par une diminution significative de la teneur en cholestérol et des LDL-C de 37 % et de 85 % pour le groupe HGCP et de 40 % et 89 % pour le groupe HGCP, et en comparaison avec le groupe de rats nourris par le régime HGP. Chez les rats sous régime HG le traitement basé sur l'association des plantes aux probiotiques augmente les HDL-C plasmatiques, on note une augmentation de 86 % et 88 % pour le groupe HGCP et HGCP respectivement. Il va de même pour les altérations oxydatives, ce traitement rétablit ces altérations induites par le régime HG, on constate une augmentation du pouvoir réducteur plasmatique et cardiaque, de 31 % et 35 % pour le groupe HGCP et de 13 % et 43 % pour le groupe HGCP, *versus* le groupe HGP. Aussi, il inhibe la formation des lipides oxydés reflétée par une diminution significative de 40 % et 67 % pour le groupe HGCP, et de 40 % et 56 % pour le groupe HGCP, respectivement. Les résultats de l'étude histologique indiquent que la supplémentation des plantes aux probiotiques (HGCP et HGCP) stop la formation des gouttelettes lipidiques au niveaux des hépatocytes, ce qui suggère un effet préventif contre la stéatose hépatique induite par le régime hypergras. De plus, cette supplémentation aide à rééquilibrer la flore intestinale altérée par ce régime et ceux par une augmentation significative de la population des bactéries bénéfiques les *Lactobacillus sp.* (14 % et 10 %) pour le groupe HGCP et HGCP, respectivement et une diminution significative de la population des bactéries pathogène *Escherichia coli* (13 %) pour les deux groupe HGCP et HGCP et *Enterococcus sp* (4 % et 11 %) pour les deux groupe HGCP et HGCP, respectivement.

**Mots clés :** Gingembre (*Zingiber officinale*), cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), Armoise blanche (*Artemisia herba alba Asso.*), composés polyphénoliques, stress oxydant, obésité, régime hypergras, microbiote intestinale rat Wistar

## Abstract

Obesity, a key factor in cardiovascular disease and metabolic syndrome, is currently considered to be the leading non-infectious disease in terms of its prevalence and the chronic pathologies it causes. Given the failure of its management, obesity prevention has become a key health and socio-economic issue. Scientific research is currently focusing increasingly on preventive approaches aimed at manipulating the various metabolic pathways implicated in the development of this epidemic, the most targeted being oxidative stress and intestinal dysbiosis. The aim of this study is firstly to evaluate the *in vitro* antibacterial and antioxidant activity of polyphenolic extracts from three medicinal plants, namely cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), ginger (*Zingiber officinale*) and white wormwood (*Artemisia herba alba Asso.*) and secondly, to develop a preventive nutritional strategy based on a combination of probiotics and polyphenols, in relation to obesity and its complications, nutritionally induced in Wistar rats. This study determined antioxidant activity using four complementary techniques: FRAP, DPPH-radical scavenging, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> neutralization, and TBARS. Antibacterial activity was assessed against Gram-positive and Gram-negative bacteria using agar diffusion and agar incorporation methods. In parallel, an *in vivo* experiment was carried out on 49 male Wistar rats divided into 7 groups. The first group, the negative control, consisted of animals fed a standard diet (ST). Groups 2 and 3 were positive controls, comprised of rats on a high-fat diet with (HGP) or without probiotics (HG). Rats in groups 4 and 5 were fed an HG diet supplemented with 2% (w/w) ginger alone (HGG) or the same diet combined with a mixture of probiotics (HGGP). Finally, rats in groups 6 and 7 were fed a high-fat diet supplemented with 2% (w/w) cinnamon alone (HGC) or the same diet combined with a mixture of probiotics (HGCP). After 16 weeks of experimentation, biochemical, oxidative, and microbiological parameters were assessed, and the liver was examined histopathologically. The results of the *in-vitro* study show that the methanolic extracts from cinnamon and ginger have the most powerful antioxidant and antibacterial activities compared with white wormwood. The results of the quantification of phenolic compounds indicate that the methanolic extract from cinnamon (EMC) is the extract richest in phenolic compounds with a content of  $825.30 \pm 36.02$  mg EAG/g DM in comparison with the methanolic extract from ginger (EMG), which records a content of  $274.19 \pm 10.96$  mg EAG/g DM. The flavonoid content of EMG was much higher than that of EMC. The flavonoid content of EMG was significantly higher than that of EMC, with  $57.26 \pm 1.55$  mg EQ/g DM versus  $13.40 \pm 1.44$  mg EQ/g DM respectively. A high antioxidant capacity was observed and highly significant with EMC compared with EMG for the three techniques used, with EC<sub>50</sub> values determined by the FRAP test of  $108.56 \pm 4.18$  µg/ml versus  $310.07 \pm 6.94$  µg/ml respectively. EMC had a lower DPPH- radical inhibitory concentration than ginger (IC<sub>50</sub> =  $5.27 \pm 0.11$  µg/ml versus IC<sub>50</sub> =  $22.50 \pm 0.45$  µg/ml). The same applies to the ability to neutralize H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. As a result, a very significant inhibition potential of lipid peroxidation was obtained with EMC compared to EMG with MDA inhibition percentages ( $57.82 \pm 1.20\%$  and  $53.91 \pm 2.15\%$ ), respectively. Compared to EMG, EMC has a strong antibacterial activity against Gram-positive bacteria (*S. aureus*, *B. cereus*) and Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*), with MICs evaluated at between 5 and 6 mg/ml and BMCs between 16 and 20 mg/ml. However, the antibacterial effect of EMG is characterised by MICs between 8 and 12 mg/ml and BMCs between 16 and 22 mg/ml for *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*, respectively. At the same time, the results of the *in vivo* experiment revealed that the combination of medicinal plants (ginger or cinnamon) with probiotics had a positive impact on the lipid profile disorders induced by the HG diet. This was reflected by a significant reduction in cholesterol and LDL-C levels of 37% and 85% for the HGGP group and 40% and 89% for the HGCP group, compared with the group of rats fed the HGP diet. In rats on the HG diet, the treatment based on the combination of plants and probiotics increased plasma HDL-C by 86% and 88% in the HGGP and HGCP groups respectively. The same applies to oxidative alterations; this treatment restores the alterations induced by the HG diet, with an increase in plasma and cardiac reducing power of 31% and 35% for the HGGP group and 13% and 43% for the HGCP group, compared with the HGP group. It also inhibited the formation of oxidized lipids, reflected by a significant reduction of 40% and 67% for the HGGP group, and 40% and 56% for the HGCP group, respectively. The results of the histological study indicate that supplementation of the plants with probiotics (HGGP and HGCP) stops the formation of lipid droplets in hepatocytes, suggesting a preventive effect against hepatic steatosis induced by the high-fat diet. In addition, this supplementation helped to rebalance the intestinal flora altered by this diet, with a significant increase in the population of beneficial bacteria *Lactobacillus* sp. (14% and 10%) for the HGGP and HGCP groups, respectively, and a significant decrease in the population of pathogenic bacteria *Escherichia coli* (13%) for both the HGGP and HGCP groups and *Enterococcus* sp. (4% and 11%) for both the HGGP and HGCP groups, respectively.

**Keywords:** Ginger (*Zingiber officinale*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), white wormwood (*Artemisia herba alba Asso.*), polyphenolic compounds, oxidative stress, obesity, high fat diet, intestinal microbiota

## ملخص

تعتبر السمنة عامل رئيسي في أمراض القلب والأوعية الدموية ومتلازمة التمثيل الغذائي، وتعتبر حاليًا أول مرض غير معدي يسبب انتشارها والأمراض المزمنة التي تسببها. نظرًا في مواجهة فشل علاجها، أصبحت الوقاية من السمنة قضية صحية واجتماعية اقتصادية رئيسية. في الوقت الحالي، يهتم البحث العلمي بشكل متزايد بالنهج الوقائية التي تهدف إلى معالجة المسارات الأيضية المختلفة المتورطة في تطور هذا الوباء، وأكثرها استهدافًا هو الإجهاد التأكسدي والاختلال المعوي. تهتم هذه الدراسة بشكل أساسي بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة *in-vitro*، لمستخلصات البوليفينول من ثلاث نباتات طبية وهي القرفة (*Cinnamomum zeylanicum*) الزنجبيل (*Zingiber officinale*) والشاي (*Asso. Artemisia herba alba*). ثانيًا، لتطوير استراتيجية غذائية وقائية تعتمد على مزيج من البروبيوتيك والبوليفينول، ضد السمنة ومضاعفاتها الناتجة خلال هذه الدراسة، تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة من خلال أربع تقنيات كيميائية كيميائية قابلة ارجاع الحديد (FRAP) نشاط مضاد للجذور الحرة (DPPH) وتقنية تفكيك بروكسيد الهيدروجين ( $H_2O_2$ ) بالإضافة الى تقييم نشاط مضاد لأكسدة (TBARS) وتم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا على بكتيريا موجبة وسالبة الجرام باستعمال طريقتي الانتشار في الاجار ومزج مع الاجار. وبالتوازي تم تقسيم 49 ذكر الفئران الى 7 مجموعات، حيث مجموعة الأولى اخذت نظام غذائي قياسي (ST) وهي عبارة عن شاهد سالب اما بالنسبة لمجموعتين 2 و 3 تناولت الفئران نظام غذائي عالي الدهون مع او بدون البيوبروتيك (HG و HGP) هاتان المجموعتان تعتبران شاهد موجب. في حين الفوج 4 و 5 اخذت نظام غذائي عالي الدهون (HG) مكمل ب 2% من الزنجبيل وحده (HGG) او مع خليط من البروبيوتيك (HGPP) حيث ان المجموعتين المتبقيتين 6 و 7 اخذت نفس النظام الغذائي المذكور اعلاه (HG) مكمل ب 2% من القرفة وحدها (HGC) او ممزوجة مع خليط من البروبيوتيك (HGCP) بعد 16 أسبوع من التجربة تم اجراء التحاليل البيوكيميائية ومعايير التأكسد والفحص تشريحي للكبد وتحليل الميكروبيولوجي. أظهرت نتائج الدراسة *in-vitro* المستخلصات الميثانولية من القرفة والزنجبيل مضادة للأكسدة ومضادة للبكتيريا تفوق تلك الموجودة في المستخلص من الشاي. لوحظ وجود قدرة عالية جدًا وعالية الأهمية لمضادات الأكسدة مع EMC مقارنة ب-EMG لجميع التقنيات المستخدمة. تبلغ  $EC_{50}$  التي حددها اختبار FRAP  $108.56 \pm 4.18$  مغ / مل مقابل  $310.07 \pm 6.94$  مغ / مل على التوالي. أيضًا، يحتوي EMC على اعلى قدرة على تثبيط جذر الحر DPPH أقل من الزنجبيل ( $IC_{50} = 5.27 \pm 0.11$  مغ / مل مقابل  $Cl_{50} = 22.50 \pm 0.45$  مغ / مل). الشيء نفسه ينطبق على القدرة على تحييد  $H_2O_2$ . تم الحصول على قدرة كبيرة على تثبيط تأكسد الدهون (TBARS) باستخدام EMC مقارنة مع EMG، وكانت النسب المئوية لتثبيط MDA التي تم الحصول عليها  $57.82 \pm 1.20\%$  و  $53.9 \pm 2.15\%$  بالترتيب. يمارس EMC، بالمقارنة مع EMG، نشاطًا قويًا مضادًا للبكتيريا ضد البكتيريا موجبة الجرام (*S. aureus*، *B. cereus*) والبكتيريا سالبة الجرام (*E. coli* و *P. aeruginosa*)، مع تقييم MIC بين 5 و 6 ملغ / مل و CMB بين 16 و 20 مجم / مل. ومع ذلك، فإن التأثير المضاد للبكتيريا ل-EMG يتميز بوجود MIC بين 8 و 12 مغ / مل و CMB بين 16 و 22 مغ / مل ل- *S. aureus* و *B. cereus* و *E. coli* و *P. aeruginosa* على التوالي. في الوقت نفسه، كشفت نتائج التجارب في *in-vivo* أن تأثير المزيج لنباتات الطبية (الزنجبيل أو القرفة) مع البروبيوتيك له تداعيات إيجابية على اضطرابات مستوى الدهون الناتج عن نظام غذائي عالي الدهون (HG)، وينعكس ذلك من خلال انخفاض كبير في محتوى الكوليسترول وLDL-C بنسبة 37% و 85% لمجموعة HGPP و 40% و 89% لمجموعة HGCP، وبالمقارنة مع مجموعة الفئران التي تغذت على نظام HGP. فان الفئران التي تعتمد على نظام غذائي HG، فإن العلاج القائم على مزيج من النباتات مع البروبيوتيك يزيد من HDL-C في البلازما، ويلاحظ زيادة قدرها 86% و 88% لمجموعة HGPP و HGCP على التوالي. الأمر نفسه ينطبق على مستويات الإجهاد التأكسدي، حيث يعيد هذا العلاج خفض التغييرات التأكسدية التي يسببها نظام غذائي عالي الدهون (HG)، ولقد لوحظت زيادة في قوة ارجاع (FRAP) وذلك على مستوى البلازما وانسجة القلب، بنسبة 31% و 35% لمجموعة HGPP و 13% و 43% لمجموعة HGCP، مقابل مجموعة HGP. كما أنه يمنع تكوين الدهون المؤكسدة التي تنعكس بانخفاض معنوي قدره 40% و 67% لمجموعة HGPP و 40% و 56% لمجموعة HGCP على التوالي. تشير نتائج الدراسة النسيجية إلى أن المكملات النباتية بالبروبيوتيك (HGPP و HGCP) توقف تكوين قطرات الدهون في خلايا الكبد، مما يشير إلى تأثير وقائي ضد التناكس الدهني الكبدي الناجم عن اتباع نظام غذائي غني بالدهون. بالإضافة إلى ذلك، تساعد هذه المكملات على إعادة التوازن إلى الجراثيم المعوية التي تغيرت من خلال هذا النظام الغذائي وتلك عن طريق زيادة كبيرة في عدد البكتيريا المفيدة *Lactobacillus sp.* (14% و 10%) لمجموعة HGPP و HGCP، على التوالي وانخفاض كبير في تعداد البكتيريا المسببة للأمراض *Escherichia coli* (13%) لمجموعتي HGPP و HGCP و *Enterococcus sp.* (4% و 11%) من أجل مجموعتي HGPP و HGCP، على التوالي.

## الكلمات المفتاحية:

القرفة، الزنجبيل، الشاي، مركبات البوليفينول، الإجهاد التأكسدي، السمنة، نظام غذائي غني بالدهون، الميكروبات المعوية، الفئران

## Liste des abréviations

<b>5-LOX:</b>	5-lipoxygénase
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AG :</b>	Acides Gras
<b>AGL :</b>	Acides Gras Libres
<b>ALAT :</b>	Alanine aminotransférase
<b>AMPK:</b>	Mitogen-activated protein kinase
<b>AP-1:</b>	Activator protein 1
<b>ARNm :</b>	Acide ribonucléique messenger
<b>ASAT :</b>	Aspartate aminotransférase
<b>Bcl-2 :</b>	Lymphome à cellules B 2
<b>BHT :</b>	2, 6-di-tert-butyl-4-méthylphénol
<b>CRP :</b>	Protéine réactive C
<b>DC :</b>	Dendritic Cells
<b>DT2 :</b>	Diabète type 2
<b>DTNB :</b>	5-5' dithionitrobenzoicacid
<b>ECA :</b>	Enzyme de conversion de l'angiotensine-1
<b>ERN :</b>	Espèce réactive de l'azote
<b>ERO :</b>	Espèces Réactives de l'Oxygène
<b>FAO :</b>	Food and Agriculture Organizations
<b>FAS :</b>	Fatty acid synthase
<b>FRAP :</b>	Ferric Reducing Ability Plasma

<b>GLUT4 :</b>	Transporteur de glucose 4
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>HDL :</b>	High Density Lipoprotein
<b>HG :</b>	Régime Hypergras
<b>HGGP :</b>	Régime Hypergras +Gingembre + Probiotique
<b>HGP :</b>	Régime Hypergras + Probiotique
<b>IEC :</b>	Intestinal Epithelial Cells
<b>IL 6 :</b>	Interleukine 6
<b>IL-17 :</b>	Interleukine 17
<b>IRS :</b>	Insulin Receptor Substrate
<b>JNK :</b>	Jun N-terminal kinase
<b>LB</b>	Lactobacillus
<b>LBP</b>	LPS binding protein
<b>LDL:</b>	Low Density Lipoprotein
<b>VLDL :</b>	Lipoprotéine de très faibles densité
<b>LPS:</b>	Lipopolysaccharide
<b>MCV :</b>	Maladies cardiovasculaires
<b>MDA :</b>	Malondialdéhyde
<b>MDH :</b>	Malate déshydrogénase
<b>MDP-2 :</b>	Protéine de différenciation myéloïde-2
<b>NF-<math>\kappa</math>B :</b>	Nuclear factor-kappa B
<b>Nrf2 :</b>	Facteur nucléaire lié à l'érythroïde-2 facteur-2

<b>OH• :</b>	Radical hydroxyle
<b>OMS :</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>ON :</b>	Oxide de nitrite
<b>ONAB :</b>	Office Nationale d'Aliment de Bétail
<b>PPAR-<math>\gamma</math> :</b>	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
<b>SH:</b>	Groupements Thiols
<b>SOD:</b>	Superoxide dismutase
<b>TBA :</b>	Acide thiobarbiturique
<b>TBARS :</b>	Thiobarbituric Acid Reactive Substances
<b>TCA:</b>	Acide Trichloroacétique
<b>TEP:</b>	1, 1, 3,3 tétraéthoxypropane
<b>TG:</b>	Triglycerides
<b>TLR4:</b>	Toll Like Receptor 4
<b>TNF-<math>\alpha</math> :</b>	Tumor Necrosis Factor $\alpha$
<b>TPTZ :</b>	Tripyridyl-s- Triazyne

## Table des matières

Dédicace.....	2
Remercement.....	3
Remerciement.....	3
Résumé.....	5
Abstract.....	6
ملخص.....	7
Liste des abréviations.....	8
Table des matières.....	11
Liste des tableaux.....	20
Liste des figures.....	22
Liste des annexes.....	27
Introduction.....	1
Partie -I- Revue bibliographique.....	4
Chapitre I: Obésité, facteur prédominant des maladies cardiovasculaires.....	4
I.1 Maladies cardiovasculaires : états des lieux.....	4
I.2 Prévalence des maladies cardiovasculaires.....	4
I.2.1 Prévalences des MCV au niveau mondial.....	4
I.2.2 Prévalence des MCV en Algérie.....	5
I.3 Etiologie des maladies cardiovasculaires.....	6
I.4 Obésité, une préoccupation mondiale de santé publique.....	6
I.4.1 Prévalence de l'obésité en Algérie.....	7
I.4.2 Obésité, définition et facteurs étiologiques.....	7
I.5 Implication du tissu adipeux dans la genèse de l'obésité et ses complications.....	8
I.6 Obésité, inflammation et insulino-résistance : Liaisons dangereuses.....	11
I.7 Obésité et stress oxydant.....	13
I.8 Obésité et microbiote intestinal : dysbiose intestinale.....	15
I.8.1 Microbiote intestinal : description et composition.....	15
I.8.2 Microbiote intestinale : maturation digestive et fonction intestinale.....	16

I.8.3 Obésité et dysbiose intestinale.....	18
I.8.4 Implication des LPS dans la genèse de l'inflammation associée à l'obésité.....	19
<b>Chapitre II: Approches thérapeutiques et stratégies préventives de l'obésité.....</b>	<b>23</b>
II.1 Cannelle ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ), bien fait et vertus d'une plante médicinale culinaire ..	23
II.1.1 Description botanique.....	24
II.1.2 Composition chimique .....	26
II.1.3 Propriétés médicinales.....	27
II.1.3.1 Activité antioxydante .....	28
II.1.3.2 Activité antimicrobienne.....	29
II.1.3.3 Activité antidiabétique .....	30
II.1.4 Toxicité de la cannelle .....	31
II.2 Gingembre ( <i>Zingiber officinale</i> ), bien fait et vertus d'une plante médicinale Ayurvédique....	32
II.2.1 Description botanique.....	32
II.2.2 Composition chimique .....	34
II.2.3 Propriétés médicinales.....	36
II.2.3.1 Activité antioxydante .....	36
II.2.3.2 Activité antimicrobienne.....	38
II.2.3.3 Activité anti-inflammatoire.....	38
II.2.4 Toxicité de gingembre .....	39
II.3 Armoise blanche ( <i>Artemisia herba alba</i> Asso.).....	40
II.3.1 Description botanique.....	40
II.3.2 Composition chimique .....	42
II.3.3 Propriétés médicinales.....	43
II.3.3.1 Activité Antioxydante .....	43
II.3.3.2 Activité antimicrobienne.....	43
II.3.4 Toxicité d'armoise blanche .....	43
II.4 Probiotiques et santé.....	44
II.4.1 Effets bénéfiques des probiotiques .....	45
II.4.2 Probiotiques et dysbiose intestinale .....	46

<b>Partie-II- partie expérimentale .....</b>	<b>51</b>
<b>Chapitre I: Matériel et méthodes.....</b>	<b>51</b>
I.1 Matrices végétales.....	51
I.2 Matériel biologique .....	51
I.2.1 Modèle expérimental animal .....	51
I.2.2 Souches pathogènes.....	51
I.2.3 Souches bénéfiques .....	51
I.3 Quantification des composés phénoliques des trois plantes étudiées.....	52
I.3.1 Procédure d'extraction des composés phénoliques .....	52
I.3.1.1 Préparation du matériel végétal.....	52
I.3.1.2 Extraction par macération .....	52
I.3.1.3 Détermination du rendement de l'extraction.....	53
I.3.2 Analyses phytochimique des extraits phénoliques .....	53
I.3.2.1 Préparation des solutions des extraits .....	53
I.3.2.2 Quantification des composés phénoliques .....	53
I.3.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux.....	53
I.3.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux .....	54
I.3.3 Evaluation des activités biologiques in vitro.....	55
I.3.3.1 Evaluation des activités antioxydantes.....	55
I.3.3.1.1 Pouvoir réducteur du fer (FRAP) .....	55
I.3.3.1.2 Capacité de piéger le radical libre DPPH• .....	56
I.3.3.1.3 Neutralisation du peroxyde d'hydrogène H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	58
I.3.3.1.4 Propriété protectrice des extraits polyphénoliques contre la peroxydation lipidique tissulaire .....	59
I.3.3.2 Evaluation de l'activité antibactérienne .....	61
I.3.3.2.1 Préparation des précultures.....	61
I.3.3.2.2 Méthode de diffusion sur milieu gélosé.....	61
I.3.3.2.3 Détermination de la CMI et la CMB par la méthode d'incorporation de gélose ...	62
I.4 Headspace gas chromatography–mass spectrometry (HS-GC-MS) .....	63
I.5 Etude in vivo : Effet de la poudre de la cannelle et de gingembre seule ou associée à des bactéries probiotiques sur l'obésité et ses complications cardiométaboliques.....	63
I.5.1 Régime alimentaire administré aux rats.....	63

I.5.1.1 Concentrations des souches bénéfiques utilisées .....	64
I.5.1.2 Concentrations des poudres des plantes médicinales : cannelle, gingembre .....	64
I.5.2 Suivre et traitement des animaux .....	64
I.5.2.1 Identification des différents lots expérimentaux .....	65
I.5.3 Prélèvement et préparation du matériel biologique.....	67
I.5.4 Etude des paramètres biochimiques .....	68
I.5.4.1 Détermination des teneurs en Triglycérides .....	68
I.5.4.2 Détermination des teneurs en glucose.....	68
I.5.4.3 Détermination des teneurs en cholestérol total .....	69
I.5.4.4 Détermination des teneurs en HDL et LDL .....	70
I.5.4.5 Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques .....	71
I.5.4.6 Détermination des teneurs en urée .....	72
I.5.4.7 Détermination des teneurs en acide urique .....	73
I.5.4.8 Détermination des teneurs en protéines totales plasmatique.....	74
I.5.5 Etude des paramètres oxydatifs .....	75
I.5.5.1 Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP.....	75
I.5.5.2 Dosage de la vitamine C .....	76
I.5.5.3 Oxydation des protéines (dosage des groupements Thiols).....	77
I.5.5.4 Oxydation des lipides (le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique).....	77
I.5.6 Etude de la Stéatose Hépatique.....	78
I.5.7 Recherche et dénombrement de quelques bactéries représentatives du microbiote intestinal des rats Wistar sous les différents régimes expérimentaux.....	79
I.5.7.1 Recherche et dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Mac Conkey .....	79
I.5.7.2 Recherche et dénombrement des <i>Enterococcus</i> sp. sur milieu Bile Esculine Azide « BEA » .....	80
I.5.7.3 Recherche et dénombrement de <i>Lactobacillus</i> sp. sur la gélose de Man Rogosa et Sharpe « MRS » .....	80
I.5.7.4 Identification phénotypique des bactéries étudiées.....	81
I.6 Analyse statistique .....	83
<b>Chapitre II: Résultats .....</b>	<b>86</b>
II.1 Etude -I-In vitro : Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales.....	86
II.1.1 Rendement d'extraction.....	86

II.1.1.1 Rendement d'extraction de la cannelle .....	86
II.1.1.2 Rendement d'extraction du gingembre.....	87
II.1.1.3 Rendement d'extraction d'armoise blanche .....	87
II.1.2 Quantification des composés phénoliques .....	88
II.1.2.1 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes de la cannelle .....	89
II.1.2.2 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes du gingembre .....	89
II.1.2.3 Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux d'armoise blanche.....	90
II.1.3 Evaluation des activités biologiques .....	92
II.1.3.1 Evaluation des activités antioxydantes .....	92
II.1.3.1.1 Pouvoir réducteur de fer ( <i>Ferric Reducing Antioxydant Power</i> ).....	93
II.1.3.1.1.1 Pouvoir réducteur de fer des extraits de la cannelle.....	93
II.1.3.1.1.2 Pouvoir réducteur de fer des extraits du gingembre.....	94
II.1.3.1.1.3 Pouvoir réducteur de fer des extraits d'armoise blanche .....	95
II.1.3.1.2 Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• ( <i>2,2-diphenyl- Ipicrylhydrazil</i> ) 96	
II.1.3.1.2.1 Activité antiradicalaire des extraits de la cannelle .....	97
II.1.3.1.2.2 Activité antiradicalaire du gingembre .....	98
II.1.3.1.2.3 Activité antiradicalaire d'armoise blanche.....	98
II.1.3.1.3 Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	99
II.1.3.1.3.1 Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) des extraits de la cannelle .....	100
II.1.3.1.3.2 Capacité de Neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) du gingembre ... .....	101
II.1.3.1.3.3 Capacité de Neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) des extraits d'armoise blanche .....	102
II.1.3.1.4 Propriété protectrice des extraits polyphénoliques contre la peroxydation lipidique tissulaire .....	103
II.1.3.1.4.1 Activité anti-peroxydation lipidique des extraits de la cannelle .....	103
II.1.3.1.4.2 Activité anti-peroxydation lipidique du gingembre .....	104
II.1.3.1.4.3 Activité anti-peroxydation lipidique d'armoise blanche .....	106
II.1.3.2 Evaluation de l'activité antibactérienne.....	108
II.1.3.2.1 Evaluation de l'activité antibactérienne de la cannelle .....	108
II.1.3.2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne du gingembre .....	110
II.1.3.2.3 Evaluation de l'activité antibactérienne d'armoise blanche .....	112
II.1.4 Caractérisation chimique des poudres de cannelle et de gingembre par HS-GC-MS.....	115
II.1.4.1 Caractérisation chimique de la poudre de cannelle.....	115

II.1.4.2	Caractérisation chimique de la poudre de gingembre.....	116
II.2	Etude -II- <i>In-vivo</i> : Stratégies préventives de plantes médicinales en association à des probiotiques contre l'obésité et ses complications.....	118
II.2.1	Evaluation de l'impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur le désordre cardio-métabolique et le microbiote intestinal des rats Wistar .....	118
II.2.1.1	Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur l'évolution du poids corporel et le gain du poids des rats <i>Wistar</i> .....	118
II.2.1.2	Evaluation de la quantité de la nourriture ingérée et l'apport calorique des rats sous régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques.....	119
II.2.1.3	Impact des régimes hyper-gras associée ou non aux probiotiques sur le poids des organes .....	120
II.2.1.4	Impact du régime hyper-gras associée ou non aux probiotiques sur les paramètres biochimiques .....	121
II.2.1.4.1	Teneurs plasmatiques en glucose.....	121
II.2.1.4.2	Teneur plasmatique en triglycéride, cholestérols total, HDL et LDL.....	121
II.2.1.4.3	Impact des régimes hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les lésions hépatiques évaluées par les taux des transaminases (ASAT et ALAT) .....	122
II.2.1.4.4	Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les taux en acide urique, urée et protéine totale .....	123
II.2.1.5	Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire .....	124
II.2.1.5.1	Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire .....	124
II.2.1.5.2	Impact des régimes expérimentaux sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire .....	125
II.2.1.5.3	Evaluation de l'oxydation des protéines (les groupements thiols) au niveau plasmatique et tissulaire.....	125
II.2.1.5.4	Évaluation de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire .....	126
II.2.1.6	Impact du régime hypergras associé ou non au probiotiques sur le développement d'une stéatose hépatique.....	127
II.2.1.7	Effets du régime HG associée ou non aux probiotiques sur la composition du microbiote intestinal .....	128
II.2.1.7.1	Dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> sur le milieu Mac Conkey et <i>Enterococcus</i> sp. sur le milieu BEA.....	130
II.2.1.7.2	Dénombrement des <i>Lactobacillus</i> sp. sur le milieu MRS .....	131
II.2.2	Stratégie préventive basée sur l'association des plantes médicinales et probiotiques .....	132

II.2.2.1 Evaluation de l'effet préventif de la cannelle ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ), combinée ou non aux probiotiques vis-à-vis des cadio-complications associées à l'obésité nutritionnellement induite .....	132
II.2.2.1.1 Effet sur l'évolution poids corporel et le gain du poids.....	132
II.2.2.1.2 Effet sur la prise alimentaire et l'apport calorique .....	133
II.2.2.1.3 Effet sur le poids des organes.....	134
II.2.2.1.4 Effet de la cannelle ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) associée ou non aux probiotiques sur les paramètres biochimiques plasmatiques .....	135
II.2.2.1.4.1 Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose .....	135
II.2.2.1.4.2 Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL .....	136
II.2.2.1.4.3 Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT) .....	137
II.2.2.1.4.4 Effet sur le taux en acide urique, urée et protéine totale au niveau plasmatique .....	137
II.2.2.1.5 Effet de la cannelle ( <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ) associée ou non aux probiotiques sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique et tissulaire .....	138
II.2.2.1.5.1 Effet sur le pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire .....	138
II.2.2.1.5.2 Impact sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire.....	139
II.2.2.1.5.3 Effet sur l'oxydation des protéines (groupement thiols) plasmatique et tissulaire .....	140
II.2.2.1.5.4 Effet sur de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire.....	141
II.2.2.1.6 Effet contre la stéatose hépatique .....	142
II.2.2.1.7 Effet sur le déséquilibre du microbiote intestinale .....	143
II.2.2.1.7.1 Isolement, identification et dénombrement des entérobactéries sur milieu Mac Conkey .....	144
II.2.2.1.7.2 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu BEA .....	145
II.2.2.1.7.3 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu MRS .....	146
II.2.2.2 Evaluation de l'effet préventif de gingembre ( <i>Zingiber officinale</i> ), combinée ou non aux probiotiques vis-à-vis des cadio-complications associées à l'obésité nutritionnellement induite .....	149
II.2.2.2.1 Effet sur l'évolution poids corporel et le gain du poids.....	149
II.2.2.2.2 Effet sur la prise alimentaire et l'apport calorique .....	150
II.2.2.2.3 Effet sur le poids des organes.....	150
II.2.2.2.4 Effet sur les paramètres biochimiques plasmatiques .....	151

II.2.2.2.4.1 Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose .....	151
II.2.2.2.4.2 Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL .....	152
II.2.2.2.4.3 Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT) .....	154
II.2.2.2.4.4 Effet sur le taux en acide urique, urée et protéine totale au niveau plasmatique .....	154
II.2.2.2.5 Effet sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique et tissulaire .....	155
II.2.2.2.5.1 Effet sur le pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire .....	155
II.2.2.2.5.2 Effet sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire .....	156
II.2.2.2.5.3 Effet sur l'oxydation des protéines (groupement thiols) plasmatique et tissulaire .....	157
II.2.2.2.5.4 Effet sur de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire.....	158
II.2.2.2.6 Effet contre la stéatose hépatique .....	160
II.2.2.2.7 Effet sur le déséquilibre du microbiote intestinal .....	161
II.2.2.2.7.1 Isolement, identification et dénombrement des entérobactéries sur milieu Mac .....	161
II.2.2.2.7.2 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu BEA .....	163
II.2.2.2.7.3 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu MRS .....	164
<b>Chapitre III: Discussion .....</b>	<b>168</b>
III.1 Evaluation in Vitro de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits issus plantes médicinales étudiées.....	168
III.1.1 Analyse phytochimique des composés phénoliques .....	168
III.1.2 Evaluation de l'activités antioxydante .....	168
III.1.3 Activité anti-péroxydation lipidique .....	174
III.1.4 Evaluation de l'activité antibactérienne .....	175
III.2 Etude -II- <i>In Vivo</i> .....	178
III.2.1 Impact de différents régimes sur l'évolution du poids corporel et le gain .....	178
III.2.2 Impact des régimes expérimentaux sur l'évolution du tissus adipeux .....	183
III.2.3 Effet des régimes expérimentaux sur les paramètres biochimiques plasmatiques .....	186
III.2.3.1 Impact sur les teneurs plasmatiques en glucose .....	186

III.2.3.2 Impact sur le profil lipidique .....	188
III.2.4 Impact des régimes expérimentaux sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire chez les différents lots de rats <i>Wistar</i> .....	188
III.2.5 Impact des régimes expérimentaux sur la composition du microbiote intestinal .....	197
<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>200</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>203</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>231</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Classification botanique de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	25
<b>Tableau 2:</b> Valeur nutritionnelle de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (cannelle) .....	26
<b>Tableau 3:</b> Classification botanique de <i>Zingiber officinale</i> (gingembre) .....	33
<b>Tableau 4:</b> Catégorie de composés phytochimiques constitutifs de <i>Zingiber officinale</i> (gingembre) .....	34
<b>Tableau 5:</b> Valeur nutritionnelle de <i>Zingiber officinale</i> (gingembre) .....	35
<b>Tableau 6:</b> Classification botanique d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso. ....	41
<b>Tableau 7:</b> Composition des régimes utilisés durant l'expérimentation .....	64
<b>Tableau 8:</b> Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> et les antioxydants de références .....	104
<b>Tableau 9:</b> Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de <i>Zingiber officinale</i> et les antioxydants de références.....	106
<b>Tableau 10:</b> Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de <i>Artemisia herba alba</i> Asso et les antioxydants de références.....	107
<b>Tableau 11:</b> Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de trois extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées. ....	109
<b>Tableau 12:</b> Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide des extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> vis-à-vis des souches bactériennes testées. ....	110
<b>Tableau 13:</b> Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des extraits de <i>Zingiber officinale</i> (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées .....	111
<b>Tableau 14:</b> Concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) des extraits de <i>Zingiber officinale</i> vis-à-vis des souches bactériennes testées.....	112
<b>Tableau 15:</b> Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits d' <i>Artemisia herba-alba</i> Asso. (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.....	113
<b>Tableau 16:</b> Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits de <i>A. herba alba</i> Asso vis-à-vis des souches bactériennes testées .....	114
<b>Tableau 17:</b> Composants chimiques volatils identifiés de la cannelle par analyse HS-SPME/GC-MS .....	115
<b>Tableau 18:</b> Composants chimiques volatils identifiés de gingembre par analyse HS-SPME/GC-MS.....	116
<b>Tableau 19:</b> Poids des différents organes, des rats sous régime hyper-gras seul ou associée au probiotiques, prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation .....	120
<b>Tableau 20:</b> Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	123
<b>Tableau 21:</b> Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$ de tissus) en vitamine C des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	125
<b>Tableau 22:</b> Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des bactéries isolées de la matière fécale des rats traités par probiotiques et nourris un régime hyper-gras .....	130
<b>Tableau 23:</b> Poids des différents organes des rats sous régime hyper-gras supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques sur le poids des différents organes prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation.....	135

<b>Tableau 24:</b> Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) chez les différents groupes de rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	138
<b>Tableau 25:</b> Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$ de tissus) en vitamine C des rats nourris par le régime HG supplémenté en poudre de cannelle combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	140
<b>Tableau 26:</b> Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des germes isolés de la matière fécale des rats sous régime hypergras traités par la cannelle associée ou non aux probiotiques.....	147
<b>Tableau 27:</b> Poids des différents organes, des rats sous régime hyper-gras supplémenté du gingembre associé ou non aux probiotiques seul ou associée au probiotiques, prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation.....	151
<b>Tableau 28:</b> Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	154
<b>Tableau 29:</b> Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$ de tissus) en vitamine C des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	157
<b>Tableau 30:</b> Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des germes isolés de la matière fécale des rats traités par la cannelle associée ou non aux probiotiques et nourris un régime hyper-gras.....	165
<b>Tableau 31:</b> Composition des régimes hypergras.....	239
<b>Tableau 32:</b> Profile lipidique de la graisse ovine.....	240
<b>Tableau 33:</b> Résultats d'identification d'E.coli par la galerie Api20E.....	244

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Principaux processus physiologiques et métaboliques auxquels le tissu adipeux est impliqué dans la sécrétion de diverses adipokines à partir des adipocytes .....	9
<b>Figure 2:</b> Expansion du tissu adipeux blanc dans l'obésité .....	10
<b>Figure 3:</b> Lien entre l'inflammation, l'insulinorésistance et les complications métaboliques associées à l'obésité .....	12
<b>Figure 4:</b> Réponses métaboliques adaptatives ou délétères en fonction des niveaux des ERO sur le métabolisme du tissu adipeux .....	14
<b>Figure 5:</b> Abondance totale de bactéries selon les différents sites corporels.....	16
<b>Figure 6:</b> Métabolites produits par le microbiote intestinal .....	17
<b>Figure 7:</b> Impact du régime hyperlipidique et microbiote intestinal sur la perméabilité intestinale et les désordres métaboliques liés à l'obésité .....	19
<b>Figure 8:</b> Voie de signalisation des LPS impliquée dans le processus inflammatoire .....	21
<b>Figure 9:</b> Feuilles, inflorescence, arbre et écorce de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	25
<b>Figure 10:</b> Structure moléculaire des composés phénoliques de la cannelle .....	27
<b>Figure 11:</b> Mécanisme d'action antioxydante et anti-inflammatoire de la cannelle .....	28
<b>Figure 12:</b> Propriétés antibactériennes de la cannelle et ses composés bioactifs .....	29
<b>Figure 13:</b> Mécanisme moléculaire de la cannelle sur le diabète .....	31
<b>Figure 14:</b> Rhizome de <i>Zingiber officinale</i> (gingembre) .....	33
<b>Figure 15:</b> Principaux constituants chimiques de <i>Zingiber officinale</i> .....	36
<b>Figure 16:</b> Mécanisme potentiel antioxydant de 6-shogaol du gingembre.....	37
<b>Figure 17:</b> Mécanisme d'action antibactérienne du gingembre et ses composés actifs .....	38
<b>Figure 18:</b> Mécanisme moléculaire anti-inflammatoire des principaux composants de gingembre.....	39
<b>Figure 19:</b> Morphologie générale de la plante <i>Artemisia herba alba Asso.</i> ....	41
<b>Figure 20:</b> Flavonoïdes d' <i>Artemisia herba alba Asso.</i> ....	42
<b>Figure 21:</b> Rôle bénéfique des probiotiques sur la dysbiose intestinale.....	45
<b>Figure 22:</b> Principaux mécanismes d'action des probiotiques .....	46
<b>Figure 23:</b> Mécanismes potentiels des bactéries probiotiques sur le microbiote intestinal .....	48
<b>Figure 24:</b> Inhibition du radical libre DPPH•.....	57
<b>Figure 25:</b> Formation du complexe malondialdéhyde/ acide thiobarbiturique de couleur rose .....	60
<b>Figure 26:</b> Protocole du suivi des rats durant l'étude expérimentale .....	66
<b>Figure 27:</b> Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).....	75
<b>Figure 28:</b> Mécanisme réactionnel entre le DTNB et un groupement thiol (SH).....	77
<b>Figure 29:</b> Rendement d'extraction des composés phénoliques de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (Cannelle).....	86
<b>Figure 30:</b> Rendement d'extraction des composés phénoliques de <i>Zingiber officinale</i> (Gingembre).....	87
<b>Figure 31:</b> Rendement d'extraction des composés phénoliques d' <i>Artemisia herba alba Asso.</i> (Armoise blanche) .....	88
<b>Figure 32:</b> Teneur en composés phénoliques totaux (A) et flavonoïdes (B) de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (cannelle) .....	89

<b>Figure 33:</b> Teneur en composés phénoliques totaux (A) et flavonoïdes (B) de <i>Zingiber officinale</i> (gingembre)	90
<b>Figure 34:</b> Teneur en composés phénoliques totaux(A) et flavonoïdes (B) de <i>Artemisia herba alba</i> Asso (armoïse blanc).....	91
<b>Figure 35:</b> Pouvoir réducteur des extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (A) et de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimé en CE <sub>50</sub> .....	94
<b>Figure 36:</b> Pouvoir réducteur des extraits de <i>Zingiber officinale</i> (A) et de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique(B)exprimé en CE <sub>50</sub> .....	95
<b>Figure 37:</b> Pouvoir réducteur des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso. (A) et de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique(B) exprimé en CE <sub>50</sub> .....	96
<b>Figure 38:</b> Activité antiradicalaire du radical DPPH• de différents extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (A), de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimer en CI <sub>50</sub> .....	97
<b>Figure 39:</b> Activité antiradicalaire du radical DPPH• de différents extraits de <i>Zingiber officinale</i> (A), de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimer en CI <sub>50</sub> .....	98
<b>Figure 40:</b> Activité antiradicalaire du radical DPPH• de différents extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso. (A), de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimer en CI <sub>50</sub> .....	99
<b>Figure 41:</b> Activité piègeante du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) de différents extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique(B)exprimer en CI <sub>50</sub> .....	100
<b>Figure 42:</b> Activité de piègeante du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) de différents extraits de <i>Zingiber officinale</i> (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique (B)exprimée en CI <sub>50</sub> .....	101
<b>Figure 43:</b> Activité de piègeante du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) de différents extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso. (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique (B) exprimer en CI <sub>50</sub> .....	102
<b>Figure 44:</b> Effet protecteur des extraits de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> et les antioxydants de référence contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA µmol/g de tissus.....	103
<b>Figure 45:</b> Effet protecteur des extraits de <i>Zingiber officinale</i> et les antioxydants de références contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA µmol/g de tissus. ....	105
<b>Figure 46:</b> Effet protecteur des extraits d' <i>Artemisia herba alba</i> Asso.et les antioxydants de références contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA µmol/g de tissus. ....	106
<b>Figure 47:</b> Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques, pendant 16 semaines d'expérimentation.....	118
<b>Figure 48:</b> Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques, durant les 16 semaines d'expérimentation. ....	119
<b>Figure 49:</b> Teneur plasmatique en glucose des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L.....	121
<b>Figure 50:</b> Profil lipidique en triglycéride, cholestérols total, HDL et LDL des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L.....	122
<b>Figure 51:</b> Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique (µmol/L) (A), et tissulaire (µmol/g de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	124
<b>Figure 52:</b> Oxydation protéique plasmatique (µmol/L) (A) et tissulaire (µmol/g de tissus) (B), des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	126

<b>Figure 53:</b> Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/ g}$ de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	127
<b>Figure 54:</b> Observation microscopique (X40) des coupes histologiques des foies de rats Wistar sous régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitements. ....	128
<b>Figure 55:</b> Observation microscopique des bactéries recherchées sur Mac Conkey (a), sur BEA(b) et sur MRS (c) .....	129
<b>Figure 56:</b> Dénombrement de <i>E. coli</i> et <i>Enterococcus</i> sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation. ....	131
<b>Figure 57:</b> Dénombrement de <i>Lactobacillus</i> sp. des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation.....	132
<b>Figure 58:</b> Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques pendant 16 semaines d'expérimentation .....	133
<b>Figure 59:</b> Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des différents groupes de rats nourris au régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques durant les 16 semaines d'expérimentation.....	134
<b>Figure 60:</b> Teneur plasmatique en glucose, en g/l, chez les différents groupes de rats recevant le régime HG supplémenté de la poudre de la cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines de d'expérimentation.....	136
<b>Figure 61:</b> Profil lipidique en triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL en g/L chez les différents groupes de rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	137
<b>Figure 62:</b> Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A), et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$ de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	139
<b>Figure 63:</b> Oxydation protéique plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$ de tissus) (B), des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	141
<b>Figure 64:</b> Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/ g}$ de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation .....	142
<b>Figure 65:</b> Observation microscopique (X40) des sections histologiques des foies des rats traités par la cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitement .....	143
<b>Figure 66:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur Mac Conkey issues du contenu fécal	144
<b>Figure 67:</b> Dénombrement d' <i>E. coli</i> chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation .....	145
<b>Figure 68:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur BEA issues du contenu fécal .....	145
<b>Figure 69:</b> Dénombrement d' <i>Enterococcus</i> sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation.....	146
<b>Figure 70:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur MRS issues du contenu fécal.....	147

<b>Figure 71:</b> Dénombrement de <i>Lactobacillus</i> sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation.....	148
<b>Figure 72:</b> Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats nourris par le régime HG supplément de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques pendant 16 semaines d'expérimentation .....	149
<b>Figure 73:</b> Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques durant les 16 semaines d'expérimentation ....	150
<b>Figure 74:</b> Teneur plasmatique en glucose des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L.....	152
<b>Figure 75:</b> Profil lipidique en triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL en g/L des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.....	153
<b>Figure 76:</b> Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A), et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$ de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	155
<b>Figure 77:</b> Oxydation protéique plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$ de tissus) (B), des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation .....	158
<b>Figure 78:</b> Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/g}$ de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation .....	159
<b>Figure 79:</b> Observation microscopique (X40) des sections histologiques des foies des rats traités par le gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitement .....	160
<b>Figure 80:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur Mac Conkey issues du contenu fécal	161
<b>Figure 81:</b> Dénombrement d' <i>E. coli</i> chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation .....	162
<b>Figure 82:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries recherchées sur BEA issues du contenu fécal ....	163
<b>Figure 83:</b> Dénombrement d' <i>Enterococcus</i> sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation.....	164
<b>Figure 84:</b> Observation microscopique (100X) des bactéries recherchées sur MRS issues du contenu fécal....	164
<b>Figure 85:</b> Effet du gingembre seul ou associé aux probiotiques sur la charge bactérienne des <i>Lactobacillus</i> sp.au niveau fécal après 16 semaines d'expérimentation.....	166
<b>Figure 86:</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique (1mg/mL) .....	231
<b>Figure 87:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine (1mg/mL) .....	231
<b>Figure 88:</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test FRAP .....	232
<b>Figure 89:</b> Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test FRAP .....	232
<b>Figure 90:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le test FRAP .....	232
<b>Figure 91:</b> Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	233
<b>Figure 92:</b> Courbe d'étalonnage d'ascorbique pour le test $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	233
<b>Figure 93:</b> Gamme d'étalonnage de FRAP plasma (a) , Foie (b), Cœur (c).....	234
<b>Figure 94:</b> Gamme d'étalonnage acide ascorbique plasma(a), Foie (b), Cœur (c).....	234

<b>Figure 95:</b> Gamme d'étannolage de Thiol plasma (a), Foie (b), Cœur (c) .....	234
<b>Figure 96:</b> Gamme d'étannolage de TBARS plasma(a), Foie (b), Cœur (c) .....	235
<b>Figure 97:</b> Rats du groupe ST, HG et HGP après 16 semaines d'expérimentation .....	236
<b>Figure 98:</b> Rats du groupe HGG et HGGP après 16 semaines d'expérimentation .....	236
<b>Figure 99:</b> Rats du groupe HGC et HGCP après 16 semaines d'expérimentation .....	236
<b>Figure 100:</b> Différents régimes expérimentaux .....	240
<b>Figure 101:</b> Résultat d'identification d' <i>E.coli</i> par la galerie Api20E .....	243
<b>Figure 102:</b> Aspect des colonies d' <i>E. coli</i> sur le milieu Mac Conkey (1), d' <i>Enterococcus</i> sp. sur le milieu BEA (2) et <i>Lactobacillus</i> sp. sur le milieu MRS (3) .....	245

## Liste des annexes

<b>Annexe I:</b> Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques de la cannelle, du gingembre et l'armoise blanche.....	231
<b>Annexe II:</b> Courbes d'étalonnage pour l'activité antioxydante des antioxydants de références .....	232
<b>Annexe III:</b> Courbes d'étalonnage pour les différents dosages des paramètres oxydatifs .....	234
<b>Annexe IV:</b> Différents lots de rats après 16 semaines d'expérimentation .....	236
<b>Annexe V:</b> Valeur nutritive et composition des régimes expérimentaux .....	237
<b>Annexe VI:</b> Milieux de culture et coloration de Gram .....	241
<b>Annexe VII:</b> Identification biochimique par la galerie Api20E .....	243
<b>Annexe VIII:</b> Aspect macroscopique des colonies sur les milieu de cultures.....	245
<b>Annexe IX:</b> Préparation du colorant pour les coupes histologiques du foie.....	246
<b>Annexe X:</b> Probiotique Lactibiane tolérance.....	247
<b>Annexe XI:</b> Fiches techniques de différents analyses biochimiques .....	248

# INTRODUCTION

---

## Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont la principale cause de décès à l'échelle mondiale (**Wang & Zhao, 2018**), entraînant environ 17,9 millions de décès chaque année (**OMS, 2021**). Ces maladies touchent le cœur et les vaisseaux sanguins, comprenant notamment les maladies coronariennes, les maladies cérébrovasculaires et les maladies cardiaques rhumatismales. Les principaux facteurs de risque associés à ces maladies incluent l'alimentation déséquilibrée, la sédentarité, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool et l'obésité (**OMS, 2021**). Cette dernière, est l'un des problèmes de santé majeurs du XXI<sup>e</sup> siècle, elle est considérée comme l'un des facteurs de risque le plus prédominants des maladies cardiovasculaires. De plus en plus de preuves scientifiques suggèrent que la fréquence de cette épidémie augmente de manière dramatique dans la plupart des pays industrialisés et s'étend aussi aux pays en voie de développement (**OMS, 2011**). Désormais elle n'est plus le triste apanage des sociétés occidentales, il s'agit d'un phénomène global émergent qui menace les cinq continents de la planète, y compris plusieurs pays africains, en atteignant des proportions épidémiques. Elle touche toutes les tranches d'âge et toutes les professions. Chaque année, l'obésité et les pathologies qu'elle génère gagnent du terrain. Elle a provoqué plus de 4 millions de décès dans le monde en 2017 (**OMS, 2021**). L'Algérie, comme les autres pays du Maghreb, en plein essor économique, n'est pas épargnée par ce fléau des temps modernes. En effet, une étude réalisée dans la capitale Alger révèle que près de la moitié de la population présente un excès pondéral, 1/3 accuse un surpoids, 15,1 % ont une obésité et 1,2% une obésité morbide avec une prédominance féminine (**Kemali, 2003**). Les résultats d'une enquête nationale de santé menée en Algérie en juin 2005 ont montré que 55,9% des personnes âgées de 35 à 70 ans sont atteintes de surpoids, l'obésité en toucherait 21,24%, elle est plus fréquente chez les femmes (30,08 %) que chez les hommes (9,07%) (**Enquête Nationale de Santé, 2005**). L'étude récente de l'équipe d'Atek confirme une prévalence d'obésité de 30,1% chez les femmes algériennes (**Madjid Atek et al., 2013**).

Le développement de l'obésité est un processus complexe impliquant à la fois des facteurs génétiques et environnementaux (**Barazzoni et al., 2018; Bielawiec et al., 2021**). Elle résulte principalement du déséquilibre entre les apports et les dépenses énergétiques. Une consommation abusive d'une alimentation hypercalorique (régime cafétéria, régime hyperlipidique) est le facteur nutritionnel le plus puissant pour générer des désordres métaboliques. Ce déséquilibre peut entraîner une accumulation excessive de tissu adipeux (**Hill et al., 2012**), siège de la genèse des perturbations biologiques telles que l'inflammation et

l'insulinorésistance, l'ensemble étant étroitement associé à un stress oxydatif caractérisé par un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la défense antioxydante (Cani et al., 2008; Savini et al., 2013). L'augmentation de la formation des radicaux libres au cours de l'obésité, contribue au développement de plusieurs complications chroniques, faisant de l'obésité un facteur de risque important dans la survenue des pathologies à stress oxydatif exacerbé, tels que les maladies cardio-vasculaires, le diabète et certains cancers (Lakshmi et al., 2009). Récemment, des études soulèvent l'implication d'un nouveau facteur clé dans le contrôle du poids corporel et de l'homéostasie énergétique : le microbiote intestinal (Cani et Delzenne, 2009; Jin et al., 2021). Une altération qualitative et quantitative de la composition de ce microbiote « dysbiose » pourrait être un facteur impliqué dans la modulation de l'obésité (Ansari et al., 2016). Outre un déséquilibre du bilan énergétique et une prédisposition génétique, la dysbiose et le stress oxydant constituent des éléments souvent négligés jusqu'ici dans les approches préventives et de prise en charge de l'obésité et ses complications. Ainsi, la modulation du stress oxydant via les molécules bioactives issues de plantes médicinales, et/ou du microbiote intestinal par le biais des probiotiques, essentiellement les ferments lactiques, pourrait constituer une nouvelle approche et stratégie nutritionnelles à explorer dans la prévention de l'obésité et de ses complications cardiovasculaires. Dans l'arsenal des plantes médicinales caractérisées par leur richesse en composés bioactifs antioxydants, on trouve la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), le gingembre (*Zingiber officinale Roscoe*), deux plantes essentielles de la médecine ayurvédique, et l'armoise blanche (*Artemisia herba alba Asso.*), une plante très utilisée en pharmacopée traditionnelle ancestrale. Ces dernières possèdent plusieurs avantages phytothérapeutiques et pharmaceutiques, tels que l'amélioration de la tolérance au glucose sanguin, l'amélioration du profil lipidique, la modulation des facteurs inflammatoires, l'activité antioxydante et antibactérienne, ainsi que des effets sur les troubles gastro-intestinaux (Alshehri et al., 2018; Wang et al., 2020 ; Moreira et al., 2023). Parallèlement, les probiotiques, essentiellement les lactobacilles et les bifidobactéries, sont largement connus pour leur impact positif sur la santé. En effet, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, ils améliorent la composition du microbiote (Qian et al., 2019) en stimulant sélectivement la croissance des bactéries bénéfiques au niveau du côlon (Roberfroid, 2000). Ces deux facteurs, les probiotiques et les molécules bioactives, pris séparément, sont actuellement considérés comme des approches efficaces dans la prévention de plusieurs pathologies. Toutefois, peu d'études s'intéressent à évaluer leur effet combiné sur les complications cardiométaboliques associées à l'obésité. Dans ce contexte, la présente étude s'intéresse, dans un premier temps, à effectuer un criblage des plantes médicinales précédemment citées pour sélectionner l'extrait

le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes ayant l'activité antioxydante et antibactérienne la plus puissante, dans l'optique de l'exploiter dans les stratégies de lutte et de prévention vis-à-vis des désordres métaboliques, essentiellement le stress oxydatif, associés à l'obésité. Dans un deuxième temps, elle vise à développer une stratégie nutritionnelle préventive vis-à-vis de cette pathologie et de ses complications cardio-métaboliques induites par le régime *high fat* chez le rat Wistar. Cette approche est basée sur l'évaluation de l'effet combiné probiotiques/plante médicinale sélectionnée vis-à-vis de :

- L'évolution pondérale,
- Les principales altérations oxydatives (protéiques, lipidiques) et le statut antioxydant global,
- Les désordres biochimiques essentiellement lipidiques associés à l'obésité,
- La stéatose hépatique,
- La dysbiose du microbiote intestinal.

# **PARTIE -I-**

## **Revue bibliographique**

---

# **CHAPITRE -I-**

## **Obésité, facteur prédominant des maladies cardiovasculaires**

---

## **Partie -I- Revue bibliographique**

### **Chapitre I: Obésité, facteur prédominant des maladies cardiovasculaires**

#### **I.1 Maladies cardiovasculaires : états des lieux**

Les maladies cardiovasculaires représentent un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale. Ces affections, englobant un large spectre de pathologies affectant le cœur et les vaisseaux sanguins, présentent des implications considérables tant sur le plan individuel que sociétal (**Bernstein et al., 2010**). Ces affections englobent plusieurs conditions, notamment les maladies coronariennes, les maladies cérébrovasculaires, les maladies artérielles périphériques, les cardiopathies rhumatismales, les cardiomyopathies et d'autres pathologies liées au système cardiovasculaire. Plus spécifiquement, ces maladies sont souvent associées à l'accumulation de dépôts graisseux, de cholestérol et d'autres substances sur les parois des vaisseaux sanguins, formant des plaques artérioscléreuses. Ces dernières peuvent entraîner des obstructions partielles ou totales des vaisseaux, compromettant ainsi le flux sanguin vers le cœur, le cerveau, ou d'autres parties du corps (**OMS,2023**).

L'OMS souligne que les maladies cardiovasculaires sont la première cause de décès dans le monde, représentant une part significative de la charge mondiale de morbidité. Les facteurs de risque courants incluent l'hypertension artérielle, le tabagisme, l'hyperlipidémie, le diabète, la sédentarité et d'autres comportements liés au mode de vie. La prévention, le dépistage précoce et la gestion des facteurs de risque sont des composants cruciaux des stratégies de santé publique visant à réduire l'impact des maladies cardiovasculaires.

#### **I.2 Prévalence des maladies cardiovasculaires**

##### **I.2.1 Prévalences des MCV au niveau mondial**

D'un point de vue global, les MCV touchent des millions de personnes chaque année, avec une incidence croissante dans de nombreux pays en développement et en voie de développement en raison des changements rapides dans les modes de vie et des transitions épidémiologiques.

Actuellement, la prévalence de ces maladies a augmenté de 12,5 % à l'échelle mondiale (**Chareonrungrueangchai et al., 2020**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 17,3 millions d'individus décèdent annuellement à cause de ces maladies, ceci représentent un tiers de la mortalité mondiale (**El Ghazi et al., 2018**). 85 % de ces décès, étaient dus à une

crise cardiaque et à un accident vasculaire cérébral. Plus des trois quarts des décès par MCV surviennent dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

### **I.2.2 Prévalence des MCV en Algérie**

L'enquête épidémiologique sur la santé en Algérie a mis en évidence que les affections les plus fréquentes sont les maladies cardiovasculaires, elles représentent la première cause de mortalité (**Belamri et al., 2010**). En 2014, le rapport de l'OMS concernant une enquête en Algérie indique que 77 % des causes de décès sont des maladies non transmissibles (MNT), dont les maladies cardiovasculaires représentent 41% (**OMS, 2014**).

Cette constatation a été mise en évidence par l'enquête TAHINA (Transition épidémiologique et son impact sur la santé dans les pays nord africains) menée par **Atek et ses collaborateurs en 2007**. Ces investigateurs constatent que parmi les 13 358 décès enregistrés dans les 12 villes concernées par l'étude, 7829 décès ont été attribués aux maladies non transmissibles (MNT) ; 3485 décès étaient dus à des maladies cardiovasculaires (44,5%) et 582 au diabète (7,4%). Cette mortalité était plus fréquente chez les hommes et le nombre de décès dus à des maladies cardiovasculaires est passé de 45 à 59 ans à un maximum de 70 ans et plus. Parmi ces maladies , les maladies cérébrovasculaires sont arrivées en tête avec 1006 décès (28,9%) touchant significativement plus d'hommes que de femmes (65,3% contre 34,2%,  $p < 10^{-3}$ ), tandis que les taux de mortalité dus aux cardiopathies hypertensives et ischémiques étaient respectivement de 25,1% et 9,7% (**Mammeri & Tebaibia, 2020**).

Entre 2013 et 2014, une enquête visant à déterminer le profil épidémiologique de la mortalité hospitalière dans la région de Tlemcen, a signalé 1448 décès enregistrés au cours de la période d'étude avec un sex-ratio de 1,22, le rapport de mortalité était plus élevé chez les sujets de plus de 60 ans (59%), et les maladies cardiovasculaires étaient la principale cause initiale de décès (35%); 18% de toutes les causes de décès étaient dues à un accident vasculaire cérébral (**Benbekhti et al., 2016 ; Mammeri & Tebaibia, 2020**).

Selon l'Institut national de la santé publique (INSP), les maladies cardiovasculaires représentent 34 % du taux de mortalité annuel en Algérie. Les principaux facteurs de risque de ces affections incluent le tabagisme, l'hypertension artérielle (HTA), le diabète et l'obésité. Les statistiques du ministère de santé indiquent que 55 % de la population algérienne est en surpoids, d'après les données présentées lors de la journée mondiale contre l'obésité. L'INSP souligne que 80 % des cas de maladies cardiovasculaires pourraient être prévenus en luttant

contre ces facteurs de risque, en particulier l'obésité. Il met également en avant l'importance de la réadaptation cardiaque comme moyen significatif de réduire le taux de décès liés à ces pathologies (APS, 2023).

### **I.3 Etiologie des maladies cardiovasculaires**

L'étiologie des MCV est complexe et multifactorielle, impliquant une combinaison de facteurs génétiques, comportementaux et environnementaux. Comprendre les causes sous-jacentes de ces affections est crucial pour le développement de stratégies de prévention et de traitement efficaces. Les principales composantes de l'étiologie des MCV est identifiée comme étant une alimentation déséquilibrée, Hypercholestérolémie , le tabagisme, l'hypertension, le diabète, l'obésité abdominale, des facteurs psychosociaux, la consommation excessive d'alcool et le manque d'activité physique adéquate (Uddandrao & Naidu, 2022). Cependant, D'autres facteurs sont identifiés comme, l'exposition à des niveaux élevés de pollution atmosphérique, le stress chronique et les facteurs héréditaires qui sont des prédispositions génétiques (OMS, 2023).

Parmi ces facteurs, l'obésité est largement reconnue comme un facteur de risque majeur dans le développement des MCV. Cette dernière est caractérisée par un excès de graisse corporelle, généralement mesuré par l'indice de masse corporelle (IMC), et elle est associée à plusieurs complications métaboliques et perturbation hormonale qui contribuent aux problèmes cardiovasculaires (Wiebe *et al.*, 2019).

### **I.4 Obésité, une préoccupation mondiale de santé publique**

L'obésité émerge comme un défi de santé publique mondial majeur au XXI<sup>e</sup> siècle. Elle est considérée comme un grand fléau qui frappe aussi bien les pays développés que les pays en voie de développement, car au-delà de ses implications esthétiques, elle augmente le risque de morbidité de plusieurs pathologies. C'est l'élément déterminant dans l'apparition du syndrome métabolique et elle est impliquée dans le développement de nombreuses maladies chroniques, y compris les maladies cardiovasculaires (MCV), l'hypertension, la dyslipidémie, le diabète de type II, stéatose hépatique non alcoolique et certains cancers (OMS, 2003).

La prévalence de l'obésité n'a cessé d'augmenter dans le monde entier au cours des dernières décennies, de sorte qu'elle est considérée comme une pandémie. Elle a doublé depuis 1980, à tel point que près d'un tiers de la population mondiale est désormais classée en surpoids ou obèse (Network, 2018). À l'échelle mondiale, un total de 1,9 milliard et 609 millions

d'adultes étaient estimés en surpoids et obèses en 2015, représentant environ 39 % de la population mondiale.

La prévalence du surpoids était un peu plus faible chez les femmes que chez les hommes chez les jeunes adultes (âgés de 20 à 44 ans), mais cette tendance s'est inversée après l'âge de 45 à 49 ans, coïncidant peut-être avec la ménopause chez les femmes (**Chooi et al., 2019**).

#### **I.4.1 Prévalence de l'obésité en Algérie**

En Algérie, la prévalence de l'obésité est une préoccupation majeure de santé publique, avec des chiffres alarmants témoignant de la propagation rapide de ce problème. Selon diverses sources, les taux d'obésité varient, mais toutes convergent vers une augmentation significative du nombre de personnes touchées. D'après un rapport de la FAO publié en 2013, 15,9 % des enfants et 17,5 % des adultes en Algérie sont fortement touchés par ce fléau, ce qui équivaut à plus de six millions d'Algériens en surpoids. Ces statistiques élevées placent l'Algérie en tête des pays du Maghreb en termes de prévalence de l'obésité, dépassant même la Tunisie qui présente des taux de 9 % chez les enfants et 23,8 % chez les adultes. Les Marocains, quant à eux, affichent des taux de 14,9 % chez les enfants et 17,3 % chez les adultes (**Benallou et al., 2021**). Les données de l'OMS en 2015 sur l'état des principaux facteurs de risque sanitaire des maladies non transmissibles dans la région africaine, indiquent que 47 % de la population algérienne est en surpoids et obèse, avec des disparités entre les sexes, atteignant 53,6 % chez les femmes et 36,3 % chez les hommes (**OMS, 2015**). Le rapport du ministère de la santé publique algérienne souligne également la gravité de la situation, en rapportant que 30 % des femmes et 14 % des hommes étaient touchés selon l'enquête nationale de 2016/2017. Les projections pour 2030, suggèrent une tendance à la hausse, avec une estimation entre 46 % et 30 % pour les femmes et 14 % pour les hommes (**Algérie Presse Service , 2023**).

#### **I.4.2 Obésité, définition et facteurs étiologiques**

L'obésité est une condition médicale caractérisée par une accumulation anormale ou excessive de graisse dans le corps, pouvant nuire à la santé généralement mesurée à l'aide de l'indice de masse corporelle (IMC), qui est égal au poids (en kilogramme) divisé par la taille (en mètre au carré). L'IMC est la mesure la plus utile du surpoids et de l'obésité, elle s'applique aux deux sexes et à toutes les tranches d'âge adulte. Elle doit toutefois être considérée comme une indication approximative car elle ne correspond pas nécessairement à la même masse graisseuse selon les individus (**OMS, 2016**). L'OMS considère qu'un IMC entre 18,5 et 25 est

considéré comme normal chez un adulte. Cependant lorsque ce paramètre est égal ou supérieur à 30 kg/m<sup>2</sup> elle distingue plusieurs types d'obésités : obésité de type I ou modérée ( $30 \leq \text{IMC} \leq 34,9$ ) ; obésité de type II ou sévère ( $35 \leq \text{IMC} \leq 39,9$ ) ; obésité de type III ou massive ou morbide ( $\text{IMC} \geq 40$ ).

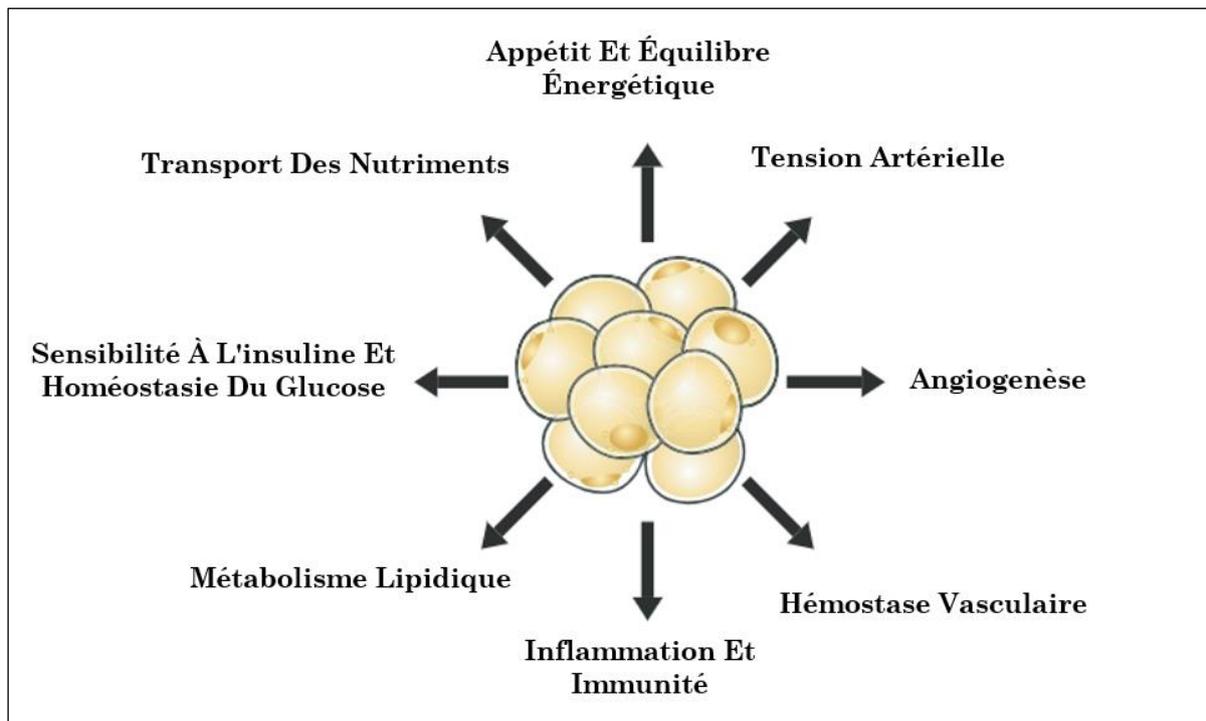
L'origine de l'obésité est complexe et multifactorielle, résultant de l'interaction de divers facteurs étiologiques. Parmi ceux-ci, le facteur héréditaire joue souvent un rôle permissif dans le développement de l'obésité, en tandem avec des influences psychologiques, sociales, le régime alimentaire en termes de qualité et de quantité, le manque d'activité physique, des facteurs métaboliques, l'âge, ainsi que des troubles endocriniens (**Savini et al., 2013**). Bien que l'obésité ait été traditionnellement associée à un déséquilibre énergétique entre les calories consommées et celles dépensées, principalement en raison de pratiques alimentaires inadéquates et d'un manque d'exercice physique, il s'agit en réalité d'un ensemble de facteurs interagissant. Cette interaction complexe implique la génétique, les hormones et l'environnement, conduisant à une accumulation du tissu adipeux. Cette accumulation anormale de masse adipeuse peut avoir des conséquences néfastes sur la santé, (**Poulain, 2009; Monteiro et al., 2013**), ceci présente le tissu adipeux comme un facteur central dans l'émergence de l'obésité et de ses complications métaboliques. Par conséquent, la compréhension des mécanismes de dysfonctionnement de ce tissu revêt une importance cruciale pour prise en charge de l'obésité et ces complications métaboliques.

### **I.5 Implication du tissu adipeux dans la genèse de l'obésité et ses complications**

L'obésité au-delà d'être perçue comme une simple condition de poids excessif. Elle se révèle comme un ensemble de perturbations métaboliques associées tels que la résistance à l'insuline, une augmentation du stress oxydatif, un état inflammatoire de faible intensité, une dyslipidémie, (**Savini et al., 2013 ; Kojta et al., 2020**). Actuellement, il est largement admis que l'obésité est surtout une pathologie complexe du tissu adipeux (**Singh et al., 2017**). Ce dernier, longtemps considéré comme un simple lieu de stockage d'énergie, émerge désormais comme un acteur clé dans la compréhension de l'obésité en tant que maladie métabolique. Deux tissus adipeux sont distingués chez les mammifères, le tissu adipeux brun intervenant essentiellement dans la thermogénèse, et le tissu adipeux blanc exerçant une double fonction qui le place au cœur de l'homéostasie énergétique (**McArdle et al., 2013 ; Le Lay et al., 2014**), en effet c'est le seul tissu capable de stocker et mobiliser les réserves énergétiques de

l'organisme sous forme de triglycérides dans des cellules hautement spécialisées, les adipocytes (Koenen *et al.*, 2021).

D'autre part, il secrète des molécules biologiquement actives, collectivement appelées « adipokines », qui sont impliquées dans la balance énergétique et le métabolisme glucido-lipidique. Les adipocytes eux-mêmes, mais également les cellules non-adipocytaires du tissu participent à cette fonction de sécrétion. Les adipokines agissent localement, de manière autocrine ou paracrine, et à distance (effet endocrine), sur des tissus cibles dont les muscles, le foie et l'hypothalamus. Certaines adipokines, comme le Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) et l'interleukine 6 (l'IL6), sont des facteurs d'insulinorésistance et d'inflammation, alors que d'autres, comme la leptine et l'adiponectine, exercent des effets bénéfiques sur la balance énergétique et l'homéostasie glucidique (Pérez-Torres *et al.*, 2021) (Figure 1).

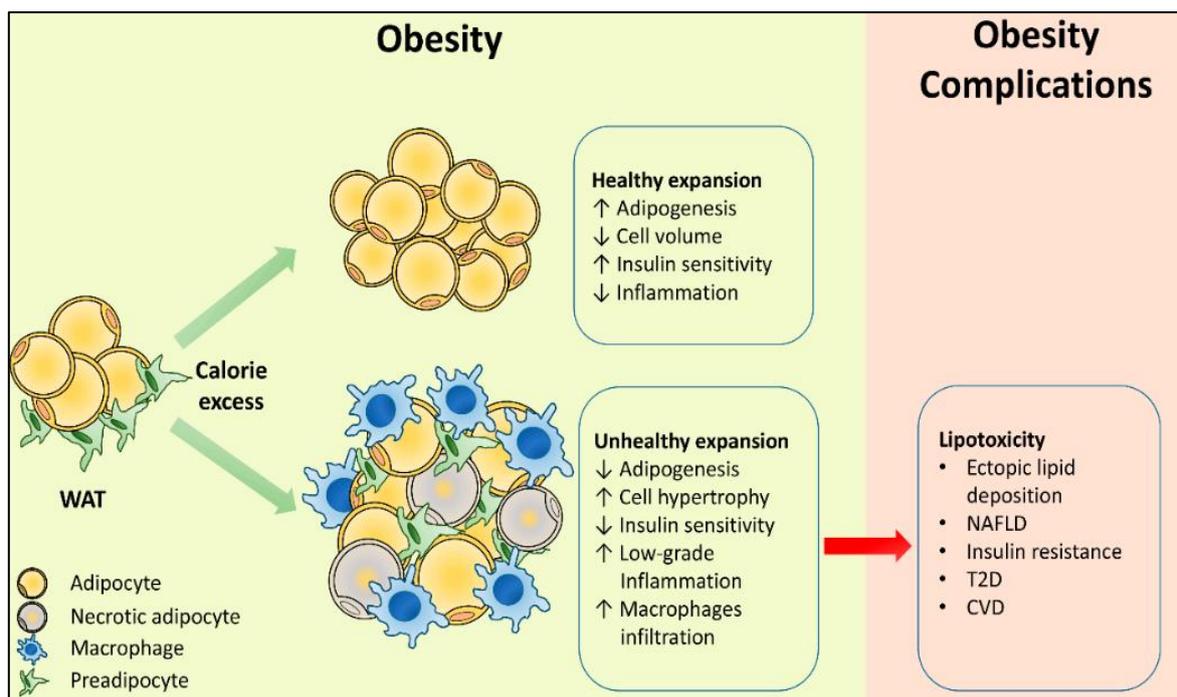


**Figure 1:** Principaux processus physiologiques et métaboliques auxquels le tissu adipeux est impliqué dans la sécrétion de diverses adipokines à partir des adipocytes (Trayhurn, 2013).

Le tissu adipeux est un organe d'une remarquable plasticité (Basdevant, 2008 ; McArdle *et al.*, 2013). Tout au long de la vie, il reste capable de s'étendre en fonction des besoins énergétiques, de la situation hormonale et des conditions environnementales. En effet le déséquilibre alimentaire, en faveur d'un apport énergétique supérieur aux dépens de l'organisme, débouche sur un excès de masse grasse. Cet excès peut résulter d'une augmentation de la taille des adipocytes par accumulation de triglycérides dans les vacuoles

lipidiques en créant l'hypertrophie. Au-delà d'une certaine taille, la cellule adipeuse ne grossit plus et l'augmentation des capacités de stockage nécessite une augmentation du nombre des cellules donnant le phénotype de l'hyperplasie (Longo et al., 2019).

Le tissu adipeux blanc répond à l'excès calorique par une expansion saine ou malsaine. Une expansion saine grâce à l'hyperplasie adipocytaire protège contre les complications métaboliques de l'obésité. Une expansion malsaine par hypertrophie adipocytaire favorise les complications métaboliques associées à l'obésité (Longo et al., 2019), les macrophages semblent contribuer au maintien de l'état inflammatoire de bas grade associé à l'obésité. Plusieurs observations appuient l'hypothèse du rôle néfaste de l'accumulation macrophagique dans la biologie du tissu adipeux et des pathologies associées à l'obésité. Les facteurs induisant cette infiltration et l'activation macrophagique dans le tissu adipeux sont probablement multifactoriels. Les signaux paracrines, autocrines et endocrines ainsi que les modifications mécaniques (hypertrophie et hyperplasie adipocytaire) pourraient jouer un rôle dans ce phénomène (Figure 2) (Guerre-Millo, 2006).



**Figure 2:** Expansion du tissu adipeux blanc dans l'obésité (Longo et al., 2019)

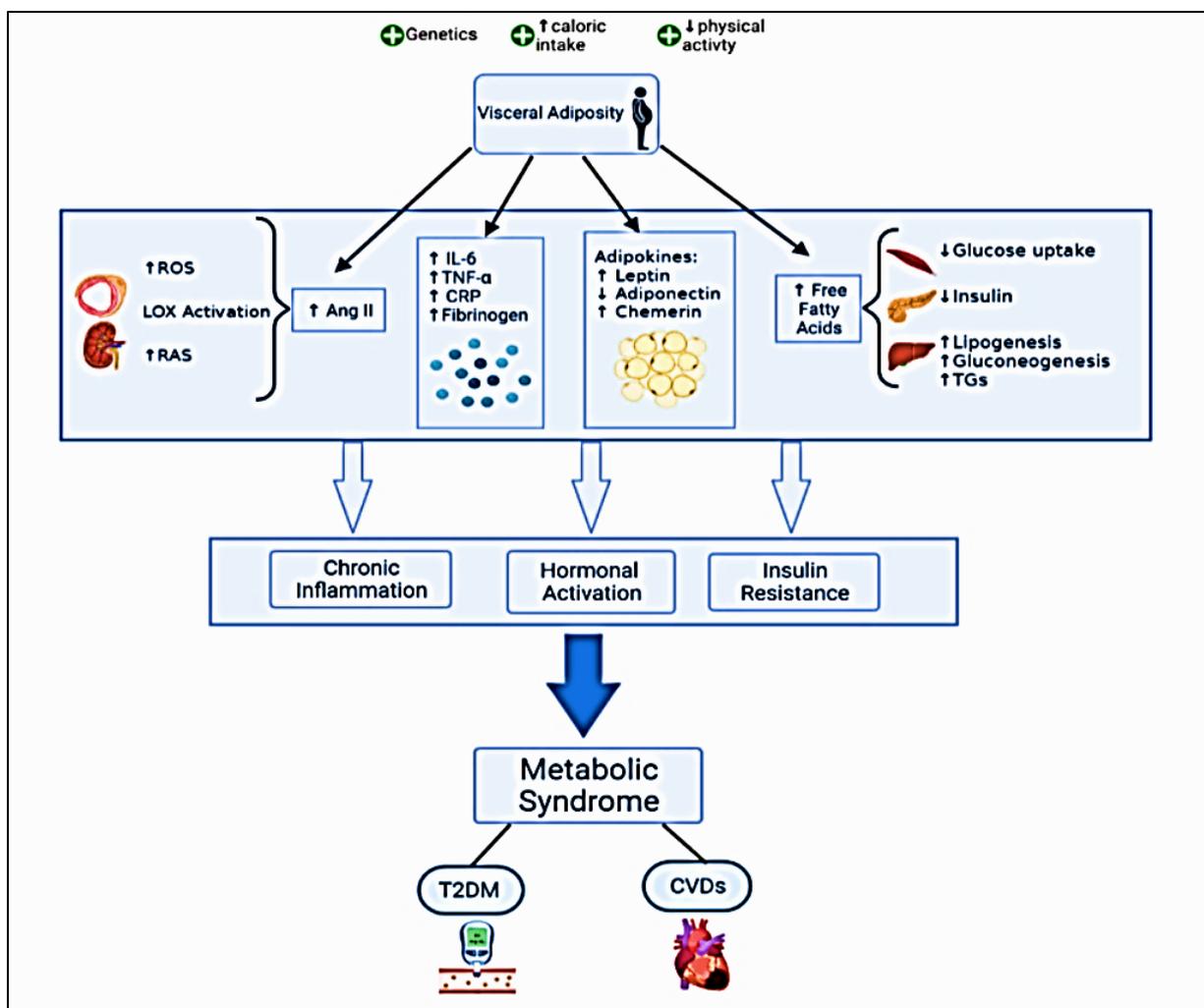
WAT, tissu adipeux blanc ; DT2, diabète de type 2 ; NAFLD, stéatose hépatique non alcoolique; MCV, cardiovasculaire

## I.6 Obésité, inflammation et insulino-résistance : Liaisons dangereuses

L'obésité est caractérisée par un niveau bas mais constant de cytokines pro-inflammatoires circulantes, ce qui correspond à une inflammation à bas bruit. Au cours de la dernière décennie, cette inflammation a été considérée comme un facteur de risque de développer l'obésité et ses complications métaboliques chroniques. Pour caractériser cette inflammation, différents marqueurs sont systématiquement étudiés : des cytokines pro-inflammatoires telles que TNF- $\alpha$  et IL-6 ; des chimiokines comme le Monocyte Chemotactic Protein 1 (MCP1) ainsi que des protéines circulantes comme la protéine réactive C (CRP). Cette inflammation n'est pas exclusivement circulatoire, elle affecte également des tissus tel que le tissu adipeux. En effet ce tissu, en plus de son implication dans le métabolisme énergétique et le système endocrinien, joue un rôle important dans la physiopathologie de l'inflammation **(Pérez-Torres et al., 2021)** (Figure 3). Le mécanisme sous-jacent implique le MCP1, ce dernier attire les macrophages vers le tissu adipeux, ces macrophages sont ensuite activés pour déclencher plusieurs voies de stress, y compris l'inhibiteur de la kinase du facteur nucléaire (NF)-kappa B : (I- $\kappa$ B) kinase- $\beta$ -NF- $\kappa$ B (IKK $\beta$ -NF- $\kappa$ B) et la protéine-1 activatrice de la Jun N-terminal kinase (JNK-AP1), ce qui stimule la sécrétion du TNF- $\alpha$  par les macrophages. Le TNF- $\alpha$  réduit la synthèse et le stockage des triglycérides (TG) et augmente la lipolyse dans les adipocytes, entraînant une augmentation de la libération des acides gras libres (AGL) **(Guilherme et al., 2008 ; Kawai et al., 2021)**. L'état pro-inflammatoire est en corrélation avec la diminution de la sensibilité à l'insuline et mène à l'insulino-résistance **(Lecerf, 2011)**.

L'insulino-résistance est un état qui se caractérise par une réponse biologique diminuée des tissus périphériques à la sécrétion d'insuline. Elle caractérise le syndrome métabolique, précède le plus souvent le diabète de type 2. Bien que l'effet de l'insuline sur les cellules cibles soit multiple, le terme d'insulino-résistance se réfère presque exclusivement à l'effet de l'insuline sur le maintien de l'homéostasie du glucose. Il est maintenant admis que l'insulino-résistance a une composante génétique, mais qu'elle peut être acquise par des facteurs environnementaux. Le mécanisme fortement incriminé dans l'installation de l'insulino-résistance au cours de l'obésité est l'augmentation de la concentration en acides gras libres (AGL) associée à l'expansion de la masse grasse. Ces acides contribuent à l'inhibition de l'utilisation du glucose, de la synthèse de glycogène, de la glycolyse, et favorisent la synthèse hépatique de glucose **(Capurso & Capurso, 2012)**. Ils perturbent la phase initiale d'activation intracellulaire consécutive à la liaison de l'insuline à son récepteur, notamment en agissant sur des protéines tels que les substrats des récepteurs à l'insuline (IRS-1) ou phosphoinositide 3-

kinase (PI3-kinase). Par ailleurs, l'élévation des métabolites des acides gras tel le diacylglycérol favorise l'activation de nombreuses kinases, comme la protéine kinase C, à l'origine des boucles de rétrocontrôle négatif sur les voies de transduction de l'insuline (**Bougle & Annane, 2009**). Aussi, Le stress oxydant peut contribuer au développement de l'insulinorésistance de plusieurs manières. Les radicaux libres produits pendant le stress oxydant peuvent endommager les cellules, y compris celles qui sont impliquées dans la régulation de l'insuline. Ce dommage cellulaire peut perturber les voies de signalisation de l'insuline, rendant les cellules moins sensibles à cette hormone. Le tissu adipeux, les muscles et le foie sont les tissus les plus touchés par cette résistance à l'insuline (Figure 3).



**Figure 3:** Lien entre l'inflammation, l'insulinorésistance et les complications métaboliques associées à l'obésité (**Fahed et al., 2022**)

## I.7 Obésité et stress oxydant

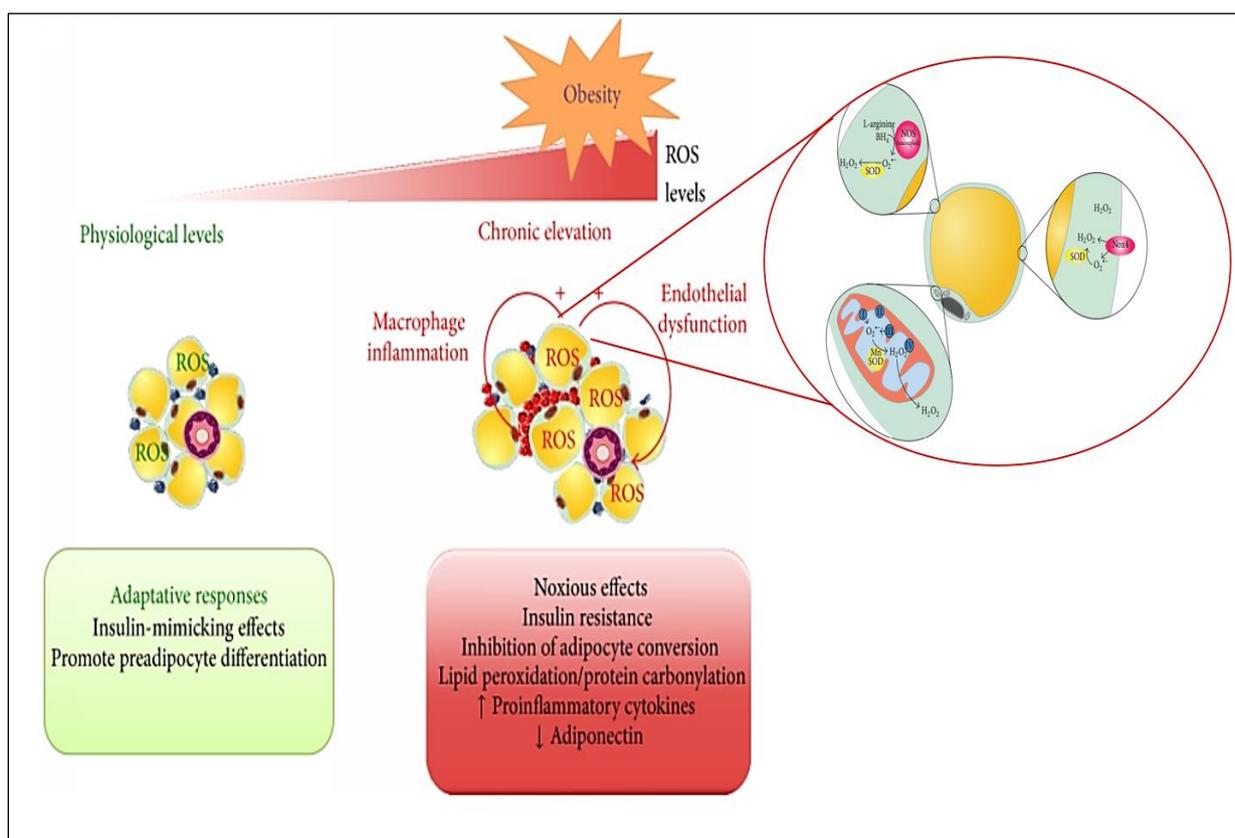
À l'heure actuelle, la notion de « radicaux libres », de « stress oxydant » et « d'antioxydants » est de plus en plus fréquemment utilisée pour expliquer différentes atteintes pathologiques et leurs approches thérapeutiques. Le stress oxydant correspond à un état de déséquilibre de la balance redox dans les systèmes biologiques. Ce déséquilibre peut être dû à une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ERO), à une diminution des défenses antioxydantes ou à une association de ces deux phénomènes (**Pérez-Torres et al., 2021**).

Au cours de l'obésité, l'accumulation de graisses au niveau du tissu adipeux conduit à l'induction d'un stress oxydant systémique (**Savini et al., 2013 ; Zielinska-Blizniewska et al., 2019**). Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire, induite soit par production excessive de radicaux libres, soit par diminution de la capacité de défense antioxydante (**Savini et al., 2013**).

Plusieurs hypothèses mécanistiques ont été évoquées pour tenter d'expliquer comment le stress oxydant est susceptible de participer à la pathogenèse de l'obésité, mais cette dernière elle-même pourrait être responsable de l'induction d'un état de stress oxydant. Le stress oxydant est donc à la fois induit par l'obésité, mais il favorise aussi l'accumulation des graisses, ce qui crée un cercle vicieux. Au cours de l'obésité, l'accumulation excessive de lipides stimule le développement du tissu adipeux en activant la prolifération des préadipocytes, leur différenciation en adipocytes et en augmentant la taille des adipocytes (**Fernández-Sánchez et al., 2011**). Il a été démontré que le stress oxydant induit par le peroxyde d'hydrogène favorise la différenciation des préadipocytes en adipocytes, en régulant positivement les activateurs transcriptionnels intervenant dans le programme de différenciation adipocytaire (**Lee et al., 2009**). Par ailleurs, la protéine kinase C, une protéine sensible au stress oxydant, joue aussi un rôle clé dans la régulation de cette différenciation et participe ainsi au développement des maladies cardiovasculaires et de l'obésité (**Čolak & Pap, 2021**). Aussi le stress oxydant entraîne une dérégulation des cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$ , et un état d'insulinorésistance, qui peut participer à la pathogenèse des maladies cardiovasculaires et du diabète associés à l'obésité (**Fahed et al., 2022**). En outre, des données récentes attribuent également aux ERO un rôle dans le contrôle du poids par le système nerveux central (**Alfadda & Sallam, 2012**), plus spécifiquement, elles pourraient agir au niveau de l'hypothalamus, zone où sont localisés de nombreux neurones permettant le contrôle de la satiété ou de la faim. Ceci

permet de mieux comprendre la difficulté de perte de poids avec l'âge ainsi que la longévité induite par la restriction calorique.

Parallèlement, parmi les mécanismes envisageables, l'activité mitochondriale pourrait être un facteur clé dans le lien entre obésité et stress oxydant. La mitochondrie est en effet une source permanente d'ERO, mais cette production mitochondriale d'ERO peut être augmentée dans le tissu adipeux par un régime riche en graisses, que ce soit chez l'animal ou chez l'homme (**Swaraj Bandhu et al., 2016**). Il a été démontré dans un modèle murin que la surexpression d'une protéine présente au niveau de la membrane mitochondriale externe, protéine nommée MitoNEET, augmente le stockage lipidique et la masse de tissu adipeux, conduisant chez ces souris à une obésité massive mais avec conservation de l'insulinosensibilité (**Joffin et al., 2021**) (voir figure 4). Actuellement le déséquilibre dans la composition du microbiote intestinal est mis en cause dans l'installation du stress oxydatif via la production de métabolites nocifs favorisant ce stress.



**Figure 4:** Réponses métaboliques adaptatives ou délétères en fonction des niveaux des ERO sur le métabolisme du tissu adipeux (**Le Lay et al., 2014**)

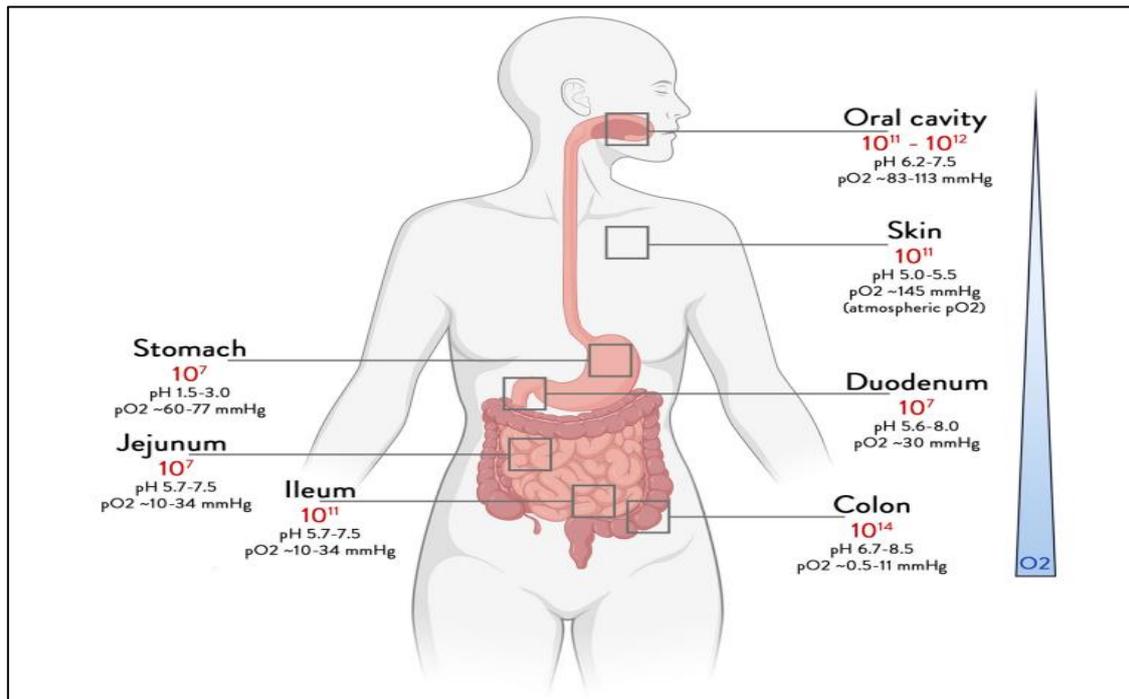
## I.8 Obésité et microbiote intestinal : dysbiose intestinale

### I.8.1 Microbiote intestinal : description et composition

Le microbiote intestinal est un groupe de bactéries présentes dans notre intestin et constitue un sous-ensemble du microbiote plus général, mais effectivement le plus diversifié et le plus crucial. Il pèse environ un kilogramme et demi et le nombre qui le constitue varie selon les études, mais on est généralement d'accord pour dire qu'il en contient d'environ 500 et 1000 différentes bactéries, réparties en 45 genres et 14 familles (Qin et al., 2010 ; Amlerova et al., 2021). Le tractus gastro-intestinal humain abrite plus de  $10^{14}$  microorganismes (Debré & Le Gall, 2014).

Les quatre phylums bactériens dominants dans l'intestin humain sont les Firmicutes (y compris les *Lactobacilles*), les Bactéroïdes, les Actinobactéries et les protéobactéries (y compris les *Escherichia*) (Rinninella et al., 2019). Des champignons et des Archaea peuvent également être présents, mais ils constituent moins de 1% de la population globale, ce qui indique que l'écosystème digestif est principalement dominé par les Firmicutes et les Bacteroidetes (Tilg & Kaser, 2011). Le microbiote intestinal n'est pas uniforme, sa densité et sa composition évoluent le long du tractus digestif. Chez les sujets sains, les microbes buccaux et salivaires contiennent des millions de microbes ( $10^{11}$  à  $10^{12}$ ) qui sont absorbés quotidiennement par notre nourriture, de  $10^3$  à  $10^7$  bactéries par gramme de contenu dans l'estomac, il passe à  $10^4$  à  $10^7$  bactéries par gramme de contenu dans l'intestin grêle, comprenant des *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Enterobactriaceae* de la flore de passage, ainsi que des Firmicutes, Bacilli et *Actinobacteria*, pour atteindre  $10^{12}$  à  $10^{14}$  bactéries par gramme de contenu dans le côlon, où la flore est pratiquement identique à celle des selles, avec une présence majoritaire des 3 groupes (Firmicutes, Bacteroidetes et Actinobacteria) et une petite proportion de plus de 1000 espèces différentes (Sender et al., 2016; Neugent et al., 2020 ; de Vos et al., 2022). Cependant, leur persistance dans l'intestin est entravée par de nombreux facteurs, notamment l'acidité de l'estomac, la production d'acides biliaires (BAS), enzymes digestives et protéines antimicrobiennes dans le duodénum et au-delà. Un grand nombre d'autres variables majeures affectent la colonisation microbienne en aval, tels que les paramètres chimiques (pH), les concentrations d'oxygène et le potentiel redox, la production biologique de mucus, de bile et d'anticorps, ainsi que les aspects physiques, y compris l'architecture de l'intestin, péristaltisme et temps de transit (Figure 5) (Amlerova et al., 2021).

La colonisation importante de l'intestin débute dès la naissance et se fixe vers l'âge d'un an, le nombre de micro-organismes intestinaux se stabilise et devient similaire à celui des jeunes adultes. Néanmoins, la constitution du microbiote change en permanence tout au long de l'existence (Sekirov *et al.*, 2010). De plus, elle est très variable d'un individu à l'autre, et l'abondance d'espèces bactériennes spécifiques varie en fonction de la génétique et de la structure de la paroi intestinale de l'hôte, de l'âge, de l'alimentation, des médicaments, y compris les antibiotiques, et d'autres facteurs environnementaux (Wilson *et al.*, 2020).



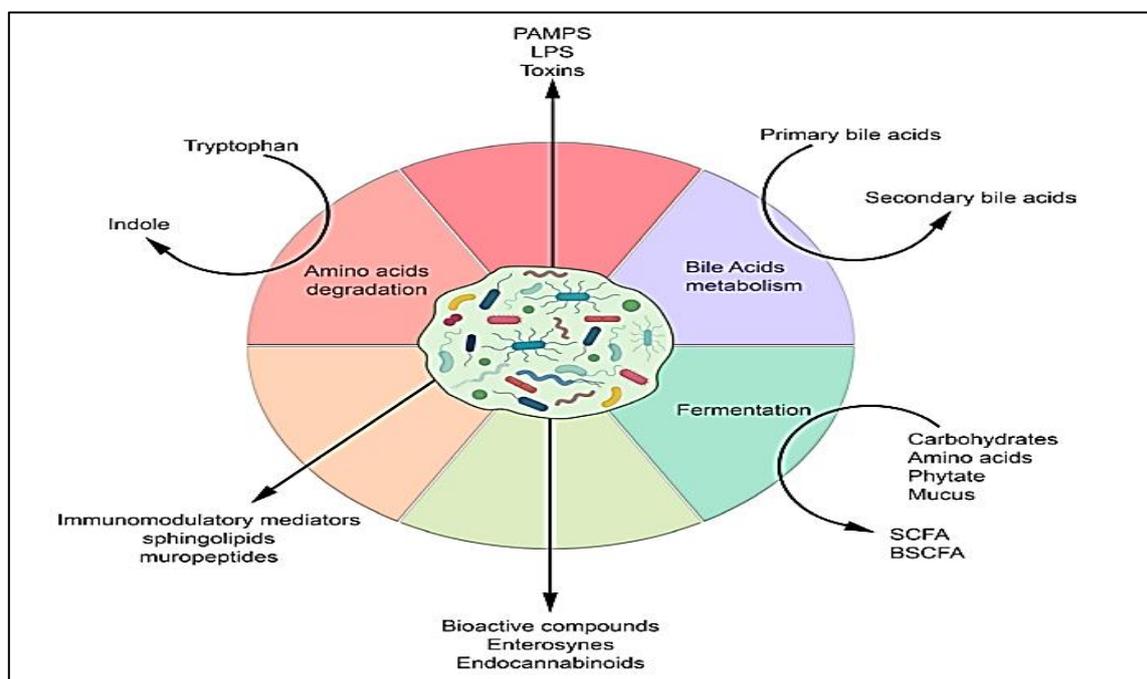
**Figure 5:** Abondance totale de bactéries selon les différents sites corporels (de Vos *et al.*, 2022).

### I.8.2 Microbiote intestinal : maturation digestive et fonction intestinale

La relation hôte/microbiote intestinal est hautement mutualiste car ce dernier joue un rôle crucial dans de nombreux processus indispensables à la maturation des fonctions digestives (Malesza *et al.*, 2021). Il a de multiples impacts, notamment sur l'angiogenèse, la trophicité intestinale (épaisseur de la muqueuse, tailles des villosités) ou sur le système neuromusculaire entérique (Hooper, 2004). La population de "bons" microbes intestinaux (qui sont la grande majorité) protège également l'hôte en produisant du mucus qui agit comme une barrière entre les micro-organismes et les cellules formant la paroi intestinale (Jakobsson *et al.*, 2015). Elle est également cruciale pour le développement des fonctions de maturation du système immunitaire intestinal, par une stimulation de la réponse inflammatoire et les défenses

immunitaires intestinales contre les agents pathogènes exogènes (**Kamada et al., 2013 ; Mendes et al., 2019**).

La variété des supports ; glucides non assimilables, protéines internes et stérols sont décomposés et métabolisés par la flore intestinale, à partir de restes de glucides, elle génère des acides gras à chaîne courte (AGCC) qui jouent un rôle nourrissant essentiel pour les cellules du côlon ou par le biais de hormones tel que le polypeptide 2 de type glucagon-like (**Goulet et al., 2009**). Étant donné que les humains produisent une variété très limitée d'enzymes nécessaires à la digestion des polysaccharides courants, le microbiote participe à la récupération de l'énergie des aliments, en sécurisant une activité enzymatique supplémentaire (**Sonnenburg et al., 2006**). Les espèces du genre *Bacteroides* constituent à elles seules environ 30 % de toutes les bactéries intestinales, ce qui suggère que ce genre est particulièrement important dans le fonctionnement de l'hôte (**Rinninella et al., 2019**). De plus, le microbiote fournit aux hôtes des vitamines comme la thiamine, le folate, la biotine, la riboflavine et l'acide pantothénique (abondant dans les aliments mais aussi synthétisées par les bactéries intestinales) (**Malesza et al., 2021**). Il a été suggéré que jusqu'à 50 % des besoins quotidiens en vitamine K sont garantis par le microbiote (voir Figure 6) (**Morowitz et al., 2011**).



**Figure 6:** Métabolites produits par le microbiote intestinal (**de Vos et al., 2022**).

*BSCFA*, AGCC ramifiés ; *LPS*, lipopolysaccharides ; *PAMPs*, modèles moléculaires associés aux agents pathogènes ; *AGCC*, acides gras à chaîne courte

Le microbiote intestinal influence également les organes distants en dehors du tractus intestinal. L'interaction entre le microbiote intestinal et le cerveau est appelée l'axe intestin-cerveau, il est impliqué dans la régulation de la satiété et la régulation hormonale et a un impact sur l'humeur et le comportement (Heijtz *et al.*, 2011 ; Sen *et al.*, 2017). Le métabolisme des xénobiotiques constitue un autre aspect de la fonction complexe du microbiote (Nicholson *et al.*, 2005). Pour ces raisons, le microbiote est devenu un domaine d'extrême intérêt pour tous les domaines médicaux, car, contrairement à certains facteurs qui ne peuvent pas être modifiés et qui influent sur l'apparition des maladies (comme l'âge et la génétique), il est possible, du moins en théorie, de modifier la composition du microbiote (Rinninella *et al.*, 2019).

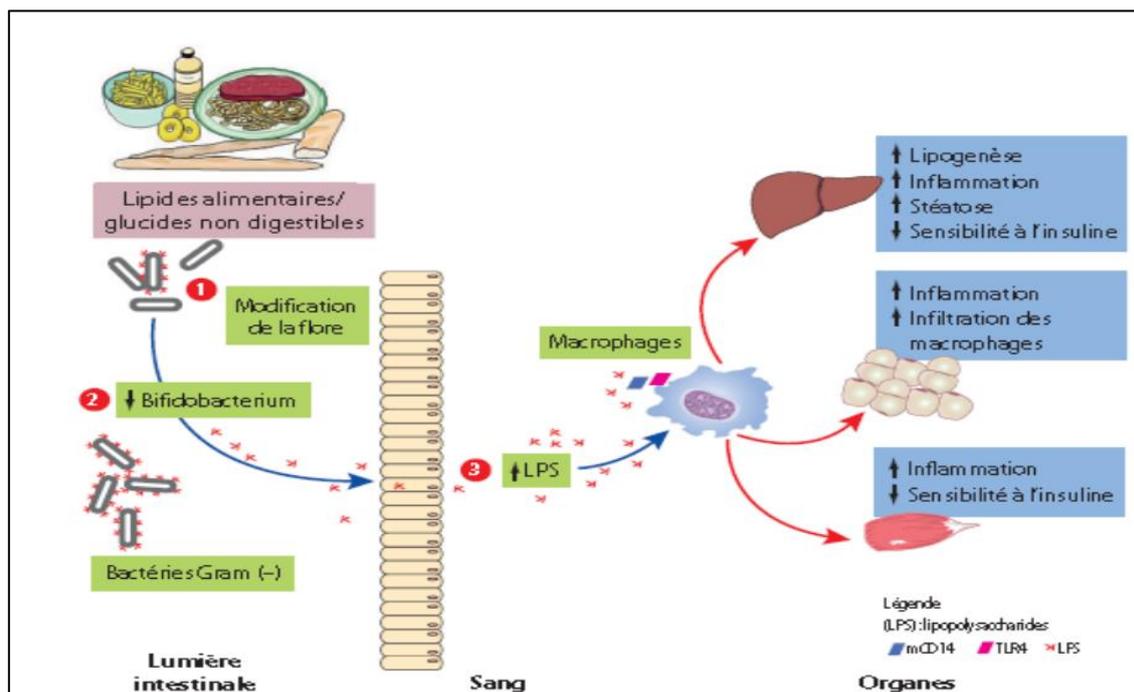
### I.8.3 Obésité et dysbiose intestinale

Le microbiote entretient une relation symbiotique avec l'hôte et joue un rôle essentiel dans la santé et les affections humaines (Tang *et al.*, 2017). Ainsi, l'équilibre homéostatique du microbiote intestinal est extrêmement avantageux pour l'hôte (DeGruttola *et al.*, 2016). En réalité, certaines affections sont accompagnées d'une modification de la composition microbienne qui entraîne un déséquilibre radical entre les bactéries bénéfiques et potentiellement pathogènes (Chan *et al.*, 2013). Les pathologies associées à des altérations microbiennes incluent les maladies auto-immunes et allergiques, les maladies inflammatoires de l'intestin et l'obésité (Clemente *et al.*, 2012).

Ce déséquilibre de la communauté intestinale est connu sous le nom de "dysbiose", qui a été définie comme une altération de l'homéostasie du microbiote causée par une perturbation de l'équilibre écologique dans l'intestin ; des modifications de la richesse des gènes microbiens, de la composition fonctionnelle et des activités métaboliques ; ou des modifications de la distribution locale (Bien *et al.*, 2013). La dysbiose a été associée à trois phénomènes distincts, pouvant se produire simultanément : perte d'organismes bénéfiques, prolifération excessive de bactéries potentiellement nocives et diminution de la diversité microbienne globale (DeGruttola *et al.*, 2016).

Le microbiote intestinal est considéré comme une source potentielle de molécules pro-inflammatoires responsables du déclenchement de l'inflammation de bas grade associée à l'obésité (Cani *et al.*, 2007a ; Cani *et al.*, 2007b). Il a été démontré que l'ingestion d'une alimentation riche en lipides était associée à une augmentation des taux circulants d'une molécule pro-inflammatoire issue de la paroi des bactéries Gram négatif présentes dans le tractus gastro-intestinal, à savoir le lipopolysaccharide (LPS) (Figure 7) (Cani *et al.*, 2007a).

En effet, les habitudes alimentaires constituent un facteur majeur influençant les changements du microbiote intestinal humain (**Backhed et al., 2005**). Certains des facteurs alimentaires qui peuvent modifier la composition du microbiote sont la composition en macronutriments, la teneur en fibres et la présence de composés bioactifs (polyphénols). En plus de l'alimentation, d'autres facteurs liés au mode de vie, y compris le stress ou l'activité physique, ont été signalés comme induisant des altérations de la composition du microbiote intestinal ; et certains d'entre eux pourraient être associés à l'obésité (**Cuevas-Sierra et al., 2019**).



**Figure 7:** Impact du régime hyperlipidique et microbiote intestinal sur la perméabilité intestinale et les désordres métaboliques liés à l'obésité (**Cani & Delzenne, 2010**).

L'ingestion d'une alimentation riche en lipide modifie la composition de la flore intestinale (1), avec plus particulièrement une diminution des bifidobactéries (2), cette modification de la flore intestinale est associée à une augmentation des concentrations de LPS plasmatique, le LPS après liaison à son récepteur complexe CD14 /TLR4, stimule la synthèse de la sécrétion de cytokine pro-inflammatoire qui participent au développement de l'insulinorésistance (3).

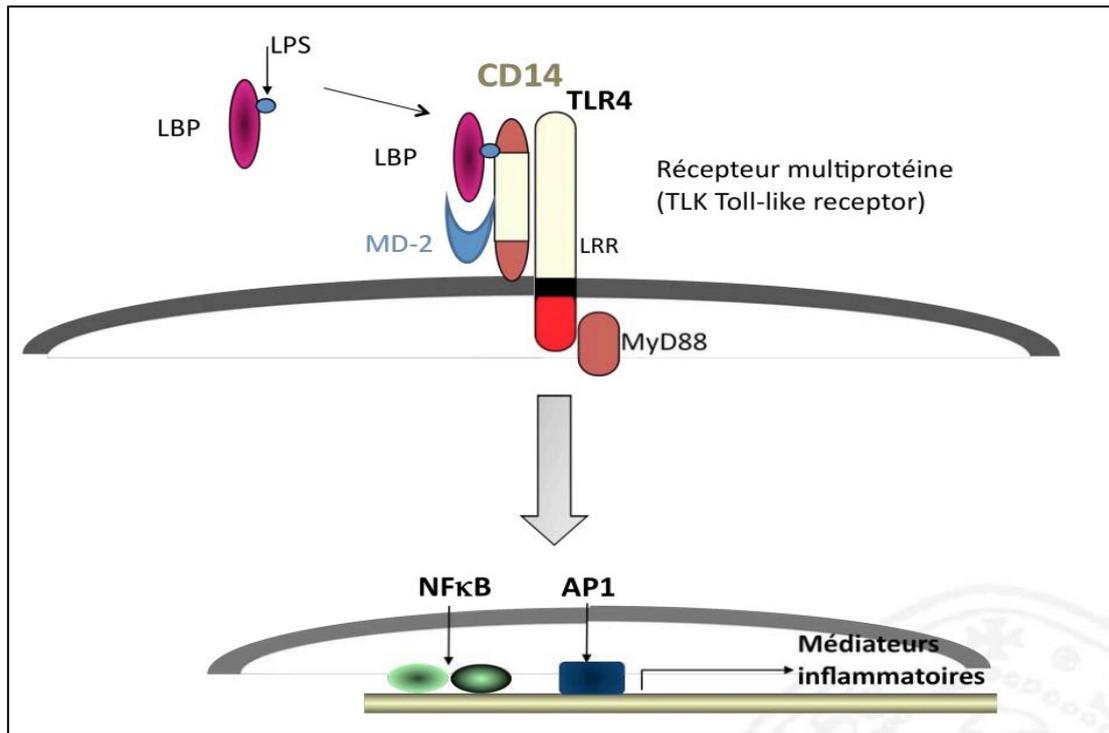
#### I.8.4 Implication des LPS dans la genèse de l'inflammation associée à l'obésité

Le microbiote intestinal contribue à la régulation de l'intégrité des barrières muqueuses intestinales (**Stadlbauer et al., 2015**). Il a été suggéré qu'un dysfonctionnement de la perméabilité intestinale est un événement initial déclencheur de la translocation bactérienne dans la circulation sanguine et contribuant à l'apparition précoce de l'inflammation et de la

perturbation du métabolisme associées à l'obésité (**Caniet *al.*, 2007a**). Une constatation d'une endotoxémie a été associée à une alimentation riche en matières grasses chez la souris, ce qui a entraîné une augmentation des concentrations plasmatiques de Lipopolysaccharide (LPS) et leur diffusion continue dans le tissu adipeux sous-cutané des souris provoquant une augmentation du poids corporel et une dérégulation des paramètres métaboliques et inflammatoires par rapport aux animaux témoins (**Caniet *al.*, 2007a**).

En effet, les régimes riches en matières grasses semblent être impliqués dans une réduction de *Bifidobacterium* sp. (**Muccioli *et al.*, 2010**). Ces événements peuvent altérer négativement la composition microbienne intestinale normale, entraînant une augmentation de la perméabilité intestinale, comme en témoignent des protéines de jonction serrées moins abondantes et désorganisées, telles que la zonuline et l'occludine dans le côlon (**Caniet *al.*, 2008 ; de La Serre *et al.*, 2010**). Lorsque l'intégrité des jonctions serrées est compromise, la diffusion passive à travers la muqueuse intestinale est affectée, ce qui entraîne une augmentation de la translocation et des concentrations plasmatiques de LPS. De même, les régimes riches en matières grasses favorisent la prolifération d'agents pathogènes à gram négatif, favorisant l'absorption du LPS à travers la barrière intestinale (**Caniet *al.*, 2007a**).

De plus, lors de la voie de signalisation inflammatoire des LPS, la première molécule impliquée dans la détection du LPS est la LBP (protéine de liaison aux LPS) (**Pålsson-McDermott & O'Neill, 2004**). C'est une protéine produite par le foie lors de la phase aiguë de l'inflammation et qui circule dans le sang où elle se lie avec une forte affinité au lipide A du LPS. Une fois que le LPS est lié à la LBP, cette protéine facilite le transfert du LPS vers le récepteur CD14. Le complexe CD14/LPS est ensuite reconnu par le récepteur TLR4 (récepteur de type Toll 4) (**Miller *et al.*, 2005 ; Kim *et al.*, 2012**). Ce dernier est associé à une protéine accessoire appelée MDP-2 (protéine de différenciation myéloïde-2) au niveau de la partie extracellulaire. Quand le complexe TLR4/MD-2 interagit avec le LPS attaché à CD14, un signal est transmis au noyau de la cellule et active le facteur de transcription NF- $\kappa$ B (facteur nucléaire kappa B) et AP-1 (protéine activateur 1), ce qui provoque la libération de cytokines pro-inflammatoires, incluant le facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), l'interleukine-1 (IL-1), la protéine monocytaire chémoattractante-1 (MCP-1), la synthase d'oxyde nitrique (iNOS), etc. Cela suggère que la translocation du LPS, principalement causé par les régimes riches en graisses, est un facteur d'induction d'une inflammation systémique de bas grade lors du développement de l'obésité (Figure 8) (**Boulangé *et al.*, 2016**).



**Figure 8:** Voie de signalisation des LPS impliquée dans le processus inflammatoire (Luche, 2011)

## **CHAPITRE -II-**

# **Approches thérapeutiques et stratégies préventives de l'obésité**

---

## Chapitre II: Approches thérapeutiques et stratégies préventives de l'obésité

L'obésité, telle que présentée précédemment, est une pathologie multifactorielle due à des dysfonctionnements de médiateurs biologiques de la régulation du poids ainsi que les influences génétiques, socioculturelles et environnementales. Malgré la prévalence croissante de cette pathologie, l'arsenal thérapeutique actuel est pauvre et les molécules disponibles contre l'obésité et ses complications (la sibutramine, l'orlistat) sont plutôt limitées en raison de leurs effets secondaires (augmentation de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, troubles gastro-intestinaux, carence vitaminique ...), délimitant ainsi leur prescription. Face à cette difficulté, des stratégies alternatives et préventives peuvent être largement envisagées, pour combler l'arsenal thérapeutique existant. En effet **les pré-biotiques, les probiotiques et les polyphénols** constituent les nouvelles approches en exploration dans la prévention de l'obésité et les conséquences métaboliques qu'elle engendre. **Les plantes médicinales**, en raison de leur abondance en **polyphénols**, suscitent un intérêt potentiel.

### II.1 Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), bien fait et vertus d'une plante médicinale culinaire

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées à des fins médicales en raison de leurs propriétés curatives, préventives ou palliatives. Ces plantes contiennent des composés bioactifs tels que des alcaloïdes, des flavonoïdes, des terpènes, des tanins, etc., qui ont des effets bénéfiques sur la santé humaine. Depuis des millénaires, de nombreuses cultures à travers le monde ont utilisé des plantes médicinales pour traiter divers maux et affections. Selon l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2002**), environ 65-80% de la population mondiale dont les pays en voie de développement, en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire. Même dans les pays industrialisés, plus de 25% des médicaments prescrits tirent directement ou indirectement leur structure des molécules d'origine naturelle et cela malgré les progrès de la chimie organique du vingt-et-unième siècle (**Newman et al., 2002 ; Calixto, 2005**) et les industries pharmaceutiques, en quête constante de nouveaux composés actifs, se tournent de plus en plus vers l'identification et la caractérisation de molécules issues des plantes médicinales. Elles s'inspirent de la structure moléculaire de ces composés pour concevoir de nouveaux médicaments, soulignant ainsi l'importance continue des plantes médicinales dans la recherche pharmaceutique contemporaine.

La cannelle connue depuis l'Antiquité, est un des épices les plus consommées et anciennement commercialisées dans le monde. Elle provient de l'île de Ceylan, ancien nom du Sri Lanka. Elle est cultivée essentiellement en Asie du sud : Inde, Sri Lanka (Ceylan), Chine, ainsi qu'aux Seychelles et à Madagascar. Très appréciée pour sa saveur parfumée, elle est également riche en antioxydants (**Halvorsen et al., 2006**).

### II.1.1 Description botanique

Le nom de cannelle provient du latin « *canula* » signifiant une forme de cylindre. Son nom binomial est *Cinnamomum zeylanicum* appartient de la famille de *Lauraceae* qui comprend plus de 250 arbres à feuilles persistantes répartis principalement en Asie, en Chine et en Australie (**Jayaprakasha & Rao, 2011**). De nombreuses espèces ont été étudiées dans la littérature, d'entre elles dans le domaine de la médecine. Deux des types de cannelle les plus étudiés sont *Cinnamomum verum* ou *Cinnamomum zeylanicum* (cannelle vraie ou cannelle de Ceylan).

La cannelle provenant de l'écorce interne du cannelier qui est un arbre de grande taille, à l'état sauvage, peut atteindre 6 à 18 mètres de haut et de 20 à 30 cm de diamètre. En culture on le maintient à l'état de sous-arbrisseau buissonneux de moins de 2 mètres. L'écorce du tronc, rugueuse et épaisse, est d'abord verdâtre puis devient grisâtre à l'extérieur et brun rougeâtre à l'intérieur (**Wuu-Kuang, 2011**). Le feuillage du cannelier (Figure 9) est persistant, aromatique et vert brillant. Les feuilles sont opposées, à limbe entier, coriaces et de forme lancéolée. Les feuilles sont longues de 15 cm et larges de 7 cm, glabres, lisses, luisantes au-dessus avec un revers plus clair et glauque. Elles sont concaves au-dessus et proéminentes au-dessous. Les feuilles ont un goût aromatique épicé et agréable. Une fois broyées, les feuilles dégagent une odeur forte de clou de girofle (**Baillon, 1884**). L'écorce (Figure 9) forme des tuyaux isolés ou emboîtés et mats. La face externe de couleur brun-jaune, est lisse et marquée de fines stries longitudinales blanchâtres. Chaque ruban cylindrique d'écorce de *C. zeylanicum* a une épaisseur de 0,2 à 0,7 mm. L'écorce est enroulée sur elle-même et forme des tuyaux emboîtés les uns aux autres d'une longueur de 30 cm à 1 mètre sur 1 cm de diamètre (**Goetz & Ghedira, 2012**).



**Figure 9:** Feuilles, inflorescence, arbre et écorce de *Cinnamomum zeylanicum* (Baillon, 1884)

➤ **Classification systématique**

La classification botanique de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) représentée dans le tableau ci-dessous

**Tableau 1:** Classification botanique de *Cinnamomum zeylanicum* (Goetz & Ghedira, 2012)

<b>Nom français</b>	<i>Cannelle ou Cannelle de Ceylan</i>
<b>Nom latin</b>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Magnoliidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Laurales</i>
<b>Famille</b>	Lauraceae s
<b>Genre</b>	<i>Cinnamomum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>

### II.1.2 Composition chimique

Les plantes aromatiques, en particulier la cannelle, fournissent des protéines, des fibres, des composants volatils, des vitamines, des minéraux et des composés chimiques connus pour leurs propriétés de prévention et de promotion de la santé (Ribeiro-Santos et al., 2017) (Tableau n° 2). La variation de la teneur en macronutriments et micronutriments peut être attribuée en grande partie aux différences entre les espèces, les variétés, les conditions de croissance, les périodes de récolte, les propriétés du sol, du climat, de l'origine, des conditions environnementales et des paramètres géographiques (Al-Numair et al., 2007 ; Gul & Safdar, 2009).

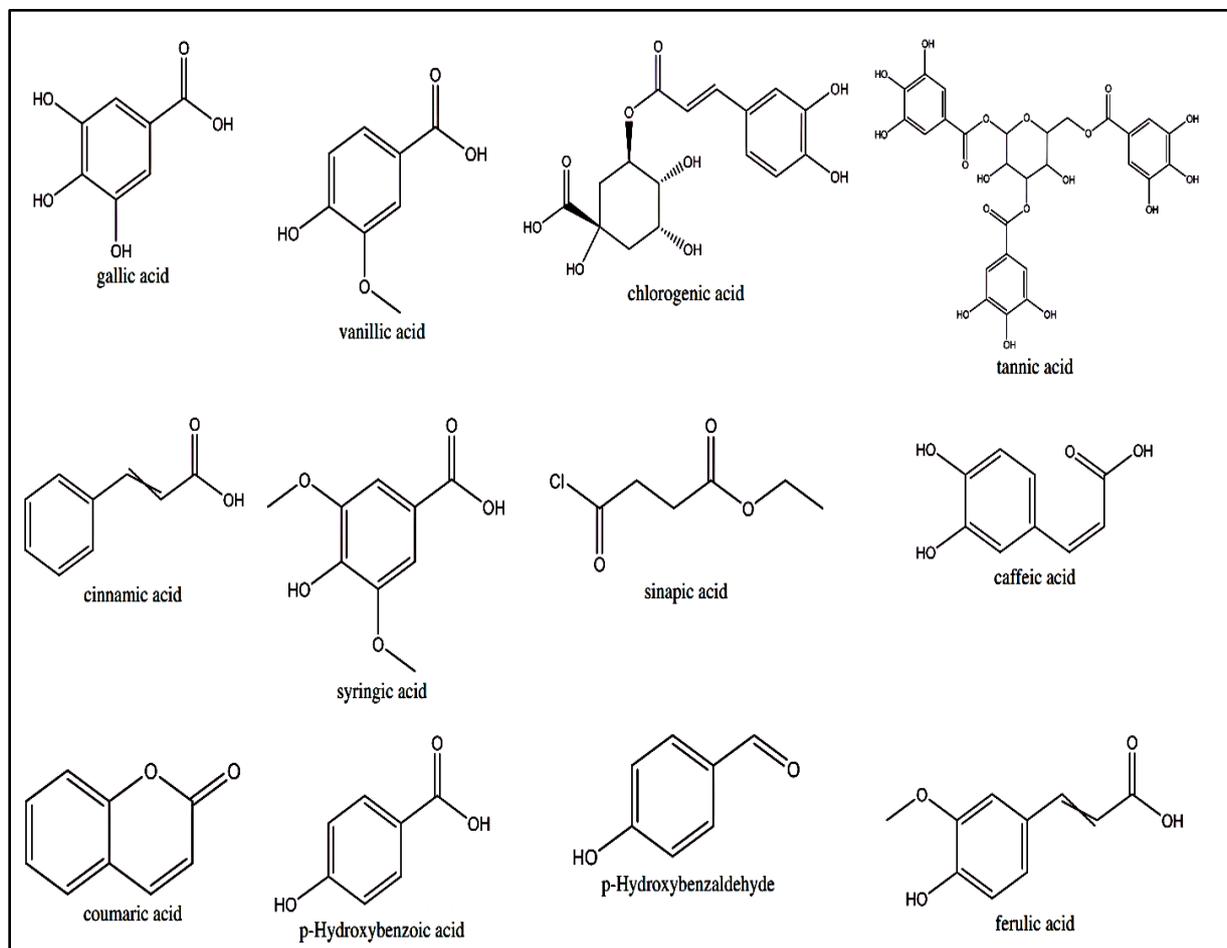
**Tableau 2:** Valeur nutritionnelle de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelle) (Ribeiro-Santos et al., 2017)

Ecorce de cannelle, brute (valeur nutritive pour 100g)							
Energie (kcal)	247	Vitamines (mg)	Minéraux (mg)				
Eau (g)	10,6	Rétinol (Vit A)	295 IU	Fer	8.32		
Cendres (g)	3.6	$\alpha$ -tocophérol (Vit E)	2.32	Zinc	1.83		
Hydrate de carbone (g)	80.59	Phylloquinone (Vit K)	0.0312	Cuivre	0.339		
		Sucre	2.17	Thiamine (Vit B1)	0.002	Manganèse	17.466
		Fibres	53.1	Riboflavine (Vit B2)	0.041	Magnésium	60
Protéine totale (g)	3.99	Niacine (Vit B3)	1.332	Potassium	431		
Lipide totale (g)	1.24	Ac. pantothénique (Vit B5)	0.558	Sodium	10		
		Ac. gras saturé	0.345	Pyridoxine (Vit B6)	0.16	Sodium	10
		Ac. gras monoinsaturé	0.25	Ac. Folique (Vit B9)	6	Sodium	10
		Ac. gras polyinsaturé	0.07	Ac. Ascorbique (Vit C)	3.8	Calcium	1002

La cannelle est constituée d'une variété de composés phénoliques, parmi lesquels la rutine, l'acide protocatéchique, l'acide cinnamique, l'épicatéchine, la quercétine et les aldéhydes cinnamiques (Figure 14). L'écorce de cannelle contient 60 à 80 % de cinnamaldéhyde et environ 2 % d'eugénol. Cependant, l'extrait de cannelle a montré que le cinnamaldéhyde (64%) et les tanins condensés (23% de proanthocyanidines et 4% de catéchines (épi)) étaient les principaux composés (Klejdus & Kováčik, 2016).

L'extrait phénolique de la cannelle est caractérisé par la présence des flavonoïdes proanthocyanidine (procyanidine tétramère, procyanidine dimère, procyanidine trimère), la

catéchine, le (-)-epigallocatechingallate et l'acide férulique (Lv *et al.*, 2012). L'acide cinnamique et d'autres polyphénols tels que la coumarine et le cinnamaldéhyde (Figure 10) (Durak *et al.*, 2014).



**Figure 10:** Structure moléculaire des composés phénoliques de la cannelle (Muhammad & Dewettinck, 2017)

### II.1.3 Propriétés médicinales

La cannelle est utilisée depuis l'antiquité pour ses vertus thérapeutiques. Toutes les parties du cannelier, y compris l'écorce, les feuilles, les fleurs, les fruits et les racines, ont un usage médicinal. Traditionnellement, elle est utilisée pour ses propriétés astringentes, antibactériennes et antispasmodiques, mais elle présente également d'autres propriétés. Par exemple, elle peut être utilisée dans le traitement de l'impuissance, de la frigidité, de l'inflammation des yeux, de la vaginite, de la névralgie, les rhumatismes, la cicatrisation des plaies et les maux de dents, de la bronchite chronique, des affections respiratoires, digestives et gynécologiques (Ranasinghe *et al.*, 2013 ; Singletary, 2019).

### II.1.3.1 Activité antioxydante

La cannelle et ses divers, présentent une activité antioxydante, ce qui indique le potentiel de la cannelle pour gérer les troubles liés au stress oxydatif (Shang *et al.*, 2021). Les extraits de cannelle contiennent une quantité considérable d'antioxydants phénoliques et de flavonoïdes qui sont les principaux responsables de leur forte activité antioxydante (Jayaprakasha *et al.*, 2007). De plus, les extraits sont des inhibiteurs de radicaux libres en raison de leur capacité à donner de l'hydrogène (Jayaprakasha & Rao, 2011). Une forte corrélation a été établie entre la teneur en composés phénoliques de l'extrait de cannelle et leur capacité élevée à piéger le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et l'activité de rupture de chaîne (Benkeblia, 2005).

Une activité antioxydante significative de la cannelle et ses composés bioactifs (Figure 11), est notamment liée à la réduction du taux de malondialdéhyde (MDA ; marqueur de la peroxydation lipidique), l'activation du facteur de transcription Nrf2 et la synthèse d'enzymes antioxydantes telles que HO-1, SOD, CAT, GPx et la NAD(P)H déshydrogénase [quinone] 1 (NQO-1) (Zhao *et al.*, 2016; Abou El-ezz *et al.*, 2018; Abdel-Kawi *et al.*, 2022).

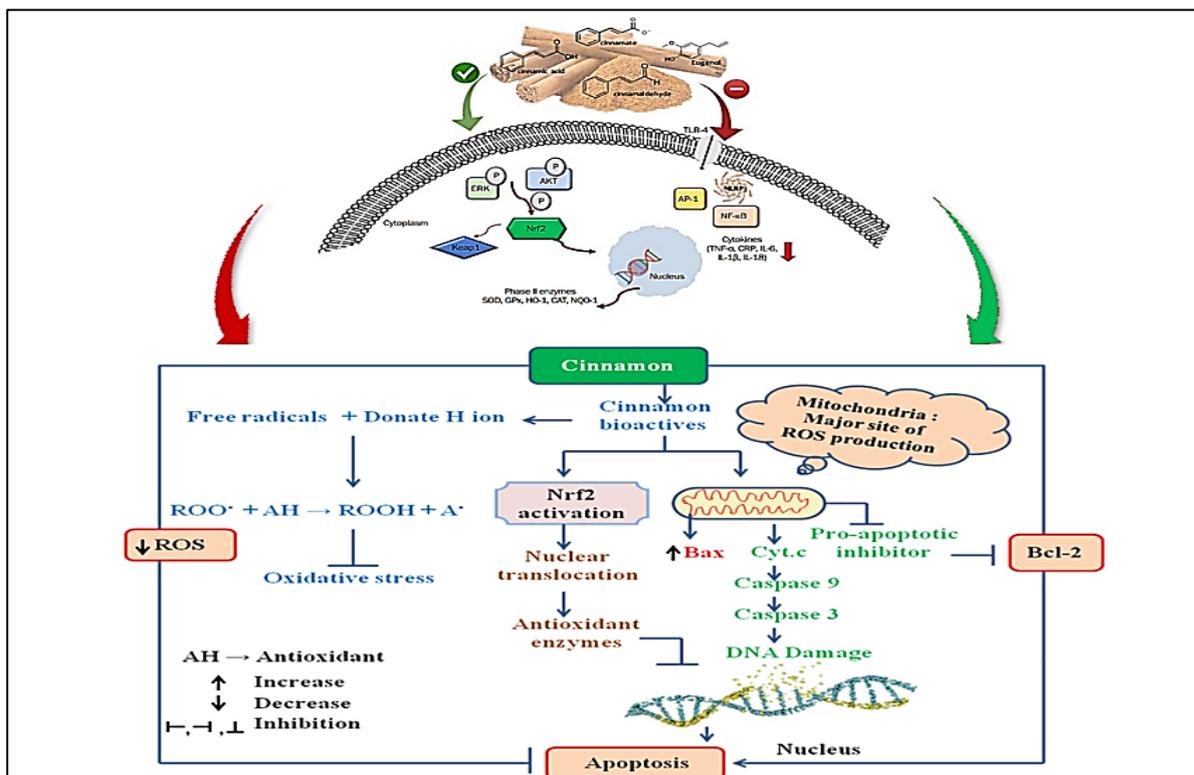
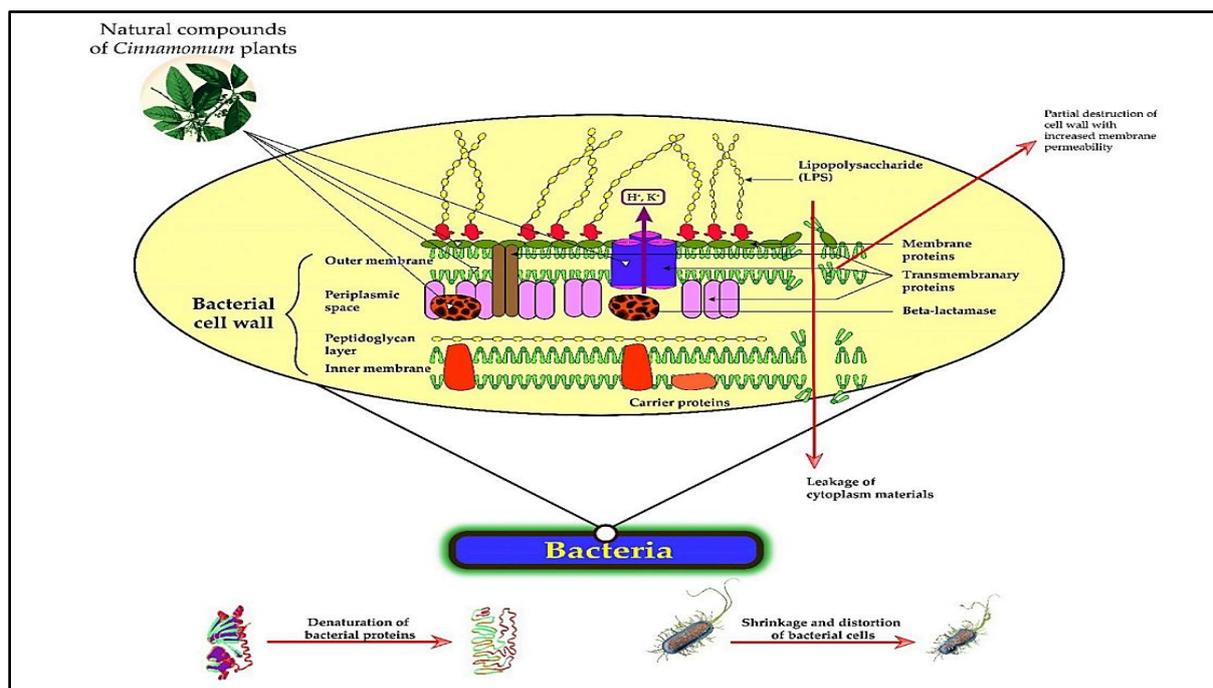


Figure 11: Mécanisme d'action antioxydante et anti-inflammatoire de la cannelle (N. Singh *et al.*, 2021 ; Moreira *et al.*, 2023)

**TLR-4**, Toll-like receptor 4 ; **ERK**, extracellular signal-regulated kinase ; **AKT**, protein kinase B ; **Keap1**, Kelch-like ECH-associated protein 1 ; **TNF- $\alpha$** , facteur de nécrose tumorale alpha ; **CRP**, protéine C-réactive ; **IL**, interleukine

### II.1.3.2 Activité antimicrobienne

La cannelle est connue pour ses propriétés antimicrobiennes, elle peut inhiber la croissance ou tuer des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Cette propriété est attribuée à certains composés biologiquement actifs présents dans la cannelle. Les principaux mécanismes potentiels d'action antibactérienne de la cannelle et ses constituants actifs sont liés à la dégradation partielle de la paroi cellulaire bactérienne. Par conséquent, une augmentation de la perméabilité membranaire, ensuite une fuite des matériaux du cytoplasme. En effet, un rétrécissement des cellules bactériennes et la distorsion proéminente de la paroi cellulaire, et à la fin une modification de la structure du cytoplasme associée à une l'altération des structures secondaires et tertiaires puis une dégradation des protéines bactériennes (Figure 12) (Sharifi-Rad et al., 2021).



**Figure 12:** Propriétés antibactériennes de la cannelle et ses composés bioactifs (Sharifi-Rad et al., 2021)

Le cinnamaldéhyde, ainsi que l'eugénol, inhibent la production de  $\beta$ -lactamase une enzyme responsable de la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques et de la destruction de la paroi cellulaire (Di Pasqua et al., 2007). En outre, des composés phénoliques tel que le

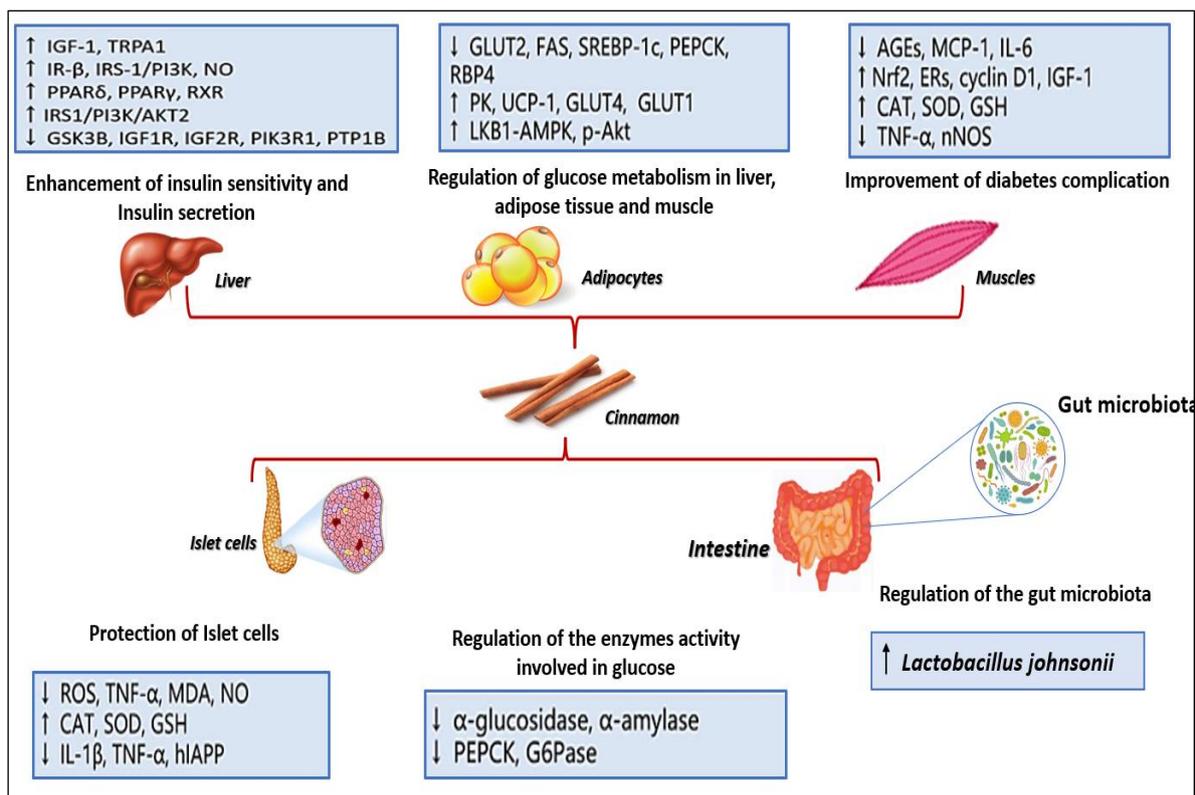
carvacrol peuvent également provoquer la destruction de la membrane cytoplasmique de la cellule bactérienne, et les terpènes interagissent avec la membrane bactérienne en modifiant sa perméabilité et en augmentant la pénétration des agents antibactériens (Ultee et al., 1999 ; Lambert et al., 2001).

### II.1.3.3 Activité antidiabétique

La cannelle et ses extraits sont considérés comme l'une des plantes antidiabétiques les plus puissantes, en améliorant la sensibilité à l'insuline et la sécrétion de l'insuline (Gulcin et al., 2019). L'influence de la cannelle sur la sensibilité à l'insuline et sa sécrétion est obtenue par une variété de voies de signalisation. L'autophosphorylation du récepteur de l'insuline- $\beta$  (IR- $\beta$ ) joue un rôle dans la phosphorylation des substrats du récepteur de l'insuline. Il a été prouvé que les polyphénols de la cannelle augmentent les niveaux d'IR- $\beta$  dans les adipocytes 3T3-L1 (Cao et al., 2007). Cependant, l'extrait de cannelle a empêché la résistance à l'insuline, ce qui favorise l'absorption du glucose dans le muscle et joue un rôle important dans l'absorption du glucose par les tissus périphériques (Shang et al., 2021).

En outre, l'inhibition de l' $\alpha$ -glucosidase intestinale et l' $\alpha$ -amylase pancréatique par les extraits de cannelle présentent un potentiel de réduction du glucose postprandial. De ce fait, il a été révélé *in-vitro* que la cannelle inhibe la lipase, l' $\alpha$ -amylase et l' $\alpha$ -glucosidase, et autres des enzymes digestives ( Ercan & El, 2020). De plus, l'extrait de cannelle pourrait augmenter la teneur en glycogène du foie, améliorer l'action de l'insuline dans les tissus hépatiques, réduire la graisse et améliorer l'homéostasie du glucose (Figure 13) (Shang et al., 2021).

Le cinnamaldéhyde présente une efficacité antidiabétique exceptionnelle en augmentant l'expression de la protéine GLUT4 dans les tissus (Zhang et al., 2008). Il a été démontré que les polyphénols de cannelle améliorent les dommages pathologiques des cellules bêta du pancréas, ainsi leurs fonctions et les ramènent à un état normal grâce à l'activité antioxydante acquise par leurs composés phytochimiques phénoliques chez les rats diabétiques (Qusti et al., 2016). En outre, le stress oxydatif et la réponse inflammatoire peuvent entraîner des lésions des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans. Des recherches antérieures ont démontré que le camphre de la cannelle pouvait améliorer l'activité de la Gpx, de la CAT, de la SOD et la teneur en GSH dans les tissus pancréatiques de rats diabétiques induits par l'alloxane (Drikvandi et al., 2020).



**Figure 13:** Mécanisme moléculaire de la cannelle sur le diabète (Shang et al., 2021).

#### II.1.4 Toxicité de la cannelle

La cannelle peut être utilisée sans danger en tant qu'épice et/ou agent aromatique. Il a été rapporté que la cannelle a des effets toxiques et indésirables minimes (Ranasinghe et al., 2013). En outre, la dose habituelle pour les compléments alimentaires a été suggérée entre 1 et 4 g par jour. Les doses habituelles pour l'administration d'huile de cannelle, qui est plus forte, varient entre 50 et 200 mg par jour. Pour des doses allant jusqu'à 6 g par jour, aucun effet indésirable n'a été rapporté (Yun et al., 2018; Sharifi-Rad et al., 2021).

L'utilisation courante de la cannelle dans l'alimentation en tant qu'épice, additif alimentaire et agent aromatique laisse penser qu'elle est probablement sans danger. Cependant, consommée en excès, la cannelle peut provoquer une détresse respiratoire, une augmentation du pouls (tachycardie) et du processus de transpiration, suivie d'états dépressifs et de somnolence. Cela peut aggraver les symptômes de la rosacée et peut augmenter le risque de développer un cancer de la bouche (Gowder, 2014).

Par conséquent, l'utilisation à long terme d'une grande quantité de cannelle doit faire l'objet d'une surveillance continue. La coumarine, naturellement présente dans la cannelle, peut avoir une influence négative sur le foie, les personnes souffrant de troubles hépatiques doivent

éviter une consommation excessive (**Sharifi-Rad et al., 2021**). La dose journalière tolérable de coumarine (0,1 mg/kg poids corporel) doit être considérée comme sûre en termes de consommation journalière de cannelle sans risque d'effets indésirables. Une utilisation en grandes quantités peut interagir avec certains médicaments, ce qui pourrait endommager le foie (**Abraham et al., 2010**). Cependant, des niveaux élevés de coumarine et de cinnamaldéhyde pourraient être liés à des lésions hépatiques et à une hypoglycémie (**Deng, 2012**), à des lésions buccales (**Vivas & Migliari, 2015**), au risque de cancer, à des problèmes respiratoires et à des interactions avec certains médicaments (**Abraham et al., 2010**). En règle générale, les effets indésirables doivent être surveillés lorsque des doses élevées ou de longues durées de la cannelle sont utilisées à des fins médicales (**Shang et al., 2021**).

## II.2 Gingembre (*Zingiber officinale*), bien fait et vertus d'une plante médicinale Ayurvédique

Le gingembre, scientifiquement connu sous le nom de *Zingiber officinale*, trouve ses racines dans les régions tropicales de l'Asie, notamment en Inde et en Chine. Ses premières utilisations remontent à plus de 5000 ans, où il était initialement cultivé et utilisé pour ses propriétés médicinales. Il a rapidement gagné en popularité et a été échangé le long des routes commerciales anciennes, contribuant ainsi à son introduction dans diverses cultures à travers le monde. Il a joué un rôle significatif dans la médecine traditionnelle chinoise et indienne, ainsi que dans la cuisine, tant en tant qu'épice exotique qu'en tant que remède. Le gingembre était un ingrédient précieux dans l'Égypte ancienne, utilisé à la fois comme épice et dans le processus de momification. Les Romains et les Grecs l'appréciaient également pour ses propriétés aromatiques et médicinales. Cette épice orientale a probablement traversé la première fois la mer Méditerranée grâce aux Phéniciens pour gagner l'Europe durant l'Empire romain dès le I<sup>er</sup> siècle (**Gigon, 2012**). Au Moyen Âge, le gingembre était une denrée précieuse en Europe, où il était échangé à des prix exorbitants. Son utilisation s'est étendue de la cuisine à la pharmacopée, car considéré comme un remède pour divers maux.

### II.2.1 Description botanique

*Zingiber officinale* est une épice à base de racine ou de rhizome, il fait partie de la famille des Zingibéracées. Il est largement utilisé comme un additif culinaire ainsi que dans la médecine populaire. Le gingembre est une plante vivace tropicale herbacée, à port de roseau, qui mesure jusqu'à 3 m de haut (**Faivre et al., 2006**). La partie souterraine utilisée est le rhizome, celui-ci se divise dans un seul plan et il est constitué de tubercules globuleux ramifiés (**Gigon, 2012**)

(Figure 14). Le rhizome est noueux et parfumé, peau beige pâle, chair jaune pâle juteuse et parfumée. Il devient de plus en plus fibreux avec l'âge, couvert de feuilles écaillées et pourvu à sa partie inférieure des racines cylindriques. Ses feuilles sont persistantes bisériées, longues, étroites, lancéolées, pointues et longues de 20 cm. Elles possèdent deux sortes de tiges : tiges hautes stériles servant à l'assimilation chlorophyllienne et des tiges plus courtes (20 cm environ) portant des fleurs irrégulières en épi, à tige couverte d'écailles, entourée de spadice dense : grosses bractées vert jaune cireuses, superposées. Elle a des fleurs parfumées blanc jaune, avec des traînées rouges sur les lèvres. La floraison a lieu entre les mois d'août et novembre. Ses fruits sont des capsules trivalves contenant des graines noires (Faivre et al., 2006).



Figure 14: Rhizome de *Zingiber officinale* (gingembre) (Gigon, 2012 ; Zhang et al., 2021)

#### ➤ Classification systématique

La classification botanique du gingembre est représentée dans le tableau ci-dessous

Tableau 3: Classification botanique de *Zingiber officinale* (gingembre) (Faivre et al., 2006 ; Gigon, 2012)

Nom français	<i>Gingembre commun</i>
Nom latin	<i>Zingiber officinale</i> (Roscoe)
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Angiospermes (ou Magnoliophyta)</i>
Classe	<i>Liliopsida ou Monocotylédones</i>
Sous-classe	<i>Zingibéridées</i>
Ordre	<i>Zingibérales (ou Scitaminales)</i>
Famille	<i>Zingibéracées</i>

<b>Sous-famille</b>	<i>Zingibéroïdées</i>
<b>Genre</b>	<i>Zingiber</i>
<b>Espèce</b>	<i>Zingiber officinale</i>

### II.2.2 Composition chimique

Les constituants chimiques de rhizome de gingembre sont nombreux et leur quantité dépend du lieu d'origine, la saison et la période de la récolte ainsi que l'état des rhizomes (frais ou sec) (Srinivasan et al., 2019). Les extraits du gingembre sont des mélanges de constituants biologiquement actifs, plus de 400 composés chimiques ont été isolés et identifiés. D'une manière générale, les constituants chimiques du gingembre peuvent être classés en quatre catégories comme présenté dans le Tableau 4. Il est rapporté que le rhizome contient 3-6 % d'huile grasse, 9 % de protéines, 60-70 % d'hydrates de glucides, 3-8 % de fibres brutes, environ 8 % de cendres, 9-12 % d'eau, et 2 à 3 % d'huile volatile (Srinivasan et al., 2019).

**Tableau 4:** Catégorie de composés phytochimiques constitutifs de *Zingiber officinale* (gingembre) (Srinivasan et al., 2019).

<b>Catégories</b>	<b>Composants</b>
Monoterpénoïdes	Géranol, curcumène, $\beta$ -phellandrène, (+) -camphène, 1,8-cinéole, citral, terpinéol, bornéol, linalol, néral
Sesquiterpénoïdes	Zerumbone, $\alpha$ -zingiberene, $\beta$ -sesquiphellandrène, $\beta$ -bisabolène, (E, E) - $\alpha$ -farnésène, arcurcumène, zingiberol
Composants piquants non volatils	Gingérols, shogaols, paradols, zingérone, déhydrozingérone
Divers	Zingibaïne

Selon **Gigon, (2012)** le rhizome, très riche en amidon (60 %), renferme des protéines, des graisses de types acides oléique et linoléique (10 %), un complexe oléorésineux qui contient des composés non volatils. La valeur nutritionnelle du rhizome de gingembre est représentée dans le Tableau 5.

**Tableau 5:** Valeur nutritionnelle de *Zingiber officinale* (gingembre) (Gigon, 2012)

Racine de gingembre, brut (valeur nutritive pour 100g)					
Energie	20 kcal	Vitamines (mg)		Minéraux (mg)	
		Thiamine (Vit B1):	0.025(2%)	Calcium:	16 (2%)
Hydrate de carbone	17.77 g	Riboflavine (Vit B2):	0.034(2%)	Fer:	0.6 (5%)
		Niacine (Vit B3):	0.075(5%)	Magnésium:	0.43(12%)
Graisses	0.75 g	Ac pantothénique (Vit B5):	0.203 (4%)	Phosphore:	34 (5%)
		Pyridoxine (Vit B6):	0.16(12%)	Potassium:	415 (9%)
Protéines	1.82 g	Acide folique (Vit B9):	0.011(3%)	Zinc:	0.34 (3%)
		Acide ascorbique (Vit C):	5 (8%)		

L'odeur du gingembre est principalement due à son huile volatile. Plus de 70 composants de l'huile ont été rapportés et caractérisés, et ceux-ci peuvent être classés en deux groupes : les monoterpénoïdes [ $\beta$ -phellandrène, (+) -camphène, cinéole, géraniol, curcumène, citral, terpinéol, bornéol] et les sesquiterpénoïdes [ $\alpha$ -zingiberène (30-70%),  $\beta$ -sesquiphellandrène (15-20%),  $\beta$ -bisabolène (10-15%), (E-E) - $\alpha$ -farnésène, arcurcumène, zingibérol]. Parmi ceux-ci le zingibérol est le principal responsable de l'arôme distinct du rhizome de gingembre (Baliga et al., 2011 ; Srinivasan et al., 2019). Le gingembre possède également des composants piquants non volatils, dont les gingérols, les shogaols, les paradols, la zingérone et la déhydrozingérone, indiqués dans la figure 14. Il existe également de nombreux autres composés phénoliques dans le gingembre, comme la quercétine, la zingérone, la gingénone-A et la 6-déhydrogingerdione (Schadich et al., 2016 ; Ji et al., 2017).

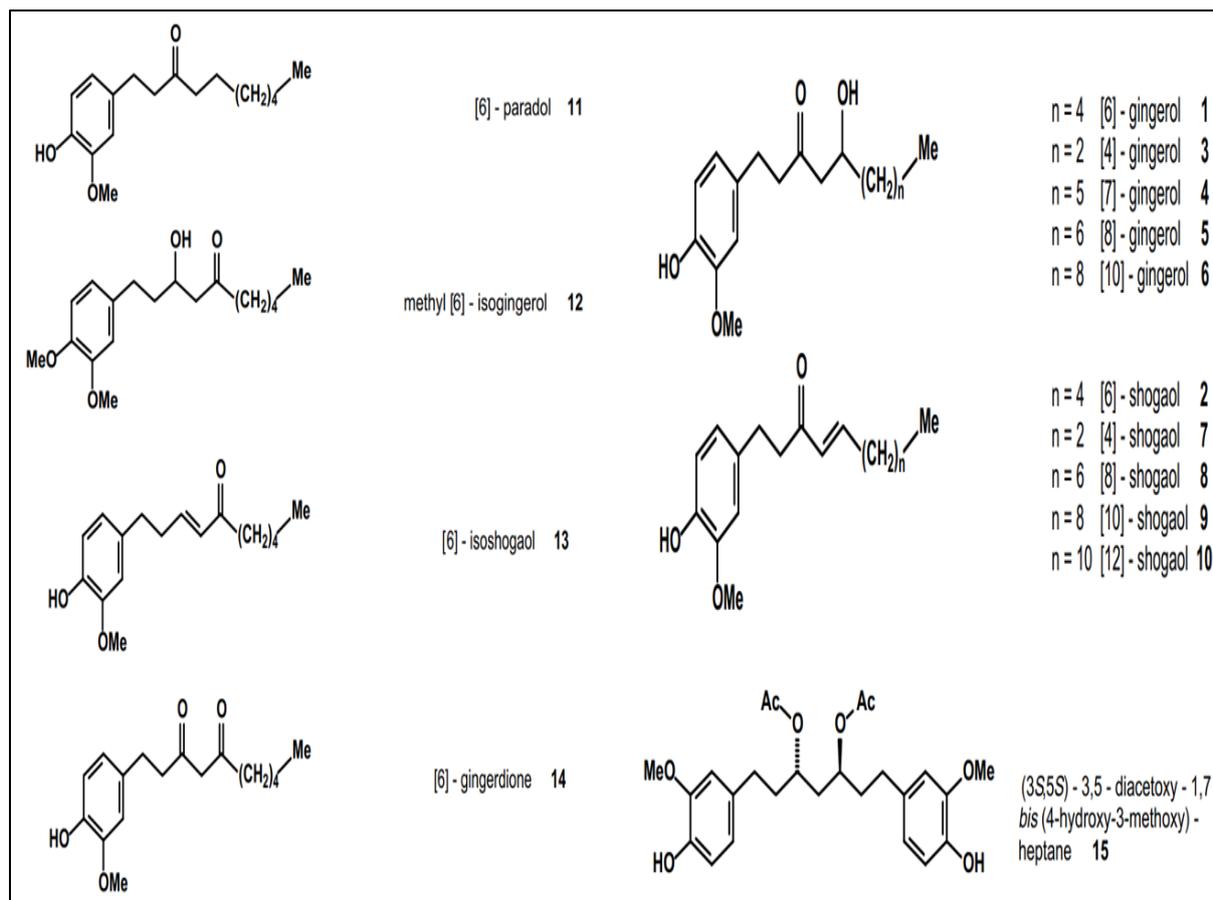


Figure 15: Principaux constituants chimiques de *Zingiber officinale* (Ali et al., 2008)

### II.2.3 Propriétés médicinales

Depuis des siècles un large éventail d'activités pharmacologiques du gingembre a été démontrées. Le rhizome de gingembre a été utilisé dans les systèmes de la médecine alternative grecque, romaine, asiatique, indienne, sri-lankaise, méditerranée et arabe (Krim, 2014). Il a été utilisé pour traiter une vaste gamme d'affections (Haniadka et al., 2013). Il réchauffe le cœur, calme la toux, arrête les vomissements. Il soulage les maux d'estomac, la diarrhée, le choléra, l'asthme, les maladies cardiaques, les troubles respiratoires, les maux de dents et les douleurs rhumatismales. La poudre de gingembre est prescrite pour certaines affections telles que l'indigestion, les douleurs articulaires, musculaires (Ali et al., 2008).

#### II.2.3.1 Activité antioxydante

Le gingembre est caractérisé par ses propriétés antioxydantes qui sont attribuées à des composés bioactifs tels que les gingérols et les shogaols qui ont la faculté de neutraliser les radicaux libres (Abolaji et al., 2017 ; Srinivasan et al., 2019). Toutefois, le gingembre et ses

composés phytochimiques (6-gingérol et zingérone) se sont révélés capables de prévenir/inhiber la peroxydation lipidique *in vitro* (Haniadka et al., 2013).

Le 6-shogaol a montré une l'activité antioxydante via la voie de signalisation du facteur nucléaire lié à l'érythroïde 2 (Nrf2) comme le montre la figure15 (Mao et al., 2019). La protéine Nrf2 (Nuclear Factor erythroid-2-Related Factor 2) est un facteur de transcription essentiel dans la défense contre le stress oxydant, en induisant l'expression de nombreuse protéines cytoprotectives comme des enzymes antioxydantes (Genard, 2015). En outre, le 6-shogaol renforce également l'expression des gènes impliqués dans la synthèse du glutathion, il a révélé que le 6-shogaol et son métabolite activaient la Nrf2 via l'alkylation des résidus cystéine de la protéine 1 associée à l'ECH de Kelch (Kelch-like ECH-associated protein 1) (Keap1) (Chen et al., 2014), Keap1 est l'inhibiteur endogène de Nrf2 et permet l'ubiquitination et la dégradation de Nrf2 par le protéasome 26S, est un senseur de l'état rédox de la cellule : les nombreux résidus cystéines de Keap1 s'oxydent au contact de formes réactives de l'oxygène (FRO) ou de molécules électrophiles modifiant ainsi la conformation du complexe Nrf2/Keap1 et la liaison de Nrf2 avec Keap1 (Genard, 2015). De ce fait, le 6-shogaol conduit à la translocation de Nrf2 dans le noyau et augmente l'expression des gènes cibles Nrf2 en modifiant Keap1 et en empêchant Nrf2 de se dégrader par le protéasome. Ainsi, le niveau de GSH augmente et le niveau des ERO diminue (Mao et al., 2019).

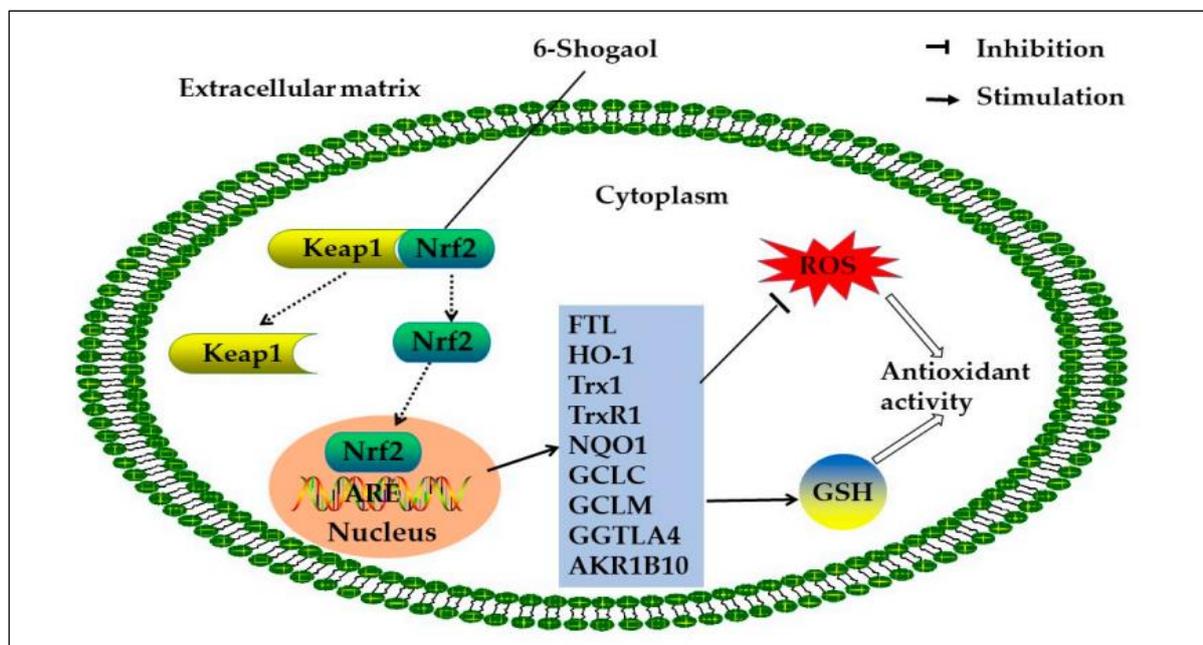


Figure 16: Mécanisme potentiel antioxydant de 6-shogaol du gingembre (Mao et al., 2019)

### II.2.3.2 Activité antimicrobienne

Le gingembre a montré des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales importantes (Moon et al., 2018). Le gingembre a inhibé la croissance d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistante aux médicaments en affectant l'intégrité de la membrane et en inhibant la formation de biofilms (Chakotiya et al., 2017). Par ailleurs, les extraits du gingembre ont inhibé la formation de biofilms, la synthèse de glucanes et l'adhérence de *Streptococcus mutans* en régulant à la baisse les gènes de virulence (Hasan et al., 2015). Le mécanisme antibactérien de gingembre et de ses composés bioactifs est lié à son action directe sur la membrane cellulaire, en détruisant sa structure et augmentant sa perméabilité, ce qui entraîne ainsi la perte des fonctions structurelles de base des bactéries en provoquant finalement la mort des cellules bactériennes (Figure 16) (Wang et al., 2020). En outre, le  $\gamma$ -terpinène et le citral, des composés du gingembre ont montré de puissantes propriétés antifongiques contre *Aspergillus flavus* et ont réduit l'expression de certains gènes liés à la biosynthèse de l'aflatoxine (Nerilo et al., 2016 ; Moon et al., 2018).

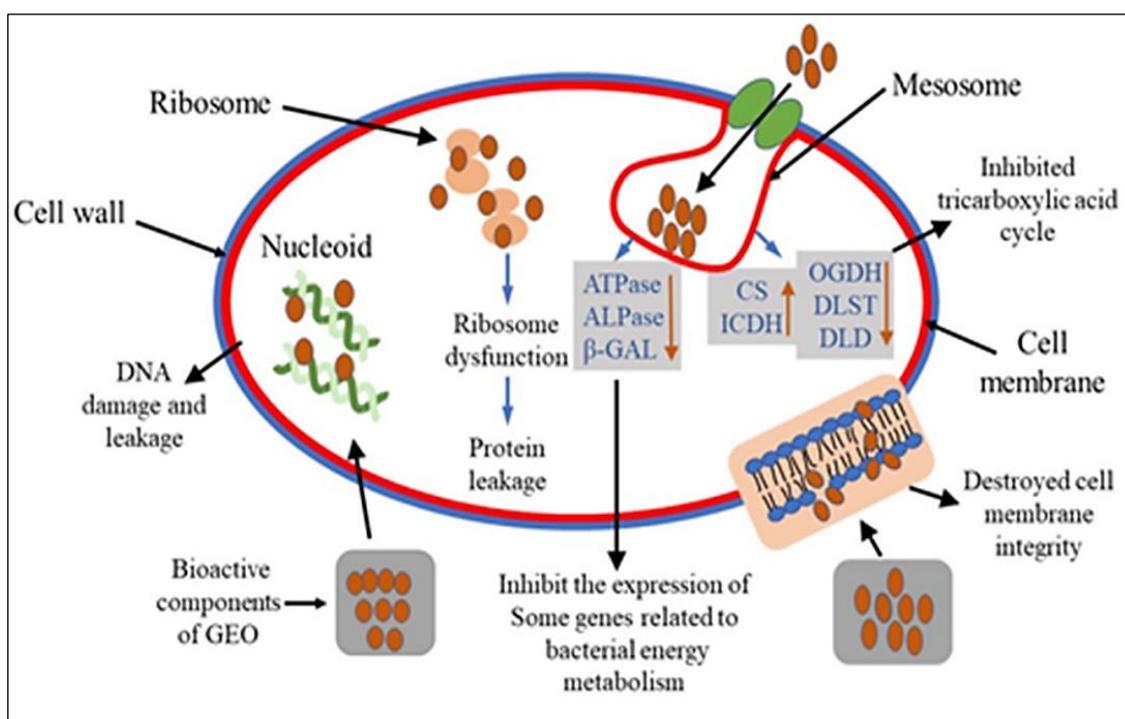


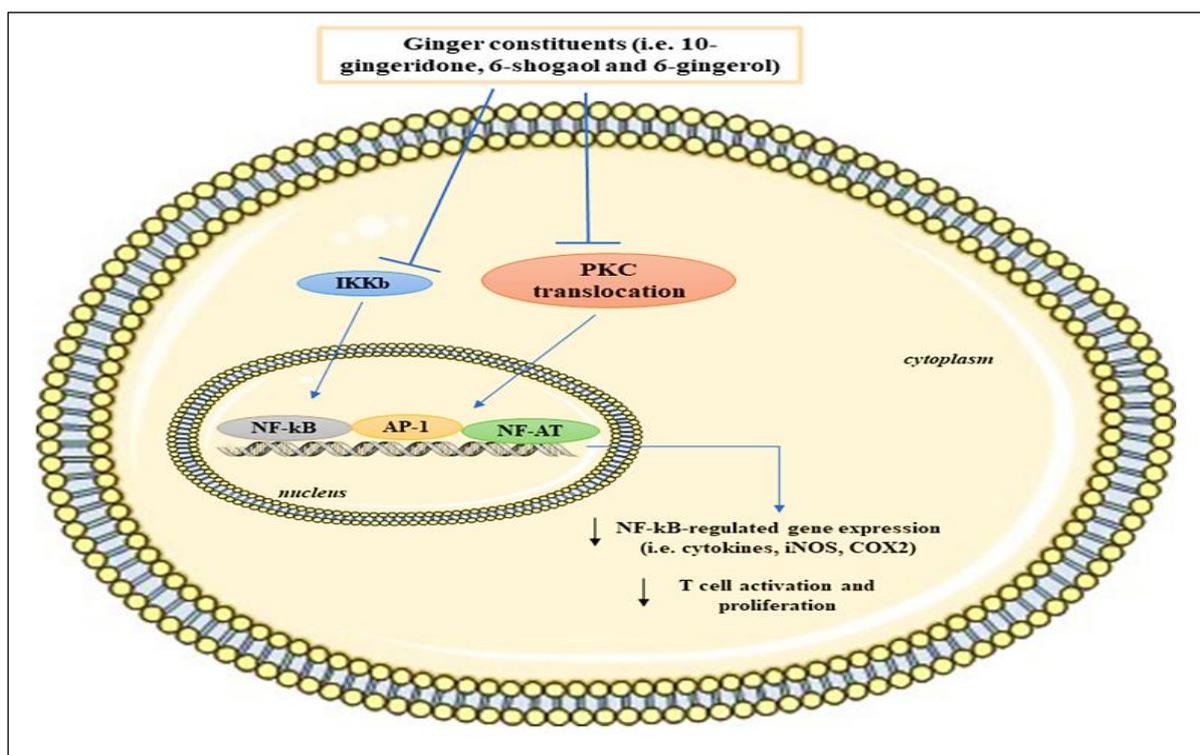
Figure 17: Mécanisme d'action antibactérienne du gingembre et ses composés actifs (Wang et al., 2020)

### II.2.3.3 Activité anti-inflammatoire

Le gingembre et ses composants ont des effets anti-inflammatoires prouvés dans divers modèles d'inflammation aiguë et chronique (Song et al., 2016). L'action anti-inflammatoire est

due à la double inhibition de la cyclo-oxygénase (COX) et de la 5-lipoxygénase (LOX) des enzymes clés de la régulation à la baisse de l'induction des gènes inflammatoires (Ali et al., 2008).

Le gingembre inhibe la synthèse des prostaglandines par l'inhibition de la cyclooxygénase (COX-1 et COX-2). Il supprime également la biosynthèse des leucotriènes en inhibant la 5-lipoxygénase (5-LOX). Cette propriété pharmacologique du gingembre, en tant que double inhibiteur de la COX et de la 5-lipoxygénase (5-LOX) des anti-inflammatoires non stéroïdiens, qui peuvent avoir un meilleur profil thérapeutique et moins d'effets secondaires (Srinivasan et al., 2019). La 1-dehydro-10-gingéridone, l'un des composants piquants du gingembre, a réduit l'activation du NF- $\kappa$ B et l'expression des gènes régulés par le NF- $\kappa$ B dans les macrophages activés par le lipopolysaccharide (LPS), via le blocage de l'inhibiteur du facteur nucléaire kappa-B kinase (IKK $\beta$ ) (Figure 17) (Lee et al., 2012).



**Figure 18:** Mécanisme moléculaire anti-inflammatoire des principaux composants de gingembre (Pagano et al., 2021)

#### II.2.4 Toxicité de gingembre

Le rhizome du gingembre est considéré comme une plante médicinale sans aucune toxicité révélée (Rong et al., 2009). Selon la littérature scientifique abondante sur le gingembre ne met pas en évidence de toxicité particulière. Les précautions d'emploi résident, dans la

prévention des risques encourus par l'emploi de l'huile essentielle concentrant des principes aromatiques par hydrodistillation, comme les carbures mono- et sesquiterpéniques (**Gigon, 2012**). Une étude toxicologique a montré une large gamme de sécurité pour l'utilisation du gingembre, la toxicité aiguë ( $DL_{50}$ ) de l'extrait méthanolique et aqueux de gingembre était de 10,25 et 11,75 g/kg, respectivement, par administration orale chez la souris (**Shalaby & Hamowieh, 2010**). Lorsque l'extrait éthanolique de gingembre était administré par voie intrapéritonéale la  $DL_{50}$  était de  $1551 \pm 75$  mg/kg chez la souris (**Ojewole, 2006**). Une étude de toxicité de 35 jours a rapporté que l'administration orale de poudre de gingembre à hauteur de 2 g/kg une fois par jour n'a pas entraîné de mortalité ni de modifications anormales de l'état général ou de l'hématologie chez les rats mâles ou femelles, tous les paramètres biochimiques se sont présentés normalement (**Rong et al., 2009**).

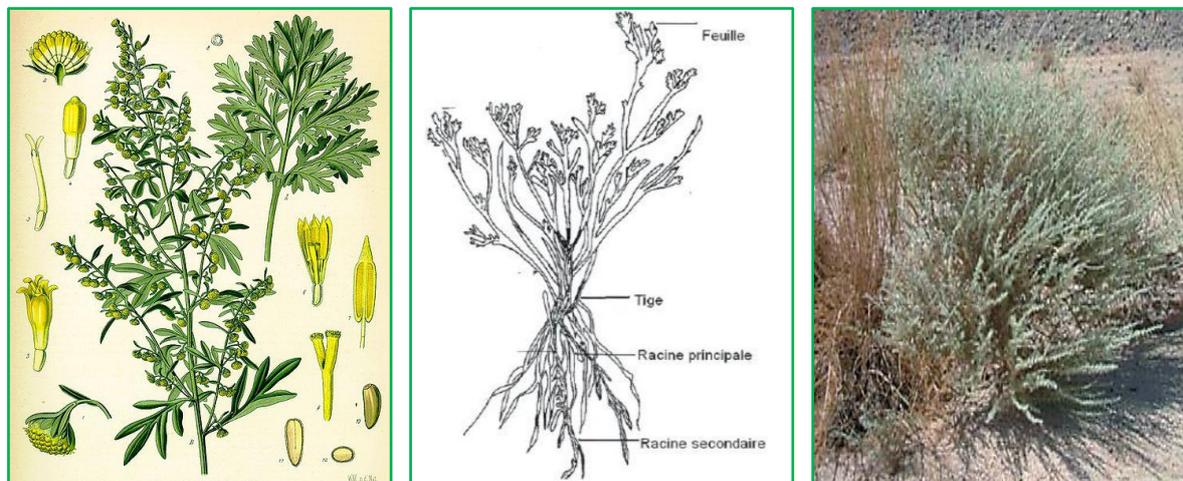
### II.3 Armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso.)

Connue depuis des millénaires, l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) nommée par nombreuses appellations thym des steppes, absinthe du désert, En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément « Chih », elle a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV<sup>ème</sup> siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie (**Joannès et al., 2001**). Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Assoy del Rio (**Ling, 1991**). Elle est originaire des régions arides et semi-arides de l'Europe, d'Afrique du Nord, (notamment du Maroc, de l'Algérie, de la Tunisie et de la Libye), le Moyen-Orient ainsi qu'en Asie et de la région nord-ouest de l'Himalaya (**Wang, 2004**).

#### II.3.1 Description botanique

L'armoise blanche, scientifiquement connue sous le nom d'*Artemisia herba-alba* Asso., est une plante appartenant à la famille des Asteraceae (ou Compositae), est une plante de taille moyenne, atteignant généralement une hauteur de 30 à 60 cm. Elle possède des tiges ligneuses à la base, qui sont souvent ramifiées (**Vallès et al., 2011**). Est une plante herbacée vivace caractérisée par ses feuilles étroites, ses fleurs jaune pâle regroupées en capitules et son parfum herbacé. Elle pousse dans des régions arides et semi-aride qui s'adapte aux conditions de sécheresse. Les tiges tomenteuses sont dressées et ligneuses à la base, elles portent des feuilles sont l'une de ses caractéristiques les plus distinctives. Elles sont de forme allongée et étroite, avec des bords légèrement dentelés. Les feuilles sont de couleur argentée ou blanche en raison de petits poils fins qui les recouvrent, sont petites, sessiles, caractérisées par une forte odeur aromatique ce qui donne à la plante un aspect duveteux (**Mohamed et al., 2010**). Les fleurs de

l'armoise blanche sont petites et regroupées en capitules disposés en grappes lâches à l'extrémité des tiges. La plante fleurit généralement pendant les mois d'été, les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites (3/1,5mm) et ovoïdes. Le réceptacle floral tenu avec 2 à 5 fleurs jaunâtres par capitule toutes hermaphrodites (Figure 19) (Pottier-Alapetite, 1981).



**Figure 19:** Morphologie générale de la plante *Artemisia herba alba* Asso. (Eloukili, 2013)

#### ➤ Classification botanique

Le tableau ci-dessous indique la classification botanique de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso.)

**Tableau 6:** Classification botanique d'*Artemisia herba alba* Asso. (Guignard, 1998; Judd et al., 2002)

<b>Nom français</b>	<i>Armoise blanche</i>
<b>Nom latin</b>	<i>Artemisia herba alba</i> Asso.
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes (Phanérogames) ou « plantes à graines »</i>
<b>Sous-embranchement</b>	Angiosperme (Plantes à fleurs)
<b>Classe</b>	<i>Dicotylédones (Magnoliopsida)</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Gamopétales</i>
<b>Ordre</b>	<i>Laurales</i>
<b>Famille</b>	Asteraceae ou Compositae
<b>Sous-famille</b>	Asteroideae
<b>Genre</b>	<i>Cinnamomum</i>
<b>Tribus</b>	<i>Anthemideae</i>

Sous-tribus	<i>Artemisiinae</i>
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>Artemisia herba alba Asso.</i>

### II.3.2 Composition chimique

L'armoise blanche (*A. herba-alba Asso.*) contient une variété de phytoconstituants, c'est une plante riche en métabolites secondaires, parmi lesquels on trouve des constituants volatiles (l'huile essentielle), des constituants non volatiles tels que les flavonoïdes et sesquiterpènes lactones qui offrent leurs vertus médicinales (Mohamed et al., 2010).

Les flavonoïdes détectés dans l'*A. herba-alba* présentent une grande variation structurale, allant des glycosides de flavone et de flavonol courants à des flavonoïdes hautement méthylés plus inhabituels (Figure 20). L'armoise blanche contient des coumarines telles que la scopoletine et l'osthol, elle contient aussi des lactones sesquiterpéniques qui ont des propriétés antiparasitaires, anti-inflammatoires et antibactériennes (Bourgou et al., 2017; Lutgen, 2018).

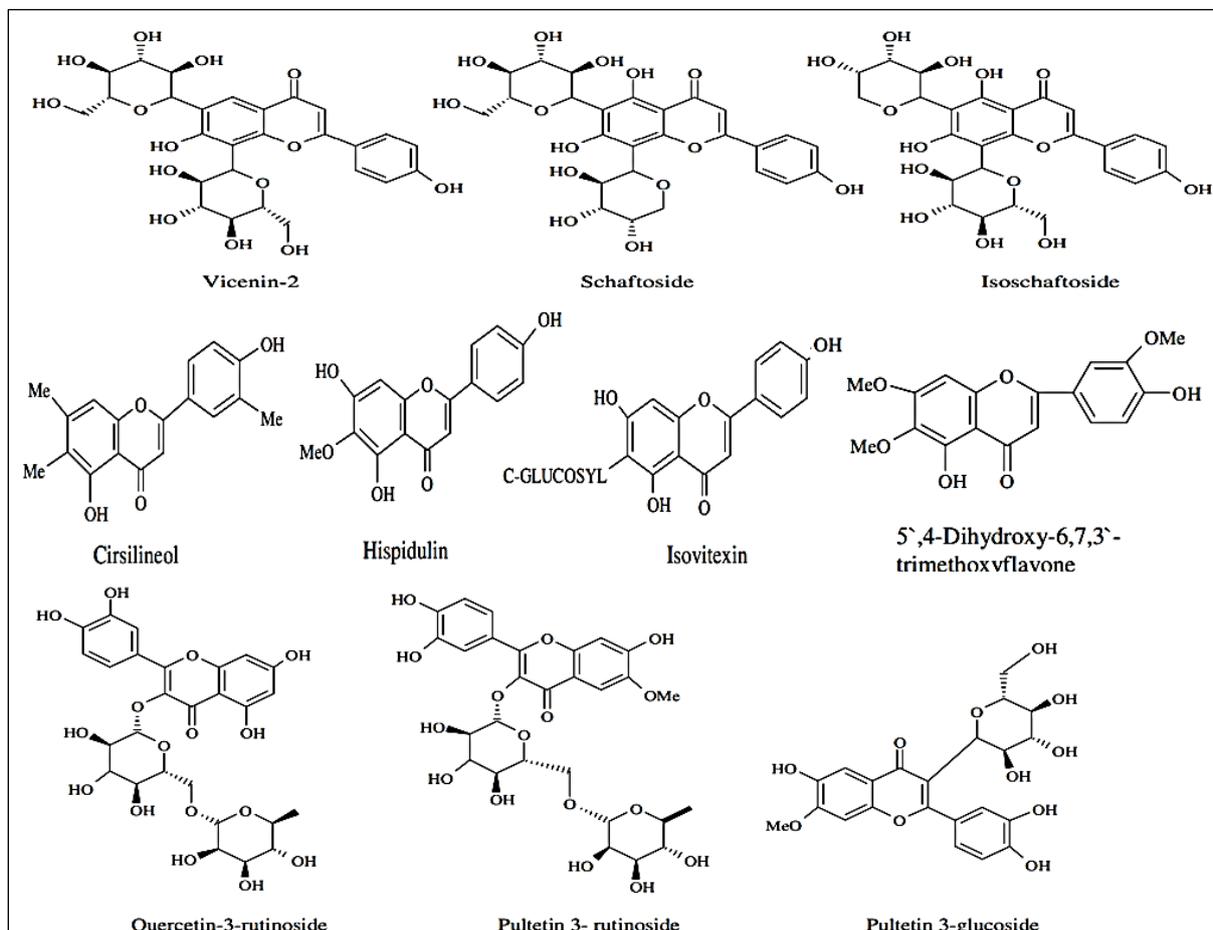


Figure 20: Flavonoïdes d'*Artemisia herba alba Asso.* (Mohamed et al., 2010)

### II.3.3 Propriétés médicinales

L'armoise blanche (*A. herba-alba* Asso.) a une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle. Elle a été utilisée dans différentes cultures à travers le monde pour traiter diverses affections. L'armoise blanche est souvent utilisée pour soulager les troubles digestifs tels que les ballonnements, les flatulences, les crampes d'estomac et les troubles gastro-intestinaux, utilisée pour traiter l'hypertension artérielle et/ou le diabète, elle est consommée sous forme de tisane ou d'infusion. Elle est reconnue comme un agent antispasmodique, antibactérien, hémostatique et analgésique (Laid et al., 2008 ; Mohamed et al., 2010; Alshehri et al., 2018).

#### II.3.3.1 Activité Antioxydante

L'activité antioxydante d'armoise blanche est attribuée à la présence des composés phénoliques dont les flavonoïdes, les tannins et autres composés possédant des propriétés antioxydantes grâce aux groupements hydroxyles aromatiques. Ils aident à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs et améliorent leur capacité de régénération (Khlifi et al., 2013; Ben Jemaa et al., 2015). De plus, il a été démontré que les composés bioactifs de l'armoise blanche ont exercé des activités antioxydantes par l'augmentation des enzymes antioxydantes (SOD, GSH et GPx) et une diminution de la peroxydation des lipides (MDA) (Ren et al., 2014; Albasher et al., 2020).

#### II.3.3.2 Activité antimicrobienne

L'armoise blanche et ses composés phytochimiques, ont été étudiés pour son activité antimicrobienne contre divers agents pathogènes. L'activité antimicrobienne d'*A. herba alba* a été confirmée sur certaines souches de candida (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. sake*) (Hédi Mighri et al., 2010). De plus, une forte activité inhibitrice sur de nombreux champignons dont *Fusarium solani*, *Fusarium sp.* et *Aspergillus oxysporum* a été démontrée (Zouari et al., 2010). Le pouvoir antibactérien d'armoise blanche peut être attribué à la présence des flavonoïdes, car ces composés ont été signalés comme ayant un grand potentiel dans le traitement des maladies infectieuses liées aux micro-organismes (Bourgou et al., 2017). Il a été suggéré que les diterpénoïdes tirent leur activité de leur capacité à endommager les membranes des cellules bactériennes (Urzúa et al., 2008).

### II.3.4 Toxicité d'armoise blanche

L'effet toxique potentiel de l'armoise blanche en particulier à des doses élevées ou prolongées est à prendre en considération. Une DL<sub>50</sub> de l'extrait aqueux de l'armoise blanche

est obtenue à 4,4 g/kg du poids du corps (**Moufid & Eddouks, 2012**). Cependant, le monoterpénoïde thujone, présent dans les espèces d'*Artemisia*, a été signalé comme étant neurotoxique (**Di Lorenzo et al., 2018**). Lorsqu'il est consommé pendant une période prolongée a des effets convulsivants (**Alilou et al., 2008**). L'ingestion de thujone au-delà de 11 à 12,5 mg/kg/jour chez les petits mammifères et de plus de 15 mg/kg/jour chez l'homme déclenche des symptômes de toxicité (**Di Lorenzo et al., 2018**). De même, la lactone santonine, commune à plusieurs espèces d'*Artemisia* a également été signalée comme étant toxiques chez les enfants et les adultes à des doses de 60 mg et 200 mg respectivement (**Khares, 2007**).

#### **II.4 Probiotiques et santé**

La modification de la composition du microbiote intestinal pourrait constituer une voie thérapeutique ou préventive susceptible de réduire l'impact d'une alimentation déséquilibrée sur les complications métaboliques du surpoids. Parmi les stratégies nutritionnelles utilisées pour moduler la population bactérienne intestinale, les probiotiques font partie des plus importants.

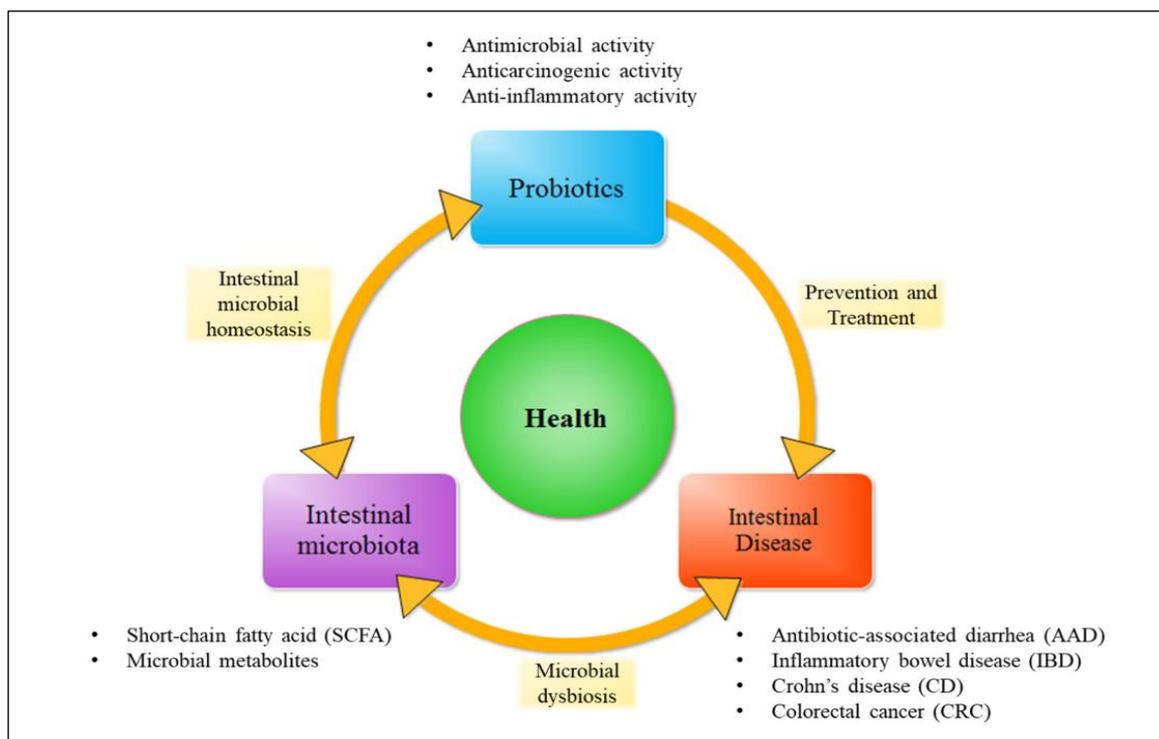
Les définitions du terme probiotique et la réflexion des chercheurs, des industriels et des spécialistes de la communication au grand public, ont évolué avec le temps. En 1974, **Parker** a défini les probiotiques comme étant des organismes et substances qui contribuent à l'équilibre de la flore. Fuller choisit d'élargir la définition à des micro-organismes ajoutés à l'alimentation en influençant de manière bénéfique l'hôte en améliorant sa flore intestinale (**Fuller et al., 1989**). D'après l'organisation de l'aliment et agriculture (FAO) et l'organisation mondiale de la santé (OMS), les probiotiques sont un type de micro-organisme viable (bactéries ou levures) qui confèrent diverses fonctions bénéfiques pour la santé de l'hôte lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate (**Joint, 2002**). Ces caractéristiques fonctionnelles incluent la suppression de l'infection pathogène, la synthèse des vitamines nécessaires, le renforcement du système immunitaire et la régulation du processus physiologique (**Panghal et al., 2018 ; Behera & Panda, 2020**).

La plupart des probiotiques appartiennent aux genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* qui sont les plus utilisés dans le domaine alimentaire (**Vinderola et al., 2017**). Ces deux genres résistent généralement à l'acide gastrique, aux sels biliaires et aux enzymes du pancréas, adhèrent à la muqueuse intestinale et colonisent facilement le tractus intestinal. Ces bactéries sont des composantes importantes de la flore gastro-intestinale et généralement inoffensives (**Boyle et al., 2006**). Dans l'intestin, ces bactéries lactiques peuvent utiliser des glucides non

digestibles pour produire plusieurs métabolites microbiens, qui sont bénéfiques pour leurs hôtes comme les acides gras à chaîne courte (AGCC) qui sont bénéfiques pour moduler les réponses physiologiques et immunitaires (Postler & Ghosh, 2017; Cuevas-González et al., 2020).

#### II.4.1 Effets bénéfiques des probiotiques

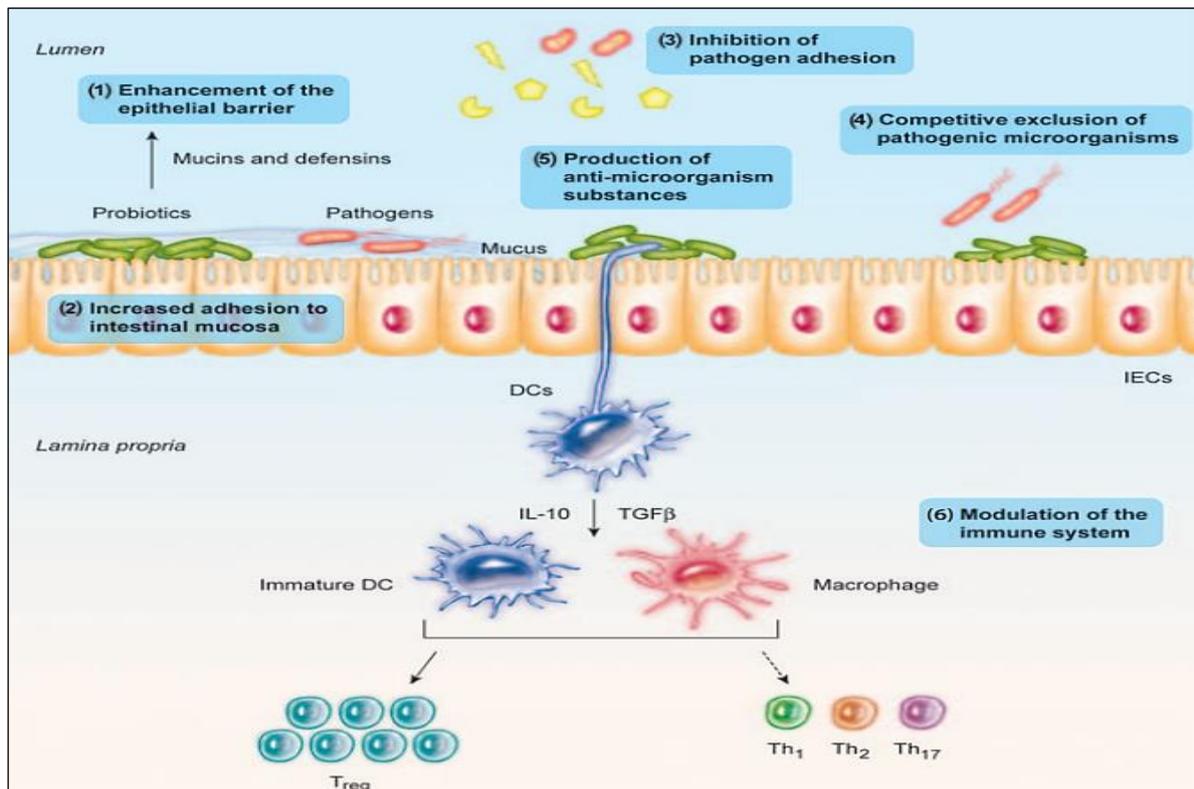
Les effets positifs des probiotiques ont fait l'objet de nombreuses études approfondies. Divers avantages pour la santé sont associés à la consommation d'aliments contenant des probiotiques. Notamment, certains de ces avantages ont été scientifiquement prouvés, d'autres nécessitent des études plus poussées chez les individus (Figure 21). Les principaux avantages liés aux probiotiques, selon les recherches scientifiques, sont les activités antibactériennes, anti-mutagéniques, anti-carcinogènes, les effets antihypertenseurs, les bienfaits pour le métabolisme des minéraux, en particulier pour la santé osseuse, l'atténuation des symptômes des maladies du côlon et de la maladie de Crohn, la réduction des symptômes des allergies alimentaires et la diminution du taux de cholestérol LDL (Kim et al., 2019).



**Figure 21:** Rôle bénéfique des probiotiques sur la dysbiose intestinale (Kim et al., 2019).

Les principaux mécanismes sous-jacents aux effets antagonistes des probiotiques comprennent l'amélioration de la fonction de la barrière intestinale, une adhérence compétitive accrue à la muqueuse et à l'épithélium, la modification du microbiote intestinal et la régulation du système immunitaire lymphoïde associé à l'intestin (Figure 22). En ce sens, les probiotiques

communiquent avec l'hôte par le biais de récepteurs de reconnaissance des formes cellulaires intestinales, tels que des récepteurs de type péage et des récepteurs de type protéine contenant un domaine d'oligomérisation se liant aux nucléotides, qui modulent d'importantes voies de signalisation clés, telles que le facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B) et la protéine kinase activée par les mitogènes, pour améliorer ou supprimer l'activation et influencer les voies en aval. (Bermudez-Brito et *al.*, 2012 ; Fontana et *al.*, 2013 ; Sáez-Lara et *al.*, 2016) .



**Figure 22:** Principaux mécanismes d'action des probiotiques (Bermudez-Brito et *al.*, 2012)

DCs : Cellules épithéliales et dendritiques ; IECs : Cellules épithéliales intestinales

#### II.4.2 Probiotiques et dysbiose intestinale

Des recherches indiquent désormais que le microbiote intestinal peut être un facteur environnemental influençant l'obésité et démontrent que les bactéries intestinales ont un rôle important dans la régulation du stockage des graisses. Ces résultats ont été obtenus à partir des travaux, ont été réalisés sur des souris axéniques nées et vivant dans un environnement dépourvu de bactéries, sont plus minces que celles vivant dans un environnement conventionnel.

Des souris axéniques inoculées au moyen d'un microbiote recueilli dans le cæcum d'animaux conventionnels ont présenté une augmentation de 60 % de leur graisse corporelle totale malgré une réduction inattendue de leurs prises alimentaires (**Bäckhed et al., 2004**).

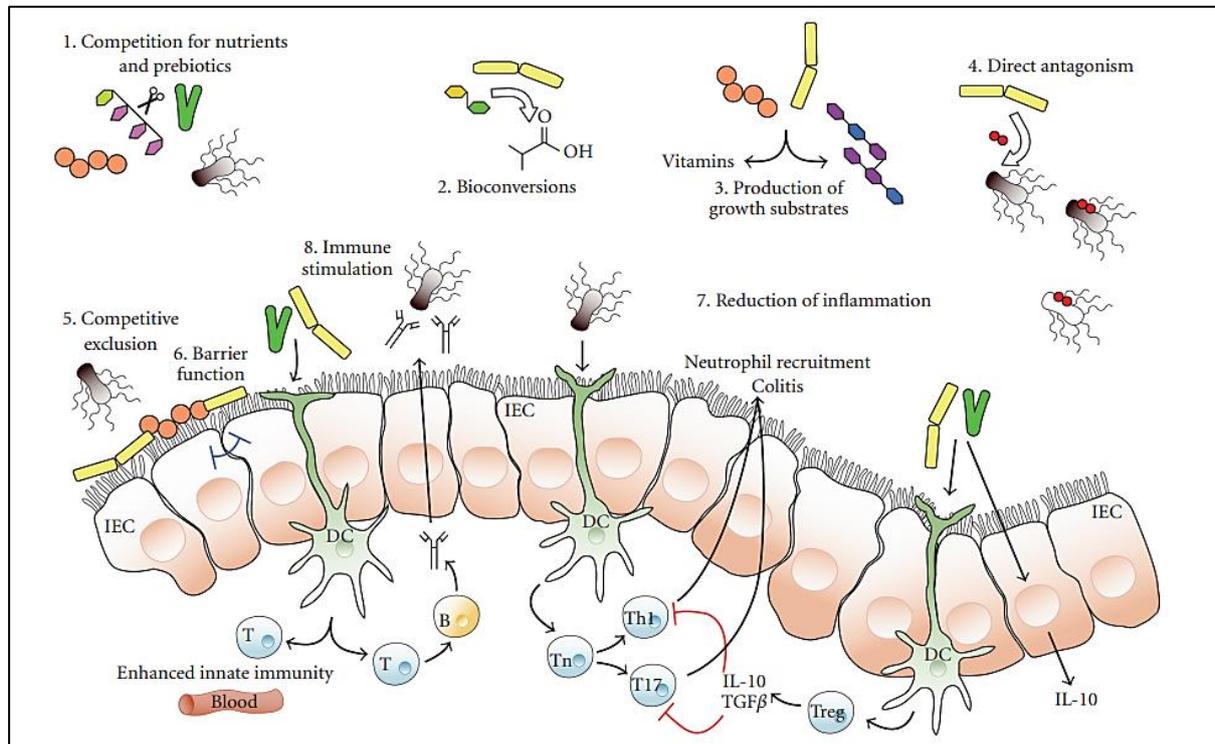
La faible quantité de graisse corporelle chez la souris axénique est due à la suppression de la néolipogenèse hépatique et à l'inhibition du stockage des triglycérides dans le tissu adipeux blanc. Ce dernier effet est dû à une production excessive de l'inhibiteur de la lipoprotéine lipase, Fiaf « *Fasting-induced adipocyte factor* », facteur adipocytaire induit par le jeûne, dans l'intestin de la souris axénique. L'hydrolyse des triglycérides circulant par la protéine lipase est indispensable au captage des acides gras par les adipocytes, et un accroissement de la concentration circulante du Fiaf se traduit donc par un blocage de ce captage et du stockage des graisses (**Bäckhed et al., 2007**).

Parallèlement, les autres auteurs ont montré pour la première fois que le microbiote intestinal pouvait être vu comme une source potentielle de molécules pro-inflammatoires responsables du déclenchement de l'inflammation de bas grade associée à l'obésité (**Cani et al., 2007a ; Cani et al., 2007b**). En effet, l'ingestion d'une alimentation riche en lipides est associée à une augmentation des taux circulants d'une molécule pro-inflammatoire issue de la paroi des bactéries Gram négatif présentent dans le tractus gastro-intestinal, à savoir le lipopolysaccharide (LPS) (**Cani et al., 2007a**). En outre, ils ont observé qu'un régime riche en gras non seulement s'accompagne d'une endotoxémie métabolique mais également d'une modification de la composition du microbiote intestinal.

Le tube digestif, plus précisément le gros intestin est le lieu le plus crucial pour l'action des bactéries probiotiques. Les probiotiques pourraient avoir un impact direct ou indirect sur la flore intestinale. Ils peuvent contribuer à maintenir l'équilibre entre la santé et la maladie en éliminant les agents pathogènes potentiels et en stimulant le système immunitaire de l'intestin. La Figure 23 illustre l'effet des bactéries probiotiques sur la flore intestinale selon des mécanismes qui impliquent :

1. Une compétition pour les nutriments essentiels ;
2. Une transformation des sucres en sous-produits avec des propriétés inhibitrices (acide organique et peroxyde d'hydrogène) ;
3. Une production de facteurs de croissance pour d'autres bactéries (vitamines et azotes)
4. Une production de composés anti-microbiens (bactériocines) ;
5. Une exclusion compétitive pour des sites de liaison ;

6. Une amélioration de la fonction barrière ;
7. Une réduction de l'inflammation intestinale en modifiant les propriétés de colonisation à l'intérieur de l'intestin ;
8. Une stimulation de la réponse immunitaire innée par des mécanismes inconnus (**O'Toole & Cooney, 2008**).



**Figure 23:** Mécanismes potentiels des bactéries probiotiques sur le microbiote intestinal (**O'Toole & Cooney, 2008**)

# **PARTIE -II-**

## *Partie expérimentale*

---

# **CHAPITRE -I-**

## **Matériel et méthodes**

---

## Partie-II- partie expérimentale

### Chapitre I: Matériel et méthodes

#### I.1 Matrices végétales

Les deux plantes médicinales utilisées au cours de cette étude, sont l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* de la famille *Lauraceae*, et le rhizome de *Zingiber officinale* de la famille *Zingiberaceae*. Elles ont été acquises en Janvier 2017 auprès d'un herboriste de la wilaya de Tiaret, sous forme d'écorce sèche pour la première et de rhizome frais pour la seconde.

La partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. Communément appelée Armoise blanche, appartenant à la famille *Asteraceae* a été récolté en Mai 2017 dans la région de Tiaret (35°24'29.09"N, 1°58'24.31"E). Toutes ces plantes ont été minutieusement identifiées au sein de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

#### I.2 Matériel biologique

##### I.2.1 Modèle expérimental animal

Les animaux utilisés au cours de cette expérimentation sont des rats adultes de souche Wistar et d'un poids initial de  $(252 \pm 6.71 \text{ g})$ , obtenus auprès de l'Institut Pasteur d'Alger (Algérie). Des rats mâles ont été choisis préférentiellement afin d'éviter les variabilités intersexe et toutes perturbations du métabolisme induites par des changements hormonaux.

##### I.2.2 Souches pathogènes

Les souches utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne sont des souches de collection internationale ATCC (American Type Culture Collection), ces dernières sont fréquentes en pathologie humaine, il s'agit d'*Escherichia coli* ATCC 2592 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. Ces souches ont été gracieusement fournis par l'hôpital universitaire Mustapha Pacha d'Alger (Algérie).

##### I.2.3 Souches bénéfiques

Les souches bénéfiques utilisées sont Lactibiane Tolérance<sup>®</sup> (PiLeJe, France) un complément alimentaire contenant  $4 \times 10^9$  (UFC)/g d'un mélange de bactéries lactiques lyophilisées viables. Ce mélange est composé de 12,5 % de *Bifidobacterium lactis* LA 303, 12,5 % de *Lactobacillus acidophilus* LA 201, 50 % de *Lactobacillus plantarum* LA 301 et 25 % de *Lactobacillus salivarius* LA 302 (annexe X) (Drouault-Holowacz et al., 2006).

### I.3 Quantification des composés phénoliques des trois plantes étudiées

#### I.3.1 Procédure d'extraction des composés phénoliques

##### I.3.1.1 Préparation du matériel végétal

L'écorce de cannelle, le rhizome du gingembre et la partie aérienne d'armoise blanche, ont été soigneusement nettoyés et découpés en petits morceaux, ces derniers ont été séchés à l'air libre durant une semaine, ces morceaux séchés ont été ensuite broyés dans un broyeur électrique (Pulverisette, Fritsch, Germany) et tamisés dans un tamis ayant un diamètre de 500 µm de manière à obtenir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été préparés.

##### I.3.1.2 Extraction par macération

Différentes méthodes peuvent être adaptées à l'extraction des composés phénoliques. Parmi celles-ci nous avons choisi la macération (extraction solide-liquide), une technique simple et facile à mettre en œuvre (**Tanvir et al., 2017**). Cette technique est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal (broyat) en contact prolongé avec un solvant (éthanol, méthanol absolu et l'eau distillée) pour en extraire les principes actifs (composés phénoliques et flavonoïdes). C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. elle a été effectuée selon le protocole décrit par **Hadrich et al., (2014)**, avec quelques modifications.

##### ➤ Principe

Le principe de cette méthode consiste à laisser séjourner un solide dans un liquide afin d'en extraire les principes actifs. Pour ce faire, le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide/liquide, ensuite dissoudre le composé actif présent à l'intérieur et l'entraîner vers l'extérieur. Plusieurs auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté se fait par dialyse ou par diffusion (**Mompon et al., 1998**).

Dans ce présent travail, trois solvants ont été utilisés ; le méthanol l'éthanol absolu, et l'eau et ce afin de définir le meilleur solvant qui optimise le rendement d'extraction.

5 g de matière végétale, (*Cinnamomum zeylanicum*, du rhizome de *Zingiber officinale*, et la partie aérienne d'*Artemisia herba-alba* Asso.), sèche sous forme de poudre ont été macérés dans 50 mL de solvant, et laissés sous agitation magnétique pendant 24 h à une température ambiante et à l'obscurité. Après cette agitation une filtration sur papier filtre a été réalisée et le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant par évaporation à 50°C et ce afin d'obtenir un

extrait sec. Ce derniers, ont été conservés à -20 °C pour des éventuelles expérimentations (Mompon *et al.*, 1998).

### I.3.1.3 Détermination du rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction a été calculé par le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids initial de la poudre. Le poids de l'extrait sec a été calculé par la différence entre le poids de la boîte de Pétri en verre contenant l'extrait (après évaporation du solvant) et le poids de la boîte de Pétri vide. Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (P_F / P_I) \times 100$$

Avec :

**R** : Rendement en pourcentage (%) ;

**P<sub>F</sub>** : Poids de l'extrait sec en g ;

**P<sub>I</sub>** : Poids de la poudre mise à l'extraction en g

## I.3.2 Analyses phytochimique des extraits phénoliques

### I.3.2.1 Préparation des solutions des extraits

Les différents extraits de la cannelle, du gingembre et d'armoise blanche, ont été reconstitués dans le solvant d'extraction à savoir l'éthanol absolu, méthanol absolu ou bien l'eau distillée avec la même concentration (150 mg/mL). Ces derniers ont été préparés extemporanément pour réaliser les analyses ultérieures.

### I.3.2.2 Quantification des composés phénoliques

#### I.3.2.2.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au Folin-ciocalteau décrite par Singleton *et al.*, (1999).

#### ➤ Principe

Le réactif de Folin-ciocalteau de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par ce

réactif, cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde  $\lambda=760$  nm et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon, le dosage des composés phénoliques a été effectués par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue.

#### ➤ Mode opératoire

250  $\mu$ L de différents extraits préparés préalablement avec des dilutions convenables. Ont été ajoutés à 250  $\mu$ L de réactif de Folin Ciocalteu (RFC) ayant une concentration de 0,2 N, après une incubation de 2 minutes à l'obscurité, 500  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 7,5 % a été additionné. Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 20 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est ensuite mesurée via le spectrophotomètre à 760 nm contre un blanc sans extrait. Notons qu'une courbe d'étalonnage a été parallèlement réalisée (voir annexe II) afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans nos extraits. L'acide gallique a été utilisé comme standard de référence, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en mg Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS). Le dosage a été fait en triplicata et le calcul des teneurs en polyphénols a été effectué selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec

**C** : Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/ g MS) ;

**c** : Concentration de l'échantillon lue ;

**D** : Facteur de dilution ;

**m** : Masse de l'échantillon en g utilisée pour l'extraction ;

**V** : Volume du solvant utilisé pour l'extraction en mL.

#### I.3.2.2.2 Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de cannelle, gingembre et armoise blanche a été réalisée par la méthode de **Bahorun et al., (1996)**.

#### ➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, le trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) peut également former des complexes

acides labiles de couleur jaune avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (Chang et al., 2002). Le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune présente une absorption maximale à 430 nm.

#### ➤ Mode opératoire

Un volume de 1 mL de chaque extrait convenablement dilué dans le solvant d'extraction, a été ajouté à 1 mL de solution chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  à 2 %. Après 10 min d'incubation l'absorbance a été lue à 430 nm. La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisée par la quercétine à différentes concentrations traitées par les mêmes conditions que l'échantillon voir annexe I. Les résultats sont exprimés en milligrammes Equivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS), le dosage a été fait en triplicata. La teneur en flavonoïdes totaux des échantillons analysés est calculée par la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

**Avec :**

**C:** Teneur en flavonoïdes exprimée en mg EQ/ g de matière sèche ;

**c:** Concentration de l'échantillon lue ;

**D:** Facteur de dilution ;

**V:** Volume utilisé pour l'extraction en mL ;

**m:** Masse de l'échantillon en g utilisé dans l'extraction.

### I.3.3 Evaluation des activités biologiques in vitro

#### I.3.3.1 Evaluation des activités antioxydantes

Dans cette étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante *in vitro* de nos extraits issus de cannelle, gingembre et armoise blanche, a été réalisée par des techniques chimiques à savoir la technique FRAP, basée sur la réduction du fer par les antioxydants présents dans les plantes, l'activité antiradicalaire via la technique du piégeage du radical libre DPPH<sup>\*</sup>, l'activité scavenger à l'égard du  $H_2O_2$  et l'activité antiperoxydation lipidique.

##### I.3.3.1.1 Pouvoir réducteur du fer (FRAP)

#### ➤ Principe

L'activité réductrice des extraits est déterminée selon la méthode de Oyaizu, (1986). Les substances ayant un potentiel de réduction, réagissent avec le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  pour former le ferrocyanure de potassium Fer

(II), qui réagit à son tour avec le chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) pour donner lieu à un complexe ferrique ferreux de couleur bleu foncé et qui a une absorption maximale à 700 nm.

➤ **Mode opératoire**

0,5 mL de chaque extrait, à différentes concentrations, ou des antioxydants standards (l'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique) a été mélangé avec 0,5 mL de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 0,5 mL de ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] à 1%. L'ensemble a été incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 min ensuite, 0,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % ont été ajoutés pour stopper la réaction. Après incubation, un aliquote 1 ml a été combiné avec 1 ml d'eau distillée et 0,5mL d'une solution aqueuse de chlorure de fer III ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1 %. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été réalisée à 700 nm contre un blanc. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur de l'extrait testé. Le potentiel réducteur des extraits et des standards est exprimé par les valeurs de concentrations effectrices à 50 % ( $\text{CE}_{50}$ ) (Singleton et al., 1965). La  $\text{CE}_{50}$  a été rapportée comme étant la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50 % la concentration initiale de ferricyanure de potassium. Ce test a été effectués six fois et les graphiques ont été tracés en utilisant la moyenne de six déterminations (voir annexe II).

### I.3.3.1.2 Capacité de piéger le radical libre DPPH•

➤ **Principe**

Le radical 2,2-Diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995). A température ambiante, le radical DPPH• présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons. Cette

décoloration met en évidence le pouvoir antiradicalaire d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Figure 24).

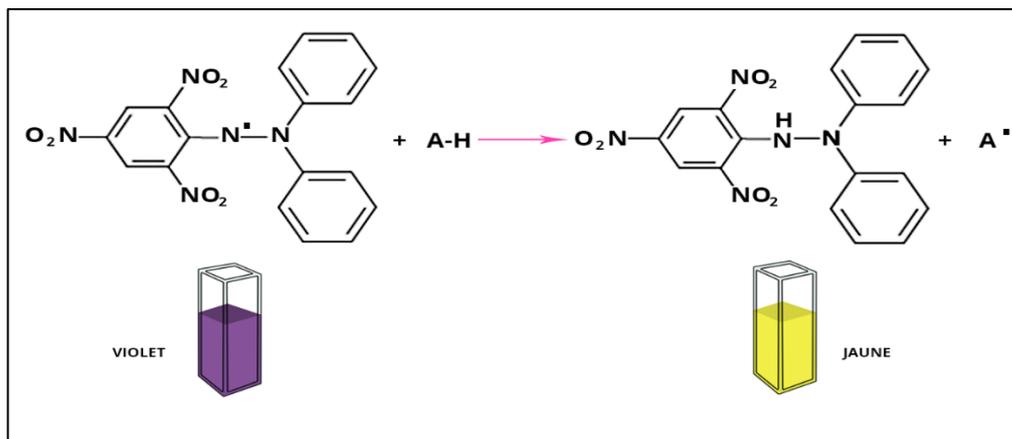


Figure 24: Inhibition du radical libre DPPH•(Matkowski et al., 2008).

### ➤ Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH<sup>•</sup>). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène. L'effet de chaque extrait sur le DPPH<sup>•</sup> est mesuré par la procédure décrite par **Sánchez-Moreno et al., (1998)**.

Un volume de 750 µL de différentes concentrations de chaque extrait ou les standards antioxydants (acide gallique, Quercitine et vitamine C a été ajouté à 750 µL de la solution méthanolique du DPPH<sup>•</sup> à 0,04 mg/mL et fraîchement préparée. Le mélange réactionnel a été incubé à une température ambiante et à l'obscurité pendant 50 min, une lecture de l'absorbance a été effectuée à 517 nm. Le DPPH<sup>•</sup> est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune pale.

Ce passage de la première forme à la seconde, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction du DPPH<sup>•</sup>. Les valeurs de concentration inhibitrice à 50 % (CI<sub>50</sub>) ont été déterminées graphiquement par la régression exponentielle des extraits et des solutions standards. Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante

$$AA (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0]$$

Avec :

AA% : Activité antiradicalaire ;  
 A<sub>0</sub> : l'absorbance du radical DPPH<sup>•</sup> ;  
 A<sub>1</sub> : l'absorbance de l'échantillon

### I.3.3.1.3 Neutralisation du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

#### ➤ Principe

La réaction d'oxydation de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par les polyphénols est une réaction chimique qui peut se produire en présence de certains polyphénols, notamment les catéchines, les flavonoïdes et les tanins. Cette réaction peut être bénéfique dans certains contextes, comme en chimie analytique pour détecter la présence de polyphénols ou en biologie pour étudier les propriétés antioxydantes de ces composés. Cependant, il est important de noter que les polyphénols peuvent réagir de différentes manières avec l'eau oxygénée en fonction de leurs structures chimiques. La réaction générale d'oxydation de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par les polyphénols peut être représentée de la manière suivante :



Les produits d'oxydation dépendent de la structure du polyphénol impliqué dans la réaction. Les polyphénols sont capables de réduire le peroxyde d'hydrogène en produisant de l'eau, tandis qu'eux-mêmes sont oxydés. Cette réaction est souvent utilisée pour mesurer la capacité antioxydante des polyphénols, car elle permet de quantifier la quantité d'eau oxygénée consommée en fonction de la concentration de polyphénols présents. Cependant, il convient de noter que la réaction d'oxydation de peroxyde d'hydrogène par les polyphénols peut varier en fonction des conditions expérimentales, des concentrations de réactifs et des types de polyphénols (Ak et Gülçin, 2008).

#### ➤ Mode opératoire

L'évaluation de l'effet scavenger sur le peroxyde d'hydrogène a été réalisé selon la méthode rapportée par Kumar et al., (2007). 2 mL de chaque extrait à différentes concentrations ont été additionnés à 1,2 mL d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (40 mM dans un tampon phosphate à pH 7,4 et 0,1 M). Le blanc de l'échantillon a été préparé de la même façon en remplaçant la solution H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par le tampon phosphate. Après 10 min d'incubation, la lecture a été réalisée à 230 nm. L'acide gallique et l'acide ascorbique ont été utilisés également comme standard. Les CI<sub>50</sub> ont été calculées à partir des courbes à régression linéaire. Le pourcentage d'inhibition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est calculé comme suit :

$$\text{H}_2\text{O}_2 (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Avec :

$A_0$  : absorbance de  $H_2O_2$  ;  
 $A_1$  : absorbance de l'échantillon

#### I.3.3.1.4 Propriété protectrice des extraits polyphénoliques contre la peroxydation lipidique tissulaire

##### ➤ Préparation d'homogénat du foie :

Après le sacrifice des rats, les foies ont été soigneusement prélevés, rincés avec du NaCl à 9 ‰, pesés et additionnés à un tampon phosphate à raison de 10 % (w/v) après le broyage du foie à l'ultraturax T25 (Janke & Kunkel GmbH & Co Kg ; Ika Labor Technik Staufen Germany) une centrifugation à 4000 rpm pendant 20 min et à 4 °C a été effectuée, le surnageant obtenu a été récupéré et incubé pendant une heure dans de la glace et ensuite conservé à -20°C.

##### ➤ Préparation de la solution pro-oxydante :

La solution pro-oxydante, inductrice de l'oxydation lipidique, a été constituée d'un tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4) additionné de chlorure de fer à 100 mM et de  $H_2O_2$  à 0,5 % (Moukette et al., 2015).

##### ➤ Induction de la peroxydation lipidique *in-vitro*

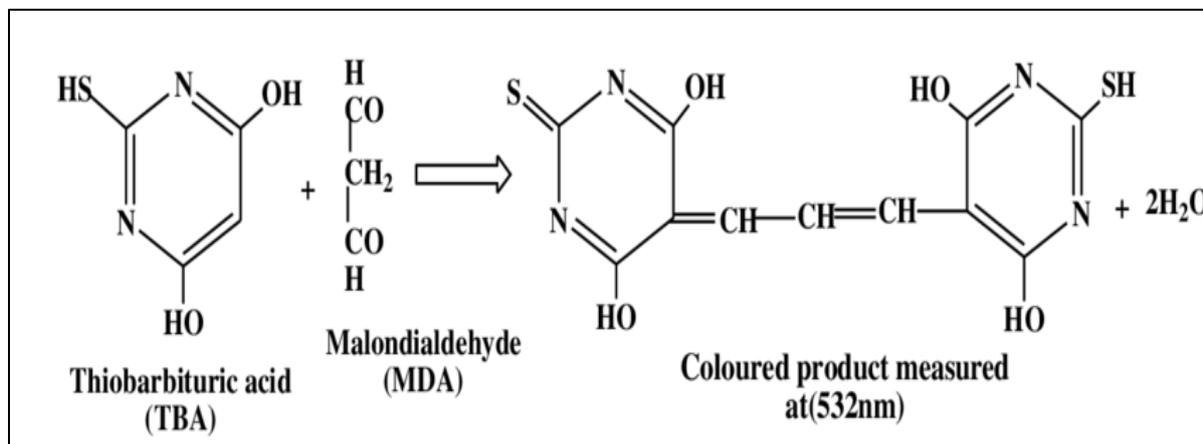
L'induction de la peroxydation lipidique a été effectuée selon la méthode décrite par Gupta et Sharma, (2010), avec une légère modification. 0,2 mL des différents extraits à tester ou des antioxydants de référence, (acide gallique et l'acide ascorbique), avec une concentration de 50 µg/mL, ont été ajoutés à une solution constituée de 0,58 mL de tampon phosphate (0,1 M ; pH 7,4), de 0,2 mL d'homogénat de foie et de 0,02 mL de solution pro-oxydante. Le mélange obtenu a été placé dans un bain- marie à 37°C et sous agitation pendant 1h.

##### ➤ Dosage des teneurs en MDA

###### ➤ Principe

L'évaluation des teneurs en MDA repose sur une méthode de dosage indirecte de l'impact des radicaux libres. Elle mesure les substances issues de la lipopéroxydation réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA) (Figure 25). La réaction de dosage, décrite par Kohn et Liversedge en 1944, précisée par Patton et Kurtz, (1951), repose sur la formation en milieu acide et à chaud entre le malondialdéhyde et deux molécules d'acide thiobarbiturique (TBA), d'un pigment absorbant à 532 nm, extractible par les solvants organiques comme le butanol.

La réaction colorée, observée avec l'acide thiobarbiturique, mesure non seulement le malondialdéhyde préexistant, mais aussi le malondialdéhyde formé de manière art factuelle par décomposition thermique des peroxydes, et de ceux générés au cours même de la réaction. Les méthodes utilisées actuellement dérivent de celle de **Yagi, (1976)**.



**Figure 25:** Formation du complexe malondialdéhyde/ acide thiobarbiturique de couleur rose (**Dahle et al., 1962**)

### ➤ Mode opératoire

L'évaluation des teneurs en MDA a été réalisée selon le protocole décrit par **Yagi, (1976)**. Un volume de 800  $\mu$ L d'un mélange TBA à 0,375 % (p/v), TCA à 20 % (p/v), BHT à 0,01 % (v/v) et du HCL (1N) ont été ajoutés à 200  $\mu$ L du mélange réactionnel. Après une agitation de 2 min, l'ensemble a été incubé au bain marie à 100°C pendant 15 minutes. Durant cette étape, les fonctions aldéhydiques du dialdéhyde malonique (MDA) sont libérées par l'hydrolyse acide à 100°C. Elles réagissent avec le TBA en formant un complexe coloré en rose (MDA-TBA). Pour arrêter la réaction, les tubes sont placés dans la glace, le complexe ainsi formé est extrait avec 2 mL de butanol-1 pendant 2 minutes. Après centrifugation à 4000 tours/minute pendant 10 minutes à 4°C (Sigma, 3K10, Laborzentrifugen, Allemagne), le surnageant a été récolté et l'absorbance du chromogène rose obtenue a été mesurée à 532 nm en utilisant le spectrophotomètre (Shimadzu 1240, Japon). La concentration tissulaire de malondialdéhyde (MDA) a été calculée à l'aide d'une courbe linéaire de 1,1, 3, 3-tétraéthoxypropane (TEP) (voir annexe III). Le pourcentage d'inhibition des MDA a été déterminé selon la formule suivante :

Avec

$$\text{MDA (\%)} = [(C_0 - C_1)]$$

$C_0$  : la concentration en MDA sans protection ;

$C_1$  : la concentration en MDA avec la protection

### I.3.3.2 Evaluation de l'activité antibactérienne

Les souches à leur arrivée ont été conservées à  $-20^{\circ}\text{C}$  dans des tubes stériles contenant 10 mL glycérol à 50 %. Deux méthodes ont été effectuées pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits : la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de dilution sur gélose dite méthode d'incorporation.

#### I.3.3.2.1 Préparation des précultures

A partir des milieux de conservation, un prélèvement de chaque souches (*Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778 et *Staphylococcus aureus* ATCC 33862) a été effectué à l'aide d'une anse en platine, ces dernières ont été déposées dans 5 mL de bouillon nutritif et incubées à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h. Après ce temps d'incubation, les souches bactériennes ont subi un repiquage par la méthode de stries en milieu solide correspondant à chaque, ces ensemencements ont été suivis d'une incubation de 18 h à  $37^{\circ}\text{C}$  et ce à fin d'obtenir des cultures jeunes.

#### I.3.3.2.2 Méthode de diffusion sur milieu gélosé

##### ➤ Principe

Celle-ci consiste à déposer des disques imprégnés d'agent antibactérien à tester, à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, l'agent antibactérien se diffusent de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondantes à une absence de culture de cellules bactériennes (**Barry, 1985**).

##### ➤ Mode opératoire

A partir d'une culture jeune de 18 h d'incubation, une suspension bactérienne a été préparée dans l'eau physiologique stérile (0,9 %). La turbidité de cette suspension a été standardisée à 0,5 Mac Farland à l'aide d'un spectrophotomètre et à une longueur d'onde de 625 nm. La densité optique obtenue doit être comprise entre 0,08 et 0,13 ce qui correspond à une concentration de  $10^8$  UFC/mL. La suspension d'inoculum ainsi préparée a été diluée au 1/10 dans de l'eau physiologique pour avoir une concentration de  $10^6$  UFC / mL (**Andrews, 2001**). L'inoculum ajusté a été ensemencé à l'aide d'un écouvillon par la technique d'écouvillonnage sur toute la surface des boîtes de Pétri contenant la gélose Mueller-Hinton

(Parodonsia, Conda S A, Espagne). Après cette étape les boîtes de Pétri ont été séchées à l'air libre pendant 30 min, ensuite des disques de Whatman de 6 mm de diamètre imprégnés 20  $\mu$ L de chaque extrait polyphénolique issus des plantes étudiées (utilisé à 250, 125, 62,5 et 31,25 mg/mL), ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée. La lecture des boîtes a été faite après 24h d'incubation à une température de 37°C (**Adesokan et al., 2007**).

Des boîtes dites témoins positifs dans lesquelles sont mis des disques d'antibiotique Tétracycline (30  $\mu$ g/mL), Amikacine (30  $\mu$ g/mL) et Erythromycine (15  $\mu$ g/mL) et des témoins négatifs contenant des disques imbibés de Diméthyl sulfoxyde (DMSO) pur (Sigma-Aldrich, USA) ont été réalisées. L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. Ce test a été effectué en six répétitions.

### **I.3.3.2.3 Détermination de la CMI et la CMB par la méthode d'incorporation de gélose**

#### **➤ Principe**

Cette technique consiste à ensemencer une gamme de concentration décroissante en extrait par un inoculum standardisé. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne visible. La concentration minimale bactéricide (CMB), quant à elle, est définie comme la plus faible concentration qui détruit 99,9 % de la concentration cellulaire finale (**Chebaibi et al., 2016**).

#### **➤ Mode opératoire**

Une gamme de concentrations des extraits phénoliques issus des trois plantes : cannelle, gingembre et armoise blanche, ont été préparées dans DMSO à 10 %. Les différents extraits ainsi préparés ont été incorporés dans des milieux de Mueller-Hinton avec des concentrations croissantes, maintenu en surfusion dans un bain marie thermostaté à 55°C. Le contenu de chaque tube est immédiatement versé dans une boîte de Pétri stérile après une agitation de 15 sec. Ensuite, 25  $\mu$ L d'un inoculum de chaque bactéries standardisé à 0.5 Mac Farland et diluée au 1/10, pour avoir une concentration de 10<sup>6</sup> UFC / mL (**Andrews, 2001**), ont été déposés sur les boîtes de gélose. Cette étape a été suivie d'une incubation à 37°C pendant 18 à 24 h. La CMI a été déterminée comme étant la plus faible concentration des extraits capable d'inhiber la croissance des bactéries testées (**Alzahrani et al., 2012**).

Après l'évaluation des activités biologiques de trois plantes médicinales, on a fait un criblage entre ces matrices végétales pour effectuer l'expérimentation animale. Notre choix repose sur l'effet potentiel de l'activité antioxydante et antibactérienne de la cannelle et le

gingembre associés ou non aux probiotiques à fin d'évaluer leurs effets sur l'obésité et ses complications cardiométaboliques nutritionnellement induite chez le rat *Wistar*. De ce fait, on a réalisé une caractérisation chimique des deux poudre la cannelle et le gingembre via la technique headspace gas chromatography–mass spectrometry (HS-GC-MS).

#### **I.4 Headspace gas chromatography–mass spectrometry (HS-GC-MS)**

0,3 g d'échantillons de la cannelle et gingembre séchés et finement pulvérisé ont été utilisés et analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un système en espace libre. Après les processus d'optimisation, les conditions d'espace libre ont été déterminées comme suit: Temps de cycle GC (min): 63; Volume d'échantillon (mL): 2,5; Temps d'incubation (min): 30; Température d'incubation (°C): 70; Température de la seringue (°C): 70. Après optimisation des conditions opératoires, l'analyse des composés volatiles a été réalisée par GC équipée d'une colonne capillaire HP-5 MS (30 m × 0,25 µm × 250 µm) 5977 (Agilent Technologies) avec un détecteur de masse sélectif 7890B (Agilent Technologies) modèle GC-MS. Un système d'ionisation électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV a été utilisé pour la détection de GC-MS. L'hélium était un gaz vecteur à un débit de 1 mL/min. La température de l'injecteur et la ligne de transfert MS ont été réglées à 250 °C. La température de la colonne a été initialement maintenue à 50 °C. pendant 2 min, puis progressivement augmenté à 200 °C à 6 °C/min et enfin porté à 250 °C à 10 °C / min. Les échantillons ont été injectés automatiquement avec un rapport de division de 10:1. Les composants individuels ont été identifiés par des bibliothèques électroniques (W10N14 et NIST14) (Kulak et al., 2020)

#### **I.5 Etude in vivo : Effet de la poudre de la cannelle et de gingembre seule ou associée à des bactéries probiotiques sur l'obésité et ses complications cardiométaboliques**

##### **I.5.1 Régime alimentaire administré aux rats**

À fin d'évaluer l'effet préventif de cannelle et gingembre seule ou associée aux probiotiques sur le désordre lipidique et métabolique associer à l'obésité nutritionnellement induite, les rats ont été soumis durant cette expérimentation soit au régime standard, soit au régime hyper-gras élaboré et enrichi en 48% (p/p) graisse animale d'origine ovine (Tableau 7). Au cours de cette période, la préparation des différents régimes a été réalisée une fois par semaine au sein du laboratoire d'amélioration et valorisation des productions animales locales de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret. Les ingrédients utilisés pour préparer chaque régime ont été fournis gracieusement par l'Office National d'Aliment de Bétail (ONAB). La composition des régimes figure dans le tableau ci-dessous. Tableau 7

**Tableau 7:** Composition des régimes utilisés durant l'expérimentation selon Garait, (2006) modifiée

<b>Ingrédients</b>	<b>Régime standard</b> (g/ 100g de régime)	<b>Régime hypergras</b> (g/100 g de régime)
Amidon de maïs	42,1	2,6
Cellulose	11,8	9,4
Protéines	19	20
Matière grasse	0	48
Glucide	3,3	3,5
Vitamine et sels minéraux	10,8	10,33
Huile végétale	8,05	6,17
<b>Valeur énergétique</b> (Kcal/100g)	330,33	591,93

### **I.5.1.1 Concentrations des souches bénéfiques utilisées**

Le mélange de probiotique, Lactibiane Tolérance® (PiLeJe, France), a été administré aux rats sous une forme lyophilisée, incorporé dans l'aliment à une dose de  $4 \times 10^9$  UFC/kg d'aliment.

### **I.5.1.2 Concentrations des poudres des plantes médicinales : cannelle, gingembre**

La poudre de cannelle et du gingembre a été incorporée au régime alimentaire hypergras à raison d'une concentration de 2 g par 100 g d'aliment. Cette concentration a été choisie en se basant sur une étude préliminaire. Le choix de l'utilisation de la poudre de cannelle et de gingembre dans cette étude s'explique principalement par leur abondance en polyphénols et en fibres alimentaires ce qui leur confère un effet synergique bénéfique pour la santé comme largement décrit par **Naidu et al., (2016)**.

### **I.5.2 Suivi et traitement des animaux**

Dès leur réception, les rats de souche Wistar ont été répartis aléatoirement en 7 groupes différents (7 rats par groupe), installés individuellement dans des cages et hébergés dans des conditions favorables au sein de l'animalerie du laboratoire d'autopsie clinique de l'Institut des Sciences Vétérinaires (Université Ibn Khaldoun, Tiaret), où règne une température constante ( $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ) et un éclairage qui varie selon un rythme circadien (cycle de lumière/obscurité de 12h/12h). Ils ont eu accès à volonté à la nourriture et à la boisson. Après une durée d'acclimatation de deux semaines, ces rats ont été nourris pendant 16 semaines et *ad libitum*

avec un régime standard ou bien un régime hyper-gras, supplémenté ou non en plantes médicinales, en probiotique ou bien en plantes médicinales associées aux probiotiques.

### I.5.2.1 Identification des différents lots expérimentaux

Ainsi 7 lots expérimentaux ont été constitués (Figure 26).

Le premier lot (**ST**) a reçu uniquement le régime standard (Tableau 7) celui-ci a servi de témoin négatif

- Les animaux du second (**HG**) ont été soumis à un régime hyper-gras « *High Fat* », régime enrichi en graisse animale d'origine ovine (48%)
- Les rats du troisième lot (**HGP**) ont subi le même régime cité précédemment. Supplémenté en probiotiques « Lactibiane tolérance<sup>®</sup> » à raison d'une dose journalière de  $4 \times 10^9$  UFC/kg de régime.
- Le quatrième lot (**HGG**) a été constitué de rats traités par le régime précédemment cité, le régime hyper-gras, supplémenté de 2 % de gingembre, (sous forme de poudre incorporée au régime).
- Les rats du cinquième lot (**HGGP**) ont été traités par le régime hyper-gras supplémenté de 2 % de poudre de gingembre associée aux probiotiques « Lactibiane tolérance<sup>®</sup> »
- Les rats du sixième lot (**HGC**) ont été soumis à un régime hyper-gras supplémenté de 2 % de cannelle, (sous forme de poudre incorporée au régime).
- Les animaux du septième lot (**HGCP**) ont reçu le régime hyper-gras additionné 2 % de poudre de cannelle associée aux probiotiques « Lactibiane tolérance<sup>®</sup> ».

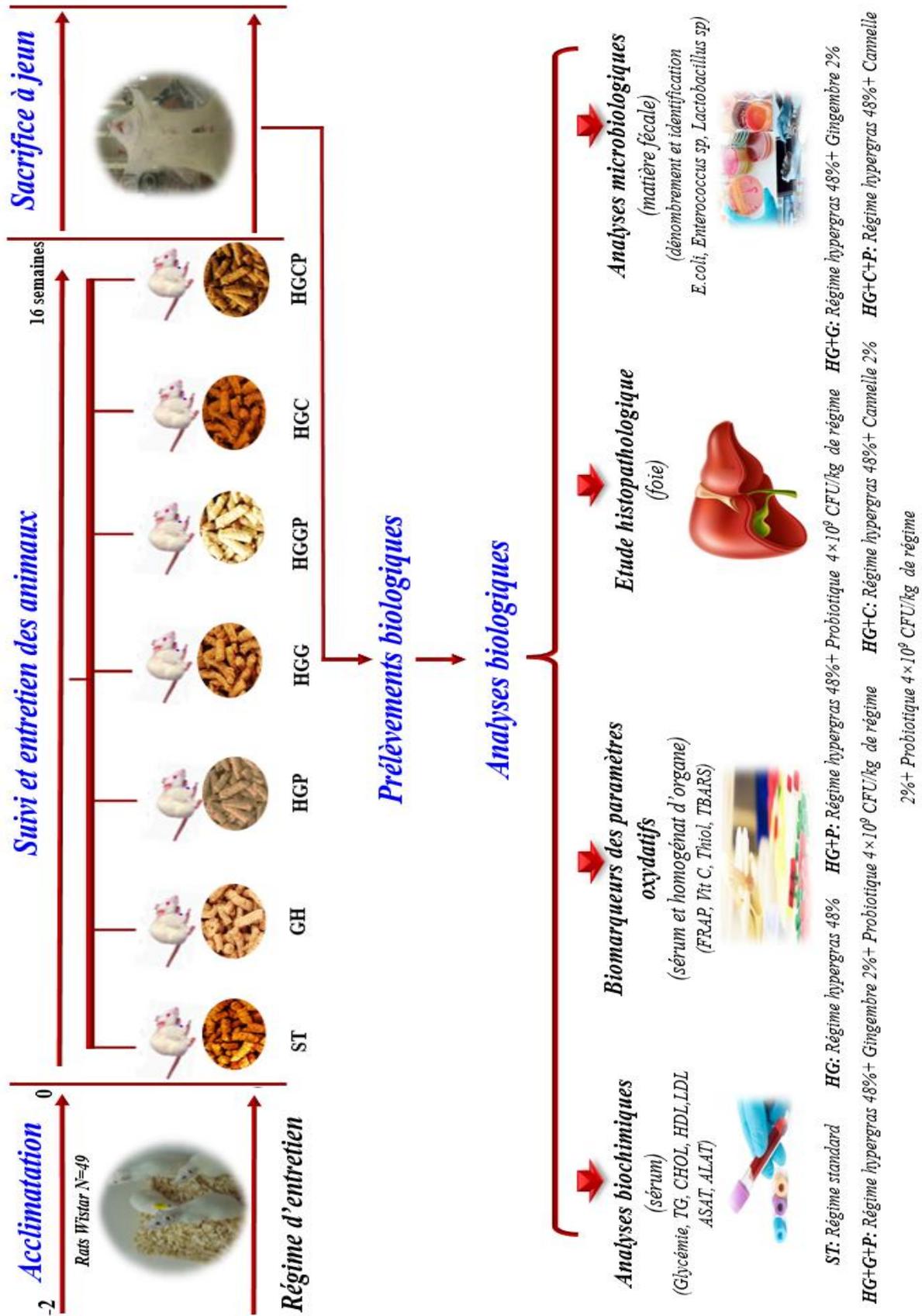


Figure 26: Protocole du suivi des rats durant l'étude expérimentale

Durant les 16 semaines de traitement, le comportement des rats, la mesure de la prise de poids ainsi que la quantité de nourriture ingérée ont été observés.

Le protocole expérimental du suivi et l'entretien des rats a été réalisé selon les directives du comité institutionnel de protection des animaux de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique (Algérie) (Numéro d'accord 45/DGLPAG /DVA.SDA.14).

### **I.5.3 Prélèvement et préparation du matériel biologique**

#### **➤ Prélèvement sanguin**

Les animaux, maintenus à jeun depuis 24 heures, ont été anesthésiés et sacrifiés. Le sang a été prélevé par ponction intracardiaque et recueilli dans des tubes contenant de l'héparine. Après une légère agitation, les tubes ont été centrifugés à 3000 tr/mn pendant 10 min. Le plasma obtenu a été récupéré, aliquoté dans des tubes et conservés à -20°C pour les analyses biologiques ultérieures (paramètres biochimique et oxydatifs).

#### **➤ Prélèvement d'organe**

Après prélèvement sanguin, le foie, cœur, reins, tissus adipeux, testicules et cerveau sont soigneusement prélevés et rincés avec l'eau physiologique 0.9 % 3 fois, ensuite séchés, pesés et conservés à -20 °C pour d'éventuelles explorations.

#### **➤ Prélèvement du foie pour l'étude histologiques**

Avant la conservation du foie à -20 °C, des morceaux de ce dernier ont été prélevés et directement fixés dans du formol à 10 %. La fixation a pour but essentiel d'assurer une immobilisation des constituants cellulaires ou tissulaires dans un état aussi voisin que possible de l'état vivant. Donc la fixation doit être immédiate après le prélèvement, pour empêcher une putréfaction (par altération microbienne) et une autolyse (destructions tissulaires par les enzymes qu'il contient). Les fragments du foie doivent être totalement immergés dans la solution du fixateur, aucun fragment ne doit flotter au-dessus de cette solution.

#### **➤ Préparation d'homogénat d'organe pour la détermination des paramètres oxydatifs**

0,2 g d'organe (foie et cœur) a été placé dans 2 mL de PBS 1X PH de 7,4, puis broyé à l'Ultra-Turax (T25, IKA, Allemagne). L'ensemble a été centrifugé à 3000 tr/min pendant 10 min. Le surnageant, qui constitue l'homogénat d'organe, a été récupéré et incubé pendant 1 heure dans la glace et conservé à -20°C en vue des différents dosages.

#### **➤ Prélèvement fécale pour l'étude microbiologique (Dysbiose intestinal)**

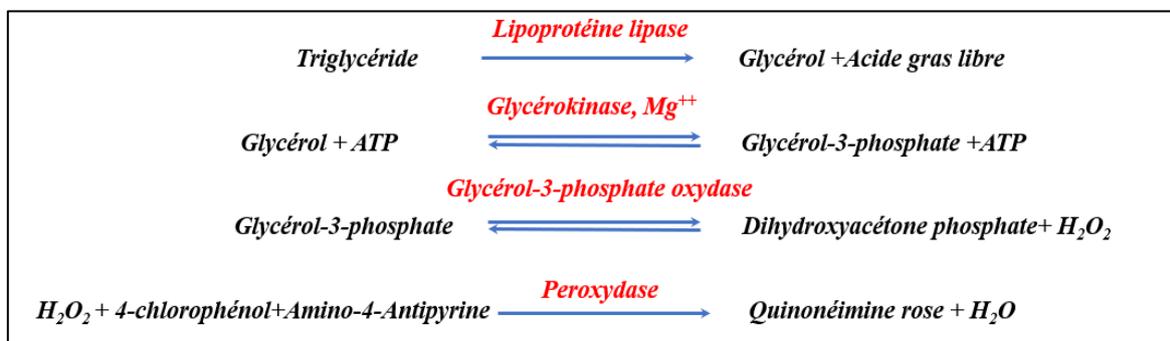
Dans des conditions stériles, Le gros intestin des animaux a été prélevé, le contenu est vidé dans solution NaCl 0.9% stérile.

## I.5.4 Etude des paramètres biochimiques

### I.5.4.1 Détermination des teneurs en Triglycérides

#### ➤ Principe

Le dosage des triglycérides sériques se fait par le biais d'une méthode colorimétrique enzymatique via le kit *Biolabo*. Les triglycérides sont hydrolysés en glycérol et en acides gras grâce à des lipases. Une suite de réactions a abouti à la formation du peroxyde d'hydrogène qui en présence de la peroxydase et d'un chromogène donne un composé coloré. La concentration en quinone est proportionnelle à la concentration totale en triglycérides présents dans l'échantillon. La concentration en triglycérides est déterminée à une longueur d'onde de  $\lambda = 500$  nm (Trinder, 1969 ; Fossati et Prencipe, 1982).



#### ➤ Mode opératoire

10  $\mu$ L de chaque échantillon ou de l'étalon (concentration de 2g/L) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1ml de la solution de travail, préparée en mélangeant les réactifs 1 et 2 fournis par le kit *Biolabo* (Voir annexe VIII), ensuite une homogénéisation a été appliquée à l'ensemble à l'aide d'un vortex, le mélange a subi une incubation de 10 minutes et à 37°C. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en g/L de triglycérides et calculés selon la formule suivante :

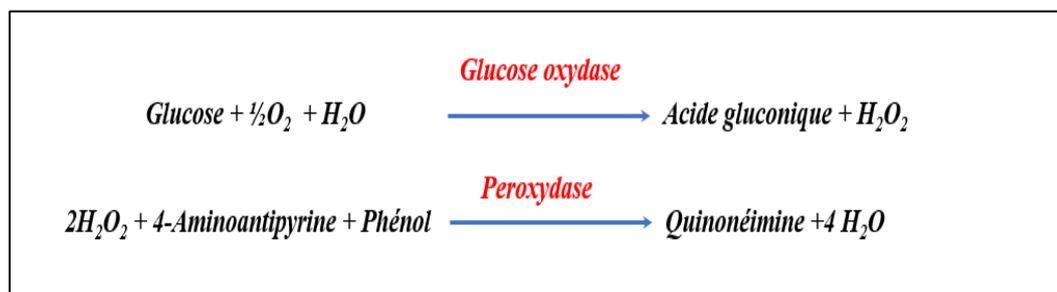
$$\text{Triglycérides (g/L)} = \left( \frac{\text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique de l'étalon}} \right) \times 2 \text{ g/L.}$$

### I.5.4.2 Détermination des teneurs en glucose

#### ➤ Principe

La teneur en glucose est déterminée par la méthode enzymatique et colorimétrique en présence du glucose oxydase (GOD). Le glucose est oxydé en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène, ce dernier, en présence de peroxydase et de phénol, oxyde un chromogène (Le 4-

amino-antipyrine) en couleur rose à structure quinone. La coloration obtenue est proportionnelle à la concentration en glucose présente dans l'échantillon. La lecture se fait à une longueur d'onde de 500 nm, ce dosage a été réalisé à l'aide du kit Biosystems (**Trinder, 1969**).



#### ➤ Mode opératoire

10 µL de chaque échantillon ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1ml de la solution de travail, fournis par le kit (**voir annexe VIII**), ensuite l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 500 nm contre un blanc sans glucose. Au cours de cette analyse un étalon a subi le même traitement que l'échantillon et ce afin d'être utilisé comme une référence pour la quantification des taux de glucose dans le plasma, cet étalon a une concentration précise de glucose égale à (1g/L). La concentration du glucose dans les échantillons est calculée selon la formule ci-après. Les résultats sont exprimés en g/L de glucose.

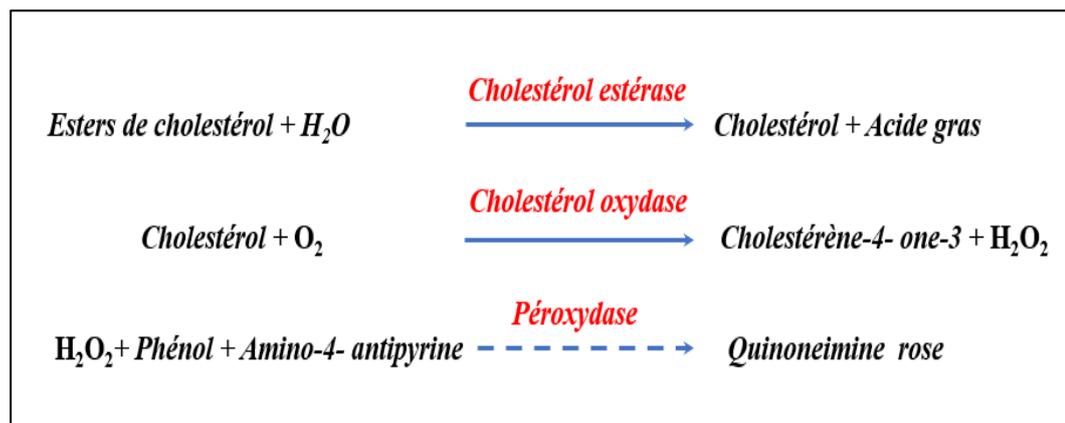
$$\text{Glucose (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon}) \times 1 \text{ g/L.}$$

#### I.5.4.3 Détermination des teneurs en cholestérol total

##### ➤ Principe

Le cholestérol total est dosé par une méthode colorimétrique enzymatique en utilisant le kit *Biomaghreb* et ce au niveau du plasma. Les esters de cholestérol sont hydrolysés par le cholestérol estérase en cholestérol libre et en acides gras. Ce cholestérol libre produit et celui préexistant sont oxydés par une enzyme cholestérol oxydase en  $\Delta^4$  cholesterone et peroxyde d'hydrogène. Ce dernier en présence de peroxydase, oxyde le chromogène en un composé de couleur rouge. La densité optique du quinoneimine coloré mesurée à 505 nm est directement

proportionnelle à la quantité de cholestérol contenu dans l'échantillon, et est exprimée en g/L (Fasce *et al.*, 1982).



### ➤ Mode opératoire

La solution de travail a été préparée par le mélange des réactifs 1 et 2 fournis par le kit (Voir annexe VIII). Pour la réalisation de ce test, 10 µL de chaque échantillon et de l'étalon ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1mL de la solution de travail, l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à 37°C.

L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 505 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau distillée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux du cholestérol dans les échantillons, cet étalon contient une quantité précise de cholestérol qui est de 2 g/L, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g/L de cholestérol et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Cholestérol (g/L)} = \left( \frac{\text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique de l'étalon}} \right) \times 2 \text{ g/L.}$$

#### I.5.4.4 Détermination des teneurs en HDL et LDL

##### ➤ Principe

La lipoprotéine HDL du plasma est précipitée par le phosphotungstate en présence d'ions de magnésium après centrifugation à 4000 tr/min pendant 20 min, le surnageant récupéré correspond aux HDL. La lecture se fait à une longueur d'onde  $\lambda=505$  nm. Les concentrations en cholestérol des LDL plasmatiques sont déterminées selon la formule de (Friedewald *et al.*, 1972 ; Burstein *et al.*, 1970):

$$\text{Chol. LDL} = \text{Chol. Total} - (\text{Chol. HDL} + \text{TG}/5)$$

➤ **Mode opératoire**

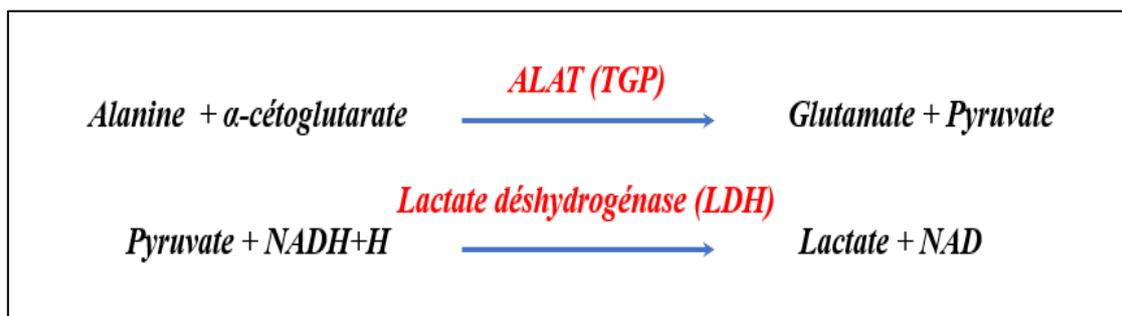
Le dosage des HDL a été réalisé grâce au kit *Biomaghreb* (Voir annexe VIII). 200 µL de l'échantillon plasmatique ont été ajoutés à 20 µL de réactif issu de mélange de deux réactifs (R1 et R2). Ensuite le mélange a été incubé pendant 10 min à température ambiante puis centrifugé à 4000 tr/min pendant 10 min, le surnageant obtenu a été traité par la même procédure décrite pour le du cholestérol total. L'absorbance a été mesurée à 500 nm.

#### I.5.4.5 Détermination de l'activité des transaminases plasmatiques

##### a. Dosage de l'activité de l'alanine aminotransférase (ALAT)

➤ **Principe**

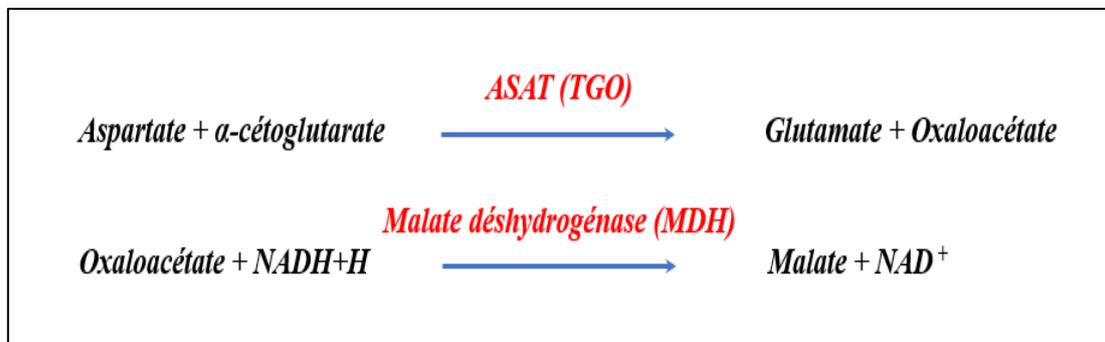
L'alanine aminotransférase (ALAT) est une transaminase connue sous le nom de glutamate-pyruvate- transaminase (GPT). L'ALAT catalyse le transfert du groupe aminé de la L-alanine vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner du L-glutamate et pyruvate. Le pyruvate est réduit au lactate par lactate déshydrogénase (LDH) et NADH. La mesure du taux de diminution de NADH, est spectrophotométriquement proportionnelle à l'activité catalytique d'ASAT dans l'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda=505$  nm (Murray, 1984a).



##### b. Dosage de l'activité de l'Aspartate aminotransférase (ASAT)

L'Aspartate aminotransférase (ASAT) est une transaminase, également connue sous le nom de glutamate-oxalo-acétate-transaminase (GOT). Elle catalyse le transfert du groupe aminé du L-Aspartate vers l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner du L-glutamate et l'oxaloacétate. L'oxaloacétate est réduit au Malate par Malate déshydrogénase (MDH).

Le taux de diminution de NADH, mesurée spectrophotométriquement. Elle est proportionnelle à l'activité catalytique de ASAT catalyse dans L'échantillon. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde  $\lambda=505\text{nm}$  (Murray et Kaplan, 1984b).



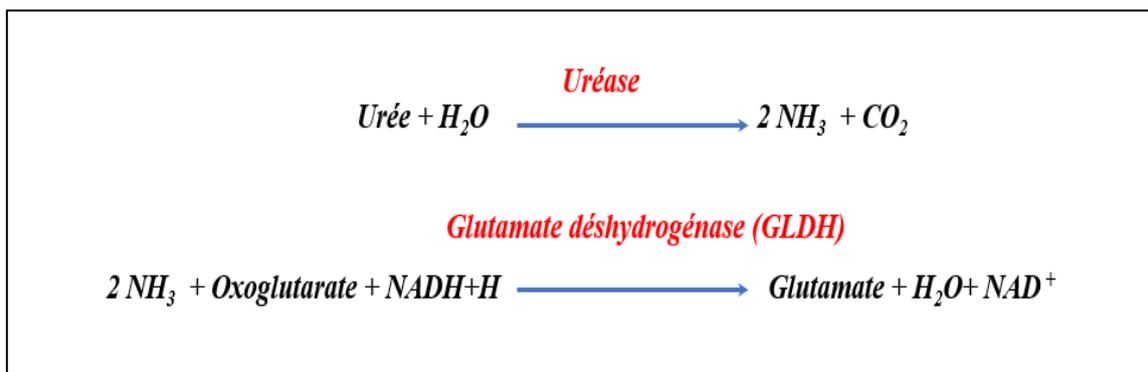
#### ➤ Mode opératoire

50 $\mu\text{L}$  de l'échantillon plasmatique a été ajouté à 500  $\mu\text{L}$  de solution de travail, destinée soit pour le dosage des ALAT ou ASAT, cette solution est issue d'un mélange de deux réactifs (R1 et R2) préparé selon le kit *Biomaghreb*. Le mélange réactionnel a été incubé dans une étuve à 37°C pendant 10 min. Après incubation la lecture de l'absorbance s'effectue après chaque minute pendant 3min à longueur d'onde de  $\lambda=505\text{ nm}$ . Le résultat est exprimé par la dernière absorbance.

#### I.5.4.6 Détermination des teneurs en urée

##### ➤ Principe

La concentration en urée a été déterminée selon la méthode enzymatique et colorimétrique décrite par **Talk et al., (1967)** en utilisant le *Kit Biolabo (Voir annexe VIII)*. L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ions ammonium ( $\text{NH}_3$ ) et en anhydride carbonique ( $\text{CO}_2$ ). Les ions ammonium forment ensuite avec le oxoglutarate un complexe coloré bleu-vert par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH+H à la NAD<sup>+</sup>. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon, et elle est mesuré à 600 nm.



### ➤ Mode opératoire

5 $\mu$ L de l'échantillon a été ajouté à 1mL de la solution du travail, cette solution est issue d'un mélange de deux réactifs (R1 et R2 fournis par le kit). Le mélange réactionnel a été incubé à 37 °C pendant 5 min.

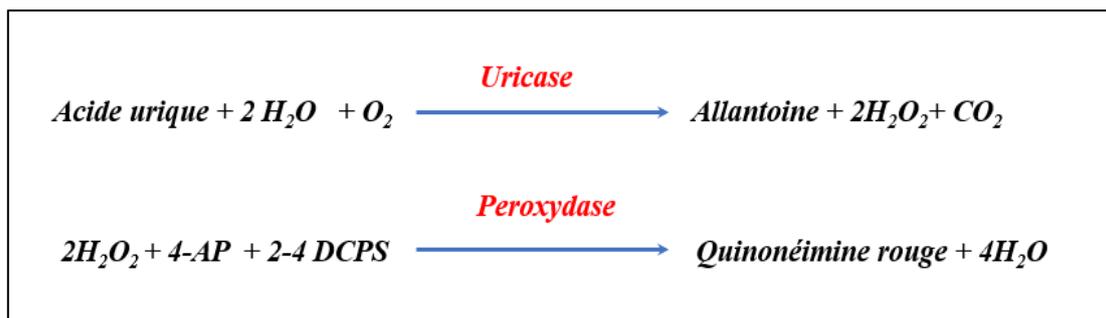
L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 600 nm contre un blanc contenant uniquement que de l'eau déminéralisée. Notons que l'étalon a été utilisé afin de quantifier le taux de l'urée dans les échantillons, cet étalon contient une quantité précise de l'urée qui est de 0.40 g/L, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en g/L de l'urée et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Urée (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon} / \text{densité optique de l'étalon}) \times 0.40 \text{ g/L}$$

### I.5.4.7 Détermination des teneurs en acide urique

#### ➤ Principe

Le dosage de l'acide urique a été réalisé par la méthode enzymatique colorimétrique en utilisant le Kit Biolabo. L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne, dioxyde de carbone et peroxyde d'hydrogène (2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui, sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP), et du 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS), forme un composé rouge de quinonéimine donné par les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration rouge formée est proportionnelle à la concentration de l'acide urique dans l'échantillon (**Bernard, 1989 ; Tietz, 1999**).

#### ➤ Mode opératoire

25 µL de chaque échantillon ou de l'étalon (R3) (concentration de 100 mg/L) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1 mL de la solution de travail, fournis par le kit *Biolabo* (**Voir annexe VIII**), ensuite une homogénéisation a été appliquée à l'ensemble à l'aide d'un vortex, le mélange a subi une incubation de 5 minutes et à 25°C. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 520 nm contre un blanc, les résultats sont exprimés en mg/L d'acide urique et calculés selon la formule suivante :

$$\text{Acide urique (mg/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon}) \times 100 \text{ mg/L}.$$

#### I.5.4.8 Détermination des teneurs en protéines totales plasmatique

##### ➤ Principe

Les protéines totales ont été déterminés Selon méthode colorimétrique décrite par **Gornall et al., (1949)** en utilisant le Kit *Biolabo* (**Voir annexe VIII**). Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivriques et maintient leur solubilité en solution alcaline. Les ions cuivriques, dans un milieu alcalin, interagissent avec les liaisons peptidiques des protéines formant un complexe bleu violet ou l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité des protéines plasmatiques l'absorption est mesurée à 550 nm.

##### ➤ Mode opératoire

Pour la réalisation de ce test, 20 µL de chaque échantillon plasmatique et de l'étalon (R2) ont été prélevés et ensuite ajoutés à 1ml de la solution de travail (réactif de Biuret R1), l'ensemble a subi une homogénéisation à l'aide d'un vortex, le mélange ainsi obtenu a été incubé pendant 10 minutes à température ambiante.

L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 550 nm contre un blanc ne contenant que de l'eau déminéralisée et la solution de travail, Les résultats sont exprimés en g/L de protéines et calculés selon la formule suivante :

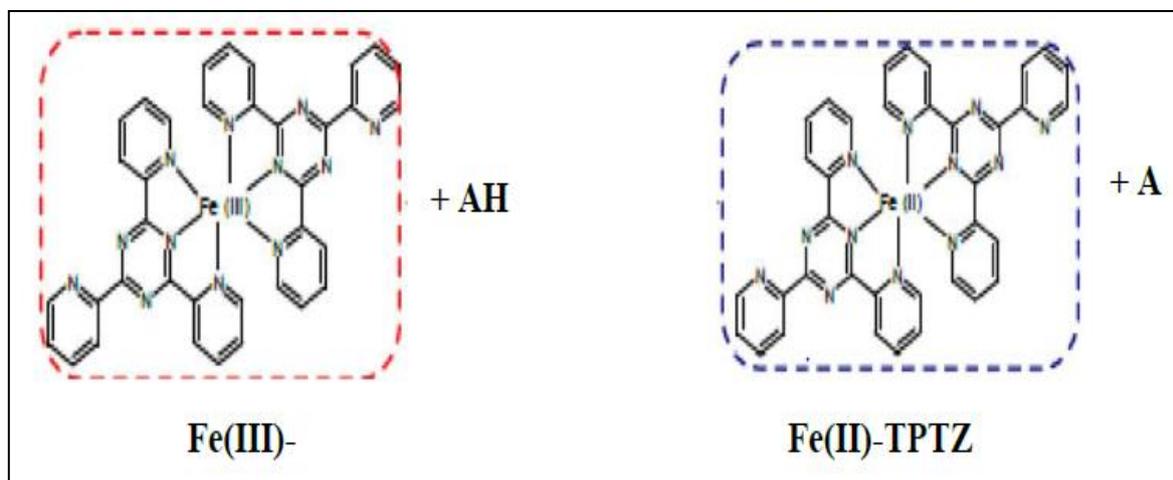
$$\text{Protéine totale (g/L)} = (\text{Densité optique de l'échantillon/densité optique de l'étalon}) \times 60 \text{ g/L.}$$

### I.5.5 Etude des paramètres oxydatifs

#### I.5.5.1 Détermination du pouvoir antioxydant total par la technique FRAP

##### ➤ Principe

La méthode FRAP développée par **Benzie et Strain, (1996)** est basée sur la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique  $[(\text{Fe (III)-TPTZ})_2]$  en un complexe tripyridyltriazine ferreux  $[(\text{Fe (II)-TPTZ})_2]$  par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer. Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm (Figure 27). Le pouvoir réducteur est proportionnel à la formation de la couleur bleue, plus la couleur bleue est intense, plus l'échantillon peut être considéré comme un bon réducteur.



**Figure 27:** Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH) (**Benzie et Strain, 1996**).

##### ➤ Mode opératoire

Ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques. Il est basé sur la mesure de la réduction par le plasma ou l'homogénat d'organe et dans des conditions d'acidité (pH 3,6), d'une solution comprenant du tampon acétate, une solution à base de 2,4,6 Tripyridyl-s-triazine (TPTZ), et un sel ferrique ( $\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ), ce qui provoque la formation du complexe TPTZ- $\text{Fe}^{++}$ , de couleur bleue. Une gamme étalon est

obtenue à partir d'une solution mère de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  à 1mM (les courbes de la gamme d'étalonnage figurent en Annexe III).

La solution FRAP est préparée à partir des trois solutions initiales : tampon acétate ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}$ ,  $3\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ ) à pH 3,6, TPTZ à 10 mM et  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  à 20mM) et placée à  $37^\circ\text{C}$  pendant toute la durée de l'analyse. 100  $\mu\text{L}$  d'échantillons ou de la solution-gamme sont ajoutés à 900  $\mu\text{L}$  de la solution FRAP. La lecture des échantillons se fait après 30 minutes d'incubation par spectrométrie à 593 nm.

### I.5.5.2 Dosage de la vitamine C

#### ➤ Principe

Le dosage de la vitamine C, décrit par **Jagota et Dani, (1982)** est basé sur la réduction de la vitamine C présente dans le plasma ou dans les tissus par le réactif de Folin Ciocalteu en donnant une coloration bleue dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en vitamine C. L'absorbance de la coloration est maximale à une longueur d'onde de 760 nm.

#### ➤ Mode opératoire

Ce test peut être utilisé comme un index du pouvoir antioxydant des défenses non enzymatiques.

Afin de précipiter les protéines, 0,8 mL d'acide trichloroacétique à 10% ont été ajoutés à 0,2 mL d'homogénat de tissu ou au plasma sanguin. Après agitation vigoureuse et une incubation de 5 minutes dans un bain de glace, les tubes ont été centrifugés à 3000 trs/min pendant 5 minutes, ensuite 0,5 mL du surnageant ont été incubés en présence de 0,2 mL de réactif de Folin Ciocalteu (1M) pendant 10 min à  $37^\circ\text{C}$ , après cette durée la mesure de l'absorbance, de la couleur bleue développée, a été réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la teneur en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration est exprimée en  $\mu\text{g}/\text{mL}$  et a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue grâce à une solution mère d'acide ascorbique 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (La courbe de la gamme d'étalonnage figure en annexe III).

### I.5.5.3 Oxydation des protéines (dosage des groupements Thiols)

#### ➤ Principe

Lors de l'oxydation des protéines, les groupements SH sont oxydés et forment des ponts disulfures S-S (**Bulaj et al., 1998**). En présence des groupements thiols de l'échantillon, le pont disulfure (S-S) contenu dans le réactif d'Ellman ou DTNB (5-5' dithionitro benzoic acid) va être réduit et donner des dérivés thiols aromatiques [RNB (acide 5-thio (2-nitrobenzoïque))] colorés et possédant une absorbance entre 412 et 415 nm (Figure 28). La vitesse de la réaction sera différente selon que le DTNB se trouve en présence de SH protéiques ou non protéiques. Cette différence peut, dans certaines conditions de pH et de forme ionique, être accentuée et permettre ainsi la mesure des SH protéiques et celle des SH totaux (**Ellman, 1959**).

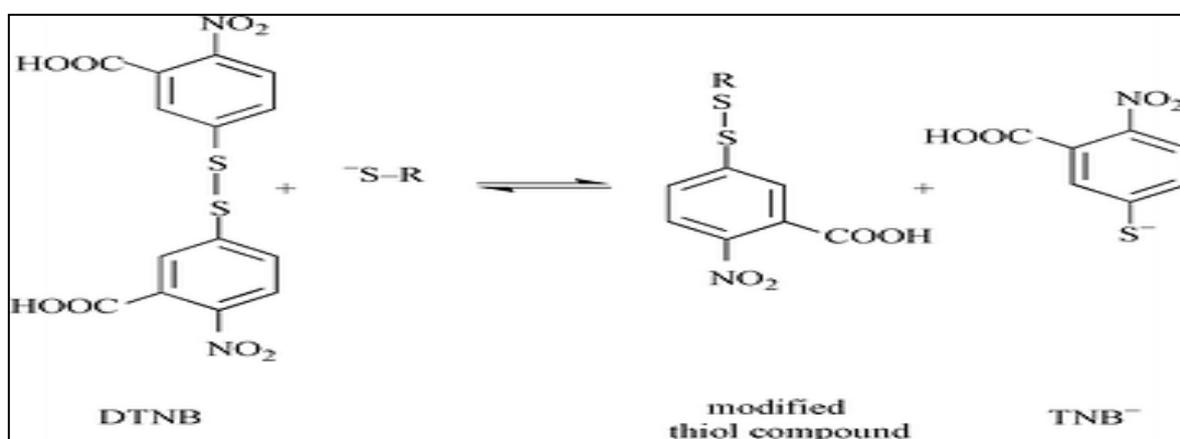


Figure 28: Mécanisme réactionnel entre le DTNB et un groupement thiol (SH).

#### ➤ Mode opératoire

750  $\mu$ L de tampon phosphate (0,05 M) ont été ajoutés 250  $\mu$ L du point de gamme (préparée à partir d'une solution de N-Acétyl-Cystéine à 1 mM, ou d'échantillon, après une légère agitation 250  $\mu$ L de réactif d'Ellman (4 %) ont été ajoutés, le mélange ainsi obtenu a été vortexé et incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'abri de la lumière. La lecture des absorbances a été effectuée à  $\lambda=412$  nm.

### I.5.5.4 Oxydation des lipides (le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique)

#### ➤ Mode opératoire

Cette analyse a été réalisée sur plasma ou sur homogénat de tissus 800  $\mu$ L d'un mélange d'acide thiobarbiturique (TBA à 0,375 %) d'acide trichloracétique (TCA à 20 %), 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol (BHT à 0,01%) et chlorure d'hydrogène (HCl à 1N) sont ajoutés à 200  $\mu$ L d'échantillon. Après agitation de 2 min, le mélange est incubé au bain marie à 100°C

pendant 15 minutes. Durant cette étape, les fonctions aldéhydiques du dialdéhyde malonique (MDA) sont libérées par l'hydrolyse acide à 100°C. Elles réagissent avec le TBA en formant un complexe coloré en rose (MDA-TBA). Pour arrêter la réaction, les tubes sont placés dans la glace, le complexe ainsi formé est extrait par le butanol pendant 2 minutes.

Après centrifugation, la quantification du complexe est effectuée sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration en MDA plasmatique ou tissulaire est calcul

### **I.5.6 Etude de la Stéatose Hépatique**

Cette étude a pour but d'évaluer l'accumulation des lipides sous forme de triglycérides au niveau hépatique en réponse à l'ingestion du régime hyper-gras. Les fragments du tissu hépatique ont été lavés à NaCl (0,9%) pour éliminer l'acide picrique, puis une déshydratation a été obtenue par passage dans une série de bains d'alcool (éthanol) aux gradients ascendants : 70°, 96° et 100° avec une durée de 7h, 17h et 4h respectivement.

Les échantillons ont été ensuite clarifiés par passage dans deux bains de chloroforme (1<sup>er</sup> bain : 50 % chloroforme + 50 % alcool pendant 4h, 2<sup>ème</sup> bain : chloroforme pur pendant 4h). Cette clarification consiste en un remplacement du déshydratant par une substance miscible avec la paraffine ce qui rend les échantillons plus transparents. Les spécimens ont été mis dans des cassettes pour être imprégnés à chaud par une paraffine de routine (dont le point de fusion est de l'ordre de 54 à 56 °C), ensuite, la paraffine a été coulée au quart dans les moules en acier inoxydable chauffés à 60°C et les fragments de tissus y ont été déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés ont été congelés à - 20°C pour être réduits en coupe microscopiques d'épaisseur de 5 µm grâce à un microtome. Les coupes ont été ensuite étalées dans un bain marie d'histologie (à 50°C) puis collées sur des lames et séchées à température ambiante jusqu'au moment de la coloration. La paraffine est hydrophobe tandis que les colorants sont hydrophiles. C'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation. Cette étape a été assurée par une succession de bains, d'abord dans deux bains d'un solvant permettant l'élimination de la paraffine (toluène ou xylène) et ceci durant 15 minutes à chaque bain puis une réhydratation par passage dans des bains d'alcools de titre décroissant, de 100° jusqu'à 70° durant 5 minutes pour chaque bain. Après cette réhydratation, les coupes ont subi une coloration, le but est de renforcer le contraste et de rendre plus évidents les différents constituants cellulaires et tissulaires. Au cours de cette coloration, on a fait agir successivement un colorant nucléaire, l'hématoxyline et un colorant

cytoplasmique l'éosine (la composition du colorant et leur préparation figure en annexe n° IX), le processus de la coloration a suivi les étapes suivantes :

- Coloration avec l'hématoxyline de Harris pendant 25 minutes ;
- Rinçage dans l'eau du robinet pendant 15 minutes ; réduction de la coloration du noyau par trempage rapide (1-2 secondes) dans l'acide chlorhydrique à 1% ;
- Lavage rapide à l'eau pour éliminer l'excès d'acide ;
- Coloration à l'éosine pendant 15 minutes ;
- Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant ;
- Déshydratation dans l'alcool à 70% pendant 10 minutes puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes ;
- Séchage des lames dans du papier buvard ;
- Clarification dans le xylène pendant 15 minutes ;

Après la coloration une goutte de résine de montage (Baume de Canada) a été déposée sur la coupe, une lamelle a été appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. Lors de la manipulation, aucune bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la lamelle. La lecture a été réalisée à l'aide d'un microscope photonique tri-oculaire (Zeiss Primo Star) couplé à une caméra de type AXIOCOMER C5S (Suvarna et *al.*, 2018).

### **I.5.7 Recherche et dénombrement de quelques bactéries représentatives du microbiote intestinal des rats Wistar sous les différents régimes expérimentaux**

Au cours de cette étude nous avons recherché quelques bactéries impliquées dans le développement l'obésité induite par le régime hyper-gras, pour ce faire des analyses de routine de la flore intestinale a été utilisées, ces dernières se limitent aux germes cultivables. Elles sont basées sur la recherche, l'identification et le comptage des germes au niveau fécal. Pour réaliser ces analyses, 1g de fraiche à l'émission a été prélevée au début de l'étude (prélèvement à  $T_0$ ) et juste avant le sacrifice (prélèvement à temps final  $T_f$ ). Ces deux prélèvements fécaux ont été conservés dans 9 ml d'eau physiologique et dans des conditions stériles. Les principales bactéries de la flore intestinale recherchées dans ces prélèvements sont : *Lactobacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Escherichia coli*.

#### **I.5.7.1 Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* sur milieu Mac Conkey**

Pour réaliser le dénombrement de cette bactérie, 1g de matière fécale a été dissoute dans 9 mL de l'eau physiologique à 0,9%. Cette solution a été homogénéisée à l'aide d'un vortex, et laisser un bon moment pour précipiter. À partir de cette dernière, des dilutions décimales ont

été préparées jusqu'à  $10^{-6}$  ensuite pour chaque dilution, des étalements en surface ont été réalisés sur la gélose de Mac Conkey (Parodonsia, Conda SA, Espagne). Les boîtes de Pétri ainsiensemencées ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Cette étape a été suivie par des observations macroscopiques des colonies bactériennes basées sur l'étude des caractères cultureux (aspect des colonies, couleur, taille, forme...). Un comptage, une identification microscopique et biochimique, par le biais d'une galerie Api 20E, des colonies ont été réalisées (Chang *et al.*, 2012).

➤ **Identification d'*Escherichia coli* par la galerie Api 20E (Biomerieux, France).**

La galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Au-dessous de chaque tube, un signe indique la nature du test. Les microtubes sontensemencés avec une suspension bactérienne standardisée à l'échelle de 0.5 Mc Farland. Les réactions produites au cours de la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La galerie Api 20E permet d'effectuer les tests suivants : Ortho-Nitrophenyl- $\beta$  Galactosidase (ONPG), Activité Arginine Dihydrolase (ADH), Ornithine Décarboxylase (ODC), Lysine Décarboxylase (LDC), Citrate de Simmons (CIT), production d'hydrogène sulfuré par réduction de thiosulfate ( $H_2S$ ), synthèse d'une uréase (URE), recherche de la tryptophane désaminase (TDA), et du pouvoir indologène (IND), production de l'acétone, voguesproskauer (VP), gélaténase (GEL), recherche des glucides : glucose (GLU), arabinose (ARA), mannose (MAN), inositol (INO), Sorbitole (SOR), Rhamnose (RHA), saccharose (SAC), mélioïdose (MEL), amygdaline (AMY) ( voir Annexe VII)

**I.5.7.2 Recherche et dénombrement des *Enterococcus* sp. sur milieu Bile Esculine Azide « BEA »**

Le dénombrement de cette bactérie s'effectue par étalement en surface sur la gélose de BEA ensuite l'incubation à 37 °C pendant 24 h. L'identification a été réalisée par les tests cultureux et microscopique.

**I.5.7.3 Recherche et dénombrement de *Lactobacillus* sp. sur la gélose de Man Rogosa et Sharpe « MRS »**

La recherche de *Lactobacillus* consiste à ensemencer en profondeur la gélose de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) (Parodonsia, Conda SA, Espagne) à partir des dilutions décimales préparées comme décrit précédemment. L'ensemencement en profondeur a été suivi d'une incubation de 48 h et à 37°C (Liong *et Shah*, 2006). L'identification de ces bactéries a été réalisée par les tests cultureux et microscopique.

#### **I.5.7.4 Identification phénotypique des bactéries étudiées**

L'identification bactérienne au cours de cette expérimentation a été confirmée physiologiquement et biochimiquement selon le manuel de Bergey de bactériologie systématique, Prokaryotes (**Cullimore, 2000**).

##### **Caractères morphologiques**

###### **- Examen macroscopique**

La description des colonies obtenues sur milieu solide après incubation est effectuée à l'aide d'observations macroscopiques (Taille, couleur, aspect, viscosité...).

###### **- Examen microscopique**

Il a été effectué sur un frottis bactérien préparé à partir des colonies en culture pure puis fixé et coloré par la méthode de Gram (voir Annexe VI).

###### **- Caractères biochimiques**

Les bactéries ont été identifiées par l'étude des caractères biochimiques. En effet, ces dernières sont capables d'effectuer une grande diversité de réactions biochimiques qui se traduisent par la production d'enzymes (catalase) et par le type nutritionnel (fermentation ou oxydation des sucres, ...).

##### **➤ Test de catalase**

###### **- Principe**

D'après **Larpent et Larpent-gourgaud, (1990)**, le test de catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme de catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène.

###### **- Technique**

Pour mettre en évidence cette enzyme, une partie de la colonie suspecte a été déposée dans une goutte d'eau oxygénée sur une lame stérile. Le dégagement de bulles de gaz indique la présence de la catalase (Hariri et al., 2009).

##### **➤ Test oxydase**

###### **- Principe**

Ce test met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome C réduit. Il consiste à mettre la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinoniques rose-violacées (**Delarras, 2014**).

- **Technique**

Un disque d'oxydase a été imbibé par une goutte d'eau distillée stérile ensuite une partie de colonie a été déposée sur le disque à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée stérile. Une coloration violette foncée apparaît immédiatement sur le disque ou en quelques secondes (**Delarras, 2014**).

➤ **Test d'Ortho-Nitrophenyl- $\beta$  Galactosidase (ONPG)**

- **Principe**

L'ortho-Nitrophenyl- $\beta$ -D galactosidase (ONPG) est un analogue structural du lactose. Ce substrat synthétique incolore peut être scindé en galactose et en orthonitrophénol en présence d'une des enzymes appelées ONPG hydrolase (**Delarras, 2014**).

- **Technique**

Deux à trois disques d'ONPG commerciales stériles ont été ajoutés à une suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique stérile puis incubée à 37°C pendant 24h.

➤ **Test Triple sugar Iron (TSI)**

- **Principe**

Ce test est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des Entérobactéries. Il permet de mettre en évidence en 24 h l'attaque du glucose et/ou saccharose ainsi que la production d'hydrogène sulfuré et de gaz

- **Technique**

A partir des cultures pures, la pente du milieu a été ensemencée par des stries et le culot par piqure à l'aide d'une anse stérile, ensuite ces tubes ont été incubés à 37 °C pendant 24 h.

➤ **Milieu Mannitol**

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité bactérienne. Pour se faire, les souches

étudiées ont été ensemencées dans le milieu par piqûre centrale, et incubées à 30°C pendant 18 à 24h. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol et une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (**Marchal et al., 1982**).

#### ➤ Test Urée-Indole

Le milieu Urée-Indole permet en 24h de réaliser deux tests biochimiques qui interviennent dans l'identification des bactéries, il s'agit du test uréase et indole. Ce test consiste à ensemencer une colonie bactérienne à l'aide d'une anse en platine stérile dans le milieu urée-indole, et l'incuber à 37°C pendant 24 h (**Delarras, 2014**).

### I.6 Analyse statistique

L'ensemble des résultats obtenus sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  ES (Erreur Standard). L'analyse statistique des données a été conduite en utilisant le logiciel STATISTICA software (version 6.1, StatSoft, Tulsa, OK, USA). Pour l'étude *in-Vitro* les expériences ont été répétées indépendamment 06 fois et la comparaison des moyennes a été effectuée via le test ANOVA à un facteur et complétée par le test post-hoc Ducun. Dans le cas de l'étude *in-Vivo*, la comparaison des moyennes des sept groupes de rats a été réalisée via le test ANOVA à un facteur, suivi du test post-hoc Tukey afin de classer et comparer les moyennes. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives lorsque le p value est inférieur 0,05 dans l'ensemble des analyses statistiques. Les constatations suivantes ont été retenues :

- Pour un  $P < 0,05$  la différence est significative (\*)
- Pour un  $p < 0,01$  la différence est très significative (\*\*)
- Pour un  $p < 0,001$  la différence est hautement significative (\*\*\*)

# **CHAPITRE -II-**

## **Résultats**

---

# **ETUDE -I-*IN VITRO***

**Evaluation des activités  
biologiques des plantes  
médicinales**

---

## Chapitre II: Résultats

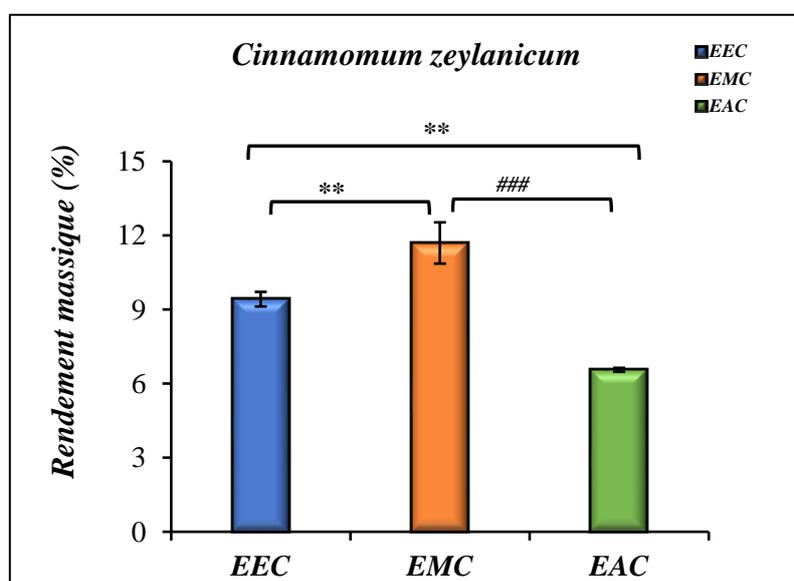
### II.1 Etude -I-In vitro : Evaluation des activités biologiques des plantes médicinales

#### II.1.1 Rendement d'extraction

Les rendements obtenus après l'extraction des composés phénoliques de *C. zeylanicum* (cannelle), *Z.officinale Roscoe* (gingembre) et *A. herba-alba Asso.* (Armoise blanche), en utilisant les trois solvants (méthanol, éthanol, eau) et dans les memes conditions experimenrales sont représentés dans les figures ci-dissous. Ils sont exprimés en pourcentage massique.

##### II.1.1.1 Rendement d'extraction de la cannelle

Les résultats des rendements d'extraction des composés phénoliques issus de la cannelle en utilisant les trois solvants (méthanol, éthanol pur et eau) sont illustrés dans la figure29, ils dévoilent que l'extrait méthanolique de la cannelle (EMC) présente le rendement le plus élevé évalué à  $11,69 \pm 0,83$  % par rapport à l'extrait éthanolique de la cannelle (EEC) avec un pourcentage de  $9,42 \pm 0,29$  %, la différence constatée est significative. L'extraction aqueuse (EAC) quant à elle dévoile le rendement le plus faible avec un pourcentage de  $6,55 \pm 0,07$  %.

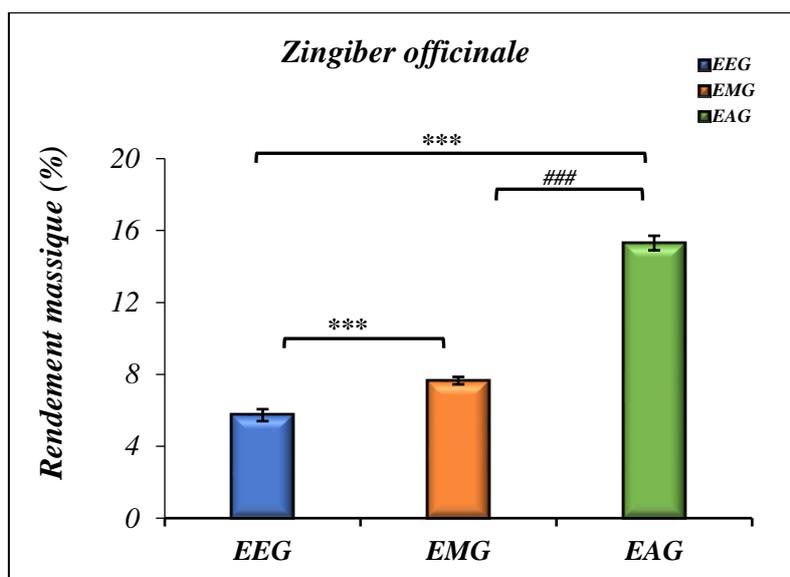


**Figure 29:** Rendement d'extraction des composés phénoliques de *Cinnamomum zeylanicum* (Cannelle)

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ).(\*) Différence significative EEC vs EMC et EAC ; (#) Différence significative EMC vs EAC ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

### II.1.1.2 Rendement d'extraction du gingembre

Les résultats des rendements d'extraction des composés phénoliques du gingembre en utilisant les mêmes solvants précédemment cités, sont représentés dans la figure 30. On constate que l'extrait aqueux issu du gingembre enregistre le rendement le plus élevé estimé à  $(15,30 \pm 0,40 \%)$  en comparaison avec les rendements des extraits éthanolique (EEG) et méthanolique (EMG), on note respectivement  $5,73 \pm 0,33 \%$  et  $7,65 \pm 0,20 \%$ , la différence remarquée est hautement significative avec un  $p < 0,001$ .

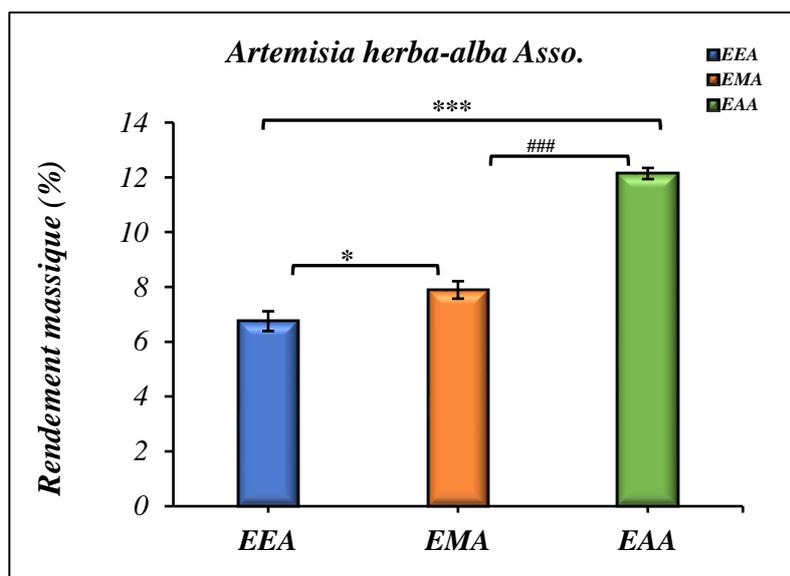


**Figure 30:** Rendement d'extraction des composés phénoliques de *Zingiber officinale* (Gingembre)

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative EEG vs EMG et EAG ; (#) Différence significative EMG vs EAG ; EEG : extrait éthanolique de *Zingiber officinale*; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* ; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

### II.1.1.3 Rendement d'extraction d'armoise blanche

La figure 31 ci-dessous présente les rendements d'extraction des composés phénoliques issus d'armoise blanche (*Artemisia herba alba Asso*). Le meilleur rendement obtenu a été constaté avec l'extrait aqueux d'armoise blanche (EAA) à l'égard de celui-ci est de l'ordre de  $12,14 \pm 0,20 \%$ . Ce dernier est différent de manière hautement significative ( $p < 0,001$ ) en opposition aux deux autres extraits à savoir méthanolique et éthanolique (EMA, EEA) avec des rendements de  $6,75 \pm 0,36 \%$  et  $7,89 \pm 0,31 \%$ , respectivement.



**Figure 31:** Rendement d'extraction des composés phénoliques d'*Artemisia herba alba* Asso. (Armoise blanche)

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative EEA vs EMA et EAA ; (#) Différence significative EMA vs EAA ; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EAA : extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* Asso.

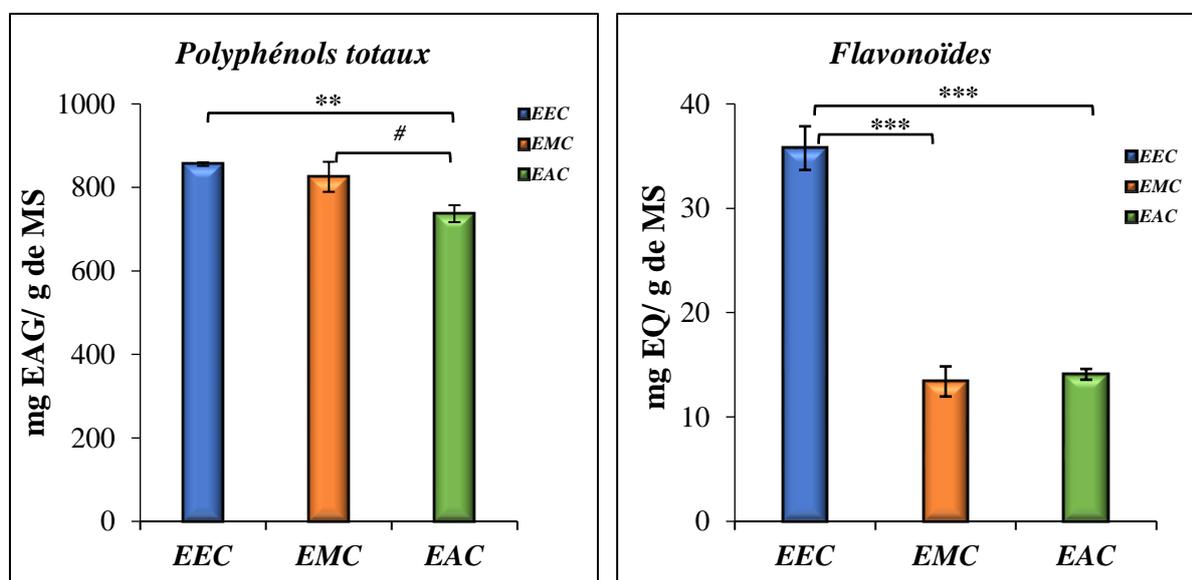
En résumé et en comparant les différents extraits issus des trois plantes, *C. zeylanicum* (cannelle) présente le rendement d'extraction le plus élevé en utilisant le méthanol et l'éthanol comme solvant d'extraction. La différence enregistrée est hautement significative ( $P < 0,001$ ) en comparaison aux extractions méthanoliques et éthanoliques de *Zingiber officinale* (Gingembre) et *Artemisia herba-alba* (Armoise blanche). Toutefois une meilleure extraction aqueuse a été constatée en utilisant avec *Z. officinale* (EAG) avec une différence hautement significative par rapport aux extraits aqueux d'*A. herba-alba* (EAA) et de *C. zeylanicum* (EAC) on note  $15,30 \pm 0,4$  % versus  $12,14 \pm 0,2$  %,  $6,55 \pm 0,07$  % respectivement.

### II.1.2 Quantification des composés phénoliques

L'analyse quantitative des composés phénoliques totaux (PT) et des flavonoïdes des différents extraits issus de *C. zeylanicum*, *Z. officinale* et *A. herba-alba* Asso, en utilisant la technique de macération avec des solvants différents (éthanol, méthanol absolu et l'eau distillée), à mener à des résultats très différents. Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes varient considérablement entre les trois plantes et d'un solvant à l'autre.

### II.1.2.1 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes de la cannelle

Les résultats de la quantification des polyphénols et flavonoïdes de la cannelle sont illustrés dans la figure 32. On constate que les deux extraits éthanolique et méthanolique issus de la cannelle (EEC ; EMC) présentent des teneurs relativement similaires ( $855,89 \pm 4,14$  et  $825,30 \pm 36,02$  mg EAG/g de MS, respectivement), ces teneurs sont supérieures à celle observée avec l'extrait aqueux (EAC) celui enregistre une teneur de  $737,13 \pm 20,26$  mg EAQ/g de MS. Cependant, des résultats de la quantification des flavonoïdes il en ressort que l'extrait éthanolique de la cannelle (EEC) donne une teneur en flavonoïdes supérieure à celle obtenue avec les deux extraits méthanolique et aqueux (EMC et EAC) avec des quantités de  $35,67 \pm 2,09$  versus  $13,40 \pm 1,44$  et  $14,09 \pm 0,51$  mg EQ/g de MS respectivement, cette divergence est hautement significative avec un  $P < 0,0001$ .



**Figure 32:** Teneur en composés phénoliques totaux (A) et flavonoïdes (B) de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelle)

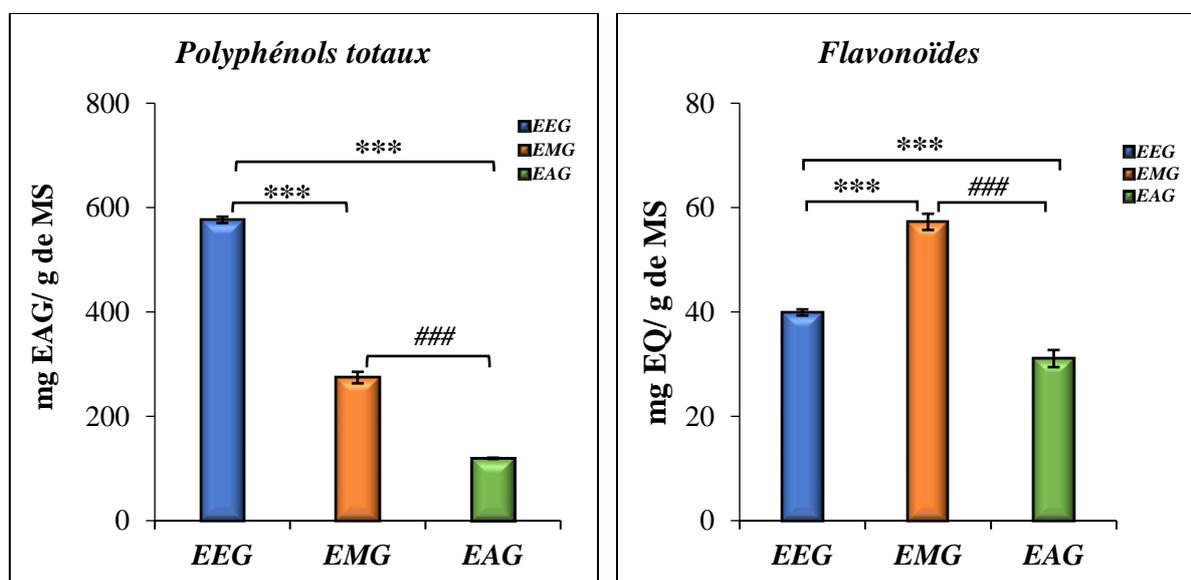
(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative EEC Vs EAC ; (#) Différence significative EMC Vs EAC ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

### II.1.2.2 Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes du gingembre

Les résultats de la quantification des polyphénols et des flavonoïdes concernant le gingembre sont présentés dans la figure 33. De ces résultats, on constate que l'extraction éthanolique du gingembre (EEG) donne une meilleure teneur en polyphénols totaux d'ordre de  $576,46 \pm 6,02$  mg EAQ/g de MS celle-ci est hautement significativement supérieure à l'extrait

méthanolique de gingembre (EMG) avec une teneur de  $274,19 \pm 10,96$  mg EAQ/g de MS, et à celle de l'extrait aqueux EAG on note de  $119,45 \pm 1,18$  mg EAQ/g de MS. Néanmoins, nous remarquons une différence hautement significative entre l'EMG vs l'EAG avec un P value de 0,0001.

Aussi, il apparait clairement dans la figure ci-dessous que la teneur en flavonoïdes la plus élevée est obtenue avec EMG soit une teneur de  $57,26 \pm 1,55$  mg EQ/g de MS, cette dernière est hautement significative par rapport l'EEG de  $39,90 \pm 0,58$  mg EQ/g de MS et de l'EEA avec une teneur de  $31,06 \pm 1,64$  mg EQ/g de MS. Les différences constatées sont hautement significatives.



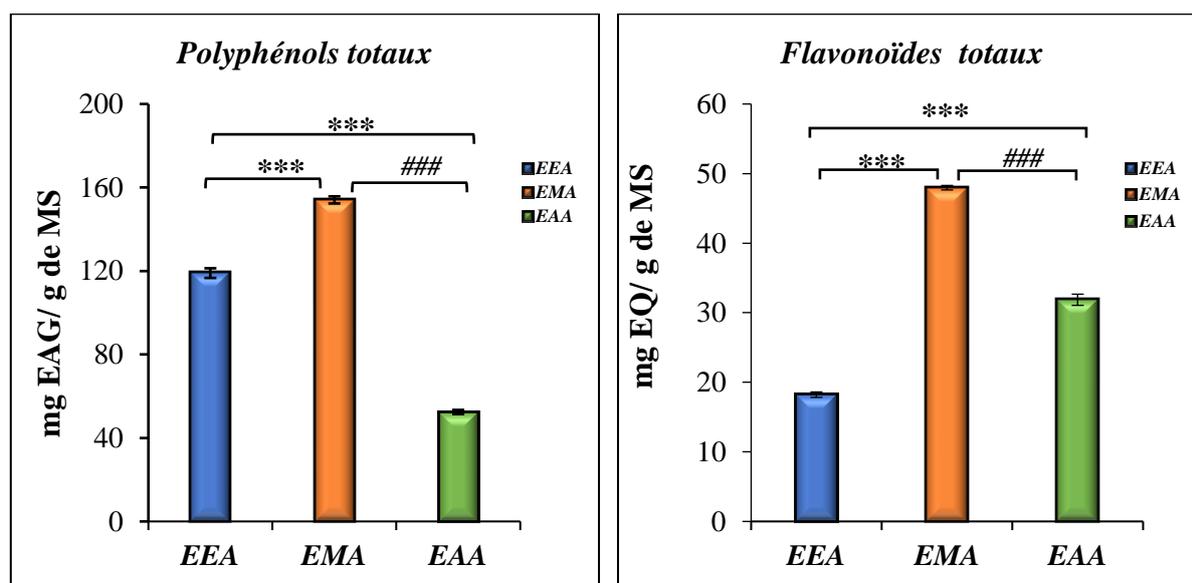
**Figure 33:** Teneur en composés phénoliques totaux (A) et flavonoïdes (B) de *Zingiber officinale* (gingembre)

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative EEG vs EMG et EAG ; (#) Différence significative EMG vs EAG ; EEG : extrait éthanolique de *Zingiber officinale* ; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* ; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

### II.1.2.3 Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux d'armoise blanche

Les résultats des teneurs en composés phénoliques provenant de l'armoise blanche tels qu'illustrés dans la figure 34, démontrent que l'extrait méthanolique (EMA) enregistre grande valeur la plus élevée, atteignant  $154,06 \pm 1,70$  mg EAG/g de MS. La même tendance est observée pour la teneur totale en flavonoïdes totaux avec une teneur enregistrée à  $47,97 \pm 0,32$  mg EQ/g de MS, les différences constatées entre ces teneurs et celles de l'extrait éthanolique absolu (EEA) et l'extrait aqueux l'EAA sont hautement significative ( $P < 0,001$ ). En effet,

l'EEA enregistre une quantité en polyphénols en flavonoïdes de l'ordre de  $118,98 \pm 2,31$  et  $18,22 \pm 0,31$  mg EQ/g de MS, respectivement. En revanche, l'EAA présente une teneur relativement faible en polyphénol par rapport aux deux extraits alcooliques précédemment mentionnés, on note une valeur de  $(52,44 \pm 0,99$  mg EAG/g de MS) et une quantité de flavonoïdes totaux de  $31,86 \pm 0,80$  mg EQ/g de MS. Ces variations de teneur sont hautement significatives par rapport aux deux extraits précédemment cités avec un  $P < 0,001$ .



**Figure 34:** Teneur en composés phénoliques totaux(A) et flavonoïdes (B) de Artemisia herba alba Asso (armoise blanc)

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative EEA vs EMA et EAA ; (#) Différence significative EMA vs EAA ; EEA : extrait éthanolique d'Artemisia herba-alba Asso ; EMA : extrait méthanolique d'Artemisia herba-alba Asso ; EAA : extrait aqueux d'Artemisia herba-alba Asso.

Sur la base de l'ensemble des résultats mentionnés antérieurement nous pouvons conclure que les extraits les plus riches en polyphénols totaux sont ceux issus de *C. zeylanicum* en comparaison avec les deux autres plantes *Z. officinale* Roscoe et *A. herba-alba* Asso. En effet, une différence hautement significative est observée entre les différents extraits éthanoliques, à savoir l'extrait éthanolique de cannelle (EEC) versus l'extrait éthanolique du gingembre (EEG) et de l'armoise blanche (EEA). Les valeurs du P sont dans l'ordre 0,0001, 0,00008. De plus, les concentrations en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait méthanolique de la cannelle est significativement supérieur par rapport aux deux autres extraits méthanoliques du gingembre et de l'armoise blanche avec un P de 0,0001 et 0,00008, respectivement.

D'autre part et d'après les résultats de l'analyse comparative des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des trois solvants utilisés pour les trois plantes, il a été observé que l'éthanol

est le solvant qui permet d'obtenir une meilleure extraction avec les teneurs les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes. Une différence a été constaté entre l'EEC *versus* EMC et entre EEG *versus* EMG avec des valeurs de P 0,0001 et 0,0001 dans l'ordre. Ceci indique que cette différence est statistiquement hautement significative entre ces deux solvants. Par contre, l'extraction aqueuse avec les trois plantes représente fréquemment la plus faible teneur en polyphénols totaux. Aussi, les résultats de la quantification des flavonoïdes totaux montrent que l'extraction méthanolique de gingembre (EMG) possède la teneur la plus élevée en flavonoïdes totaux par rapport à l'extrait méthanolique de la cannelle (EMC) et de l'armoise blanche (EMA). En revanche, on remarque une différence hautement significative entre l'extrait méthanolique d'armoise blanche et de la cannelle avec des teneurs de  $47,97 \pm 0,32$  et  $13,40 \pm 1,44$  mg EQ/g de MS, respectivement. Une différence significative de la teneur en flavonoïdes a signalé entre l'EEG et l'EEC avec un p de 0,03. Cependant, une différence hautement significative a enregistré de l'EEA en comparaison avec l'EEC (P de 0,0001) et l'EEG (P de 0,00008).

Relativement, l'extraction aqueuse est hautement significativement ( $P < 0,001$ ) donne une faible teneur en flavonoïdes pour la cannelle en comparaison avec le gingembre et l'armoise blanche. Toutefois, aucune différence significative n'a été constatée entre l'extrait aqueux du gingembre (EAG) et d'armoise blanche (EAA) avec un P de 0,61. Cela suggère que l'utilisation du solvant organique tel que l'éthanol est plus efficace pour extraire les polyphénols et les flavonoïdes des plantes utilisées dans cette étude que l'extraction aqueuse.

### II.1.3 Evaluation des activités biologiques

#### II.1.3.1 Evaluation des activités antioxydantes

Il est bien établi que l'activité antioxydante des extraits de plantes est attribuable à leurs composants polyphénoliques dotés de propriétés redox. Ces composés agissent en tant que donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons ce qui leur permet ainsi de neutraliser les radicaux libres, la désactivation de l'oxygène singulet et/ou la décomposition des peroxydes (Stoilova et al., 2007). Ils ont la capacité de retarder ou d'inhiber l'étape d'initiation ou d'interrompre l'étape de propagation de la peroxydation lipidique, réduisant ainsi la formation et l'accumulation des produits de décomposition et les dommages moléculaires oxydatifs au niveau des cellules (Gülçin, 2011 ; Bellik et al., 2013). Dans de nombreuses études l'activité biologique elle-même étroitement liées aux propriétés antioxydantes et souvent attribuées à la

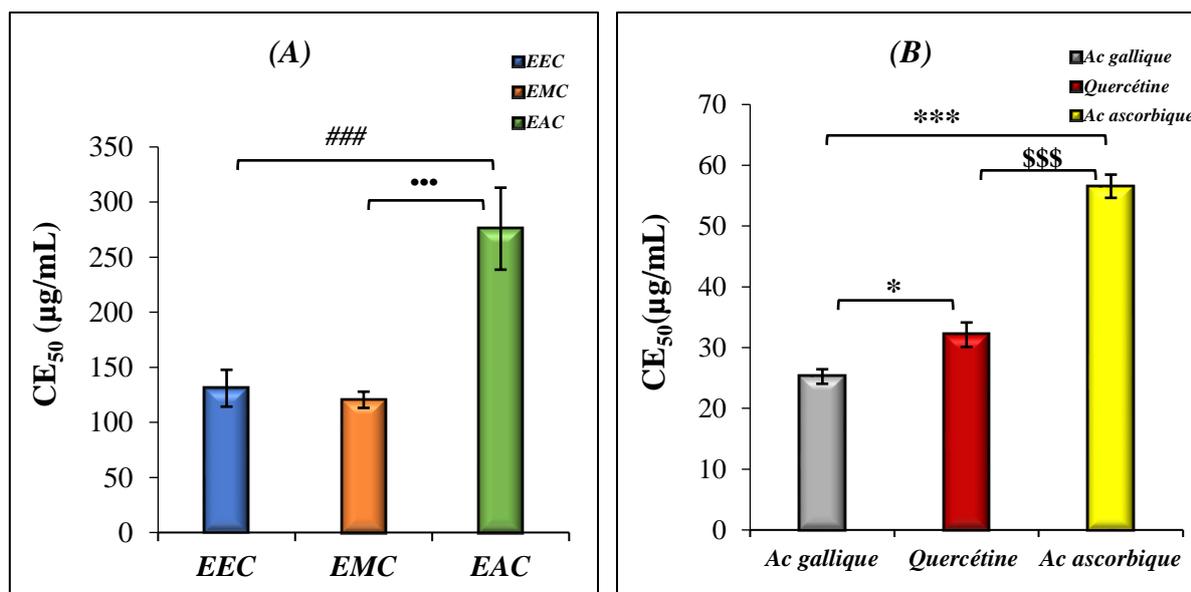
quantité et la qualité des composés polyphénoliques présents dans le matériel végétal (Tohma et al., 2017 ; Luca et al., 2020).

Il a été constaté en se basant sur des recherches bibliographiques, que la caractérisation du potentiel antioxydant d'une substance et/ou des extraits phénoliques ne peuvent pas se baser et se limiter uniquement à une seule méthode et ce en raison de la complexité des processus d'oxydation. Il est donc nécessaire de combiner plusieurs tests complémentaires. C'est pour cette raison que la présente étude s'intéresse à quatre méthodes différentes d'évaluation du potentiel antioxydant, à savoir : la mesure du pouvoir réducteur de fer (FRAP), la capacité de piéger le radical libre DPPH<sup>\*</sup>, l'activité de scavenger de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'activité anti-péroxydation lipidique (TBARS). Les différents tests ont été menés avec des standards, des antioxydants de référence, (l'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique) ainsi que et les différents extraits phénoliques issus des trois plantes étudiées : *C. zeylanicum* (cannelle), *Z. officinale* (gingembre) et *A. herba-alba* Asso (armoïse blanche).

### II.1.3.1.1 Pouvoir réducteur de fer (*Ferric Reducing Antioxydant Power*)

#### II.1.3.1.1.1 Pouvoir réducteur de fer des extraits de la cannelle

Les résultats concernant l'activité réductrice des extraits de cannelle, et des antioxydants de références sont illustrés dans la figure 35. On constate que le pouvoir réducteur d'EMC est supérieur de manière significative à celui enregistré avec EEC et EAC. On note des CE<sub>50</sub> de l'ordre de  $120,48 \pm 7,34$ ,  $130,99 \pm 16,71$  et  $275,82 \pm 37,21 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. Néanmoins, cette capacité réductrice du fer reste faible par rapport à celle des antioxydants standards (l'acide gallique, quercétine et l'acide ascorbique). Ces derniers enregistrent une capacité réductrice élevée de manière hautement significative ( $p < 0,001$ ) par rapport aux extraits. Un classement basé sur le potentiel réducteur (du plus puissant vers le plus faible) a été établi comme suit : Acide gallique (CE<sub>50</sub> =  $25,24 \pm 1,19 \mu\text{g/mL}$ ) ; Quercétine (CE<sub>50</sub> =  $32,12 \pm 2,01 \mu\text{g/mL}$ ), l'acide ascorbique (CE<sub>50</sub> =  $56,55 \pm 1,91 \mu\text{g/mL}$ ), l'EMC ( $120,48 \pm 7,34 \mu\text{g/mL}$ ), l'EEC ( $130,99 \pm 16,71 \mu\text{g/mL}$ ) et l'EAC ( $275,82 \pm 37,21 \mu\text{g/mL}$ ).



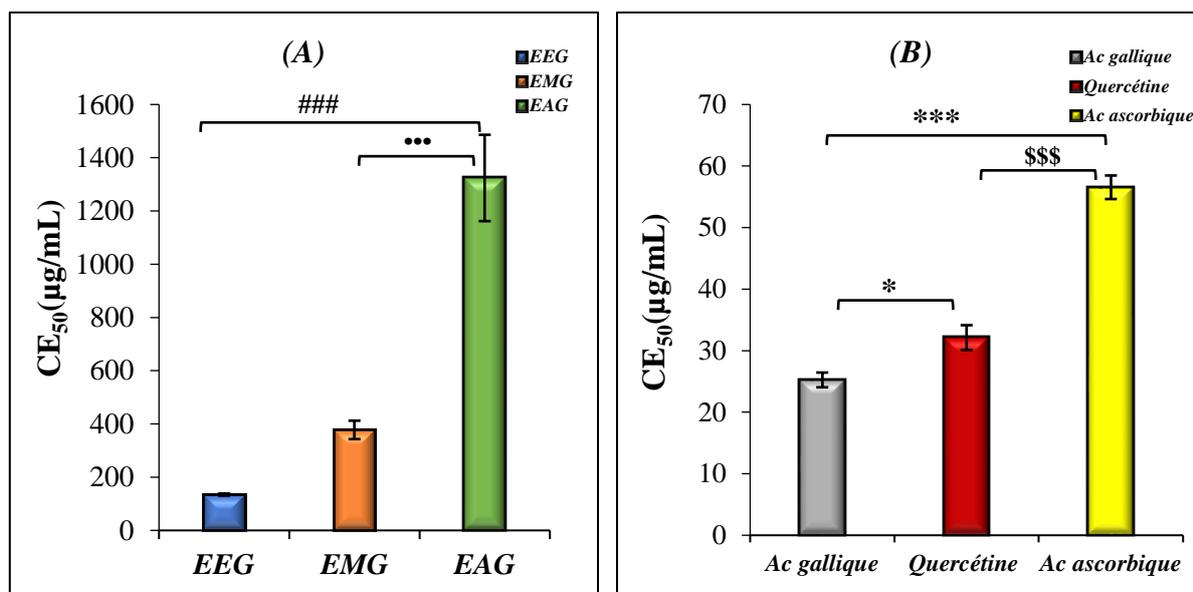
**Figure 35:** Pouvoir réducteur des extraits de *Cinnamomum zeylanicum* (A) et de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimé en CE<sub>50</sub>

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (\$) Différence significative Quercétine vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative vs EEC et EMC ; (•) Différence significative EMC Vs EAC ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

#### II.1.3.1.1.2 Pouvoir réducteur de fer des extraits du gingembre

Le pouvoir réducteur de différents extraits phénoliques de *Z. officinale* (gingembre) : extrait éthanolique (EEG), extrait méthanolique (EMG), l'extrait aqueux (EAG) et les antioxydants standards sont représentés dans la figure 36.

L'ensemble de ces résultats, indiquent que l'extrait éthanolique (EEG) présente une activité antioxydante, reflétée par la capacité reductrice du fer, plus élevée et très significative en l'opposant aux extraits méthanolique (EMG) et aqueux (EAG) et ce avec des concentrations inhibitrice de l'ordre de  $134,75 \pm 4,12 \mu\text{g/mL}$  ;  $377,68 \pm 34,57 \mu\text{g/mL}$  ;  $1324,09 \pm 162,10 \mu\text{g/ml}$  respectivement. Néanmoins, ce pouvoir de réduction du fer est largement faible par rapport au pouvoir réducteur des substances antioxydantes standards. Ceci est constaté par le biais de leurs CE<sub>50</sub> citées précédemment. L'acide gallique présente un fort pouvoir réducteur comparativement à nos extraits de gingembre et des autres antioxydants de références compte tenu de sa faible CE<sub>50</sub>.

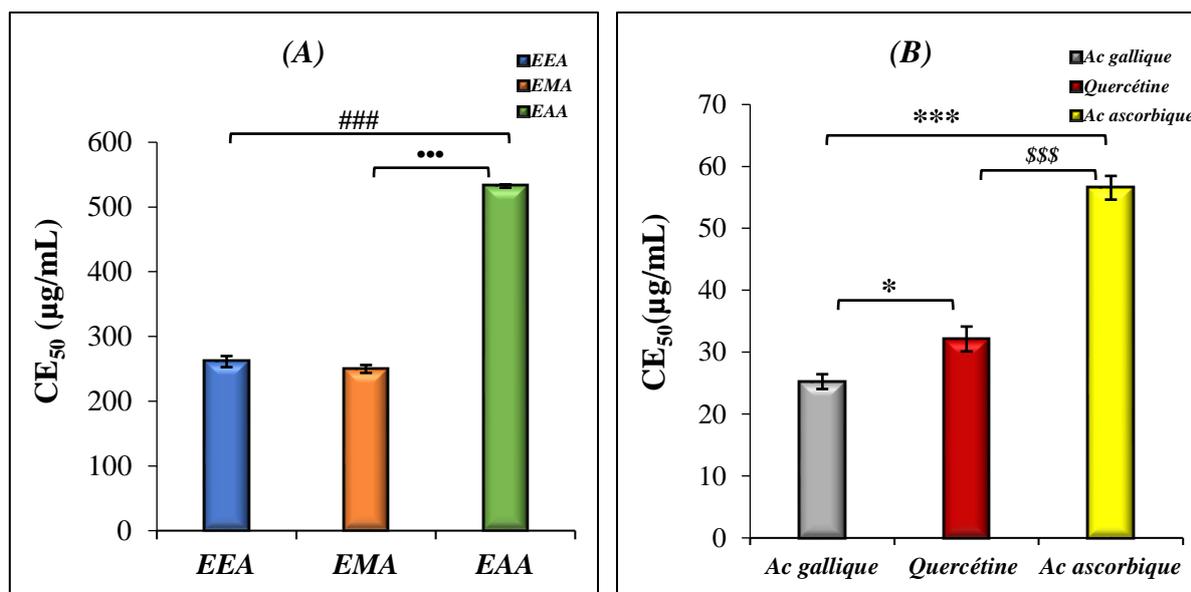


**Figure 36:** Pouvoir réducteur des extraits de *Zingiber officinale* (A) et de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique(B) exprimé en CE<sub>50</sub>

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (\$) Différence significative Quercétine vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEG vs EMG ; (\*) Différence significative EMG vs EAG ; EEG : extrait éthanolique de *Zingiber officinale* ; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* ; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

### II.1.3.1.3 Pouvoir réducteur de fer des extraits d'armoise blanche

La mesure du pouvoir réducteur de trois extraits issus d'armoise blanche est illustrée ci-dessous dans la figure 37. Ces résultats indiquent que les deux extraits méthanolique (EMA) et éthanolique (EEA) exercent une capacité de réduction du fer identiques celles-ci sont représentées par des CE<sub>50</sub> de  $249,88 \pm 6,07$  et  $261,59 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. Néanmoins, l'extrait aqueux d'armoise blanche montre une activité antioxydante la plus faible en l'opposant aux deux extraits (EMA et EEA) avec une CE<sub>50</sub> de  $532,34 \pm 2,52 \mu\text{g/mL}$ , la différence constatée est hautement significative. Ces capacités restent toujours inférieures à celles obtenues avec les antioxydants de référence l'acide gallique, quercétine et acide ascorbique avec des CE<sub>50</sub> de  $25,24 \pm 1,19$ ,  $32,12 \pm 2,01$  et  $56,55 \pm 1,91 \mu\text{g/mL}$ , respectivement.



**Figure 37:** Pouvoir réducteur des extraits d'*Artemisia herba alba* Asso. (A) et de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique(B) exprimé en CE<sub>50</sub>

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (\$) Différence significative Quercétine vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEA vs EMA et EAA ; (\*) Différence significative EMA vs EAA ; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EAA : extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* Asso.

D'après les résultats décrite ci-dessus, on conclure que la cannelle possède un pouvoir réducteur de fer le plus puissant par rapport les deux plantes médicinales à savoir : le gingembre et l'armoise blanche sur les trois extraits ; sachant que l'extrait éthanolique de la cannelle possède une capacité réductrice de fer identique à celle du gingembre sans aucune différence significative. Néanmoins, une différence significative ( $p < 0,01$ ) est observée en comparant l'EEC et EEA. Il va de même pour l'EMC et l'EAC, ils possèdent les plus faibles CE<sub>50</sub> ce qui signifie une forte capacité de réduire le fer en comparaison avec l'extrait méthanolique et aqueux du gingembre et de l'armoise blanche.

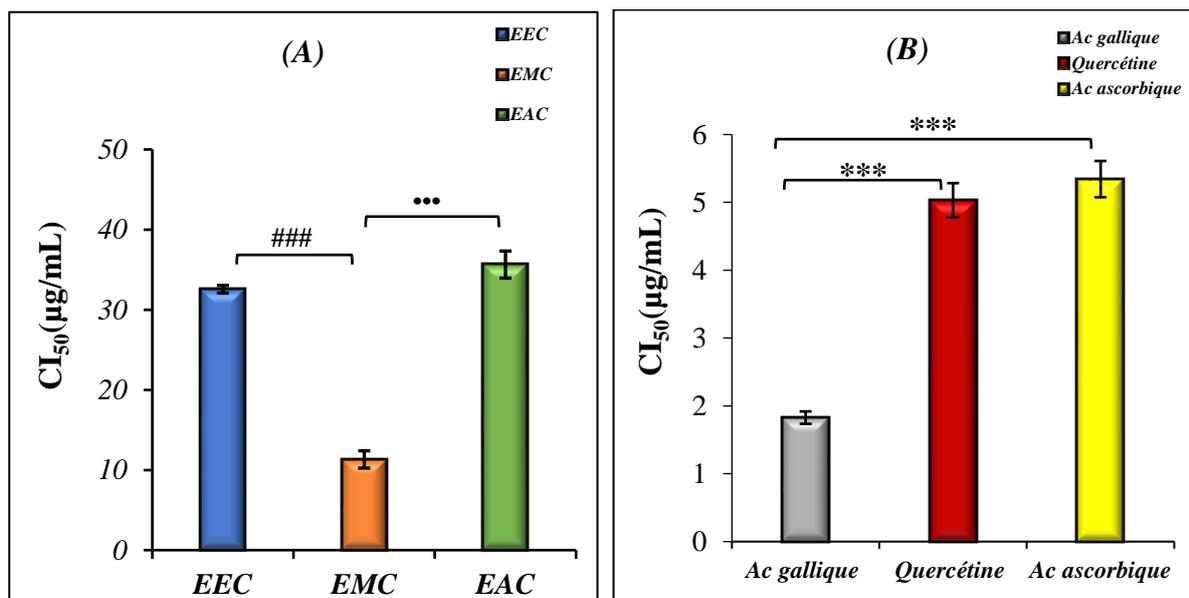
#### II.1.3.1.2 Evaluation de la capacité de piéger le radical libre DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil)

En faisant varier la concentration des extraits et en calculant pour chaque concentration, on a établi les profils d'activité antiradicalaire présentés ci-dessous et exprimés sous forme de CI<sub>50</sub> (µg/mL) on rappelle que la CI<sub>50</sub> représente la quantité de la substance nécessaire à l'inhibition de la moitié de la quantité initiale de radicaux présents en l'occurrence le DPPH•. En effet, la CI<sub>50</sub> est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, plus cette valeur

est basse, plus l'activité antioxydante est grande. Ces valeurs ont été déterminées graphiquement par la régression exponentielle des extraits et des solutions standards.

### II.1.3.1.2.1 Activité antiradicalaire des extraits de la cannelle

L'activité antioxydante des différents extraits de cannelle évaluée par le biais du piégeage du radical libre DPPH•, a été évaluée dans les mêmes conditions que celles des antioxydants standards (acide gallique, Quercétine et acide ascorbique). Ces résultats sont exprimés en concentration inhibitrice à 50% (CI<sub>50</sub>). La figures 38 illustrent les différentes CI<sub>50</sub> obtenues. On constate que le potentiel antiradicalaire d'EMC est supérieur de manière significative à celui enregistré avec EEC et EAC. On note des CI<sub>50</sub> de l'ordre de  $11,31 \pm 1,07 \mu\text{g/mL}$  versus  $32,55 \pm 0,47$  et  $35,63 \pm 1,69 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. L'activité antiradicalaire des substances antioxydantes standards est supérieure à celle obtenu par les extraits de la cannelle, avec des concentrations inhibitrices suivantes :  $1,82 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$  pour l'acide gallique,  $5,03 \pm 0,66 \mu\text{g/mL}$  pour la quercétine et  $5,34 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$  pour l'acide ascorbique.

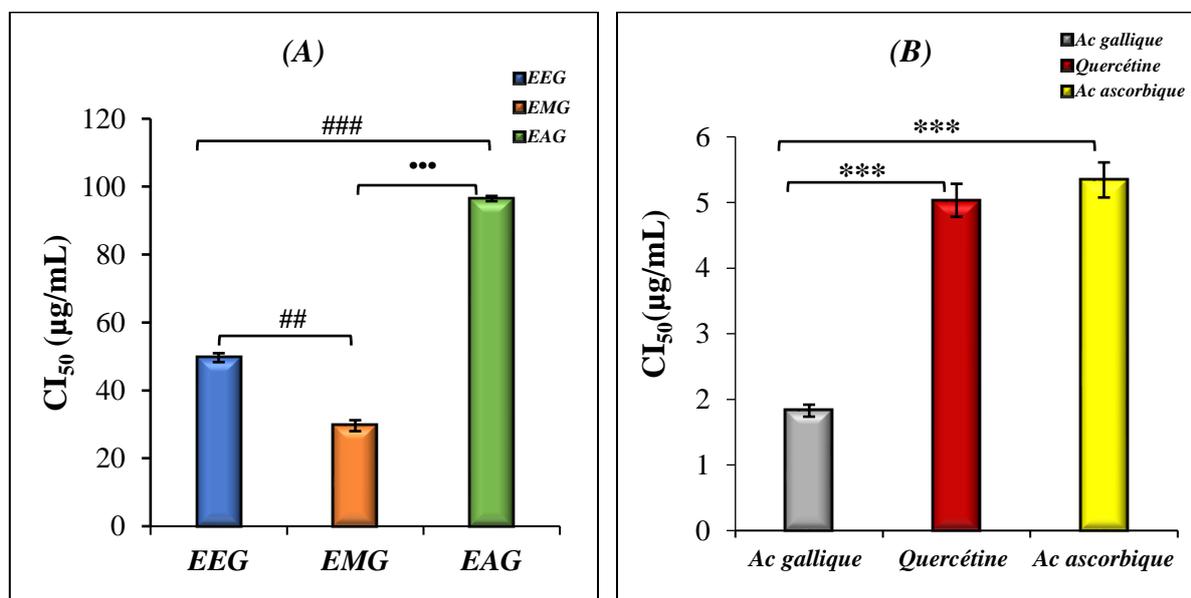


**Figure 38:** Activité antiradicalaire du radical DPPH• de différents extraits de *Cinnamomum zeylanicum*(A), de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimés en CI<sub>50</sub>

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± Erreur standard (n = 6). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEC vs EMC ;(\*) Différence significative EMC vs EAC ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

### II.1.3.1.2.2 Activité antiradicalaire du gingembre

La figure 39 indique les résultats de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup> des extraits de *Z. officinale* (gingembre) ainsi que les antioxydants standards exprimés en CI<sub>50</sub>. D'après les résultats obtenus, l'EMG représente l'extrait le plus actif avec une CI<sub>50</sub> de l'ordre de **29,60 ± 1,60 µg/mL**, les deux autres extraits, éthanolique et aqueux, montrent une activité significativement inférieure à celle de l'EMG avec des concentrations évaluées à **49,64 ± 1,31 µg/mL** et à **96,49 ± 0,76 µg/mL** respectivement. Toutefois, ce pouvoir reste significativement inférieur à celui constaté avec les antioxydants de référence (voir figure 39). Ces derniers montrent une activité antiradicalaire puissante appréciée par des CI<sub>50</sub> de l'ordre de **1,82 ± 0,17 µg/mL** ; **5,03 ± 0,66 µg/mL** et **5,34 ± 0,18 µg/mL** pour Acide gallique, Quercétine et l'acide ascorbique de manière respective.



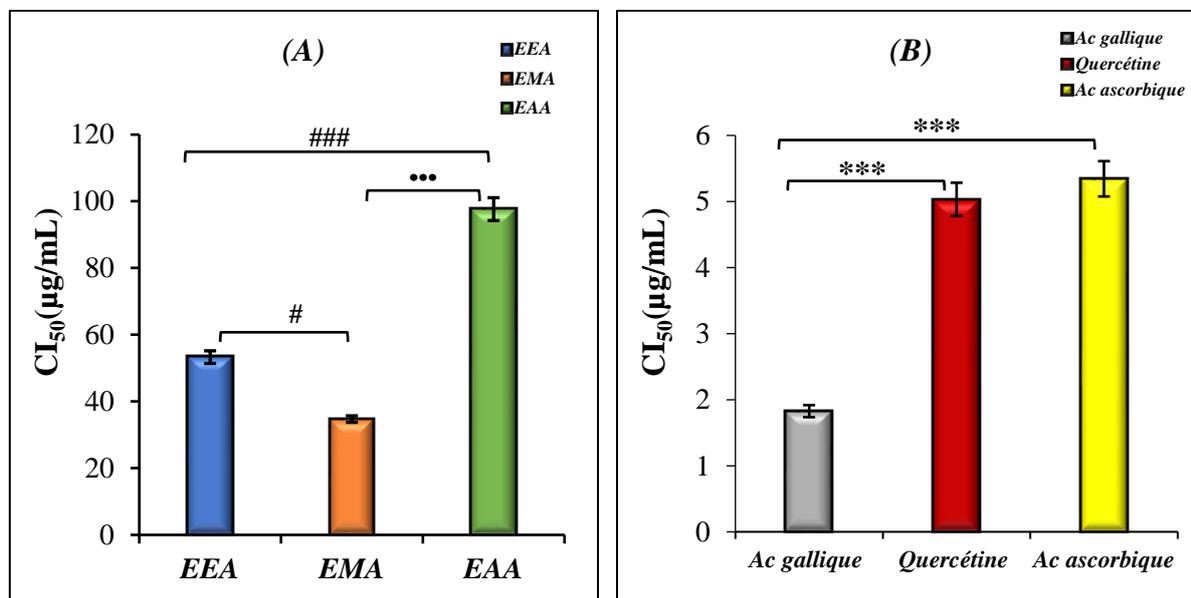
**Figure 39:** Activité antiradicalaire du radical DPPH<sup>•</sup> de différents extraits de *Zingiber officinale* (A), de l'acide gallique, de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimé en CI<sub>50</sub>

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± erreur standard avec n=6). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEG vs EMG et EAG ; (•) Différence significative EMG vs EAG ; EEG : extrait éthanolique de *Zingiber officinale* ; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* ; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

### II.1.3.1.2.3 Activité antiradicalaire d'armoise blanche

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de l'armoise blanche est indiquée dans la figure 40. À la lumière de ces résultats on constate que l'extrait méthanolique (EMA) représente l'activité la plus puissante par rapport les deux extraits éthanolique et aqueux (EEA et EAA) et ce avec une CI<sub>50</sub> significativement faible (**34,71 ± 0,97 versus 53,29 ± 1,89 et**

$97,65 \pm 3,42$  %  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement). L'activité de piégeage des extraits issus de cette plante reste relativement faible comparativement avec les antioxydants de référence à savoir l'acide gallique, quercétine et l'acide ascorbique, on note des  $\text{CI}_{50}$  de l'ordre :  $1,82 \pm 0,17$  ;  $5,03 \pm 0,66$  et  $5,34 \pm 0,18$   $\mu\text{g/mL}$  respectivement.



**Figure 40:** Activité antiradicalaire du radical DPPH• de différents extraits d'*Artemisia herba alba* Asso. (A), de l'acide gallique de la quercétine et de l'acide ascorbique (B) exprimé en  $\text{CI}_{50}$

(Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne  $\pm$  SD avec  $n = 6$ ). (\*) Différence significative Ac gallique vs Quercétine et Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEA vs EMA et EAA ; (•) Différence significative EMA vs EAA ; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba* Asso ; EAA : extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* Asso.

L'activité antiradicalaire des plantes étudiées précédemment à savoir la cannelle le gingembre et l'armoise blanche, indique que l'extrait méthanolique issu de ces dernières présente l'activité de piégeage du radical libre DPPH• la plus puissante par rapport aux extraits éthanolique et aqueux. Avec une différence hautement significative. Parmi les trois plantes, la cannelle que ce soit l'EMC, l'EEC ou EAC, reste la plante la plus puissante en termes de piégeage du radical DPPH•, le gingembre suit ensuite avec ses extraits (EMG, EEG et EAG). Enfin, l'armoise blanche présente la capacité la plus faible à éliminer le radical DPPH•, que ce soit avec l'EMA, l'EEA ou l'EAA.

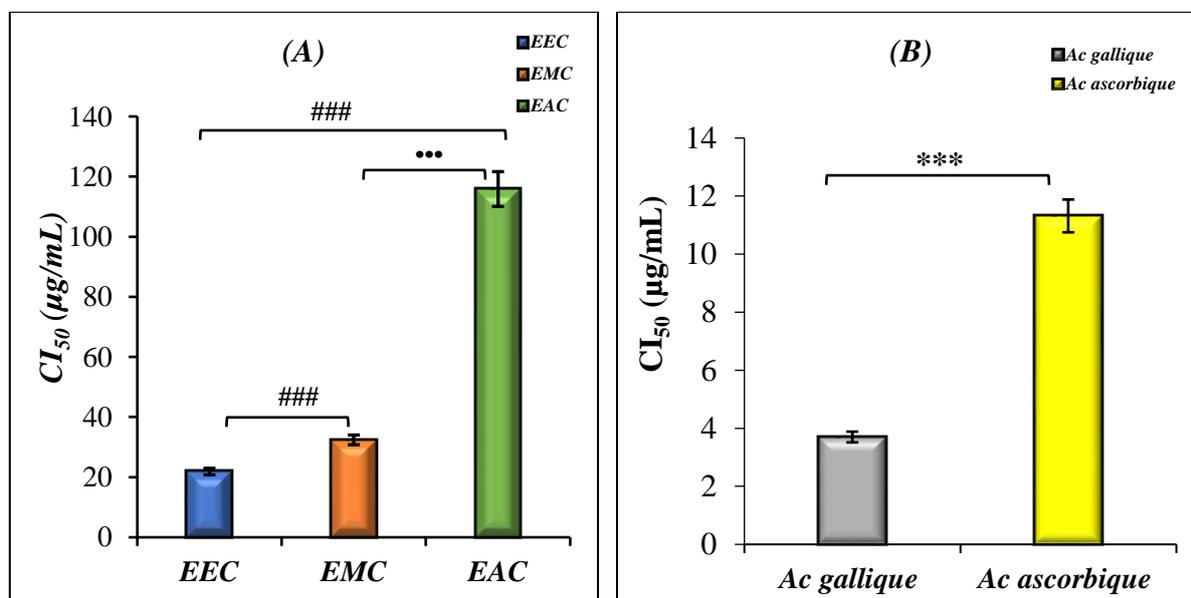
### II.1.3.1.3 Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Le peroxyde d'hydrogène  $\text{H}_2\text{O}_2$  est une espèce d'oxygène réactif non radicalaire qui traverse facilement les membranes cellulaires par diffusion et peut réagir avec les métaux de transition lorsqu'il se trouve dans les cellules en générant des radicaux hydroxyles ( $\text{HO}\cdot$ )(Abele-

Oeschger et al., 1997 ; Da Rosa et al., 2008). A des concentrations élevées, ces radicaux induisent la peroxydation des lipides et des protéines, affectant l'intégrité cellulaire (Abele-Oeschger et al., 1997 ; Hao et al., 2016). C'est pour cette raison, l'exploration du comportement de nos extraits en présence de l' $H_2O_2$  demeure d'un grand intérêt. Les résultats de l'effet scavenger de l' $H_2O_2$  sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l' $H_2O_2$  ( $CI_{50}$ ). Les valeurs de la  $CI_{50}$  ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire des extraits et des solutions standards.

### II.1.3.1.3.1 Capacité de neutralisation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) des extraits de la cannelle

La figure 41 illustre la concentration d'inhibition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) par le biais de différents extraits de *C. zeylanicum* et les antioxydants de références. Les résultats dévoilent que l'extrait EEC présente le potentiel neutralisant de  $H_2O_2$  le plus puissant avec une  $CI_{50}$  de  $21,87 \pm 0,40 \mu\text{g/mL}$  ; cette activité présente une différence hautement significative par rapport à l'EMC et l'EAC, ces derniers donnent des  $CI_{50}$  de l'ordre de  $32,40 \pm 0,93 \mu\text{g/mL}$  et  $115,85 \pm 1,97 \mu\text{g/mL}$ , respectivement. Toutefois, la capacité neutralisante de ces extraits phénoliques issus de la cannelle est significativement faible par rapport aux antioxydants standards on note pour l'acide gallique enregistré une  $CI_{50}$  de  $3,7 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$  et l'acide ascorbique une  $CI_{50}$  de  $11,31 \pm 0,80 \mu\text{g/mL}$ .



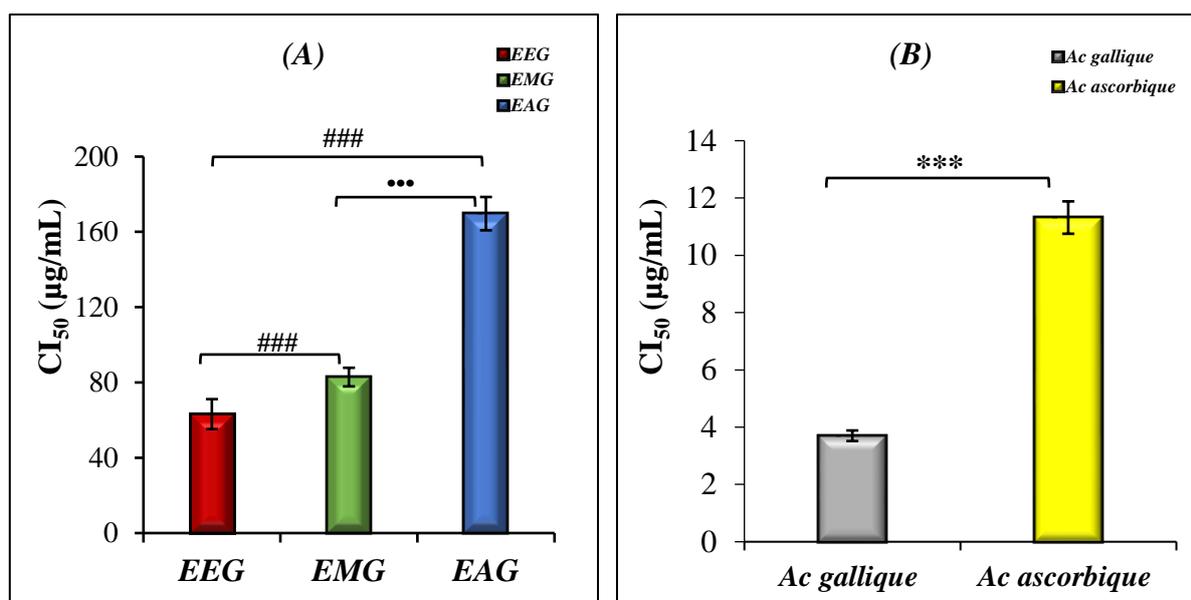
**Figure 41:** Activité piégeante du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) de différents extraits de *Cinnamomum zeylanicum* (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique (B) exprimé en  $CI_{50}$

(Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne  $\pm$  SD avec  $n = 6$ ). (\*) Différence significative Ac gallique vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEC vs EMC et EAC ; (\*) Différence significative EMC vs EAC ; EEC :

*extrait éthanolique de Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : *extrait méthanolique de Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : *extrait aqueux de Cinnamomum zeylanicum*

### II.1.3.1.3.2 Capacité de Neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) du gingembre

La figure suivante représente les concentrations inhibitrices 50 (CI<sub>50</sub>) du peroxyde d'hydrogène pour les différents extraits de gingembre ainsi que les antioxydants standards (acide gallique et l'acide ascorbique). Elle indique que l'EEG possède une activité de neutralisation très puissante vis-à-vis du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> celle-ci est supérieure de manière hautement significative à celle observée avec l'EMG et l'EAG. Les valeurs des CI<sub>50</sub> sont respectivement : **63,18 ± 7,96 versus 82,87 ± 4,93 et 169,68 ± 8,84 µg/mL** dans l'ordre. Il convient de noter que l'ensembles de ces valeurs restent significativement faible en comparaison avec celles des antioxydants de références , à savoir l'acide gallique et l'acide ascorbique des CI<sub>50</sub> sont de **3,7 ± 0,03 et 11,31 ± 0,80 µg/mL**, respectivement.

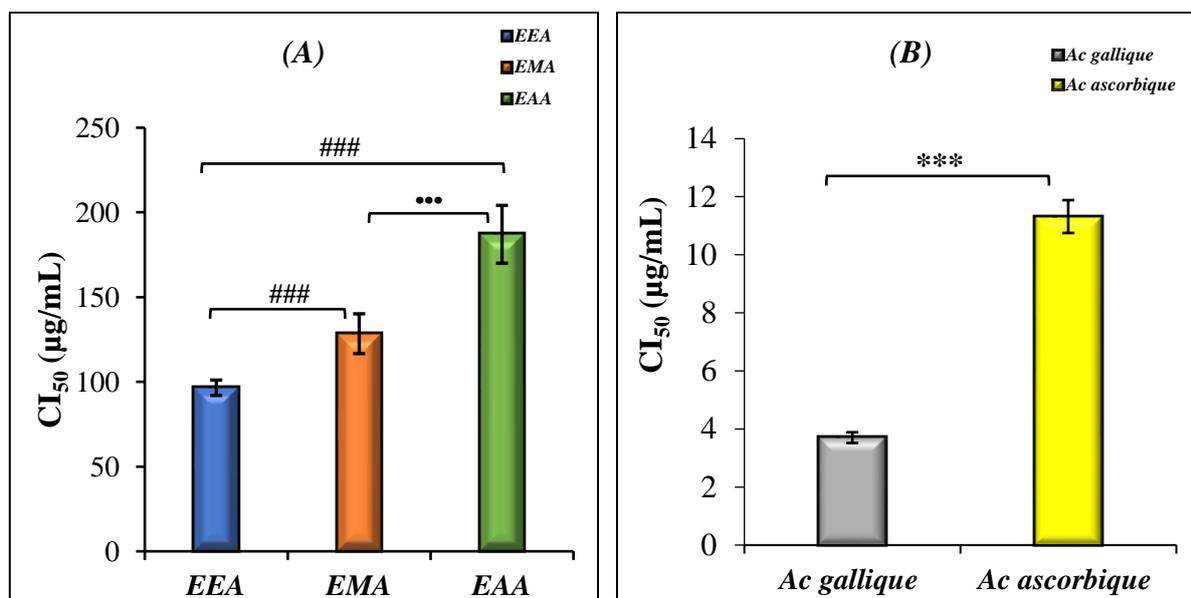


**Figure 42:** Activité de piégeante du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) de différents extraits de *Zingiber officinale* (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique (B) exprimée en CI<sub>50</sub>

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne ± erreur standard avec n=6. (\*) Différence significative Ac gallique vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEG vs EMG et EAG ; (•) Différence significative EMG vs EAG ; EEG : *extrait éthanolique de Zingiber officinale* ; EMG : *extrait méthanolique de Zingiber officinale* ; EAG : *extrait aqueux de Zingiber officinale*

### II.1.3.1.3.3 Capacité de Neutralisation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) des extraits d'armoise blanche

Les résultats de l'activité de neutralisation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les différents extraits issus d'*Artemisia herba-alba Asso* sont représentés dans la figure 43. On constate que l'extrait éthanolique (EEA) dévoile une forte capacité de neutraliser le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> avec une CI<sub>50</sub> évaluée à **96,54 ± 1,65 µg/mL**, ce qui diffère de manière hautement significative de l'extrait méthanolique (EMA) qui possède une CI<sub>50</sub> de **128,41 ± 1,40 µg/mL**. Tandis que, l'extrait aqueux (EAA) se caractérise par une faible activité de neutralisation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la CI<sub>50</sub> observée avec cet extrait est de **187,08 ± 7,95 µg/mL**, ce dernier présente une différence hautement significative par rapport aux deux extraits EEA et EMA. De plus, l'efficacité des extraits issus de l'armoise blanche est significativement inférieure aux standards qui affichent des CI<sub>50</sub> de l'ordre de : **3,7 ± 0,03 µg/mL** et **11,31 ± 0,80 µg/mL**, respectivement pour l'acide gallique et l'acide ascorbique.



**Figure 43:** Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) de différents extraits d'*Artemisia herba alba Asso*. (A), de l'acide gallique et de l'acide ascorbique (B) exprimé en CI<sub>50</sub>

(Les valeurs sont exprimées en tant que moyenne ± SD avec n = 6). (\*) Différence significative Ac gallique vs Ac ascorbique ; (#) Différence significative EEA vs EMA et EAA ; (\*) Différence significative EMA vs EAA ; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba Asso* ; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba Asso* ; EAA : extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba Asso*.

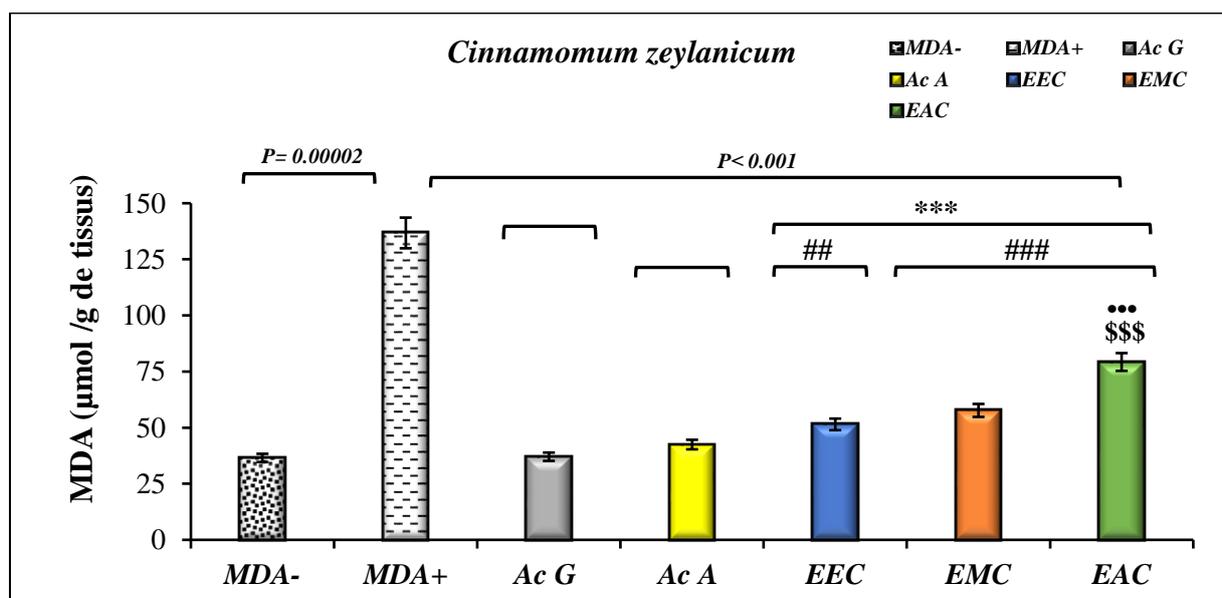
Il apparaît clairement d'après nos résultats que l'extraction alcoolique en utilisant l'éthanol comme solvant possède une activité de neutralisation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> la plus puissante en comparaison avec les deux extraits méthanolique et aqueux cette constatation s'applique aux trois plantes étudiées (cannelle, gingembre et armoise blanche). Les trois extraits issus de la cannelle (EEC, EMC et EAC) présentent l'activité la plus forte suivie par les extraits du

gingembre qui présente une activité de neutralisation du  $H_2O_2$  approximativement moyenne, L'armoise blanche quant à elle indique la plus faible activité de neutralisation du  $H_2O_2$ .

### II.1.3.1.4 Propriété protectrice des extraits polyphénoliques contre la peroxydation lipidique tissulaire

#### II.1.3.1.4.1 Activité anti-péroxydation lipidique des extraits de la cannelle

La figure 44 illustre l'effet protecteur de trois extraits phénoliques de *Cinnamomum zeylanicum* et les antioxydants de référence (acide gallique et acide ascorbique), contre la peroxydation lipidique. Celle-ci est évaluée par le biais du taux des MDA et le pourcentage d'inhibition de la peroxydation lipidique. Les résultats montrent une augmentation hautement significative ( $P=0,00002$ ) de la teneur des MDA avec le stress (témoin positif) une teneur de  $136,76 \pm 1,85 \mu\text{mol/g de tissus}$  en comparaison avec le taux des MDA sans stress (témoin négatif) un taux de  $36,53 \pm 0,89 \mu\text{mol/g de tissus}$ .



**Figure 44:** Effet protecteur des extraits de *Cinnamomum zeylanicum* et les antioxydants de référence contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA  $\mu\text{mol/g}$  de tissus

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) AcG vs EEC, EMC et EAC (#) AcA vs EEC, EMC et EMC (•) EEC vs EMC et EAC (\$) EMC vs EAC ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum* ; AcG : acide gallique ; AcA : acide ascorbique ; MDA<sup>-</sup> : témoin négatif (sans stress) ; MDA<sup>+</sup> : témoin positif (avec stress)

En revanche, une meilleure protection contre la peroxydation lipidique a été constatée avec les substances antioxydantes de références (l'acide gallique et l'acide ascorbique), on note une teneur des MDA d'ordre de  $37,05 \pm 0,46$  et de  $42,48 \pm 0,64 \mu\text{mol/g de tissus}$

respectivement, ces teneurs proches à celle obtenue avec le témoin négatif (sans stress), donc l'utilisation des antioxydants de références comme un agent protecteur et inhibiteur de l'oxydation des lipides donne une réduction des produits finaux de la peroxydation (MDA) vers les  $72,97 \pm 0,36 \%$  pour l'acide gallique et de  $69,01 \pm 0,47 \%$  pour l'acide ascorbique voir Tableau 8.

Cependant, notre investigation fait apparaître le potentiel inhibiteur des extraits phénoliques de *C. zeylanicum* qui ont enregistré une diminution hautement significative des teneurs de produits finaux de la peroxydation lipidique ( $P < 0,001$ ) par rapport le témoin positif (avec le stress), on note une teneur faible des MDA dans le groupe protégé avec l'extrait éthanolique (EEC) de  $51,46 \pm 2,76 \mu\text{mol/g de tissus}$  par rapport l'extrait méthanolique (EMC) qui enregistre un taux de  $57,68 \pm 2,76 \mu\text{mol/g de tissus}$  ( $P = 0,03$ ). Néanmoins, le potentiel protecteur de l'extrait aqueux (EAC) est hautement significativement faible en comparaison avec les deux extraits précédemment cités on trouve une quantité des MDA de  $79,27 \pm 3,66 \mu\text{mol/g de tissus}$  (Figure 44). Toutefois, nos extraits exercent une protection importante vis-à-vis l'oxydation des lipidique avec une réduction d'ordre de  $62,43 \pm 2,05\%$ ,  $57,82 \pm 1,20\%$  et  $42,03 \pm 2,68 \%$  pour l'EEC, EMC et EAC, respectivement (Tableau 8).

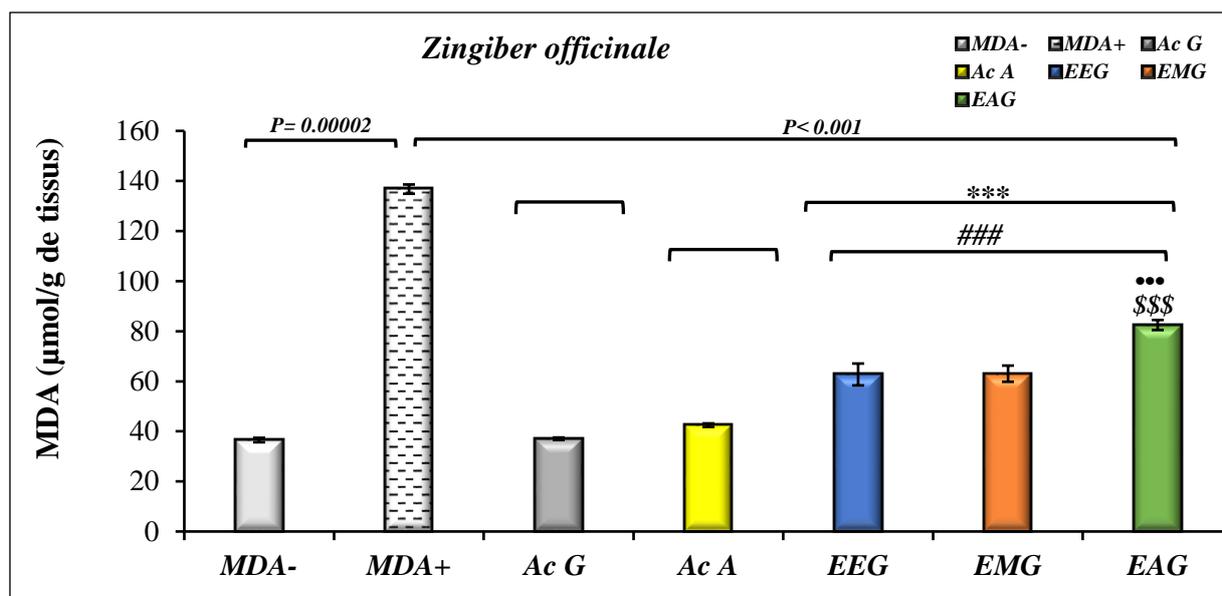
**Tableau 8:** Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de *Cinnamomum zeylanicum* et les antioxydants de références

Substances testés	Pourcentage d'inhibition des MDA (%)
Acide gallique	$72,90 \pm 0,36$
Acide ascorbique	$68,93 \pm 0,51$
EMC	$57,82 \pm 1,20^{a, b}$
EEC	$62,43 \pm 2,05^{a, b, c}$
EAC	$42,03 \pm 2,68^{a, b, d, e}$

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard avec ( $n=6$ ) avec les lettres différentes (a, b, c, d, e) indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) ; EEC : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EMC : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

#### II.1.3.1.4.2 Activité anti-péroxydation lipidique du gingembre

La figure ci-dessous (n°45) représente l'activité protectrice des extraits de gingembre et les antioxydants standards contre la peroxydation des lipides, exprimée par la teneur des MDA.



**Figure 45:** Effet protecteur des extraits de *Zingiber officinale* et les antioxydants de références contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA  $\mu\text{mol/g}$  de tissus.

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) AcG vs EEG, EMG et EAG ; (#) AcA vs EEG, EMG et EAG ; (•) EEG vs EAG ; (\$) EMG vs EAG ; EEG : extrait éthanologique de *Zingiber officinale* ; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* ; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale* ; AcG : acide gallique ; AcA : acide ascorbique ; MDA<sup>-</sup> : témoin négatif (sans stress) ; MDA<sup>+</sup> : témoin positif (avec stress)

Les résultats d'évaluation de l'effet inhibiteur des extraits phénoliques de *Z. officinale* contre la peroxydation lipidique induite par les dommages oxydatifs (Figure 45), indiquent une diminution hautement significative par rapport le groupe traité MDA<sup>+</sup> avec du stress (témoin positif), on trouve des quantités faibles des produits finaux d'oxydation lipidiques (MDA) avec les extraits éthanologique et méthanolique de gingembre de  $62,72 \pm 4,34$  et  $63,02 \pm 3,24 \mu\text{mol/g de tissus}$ , respectivement versus le témoin MDA<sup>+</sup> de  $136,76 \pm 1,58 \mu\text{mol/g de tissus}$  ; cependant cette diminution de quantité des MDA associée à une inhibition de la peroxydation avec un pourcentage de  $56,08 \pm 2,82 \%$  pour l'EEG et de  $53,91 \pm 2,36 \%$  pour l'EMG (Tableau 9). Néanmoins, l'effet inhibiteur de l'extrait aqueux de gingembre (EAG) est hautement significativement faible par rapport aux celles obtenus avec les extraits éthanologique et méthanolique (P de 0,00006 et 0,0001) on note une teneur des MDA était de  $82,79 \pm 2,30 \mu\text{mol/g de tissus}$  et une inhibition de  $39,68 \pm 1,46 \%$ .

Toutefois, les trois extraits de *Z. officinale* exercent un potentiel protecteur et inhibiteur de la peroxydation lipidique faible avec une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) par rapport aux effets des antioxydants standards l'acide gallique et l'acide ascorbique avec une inhibition de  $72,97 \pm 0,36 \%$  pour l'acide gallique et de  $69,01 \pm 0,47 \%$  pour l'acide ascorbique,

respectivement par rapport aux extraits: une inhibition de  $56,08 \pm 2,82 \%$  pour l'EEG, de  $53,91 \pm 2,36 \%$  pour l'EMG et de  $39,68 \pm 1,46 \%$  pour l'extrait aqueux (Tableau 9).

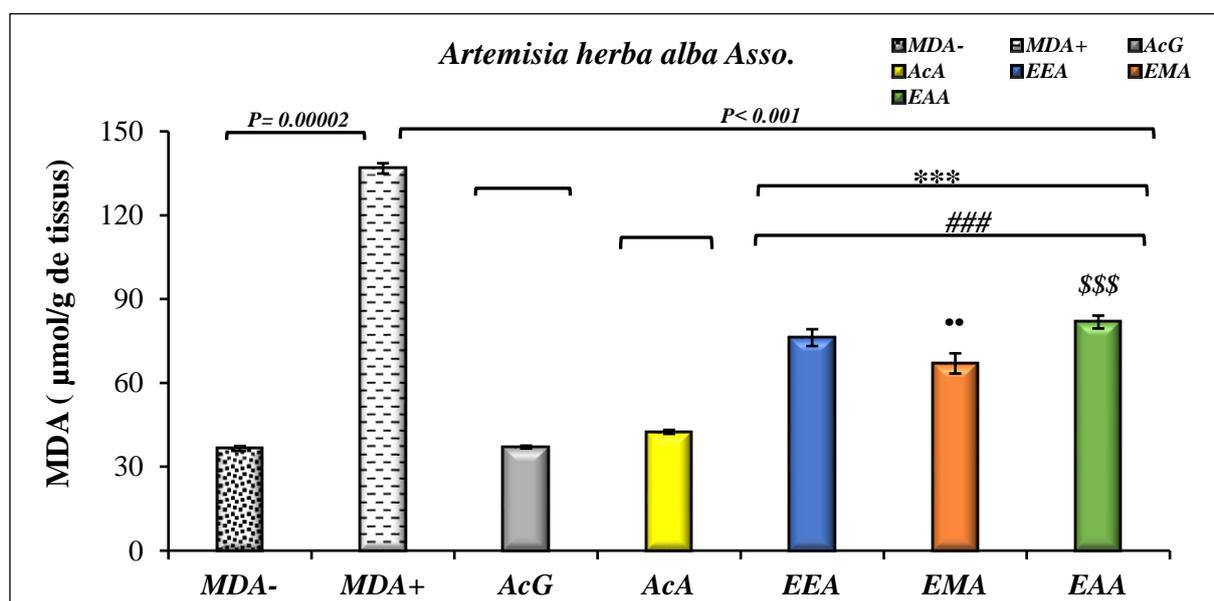
**Tableau 9:** Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de *Zingiber officinale* et les antioxydants de références

Substances testés	Pourcentage d'inhibition des MDA (%)
Acide gallique	$72,90 \pm 0,36$
Acide ascorbique	$68,93 \pm 0,51$
EMG	$53,91 \pm 2,36^{a, b}$
EEG	$56,08 \pm 2,82^{a, b}$
EAG	$39,68 \pm 1,46^{a, b, c, e}$

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard avec ( $n=6$ ) avec les lettres différentes (a, b, c, e) indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ ); EEG : extrait éthanolique de *Zingiber officinale*; EMG : extrait méthanolique de *Zingiber officinale*; EAG : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

#### II.1.3.1.4.3 Activité anti-péroxydation lipidique d'armoise blanche

Les résultats d'activité protectrice des extraits d'*A. herba-alba* contre la peroxydation lipidique, illustrés dans la figure 46 exprimés en teneur des MDA.



**Figure 46:** Effet protecteur des extraits d'*Artemisia herba alba* Asso. et les antioxydants de références contre la peroxydation lipidique exprimés en MDA  $\mu\text{mol/g}$  de tissus.

(Les valeurs représentées correspondent à la moyenne  $\pm$  erreur standard avec  $n=6$ ). (\*) AcG vs EEA, EMA et EAA; (#) AcA vs EEA, EMA et EAA; (•) EEA vs EMA et EAA; (\$) EMA vs EAA; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba*; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba*; EAA : extrait aqueux de d'*Artemisia herba-alba*; AcG : acide gallique; AcA : acide ascorbique; MDA<sup>-</sup> : témoin négatif (sans stress); MDA<sup>+</sup> : témoin positif (avec stress).

Les résultats ont montré qu'approximativement tous les échantillons testés d'*A. herba-alba*, ont hautement significativement ( $P < 0,001$ ) exercent une activité inhibitrice contre la peroxydation des lipides induite par le  $\text{FeCl}_3$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La figure ci-dessus montre une meilleure efficacité d'extrait méthanolique d'*A. herba-alba* (EMA) qui diminue le taux des MDA vers les  $66,97 \pm 3,61 \mu\text{mol/g de tissus}$ , cette efficacité qui engendre une inhibition de la peroxydation lipidique de  $51,02 \pm 2,64 \%$  par rapport le témoin positif  $\text{MDA}^+$  (avec du stress) un taux de  $136,76 \pm 1,85 \mu\text{mol/g de tissus}$  avec une différence hautement significative ( $P = 0,00005$ ). Cependant, une faible protection a été observée en tenant l'extrait éthanolique (EEA) avec une teneur de  $76,19 \pm 3,02 \mu\text{mol/g de tissus}$  et l'extrait aqueux (EAA) qui donne une quantité des MDA de  $81,79 \pm 2,30 \mu\text{mol/g de tissus}$ , le pourcentage d'inhibition de ces deux extraits était de  $47,14 \pm 3,20 \%$  et  $40,19 \pm 1,68 \%$ , respectivement.

Cependant, les trois extraits de *A. herba alba* *Asso.* exercent un potentiel protecteur et inhibiteur de la peroxydation lipidique faible avec une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) par rapport aux effets des antioxydants standards l'acide gallique et l'acide ascorbique avec une inhibition de  $72,97 \pm 0,36 \%$  pour l'acide gallique et de  $69,01 \pm 0,47 \%$  pour l'acide ascorbique, respectivement tableau ci-dessus.

**Tableau 10:** Activité anti-péroxydation lipidique exprimée en pourcentage d'inhibition (PI %) de différents extraits phénoliques de *Artemisia herba alba* *Asso* et les antioxydants de références

Substances testés	Pourcentage d'inhibition des MDA (%)
Acide gallique	$72,90 \pm 0,36$
Acide ascorbique	$68,93 \pm 0,51$
EMA	$51,02 \pm 2,64^{a, b}$
EEA	$47,14 \pm 3,20^{a, b}$
EAA	$40,19 \pm 1,68^{a, b, d, e}$

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard avec ( $n=6$ ) avec les lettres différentes (a, b, c, d, e) indiquent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) ; EEA : extrait éthanolique d'*Artemisia herba-alba* *Asso* ; EMA : extrait méthanolique d'*Artemisia herba-alba* *Asso* ; EAA : extrait aqueux d'*Artemisia herba-alba* *Asso*.

De même, d'après la présentation des résultats évoqués précédemment nous avons confirmé que l'activité antioxydante de la cannelle puissante par rapport aux deux plantes gingembre et armoise blanche et ceux indiqués par une meilleure protection de la peroxydation lipidique avec les trois extraits (EEC, EMC et EAC), le gingembre signale une bonne protection vis-à-vis l'oxydation lipidique mais reste significativement faible en comparaison avec la

cannelle. Toutefois, l'armoise blanche représente la plus faible activité anti-péroxydation lipidique de trois extraits en comparaison avec la cannelle et le gingembre.

### II.1.3.2 Evaluation de l'activité antibactérienne

Nous avons étudié *in vitro* l'effet antimicrobien des extraits phénoliques de trois plantes médicinales par deux méthodes : Celle de diffusion des disques et celle d'incorporation en milieu solide Muller-Hinton (MH).

#### II.1.3.2.1 Evaluation de l'activité antibactérienne de la cannelle

##### a. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par diffusion sur gélose

Les résultats du test de la sensibilité bactérienne aux extraits phénoliques (éthanol, méthanol et aqueux) de *C. zeylanicum* sont regroupés dans le Tableau 11. La solubilisation de l'ensemble des extraits pour la préparation des différentes concentrations a été réalisée dans le DMSO à 10 %, un test antibactérien de ce solvant contre les germes a été réalisé pour assurer qu'il n'a aucun effet antibactérien.

Ces résultats indiquent que les trois extraits exercent un effet inhibiteur sur la croissance de l'ensemble des souches étudiées : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, et *B. cereus*. Les diamètres des zones d'inhibition sont situés entre  $7,70 \pm 0,54$  et  $18,06 \pm 1,07$  mm pour EEC, entre  $7,30 \pm 0,33$  et  $15,14 \pm 0,78$  mm pour l'EMC et entre  $6,67 \pm 0,09$  et  $13,76 \pm 0,28$  mm pour l'EAC de ce fait c'est l'extrait qui exerce l'activité antibactérienne la plus faible en comparaison les deux extraits (éthanolique et méthanolique).

L'effet inhibiteur observé est reflété par la diminution des diamètres des zones d'inhibition qui en corrélation avec la concentration de l'extrait appliqué (EEC ou EMC ou EAC). Parallèlement, des disques d'antibiotique de la Tétracycline (30µg/disque), de l'Amikacine (30 µg/disque) et Erythromycine (15 µg/disque) ont été utilisés pour étudier le comportement de ces souches bactériennes vis-à-vis ces antibiotiques. Les résultats obtenus dévoilent que l'Amikacine exerce un effet inhibiteur sur l'ensemble des souches, les diamètres des zones d'inhibition sont situés entre  $21,10 \pm 0,41$  et  $26,45 \pm 0,20$  mm. Il va de même pour la Tétracycline, celui-ci inhibe toutes les cultures bactériennes des souches testées, les diamètres obtenus sont compris entre  $10,91 \pm 0,47$  et  $16,5 \pm 0,31$  mm. Sachant que Erythromycine celui-ci inhibe seulement *E. coli* et *S. aureus* avec des diamètres des zones d'inhibition de  $15,07 \pm 0,61$  et  $21,11 \pm 0,49$  mm, respectivement. Cependant, n'exerce aucune inhibition contre *P. aeruginosa* et *B. cereus*.

**Tableau 11:** Diamètres des zones d'inhibition en (mm) de trois extraits de *Cinnamomum zeylanicum* (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées.

<i>Diamètre des zones d'inhibition (mm)</i>				
<i>Extraits</i>	<i>Bactéries</i>			
<i>EMC (mg/ml)</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
250	12,95 ± 0,33	13,18 ± 0,56	15,14 ± 0,78	14,75 ± 0,14
125	11,18 ± 0,18	10,82 ± 0,52	11,67 ± 0,54	11,55 ± 0,30
62,5	9,82 ± 0,28	9,34 ± 0,22	8,40 ± 0,23	9,22 ± 0,26
31,25	7,30 ± 0,33	7,56 ± 0,31	7,38 ± 0,15	7,44 ± 0,30
<i>EEC (mg/ml)</i>				
250	14,32 ± 0,41 <sup>b</sup>	14,86 ± 0,46 <sup>b</sup>	18,06 ± 1,07 <sup>b</sup>	15,77 ± 0,39 <sup>b</sup>
125	11,90 ± 0,19 <sup>a</sup>	11,66 ± 0,42	13,90 ± 0,36 <sup>a</sup>	13,45 ± 0,17 <sup>c</sup>
62,5	10,38 ± 0,32	9,96 ± 0,25	11,62 ± 0,44 <sup>a</sup>	12,02 ± 0,19 <sup>c</sup>
31,25	7,70 ± 0,54	8,27 ± 0,28 <sup>a</sup>	8,83 ± 0,51 <sup>a</sup>	8,37 ± 0,57
<i>EAC (mg/ml)</i>				
250	10,51 ± 0,24 <sup>c</sup>	9,61 ± 0,22 <sup>c</sup>	13,76 ± 0,28	13,40 ± 0,15 <sup>b</sup>
125	9,08 ± 0,31 <sup>c</sup>	8,56 ± 0,13 <sup>b</sup>	9,72 ± 0,27 <sup>b</sup>	9,84 ± 0,26 <sup>c</sup>
62,5	7,68 ± 0,21 <sup>c</sup>	7,74 ± 0,18 <sup>c</sup>	7,83 ± 0,25	8,14 ± 0,13 <sup>b</sup>
31,25	7,04 ± 0,59	6,67 ± 0,09 <sup>a</sup>	6,73 ± 0,09	7,34 ± 0,07
<i>Antibiotiques (µg/disque)</i>				
<i>Tetracycline(30µg/disque)</i>	15,30 ± 0,45	11,08 ± 0,47	10,91 ± 0,47	16,45 ± 0,31
<i>Amikacine (30µg/disque)</i>	24,07 ± 0,45	21,27 ± 0,21	21,10 ± 0,41	26,95 ± 0,20
<i>Erythromycine (15 µg/disque)</i>	15,07 ± 0,61	-	-	21,11 ± 0,49

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± Erreur standard de six essais indépendants (n= 6) ; Les moyennes portant des lettres différentes (a, b, c) indiquent des différences significatives (p<0,05) par rapport l'EMC ; EMC : Extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EEC : Extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; EAC : Extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*.

### b. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Les résultats d'estimation des CMI et CMB par la méthode d'incorporation sont indiqués dans le Tableau 12. Ces résultats montrent que les trois extraits de *C. zeylanicum* possèdent des activités antibactériennes différentes. L'effet le plus puissant d'EEC a été observé contre *B. cereus* et *S. aureus* avec des CMI de **2 et 3 mg/mL**, respectivement suivie par *E. coli* et *P. aeruginosa* avec une CMI de **4 mg/mL**, des CMB identiques ont été enregistrées avec cet extrait sont de **12 mg/mL** pour *B. cereus* et *E. coli*, de **15 mg/mL** pour *P. aeruginosa* et une faible CMB a été obtenue contre *S. aureus* était de **10 mg/mL**.

Cependant, l'ensemble des souches sont très sensible vis-à-vis l'extrait méthanolique de la cannelle (EMC) avec des CMI de **5 et 6 mg/mL**, et des CMB d'ordre de **16 mg/mL** pour *B. cereus* et *S. aureus* et de **18 et 20 mg/mL** pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, respectivement. Par contre, l'extrait aqueux (EAC) exerce une activité antibactérienne très faible en comparaison avec les deux extraits précédemment cités, des CMI élevées sont entre **40 et 56 mg/mL** pour l'ensemble des souches. Parallèlement, des CMB sont les mêmes valeurs des CMI pour *S. aureus* et *B. cereus*, alors que pour *E. coli* et *P. aeruginosa* ont été non déterminées.

**Tableau 12:** Concentrations minimales inhibitrice et bactéricide des extraits de *Cinnamomum zeylanicum* vis-à-vis des souches bactériennes testées.

<i>Souches</i>	<i>EEC</i> (mg/ml)		<i>EMC</i> (mg/ml)		<i>EAC</i> (mg/ml)	
	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>
<i>E. coli</i>	4	12	5	18	48	Nd
<i>P. aeruginosa</i>	4	15	6	20	56	Nd
<i>B. cereus</i>	2	12	6	16	44	44
<i>S. aureus</i>	3	10	5	16	40	40

*EEC* : extrait éthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; *EMC* : extrait méthanolique de *Cinnamomum zeylanicum* ; *EAC* : extrait aqueux de *Cinnamomum zeylanicum*

### II.1.3.2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne du gingembre

#### a. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par diffusion sur gélose

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne des extraits de *Z. officinale* montrent un effet inhibiteur des extraits qui réagissent de manières positive et distincte sur la croissance de toutes les souches bactériennes testés (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. aureus*), comme l'indique le Tableau 13. L'effet des composés phénoliques des deux plantes diffère d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre. On remarque que le taux d'inhibition augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits méthanolique de *Z. officinale* (effet dose-dépendant). Les diamètres de zone d'inhibition sont situés entre **7,90 ± 0,58 et 17,62 ± 0,76 mm** pour l'EEG, entre **7,17 ± 0,26 et 17,14 ± 0,003 mm** pour l'EMG, ces deux extraits exercent des effets inhibiteurs similaires, cependant l'EAG enregistre des diamètres des zones d'inhibition inférieur à celui trouver avec l'EEG et l'EMG qui sont situés entre **6,80 ± 0,17 et 15,26 ± 0,79 mm**.

**Tableau 13:** Diamètre des zones d'inhibition en (mm) des extraits de *Zingiber officinale* (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées

<i>Diamètre des Zones d'inhibition (mm)</i>				
<i>Extraits</i>	<i>Bactéries</i>			
<i>EMG (mg/ml)</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
250	11,04 ± 0,28	12,65 ± 0,29	17,14 ± 0,003	12,65 ± 0,41
125	9,14 ± 0,24	10,72 ± 0,19	13,23 ± 0,04	10,03 ± 0,23
62,5	8,01 ± 0,28	8,45 ± 0,24	9,98 ± 0,29	8,53 ± 0,41
31,25	7,17 ± 0,26	7,53 ± 0,33	7,91 ± 0,38	7,73 ± 0,46
<i>EEG (mg/ml)</i>				
250	13,09 ± 0,009 <sup>c</sup>	14,48 ± 0,35 <sup>b</sup>	17,07 ± 0,82	17,62 ± 0,76 <sup>c</sup>
125	12,04 ± 0,14 <sup>c</sup>	11,80 ± 0,13 <sup>b</sup>	13,28 ± 0,07	14,01 ± 0,62 <sup>c</sup>
62,5	9,93 ± 0,33 <sup>c</sup>	10,34 ± 0,12 <sup>c</sup>	12,58 ± 0,13 <sup>c</sup>	10,63 ± 0,28 <sup>c</sup>
31,25	7,90 ± 0,58	8,18 ± 0,22	9,56 ± 0,55 <sup>a</sup>	9,18 ± 0,26 <sup>a</sup>
<i>EAG (mg/ml)</i>				
250	10,29 ± 0,22 <sup>a</sup>	11,94 ± 0,35	13,14 ± 0,44 <sup>b</sup>	15,26 ± 0,79 <sup>a</sup>
125	8,89 ± 0,15	10,78 ± 0,34	11,41 ± 0,37 <sup>b</sup>	11,56 ± 0,38 <sup>a</sup>
62,5	7,89 ± 0,08	8,90 ± 0,19	10,08 ± 0,36	9,14 ± 0,24
31,25	6,80 ± 0,17	7,58 ± 0,20	8,58 ± 0,34	8,23 ± 0,23
<i>Antibiotiques (µg/disque)</i>				
<i>Tetracycline (30µg/disque)</i>	15,30 ± 0,45	11,08 ± 0,47	10,91 ± 0,47	16,45 ± 0,31
<i>Amikacine (30µg/disque)</i>	24,07 ± 0,45	21,27 ± 0,21	21,10 ± 0,41	26,95 ± 0,20
<i>Erythromycine (15 µg/disque)</i>	15,07 ± 0,61	-	-	21,11 ± 0,49

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± Erreur standard de six essais indépendants (n= 6) ; Les moyennes portant des lettres différentes (a, b, c) indiquent des différences significatives (p<0,05) par rapport l'EMG ; EMG : Extrait méthanolique de *Zingiber officinale* Roscoe ; EEG : Extrait méthanolique de *Zingiber officinale* Roscoe ; EAG : Extrait aqueux de *Zingiber officinale* Roscoe.

#### b. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

En termes des CMI et CMB par la méthode d'incorporation en milieu solide Muller Hinton sont représentés dans le Tableau 14, les extraits phénoliques de *Zingiber officinale* (gingembre) entraînent des spectres de sensibilité bactérienne différents. L'effet inhibiteur le plus puissant d'EEG a été observé contre *S. aureus* avec une CMI et CMB de **4 et 12 mg/mL**, respectivement ; suivie par *B. cereus* avec une CMI de **11 mg/mL** et une CMB de **18 mg/mL** ; les bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) sont plus résistantes que les bactéries à Gram positif (*B. cereus* et *S. aureus*), on a enregistré des valeurs de CMI et CMB sont semblable

comme suite une CMI de **12mg/mL** pour *E. coli* et *P. aeruginosa* et des CMB d'ordre de **20 et 22 mg/mL** pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, respectivement.

**Tableau 14:** Concentrations minimales inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) des extraits de *Zingiber officinale* vis-à-vis des souches bactériennes testées

<i>Souches</i>	<i>EEG</i> (mg/ml)		<i>EMG</i> (mg/ml)		<i>EAG</i> (mg/ml)	
	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>	<i>CMI</i>	<i>CMB</i>
<i>E. coli</i>	10	20	12	20	100	Nd
<i>P. aeruginosa</i>	11	22	12	22	120	Nd
<i>B. cereus</i>	7	12	11	18	100	Nd
<i>S. aureus</i>	4	12	8	16	90	Nd

*EEG* : extrait éthanolique de *Zingiber officinale* Roscoe ; *EMG* : extrait méthanolique de *Zingiber officinale* Roscoe ; *EAG* : extrait aqueux de *Zingiber officinale*

### II.1.3.2.3 Evaluation de l'activité antibactérienne d'armoise blanche

#### a. Mise en évidence de l'activité antibactérienne par diffusion sur gélose

Les résultats du test concernant la sensibilité antibactérienne aux extraits phénoliques (méthanol, éthanol et aqueux) d'*A. herba alba* Asso sont regroupés dans (Tableau 15). L'activité antimicrobienne observée après traitement des souches par les extraits phénoliques diffère d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre. En effet, les extraits réagissent de manière positive et distincte sur les quatre souches bactériennes. L'effet inhibiteur observé est dose-dépendant (Tableau 15) montre clairement la diminution du diamètre des zones d'inhibition correspondant à une diminution de la concentration de l'extrait appliqué (éthanolique, méthanolique ou aqueux), et ce pour toutes les souches. Le résultat obtenu a mis en évidence que les extraits éthanolique et méthanolique ont un effet inhibiteur supérieur par rapport à l'extrait aqueux sur la croissance de toutes les bactéries testées (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*, *S. aureus*), on pense que cette supériorité d'effet inhibiteur due essentiellement à la richesse ces deux extraits en composés bioactives principalement les polyphénols et les flavonoïdes. Les diamètres des zones d'inhibition variaient de **16,89 à 7,41 mm** pour l'extrait éthanolique et de **14,78 à 6,39 mm** pour l'extrait méthanolique, en effet le diamètre d'extrait aqueux de **11,93 à 6,17 mm**. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs

compositions chimiques. Tous les extraits ont réagi positivement au moins sur une des souches microbiennes testées ce qui confirme que la plante d'*A. herba-alba* Asso est douée de propriétés antimicrobiennes.

**Tableau 15:** Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des extraits d'*Artemisia herba-alba* Asso. (mg/ml) vis-à-vis des souches bactériennes étudiées

<i>Diamètre des zones d'inhibition</i>				
<i>Extraits</i>	<i>Bactéries</i>			
<i>EMA</i> (mg/ml)	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
250	11,95 ± 0,23	11,76 ± 0,32	14,78 ± 0,50	14,01 ± 0,61
125	9,94 ± 0,26	10,21 ± 0,22	11,90 ± 0,32	11,58 ± 0,19
62,5	8,23 ± 0,41	9,01 ± 0,16	9,59 ± 0,23	10,48 ± 0,28
31,25	6,39 ± 0,08	8,15 ± 0,13	7,81 ± 0,24	8,44 ± 0,21
<i>EEA</i> (mg/ml)				
250	13,56 ± 0,5 <sup>c</sup>	13,92 ± 0,40 <sup>c</sup>	16,89 ± 0,77 <sup>a</sup>	15,63 ± 0,40 <sup>a</sup>
125	11,54 ± 0,20 <sup>c</sup>	11,98 ± 0,21 <sup>c</sup>	13,77 ± 0,49 <sup>a</sup>	11,88 ± 0,35
62,5	10,02 ± 0,36 <sup>b</sup>	10,52 ± 0,45 <sup>b</sup>	11,51 ± 0,23 <sup>c</sup>	9,23 ± 0,18 <sup>c</sup>
31,25	7,54 ± 0,18 <sup>c</sup>	8,80 ± 0,53	9,18 ± 0,57 <sup>a</sup>	7,41 ± 0,31 <sup>b</sup>
<i>EAA</i> (mg/ml)				
250	10,53 ± 0,25	10,18 ± 0,32 <sup>b</sup>	11,93 ± 0,44 <sup>b</sup>	11,20 ± 0,28 <sup>c</sup>
125	8,43 ± 0,17 <sup>c</sup>	8,31 ± 0,09 <sup>c</sup>	9,65 ± 0,55 <sup>b</sup>	8,72 ± 0,25 <sup>c</sup>
62,5	6,87 ± 0,19 <sup>a</sup>	7,63 ± 0,19 <sup>b</sup>	7,86 ± 0,24 <sup>c</sup>	7,70 ± 0,16 <sup>c</sup>
31,25	6,17 ± 0,05	6,54 ± 0,14 <sup>b</sup>	7,15 ± 0,32	6,50 ± 0,09 <sup>c</sup>
<i>Antibiotiques</i> (µg/disque)				
<i>Tetracycline</i> (30µg/disque)	15,30 ± 0,45	11,08 ± 0,47	10,91 ± 0,47	16,45 ± 0,31
<i>Amikacine</i> (30µg/disque)	24,07 ± 0,45	21,27 ± 0,21	21,10 ± 0,41	26,95 ± 0,20
<i>Erythromycine</i> (15µg/disque)	15,07 ± 0,61	-	-	21,11 ± 0,49

Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne ± Erreur standard de six essais indépendants (n= 6) ; Les moyennes portant des lettres différentes (a, b, c) indiquent des différences significatives (p<0,05) par rapport l'EMA ; EMA : Extrait méthanolique de *Artemisia herba alba* ; EEA : Extrait éthanolique de *Artemisia herba alba* ; EAA : Extrait aqueux de *Artemisia herba alba*.

### b. Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB)

Les résultats des mesures des diamètres d'inhibition montrent que l'extrait éthanolique d'armoise blanche a une activité antibactérienne puissante en comparaison avec les deux autres extraits, en inhibant la croissance des germes bactériens selon une relation dose-dépendante. Cela nous a permis de déterminer les différents paramètres antibactériens à savoir la CMI et

CMB. Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) évalués par la méthode d'incorporation en milieu solide suggèrent que les trois extraits d'armoise blanche exercent des degrés différents d'activité antibactérienne (Tableau 16).

Ces résultats montrent que le taux d'inhibition augmente avec la concentration des extraits, et que la concentration minimale inhibitrice et bactéricide sont inversement proportionnelles avec l'efficacité antibactérienne des extraits. En effet, nos résultats dévoilent un effet antibactérien puissant de l'EEA avec des CMI et CMB ordre de : **6 et 14 mg/ml** vis-à-vis *S. aureus* et de **8 et 16 mg/ml** contre *B. cereus*, ces deux souches à Gram positif sont plus sensibles par rapport aux deux souches à Gram négatif testées, on a enregistré une CMI et CMB d'EEA vis-à-vis *E. coli* de **10 et 15 mg/ml**, cependant contre *P. aeruginosa* était de **10 et 22 mg/ml**.

En revanche les valeurs de la CMI et CMB d'extrait méthanolique d'*A. herba alba* (EMA) était moins efficace par rapport à l'EEA, on note une CMI d'ordre croissant pour : *S. aureus* de **14 mg/ml** < *B. cereus* de **15 mg/ml** < *E. coli* de **16 mg/ml** < *P. aeruginosa* de **18 mg/ml**. Toutefois les CMB d'EMA pour : *S. aureus* de 18 mg/ml < *B. cereus* de **20 mg/ml** < *E. coli* de **24 mg/ml** < *P. aeruginosa* de **25,5 mg/ml**. Selon les résultats on remarque que l'extrait aqueux d'armoise blanche (EAA) exerce une faible d'efficacité antibactérienne vis-à-vis les souches testées avec des CMI d'ordre de **75 mg/ml** pour *S. aureus*, **80 mg/ml** pour *B. cereus* et *E. coli* et **90 mg/ml** pour *P. aeruginosa*.

**Tableau 16:** Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des extraits de *A. herba alba* Asso vis-à-vis des souches bactériennes testées

Souches	EEA (mg/ml)		EMA (mg/ml)		EAA (mg/ml)	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>E. coli</i>	10	15	10	24	80	Nd
<i>P. aeruginosa</i>	10	22	10	24	90	Nd
<i>B. cereus</i>	8	14	8	20	40	Nd
<i>S. aureus</i>	6	16	6	16	75	Nd

EEA : extrait éthanolique de *Artemisia herba alba* Asso. ; EMA : extrait méthanolique de *Artemisia herba alba* Asso. ; EAA : extrait aqueux de *Artemisia herba alba* Asso.

## II.1.4 Caractérisation chimique des poudres de cannelle et de gingembre par HS-GC-MS

### II.1.4.1 Caractérisation chimique de la poudre de cannelle

Vingt et un composés volatils ont été caractérisés dans la cannelle en poudre. Les divers composés identifiés sont répertoriés dans le tableau numéro 1. Les deux principaux constituants sont le (E)-cinnamaldéhyde (38.59 %) et l' $\alpha$ -copaène (32.43 %). Cependant, les composés présents en faible quantité comprennent l' $\alpha$ -pinène (1.59 %), le  $\gamma$ -cadinène (1.12 %), l' $\alpha$ -muroène (3.60 %) et l' $\alpha$ -cadinène (4.24 %). D'autres molécules se trouvent à l'état de trace, telles que le cinnamaldéhyde (0.56 %), le 1,8-cinéole (0.31 %), le  $\beta$ -copaène (0.99 %) et le longifolène, avec une teneur de 0.81 %, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. La majorité des constituants aromatiques de la cannelle sont des terpènes (15), suivis par des aldéhydes (3), des alcools (2) et un ester. Les résultats de la caractérisation de la cannelle obtenus au cours de cette étude diffèrent de ceux signalés par **Wang et al., (2009)**. Ces chercheurs ont identifié 21 composés, dont 10 alcools, 4 aldéhydes, 2 alcènes, 2 cétones, ainsi qu'un ester et un sulfure.

**Tableau 17:** Composants chimiques volatils identifiés de la cannelle par analyse HS-SPME/GC-MS

N°	TR (min)	Composés	%	Type	Formule
1	2.256	Éthanol	2.02	Alcool	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
2	2.631	Éthanol	1.42	Alcool	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
3	3.515	Acétate éthyle	1.38	Esters	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
4	10.675	$\alpha$ -pinène	1.59	Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
5	11.223	Comphène	0.78	Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6	11.590	Benzaldéhyde	0.68	Aldéhydes	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O
7	12.117	$\beta$ -pinène	0.39	Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
8	13.727	Limonène	0.38	Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
9	13.831	1,8-cineole	0.312	Monoterpènes	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
10	17.286	Cinnamaldéhyde (7)	0.56	Aldéhydes	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O
11	21.038	(E)cinnamaldéhyde	38.59	Aldéhydes	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O
12	23.837	$\alpha$ -copaène	32.43	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
13	24.175	Longifolène	0.81	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
14	24.339	$\beta$ -copaène	0.99	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
15	24.740	Isosativène	0.43	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
16	24.982	$\beta$ -caryophyllène	0.76	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
17	25.420	Coumarine	0.33	Benzopyrènes	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
18	25.93	$\alpha$ -humulène	0.33	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
19	26.510	$\gamma$ -cadinène	1.12	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

20	27.144	$\alpha$ -murolène	3.60	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
21	27.757	$\alpha$ -cadinène	4.24	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

TR : temps de rétention en min

#### II.1.4.2 Caractérisation chimique de la poudre de gingembre

Vingt-neuf constituants volatils ont été détectés dans la poudre de gingembre (Tableau 18). Les principaux composants du gingembre incluent le camphène (36,15%), le limonène (18,45%), l' $\alpha$ -pinène (14,84%), ainsi que d'autres molécules présentes en petites quantités telles que le 1,8-cinéole (6,51%), le  $\beta$ -myrcène (3,83%), l' $\alpha$ -curcumène (2,45%), le  $\beta$ -pinène (1,64%), l' $\alpha$ -thujène (1,44%), le  $\beta$ -bisabolène (1,01%), et d'autres molécules présentes à l'état de traces. Nos résultats présentent des similitudes légères avec ceux trouvés par Yu et al., (2022). Dans leur étude, ces chercheurs ont identifié quarante-sept composants volatils dans des échantillons de poudre de gingembre provenant de différentes variétés et origines géographiques. Ils ont détecté (31) terpènes, (4) aldéhydes, (4) alcools, (3) cétones, (3) hydrocarbures gras et (1) ester parmi les principaux constituants contribuant à la saveur du gingembre. Le zingibérène et le  $\beta$ -phellandrène sont les plus abondants, et les teneurs en  $\alpha$ -pinène, camphène,  $\alpha$ -curcumène,  $\beta$ -bisabolène,  $\beta$ -sesquiphellandrène et  $\beta$ -myrcène représentent également une grande proportion.

**Tableau 18:** Composants chimiques volatils identifiés de gingembre par analyse HS-SPME/GC-MS

°	TR (min)	Composés	%	Type	Formule
1	6.823	Hexanol	0.274	Alcohol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O
2	9.719	Heptanol	0.146	Alcohol	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O
3	10.413	$\alpha$ -Thujene	1.446	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
4	10.848	$\alpha$ -Pinene	14.842	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
5	11.405	Camphene	36.152	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
6	11.758	O-Cymene	0.092	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
7	12.142	$\beta$ -Pinene	1.643	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
8	12.423	$\beta$ -Methyl-5-heptazone	0.281	Aldehydes	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O
9	12.576	$\beta$ -Myrcene	3.835	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
10	12.988	3-Carene	0.878	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
11	13.655	p-Cymene	0.254	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
12	13.875	Limonene	18.455	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
13	13.936	1,8-Cineole	6.519	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
14	14.668	$\gamma$ -Terpinene	0.085	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
15	15.582	Terpinolene	0.553	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
16	15.810	p-Cymene-8-ol	0.263	Alcohol	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
17	15.888	Linalool	0.313	Alcohol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O

---

<b>18</b>	16.372	Borneol-iso	0.181	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
<b>19</b>	17.320	Camphor	0.118	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
<b>20</b>	17.940	Borneol	0.728	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
<b>21</b>	18.634	$\alpha$ -Terpineol	0.243	Monoterpenes	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
<b>22</b>	23.531	$\alpha$ -Citral	0.210	Aldehydes	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
<b>23</b>	23.765	$\alpha$ - $\alpha$ -Copaene	0.324	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
<b>24</b>	24.151	Longifolene	0.202	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
<b>25</b>	24.442	Cis- $\alpha$ - Bergamotene	0.110	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
<b>26</b>	26.626	$\alpha$ -Curcumene	2.459	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>
<b>27</b>	26.934	Trans- $\alpha$ -Bergamotene	0.255	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
<b>28</b>	27.215	(E)- $\beta$ -Famesene	0.146	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
<b>29</b>	27.303	$\beta$ -Bisabolene	1.016	Sesquiterpenes	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

*TR* : temps de rétention en min

## **ETUDE -II-*IN VIVO***

**Stratégies préventives de  
plantes médicinales en  
association à des probiotiques  
contre l'obésité et ses  
complications**

---

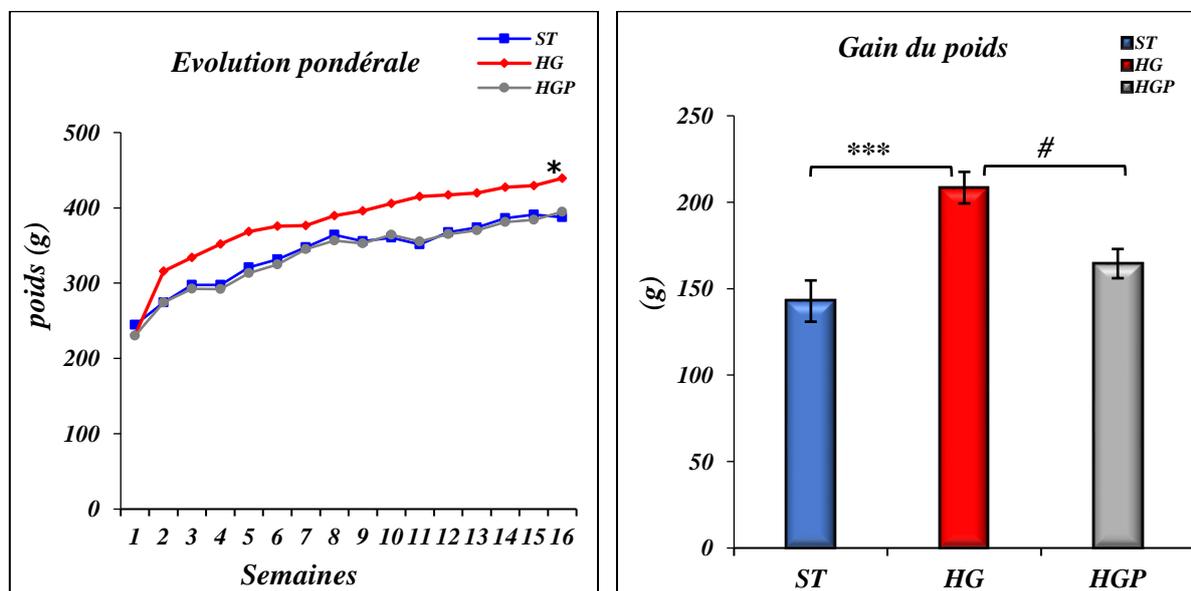
## II.2 Etude -II- *In-vivo* : Stratégies préventives de plantes médicinales en association à des probiotiques contre l'obésité et ses complications

Cette section d'étude se compose de deux volets distincts. Le premier volet vise à valider l'effet perturbateur d'un régime hyper-gras contenant 48 % de graisse selon la description de **Garait et al. (2005)**. Il s'intéresse particulièrement à l'évaluation des impacts de ce régime sur les paramètres anthropométriques, l'induction d'une dysbiose intestinale ainsi les troubles métaboliques associés à l'obésité et ses conséquences cardiométaboliques.

### II.2.1 Evaluation de l'impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur le désordre cardio-métabolique et le microbiote intestinal des rats Wistar

#### II.2.1.1 Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur l'évolution du poids corporel et le gain du poids des rats *Wistar*

Les rats utilisés au cours de cette étude ont des poids initiaux et homogène de  $236,04 \pm 2,11$  g, ces derniers reçoivent pendant 16 semaines trois régimes différent, soit le régime Standard (ST), le régime hyper-gras (HG) ou le régime hyper gras additionné de probiotique (HGP). Le suivi régulier (chaque semaine) de l'évolution du poids corporel (PC) chez les trois lots de rats, a permis de dresser les courbes représentatives de l'évolution du poids corporel ainsi que d'évaluer le gain pondéral absolu durant cette période de traitement (Figure 47).



**Figure 47:** Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques, pendant 16 semaines d'expérimentation

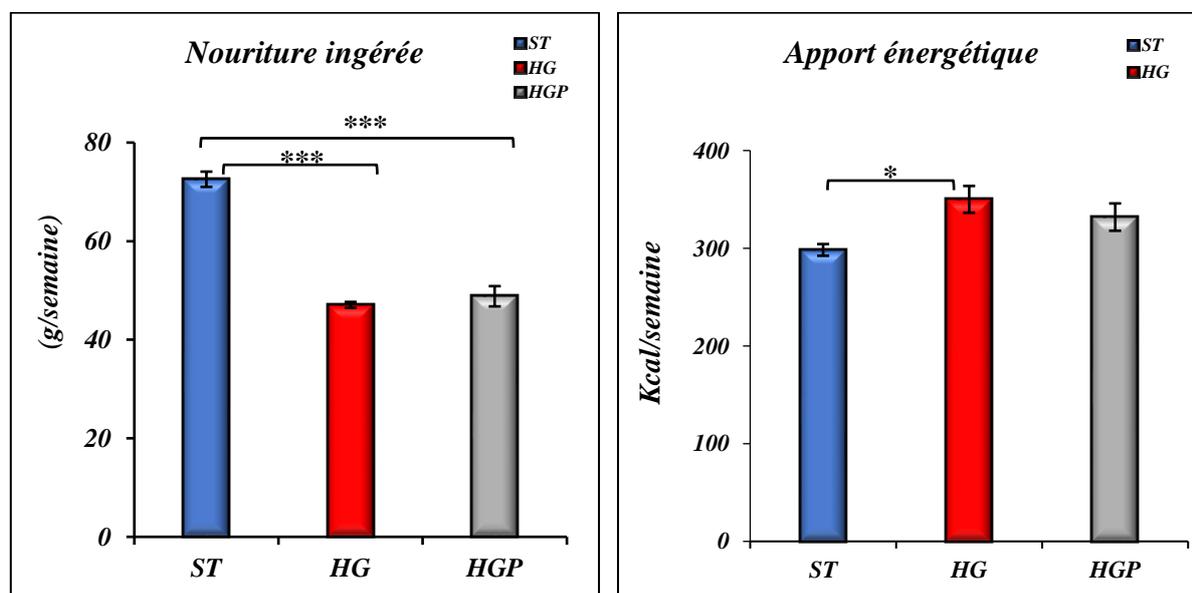
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*) Différence significative ST vs HG et HGP ; (#) Différence significative HG vs HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

Les résultats relatifs aux poids corporels indiquent une différence significative entre le groupe de rats nourris au régime hyper-gras (HG) et le groupe sous régime standards (ST). En effet, au terme de l'étude, les rats du groupe (HG)présentaient un poids final de  $439,28 \pm 16,36$  g ce dernier est significativement supérieur à celui des rats composant le groupe ST avec un poids final de  $387,33 \pm 11,17$ g. Les résultats révèlent aussi que l'administration de bactéries probiotiques entraîne une réduction significative de la masse corporelle des rats sous régime hyper-gras avec un poids final de  $394,71 \pm 8,25$  g.

Parallèlement, à la fin du traitement on note un taux du gain de la masse corporelle de  $90,93 \pm 4,37$  % pour les rats du groupe HG et de  $58,6 \pm 5,24$  %pour le groupe témoins (ST). L'incorporation des probiotiques au régime riche en graisse (HGP) a significativement réduit le pourcentage du gain pondéral des rats de  $71,52 \pm 3,86$  % par rapport aux rats du groupe HG cette réduction est statistiquement significative.

### II.2.1.2 Evaluation de la quantité de la nourriture ingérée et l'apport calorique des rats sous régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques

La quantité de la nourriture ingérée et l'apport calorique des rats après 16 semaines d'expérimentation sont présentés dans la Figure 48.



**Figure 48:** Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques, durant les 16 semaines d'expérimentation.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*) Différence significative ST vs HG et HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

Au cours de cette expérimentation, les rats des deux groupes HG, HGP ont consommé  $350,03 \pm 13,72$  et  $331,88 \pm 13,98$  kcal/semaine respectivement en termes d'apport énergétique.

Ces valeurs sont significativement supérieures à celles observées chez les rats soumis au régime standard ( $298,29 \pm 5,98$  kcal/semaine) et ce malgré que les rats des groupes HG et HGP présentent une quantité de nourriture ingérée significativement inférieure à celle des rats du groupe ST, en effet on constate une valeur de  $47,06 \pm 0,59$  g et de  $48,81 \pm 2,05$  g contre  $72,55 \pm 1,54$  g, respectivement. Cette différence est due au fait que le régime hyper-gras est plus calorique qu'un régime riche en glucide ou en protéines

### II.2.1.3 Impact des régimes hyper-gras associée ou non aux probiotiques sur le poids des organes

Après 16 semaines d'expérimentation, le poids des organes chez trois groupes est illustré dans le Tableau 19, aucune variation significative n'a été observée dans le poids des organes entre les trois groupes expérimentaux, à l'exception du tissu adipeux. En effet, les rats soumis au régime hyper-gras possèdent une masse de tissu adipeux évaluée à  $21,36 \pm 0,84$  g celle-ci est nettement supérieure à celle des rats ayant reçus le régime standard ( $6,67 \pm 0,93$  g), le taux d'augmentation de la masse grasseuse est estimé à  $227,30$  %. Toutefois, l'incorporation des probiotiques au régime hyper-gras induit une diminution significative du poids de ce tissus par rapport au groupe hyper-gras et ce avec une masse évaluée à  $10,03 \pm 1,03$  g soit une réduction estimée à  $53,02$  %.

**Tableau 19:** Poids des différents organes, des rats sous régime hyper-gras seul ou associée au probiotiques, prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation

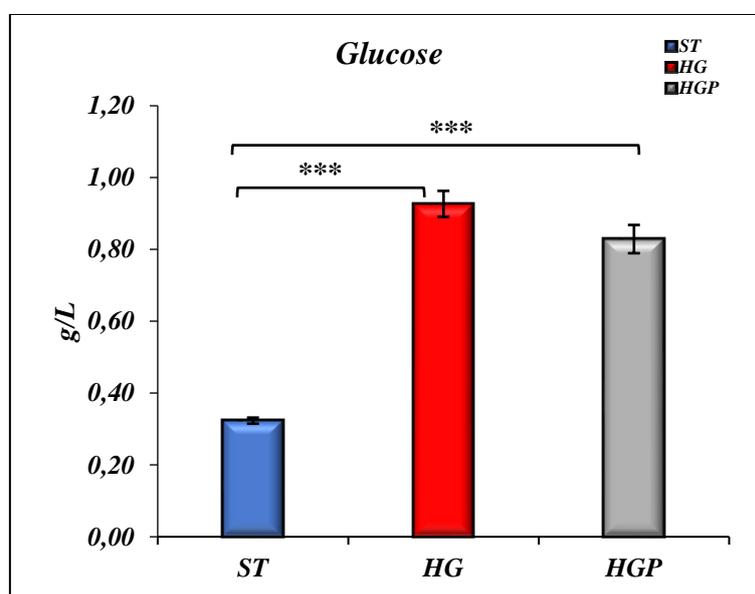
<i>Organes (g)</i>	<i>Groupes expérimentaux</i>		
	<b>ST</b>	<b>HG</b>	<b>HGP</b>
<i>Cœur</i>	$1,06 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,01$
<i>Foie</i>	$10,11 \pm 0,59$	$10,94 \pm 0,92$	$10,27 \pm 0,41$
<i>T. adipeux</i>	$6,67 \pm 0,93$	$21,36 \pm 0,84^C$	$10,03 \pm 1,03^{A, c}$
<i>Riens</i>	$2,31 \pm 0,07$	$2,28 \pm 0,10$	$1,98 \pm 0,06$
<i>Cerveau</i>	$1,67 \pm 0,04$	$1,46 \pm 0,09$	$1,64 \pm 0,05$
<i>Testicules</i>	$3,77 \pm 0,14$	$5,81 \pm 0,48^C$	$3,26 \pm 0,07^c$

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec ( $n=7$ ) ; ( $^A P < 0,05$  ;  $^B P < 0,01$  ;  $^C P < 0,001$ ) différence significative par rapport au groupe ST ; ( $^a P < 0,05$  ;  $^b P < 0,01$  ;  $^c P < 0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HG ; ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

## II.2.1.4 Impact du régime hyper-gras associée ou non aux probiotiques sur les paramètres biochimiques

### II.2.1.4.1 Teneurs plasmatiques en glucose

Les résultats d'évaluation de l'impact des régimes expérimentaux (HG et HGP), après 16 semaines d'expérimentation, sur les paramètres biochimiques au niveau sérique montrent une augmentation hautement significative des teneurs en glucose chez les rats recevant le régime HG en comparaison aux rats nourris par le régime standard (ST). On note  $0,93 \pm 0,04$  vs  $0,32 \pm 0,01$  g/L, respectivement. L'incorporation des bactéries bénéfiques au régime hyper-gras, induit une réduction du taux du glucose de  $10,57$  %. Cependant, cette réduction demeure non significative voir la figure 49.



**Figure 49:** Teneur plasmatique en glucose des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG et HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

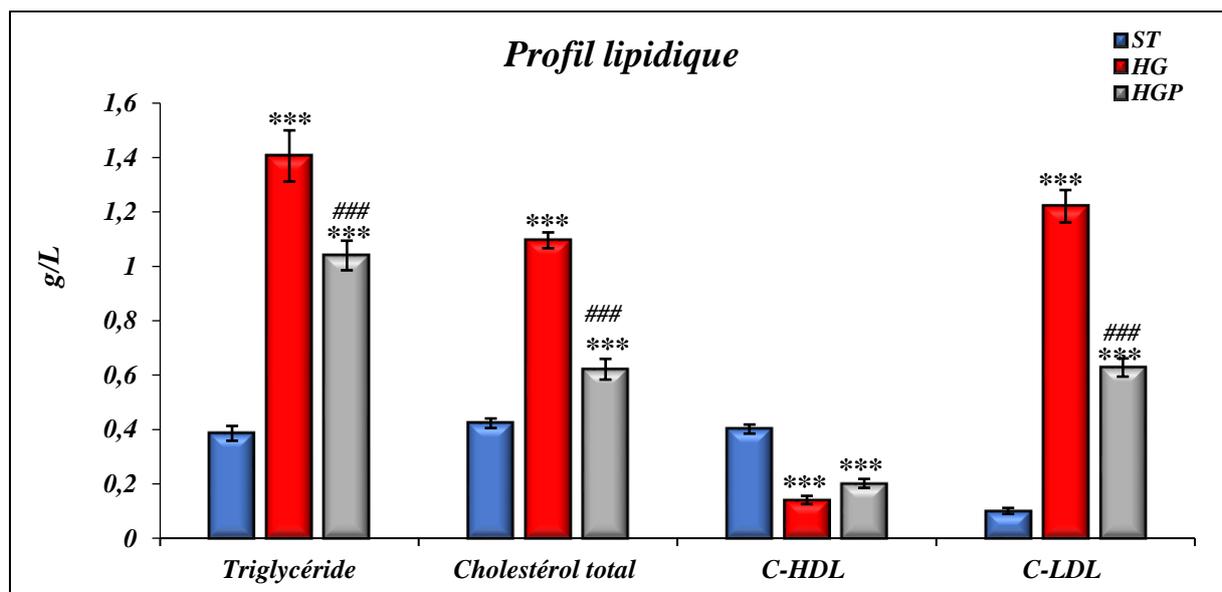
### II.2.1.4.2 Teneur plasmatique en triglycéride, cholestérols total, HDL et LDL

La figure 50 illustre l'impact du régime hyper-gras associé ou non aux bactéries probiotiques sur le profil lipidique des rats Wistar après 16 semaines de traitement. Les résultats obtenus indiquent une augmentation hautement significative des teneurs en triglycérides et cholestérol totale chez les rats recevant le régime HG en comparaison aux rats témoins (ST). On note  $1,41 \pm 0,09$  vs  $0,39 \pm 0,03$  g/L et  $1,41 \pm 0,09$  vs  $0,39 \pm 0,03$  g/L respectivement, Celle-ci est reflétée par une hausse de  $264,54$  % pour la teneur en triglycéride et de  $159,11$  % pour la teneur en cholestérol total par rapport au groupe témoin. L'addition des bactéries bénéfiques au

régime hyper-gras (HGP), induit une réduction significative du taux des triglycérides (**26,03 %**) et du cholestérol total (**43,27 %**) et ce par rapport au groupe HG.

Une augmentation hautement significative est constatée dans les taux plasmatiques des C-LDL rats sous régimes hyper-gras en comparaison avec les rats témoins, on note respectivement, des teneurs de  $1,22 \pm 0,06$  vs  $0,10 \pm 0,01$  g/L. Cependant, l'ajout des probiotiques au régime hyper-gras (HGP) induit une diminution significative de la teneur en C-LDL évaluée à **48,57 %**, par rapport au groupe de rat nourris le régime HG.

Aussi, les résultats présentés dans la figure 50 exhibent une diminution hautement significative des taux plasmatiques des fractions lipoprotéiques C-HDL chez les groupes de rats recevant un régime hyper-gras incorporé ou non en probiotique (HG et HGP) en opposant ces derniers au le groupe de rats nourris avec le régime standard (ST), on note respectivement des teneurs de l'ordre de  $0,14 \pm 0,02$  et  $0,20 \pm 0,02$  versus  $0,40 \pm 0,02$  g/L (Figure 57).



**Figure 50:** Profil lipidique en triglycéride, cholestérols total, HDL et LDL des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG et HGP. (###) Différence significative HG vs HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

#### II.2.1.4.3 Impact des régimes hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les lésions hépatiques évaluées par les taux des transaminases (ASAT et ALAT)

L'activité enzymatique des ASAT et ALAT subissent une variation chez les rats soumis au régime hyper-gras(HG) (Tableau 20), on constate une augmentation de **138 %**pour les ASAT et de **117%**pour les ALAT, cette augmentation est hautement significative en comparaison avec

le groupe standard (ST).Cependant, le régime hyper-gras supplémenté en probiotiques induit une diminution significative de l'activité enzymatique des ASAT et des ALAT cette dernière est évaluée à **25,66 %** et à **17,18 %**respectivement et ce par rapport au groupe (HG).

#### II.2.1.4.4 Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les taux en acide urique, urée et protéine totale

Après 16 semaines d'expérimentation une augmentation significative en acide urique est constatée chez les rats sous régime HG on note **38,55 ± 0,48 mg/L**, par rapport au groupe de rats traités par le régime ST (**14,12 ± 0,14 mg/L**). Cette élévation est accompagnée d'une augmentation accrue de la concentration en urée celle-ci est estimée à **337,64 %**chez les rats du groupe HG en opposition aux rats du groupe ST (Tableau 20). Il va de même pour le taux des protéines une forte teneur est constatée chez les rats groupe (HG) par rapport au groupe (ST), on a enregistré une teneur de **5,66 ± 0,39 contre 3,87 ± 0,22 g/L**, respectivement. Par contre l'incorporation des probiotiques au régime HG induit une diminution hautement significative par rapport au groupe de rats nourris uniquement par le régime HG, en effet, les résultats obtenus dévoilent des teneurs en acide urique de **29,72 ± 1,40 vs 38,55 ± 0,48 mg/L**, en urée de **1,63 ± 0,11 vs 2,45 ± 0,08 g/L** et en protéine totale de **4,55 ± 0,22 vs 5,66 ± 0,39 g/L**.

**Tableau 20:** Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

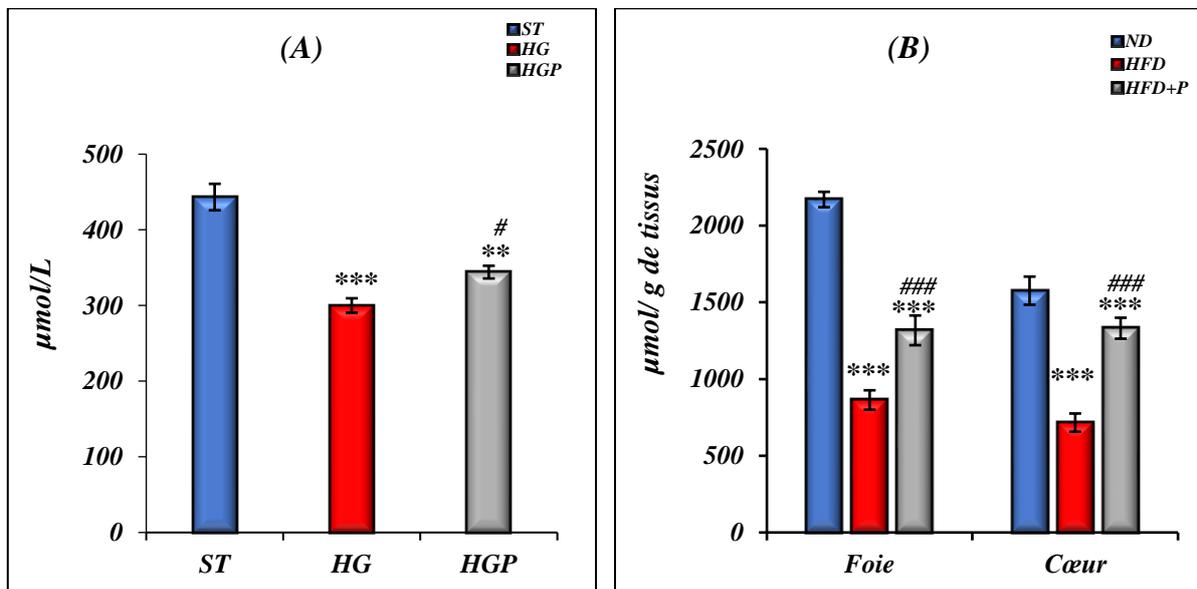
Paramètres	Groupes expérimentaux		
	<i>ST</i>	<i>HG</i>	<i>HGP</i>
<i>ASAT(UI/L)</i>	48,02 ± 2,95	114,37 ± 3,19 <sup>C</sup>	85,02 ± 1,87 <sup>C, c</sup>
<i>ALAT(UI/L)</i>	46,86 ± 1,96	101,85 ± 3,85 <sup>C</sup>	86,92 ± 5,08 <sup>C, a</sup>
<i>Acide urique(mg/L)</i>	14,12 ± 0,14	38,55 ± 0,48 <sup>C</sup>	29,72 ± 1,40 <sup>C, c</sup>
<i>Urée (g/L)</i>	0,51 ± 0,03	2,45 ± 0,08 <sup>C</sup>	1,63 ± 0,11 <sup>C, c</sup>
<i>Protéine (g/L)</i>	3,87 ± 0,22	5,66 ± 0,39 <sup>B</sup>	4,55 ± 0,22 <sup>a</sup>

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=7) ; (<sup>A</sup>P<0,05 ; <sup>B</sup>P<0,01 ; <sup>C</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup>P<0,05 ; <sup>b</sup>P<0,01 ; <sup>c</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HG ; ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

## II.2.1.5 Impact du régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire

### II.2.1.5.1 Evaluation du pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats du pouvoir réducteur représentés dans la figure 51 démontrent l'influence négative du régime hyper-gras sur le pouvoir réducteur évalué par la technique FRAP, tant au niveau plasmatique qu'au niveau tissulaires. En effet, les rats alimentés avec le régime hyper-gras (HG) présentent un pouvoir réducteur plasmatique et tissulaire nettement inférieur à celui des rats soumis au régime standard (ST), avec des valeurs de  $300,01 \pm 9,52$  versus  $443,34 \pm 17,47$   $\mu\text{mol/L}$  pour le plasma. De même, on observe une diminution significative du pouvoir réducteur hépatique de ( $863,33 \pm 63,49$  versus  $2169,8 \pm 50,28$   $\mu\text{mol/g de tissus}$ ) et cardiaque ( $715,98 \pm 59,59$  versus  $1575,83 \pm 91,63$   $\mu\text{mol/g de tissus}$ ), respectivement. L'addition des bactéries probiotiques au régime hyper-gras conduit à une amélioration significative du pouvoir réducteur de ce groupe. Les résultats dévoilent une augmentation de **14,83 %** au niveau plasmatique ainsi qu'une augmentation de **52,59 %** au niveau hépatique et de **85,92 %** au niveau cardiaque, par rapport aux rats nourris au régime HG, démontrant ainsi l'impact positif des probiotiques.



**Figure 51:** Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A), et tissulaire ( $\mu\text{mol/g de tissus}$ ) (B) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG et HGP. (###) Différence significative HG vs HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras + probiotiques

### II.2.1.5.2 Impact des régimes expérimentaux sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire

De manière similaire le régime hyper-gras à des répercussions négatives sur les teneurs plasmatique et tissulaire en vitamine C. On note, que les teneurs plasmatiques en vitamine C varient énormément entre les trois lots de rats. Une différence hautement significative est constatée entre le groupe HG et le groupe ST dont les plus faibles valeurs sont observées chez les rats du groupe HG ( $24,96 \pm 3,11 \mu\text{g/L}$  versus  $62,71 \pm 3,36 \mu\text{g/L}$ , respectivement).

L'ajout des probiotiques au régime hyper-gras augmente d'une manière significative la concentration en vitamine C de **50,64 %**, la teneur de cette dernière est évaluée à  $37,61 \pm 1,67 \mu\text{g/L}$ .

**Tableau 21:** Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$  de tissus) en vitamine C des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux		
	ST	HG	HGP
Teneur plasmatique en Vit C ( $\mu\text{g/L}$ )	$62,71 \pm 3,56$	$24,96 \pm 3,11^c$	$37,61 \pm 1,67^{c, b}$
Teneur hépatique en Vit C ( $\mu\text{g/g}$ tissus)	$391,26 \pm 10,02$	$164,26 \pm 21,44^c$	$369,01 \pm 26,60^c$
Teneur cardiaque en Vit C ( $\mu\text{g/g}$ tissus)	$257,07 \pm 8,23$	$78,84 \pm 7,88^c$	$161,02 \pm 7,82^{c, c}$

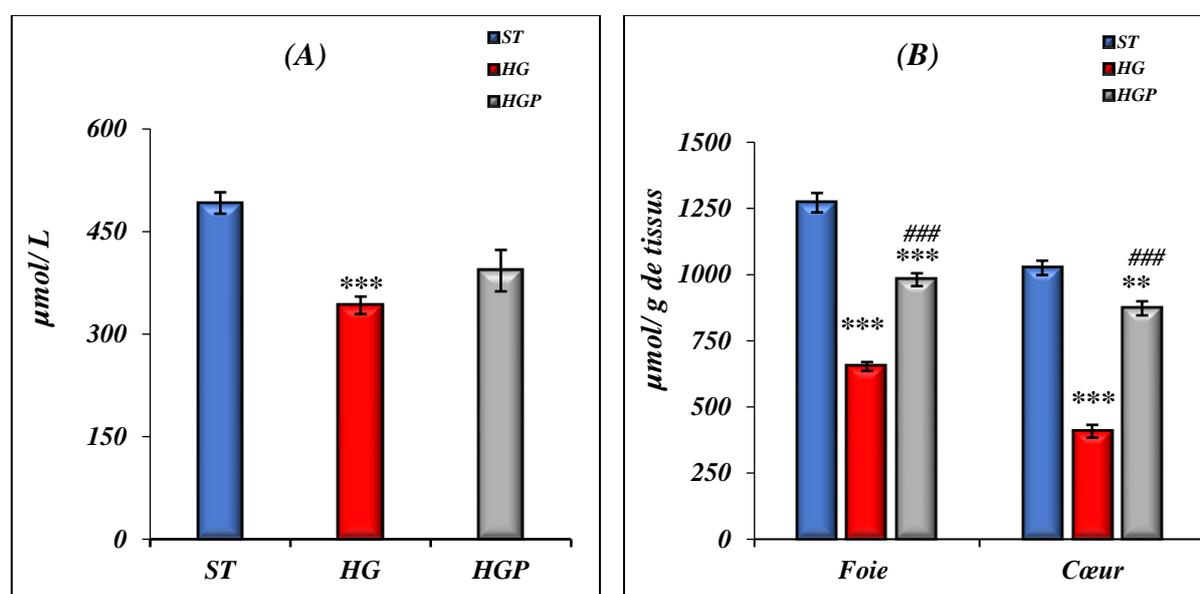
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec ( $n=7$ ) ; ( $^A P < 0,05$  ;  $^B P < 0,01$  ;  $^C P < 0,001$ ) différence significative par rapport au groupe ST ; ( $^a P < 0,05$  ;  $^b P < 0,01$  ;  $^c P < 0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HG ; ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

### II.2.1.5.3 Evaluation de l'oxydation des protéines (les groupements thiols) au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats des teneurs plasmatiques en protéines à groupement thiols (SH), présentés dans la figure 52 révèlent une différence hautement significative entre les deux groupes ST et HG dont la plus faible valeur est observée chez le groupe HG, ce régime induit une oxydation des protéines appréciée par une réduction de **30,44 %** des protéines à groupement SH au niveau plasmatique, cependant ce taux est rehaussés de **14,83 %** chez les rats soumis au régime-hyper-gras incorporé de probiotique ( $342,08 \pm 12,82$  versus  $392,80 \pm 30,31 \mu\text{mol/L}$ ).

Parallèlement, les résultats des dosages des groupements SH au niveau hépatique après 16 semaines de traitement par les différents régimes, révèlent une réduction hautement significative des teneurs hépatiques en protéines oxydées chez le groupe HG ( $652,65 \pm 16,72$

$\mu\text{mol/g de tissu}$ ) en opposition avec le groupe ST ( $1271,72 \pm 36,85 \mu\text{mol/g de tissu}$ ). Aussi une protection de ces groupements contre l'oxydation engendrée par le régime HG est constatée chez les rats du groupe HGP, une teneur de ( $980,84 \pm 24,25 \mu\text{mol/g de tissu}$ ) est enregistrée Voir figure n °50. La même variation est observée au niveau cardiaque, celle-ci est marquée par une teneur hautement significative des protéines SH dans le groupe HGP en comparaison avec le groupe HG, on note  $872,47 \pm 26,62$  versus  $408 \pm 24,26 \mu\text{mol/g de tissu}$ , cependant les rats du groupe ST présentent une teneur cardiaque de ces groupements estimée à ( $1025,49 \pm 27,25 \mu\text{mol/g de tissus}$ ), cette dernière est supérieure à celle obtenue chez les deux groupes précédemment cités (HG et HGP).



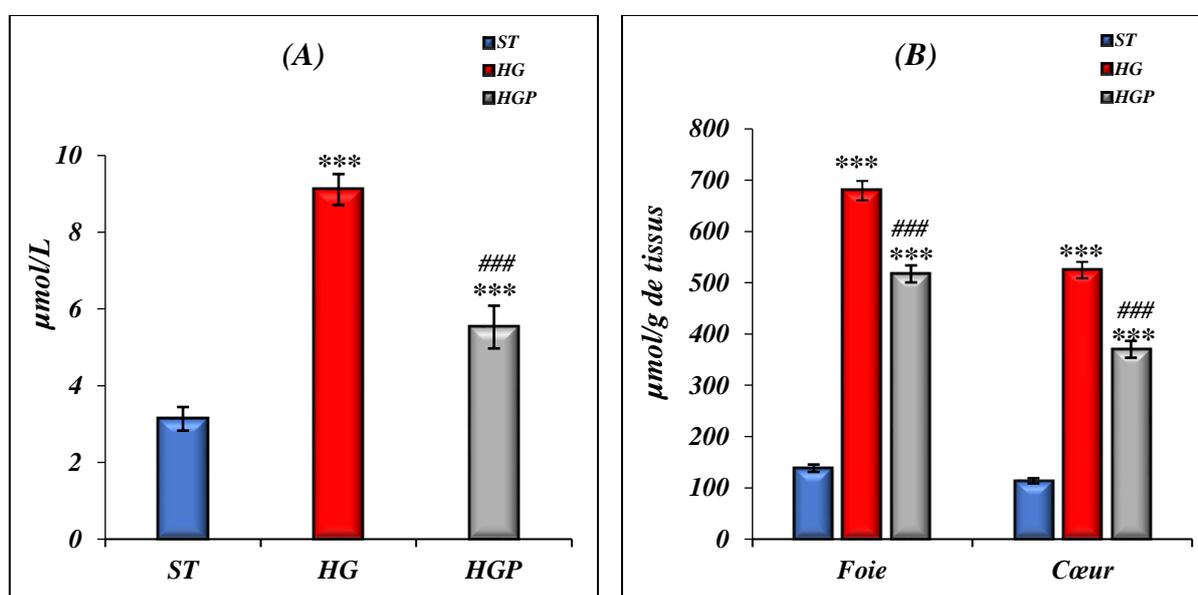
**Figure 52:** Oxydation protéique plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaire ( $\mu\text{mol/g de tissu}$ ) (B), des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG et HGP. (####) Différence significative HG vs HGP, HGG et HGGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

#### II.2.1.5.4 Évaluation de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats d'évaluation de l'oxydation lipidique pour les trois groupes expérimentaux sont indiqués dans la figure n°53, ils indiquent que le régime HG élaboré au cours de cette étude génère une oxydation lipidique estimée par le dosage des malondialdéhyde (MDA). Après 16 semaines de traitement on observe une élévation des taux des MDA plasmatiques de manière hautement significative évaluée à  $190,57\%$  chez le groupe HG en opposition au groupe ST, on note des teneurs de  $9,11 \pm 0,40$  versus  $3,13 \pm 0,30 \mu\text{mol/L}$ .

Cependant, l'incorporation des bactéries probiotiques au régime hyper-gras (HGP) induit une protection vis-à-vis de l'oxydation lipidique provoquée par la forte teneur en graisse. Celle-ci est appréciée par une réduction significative de **39,33 %** du taux des MDA plasmatiques en opposition à celui enregistré avec les rats du groupe HG, en effet les teneurs sont de  $5,52 \pm 0,55$  versus  $9,11 \pm 0,40 \mu\text{mol/L}$ . De manière identique, les résultats des taux des MDA tissulaires obtenus après 16 semaines d'incorporation montrent une diminution hautement significative de ce paramètre chez les rats constituant le groupe HGP, vis-à-vis des rats composant le groupe HG. On enregistre une réduction hépatique de **23,88 %** et cardiaque de **29,44 %** chez le groupe HGP versus le groupe HG.



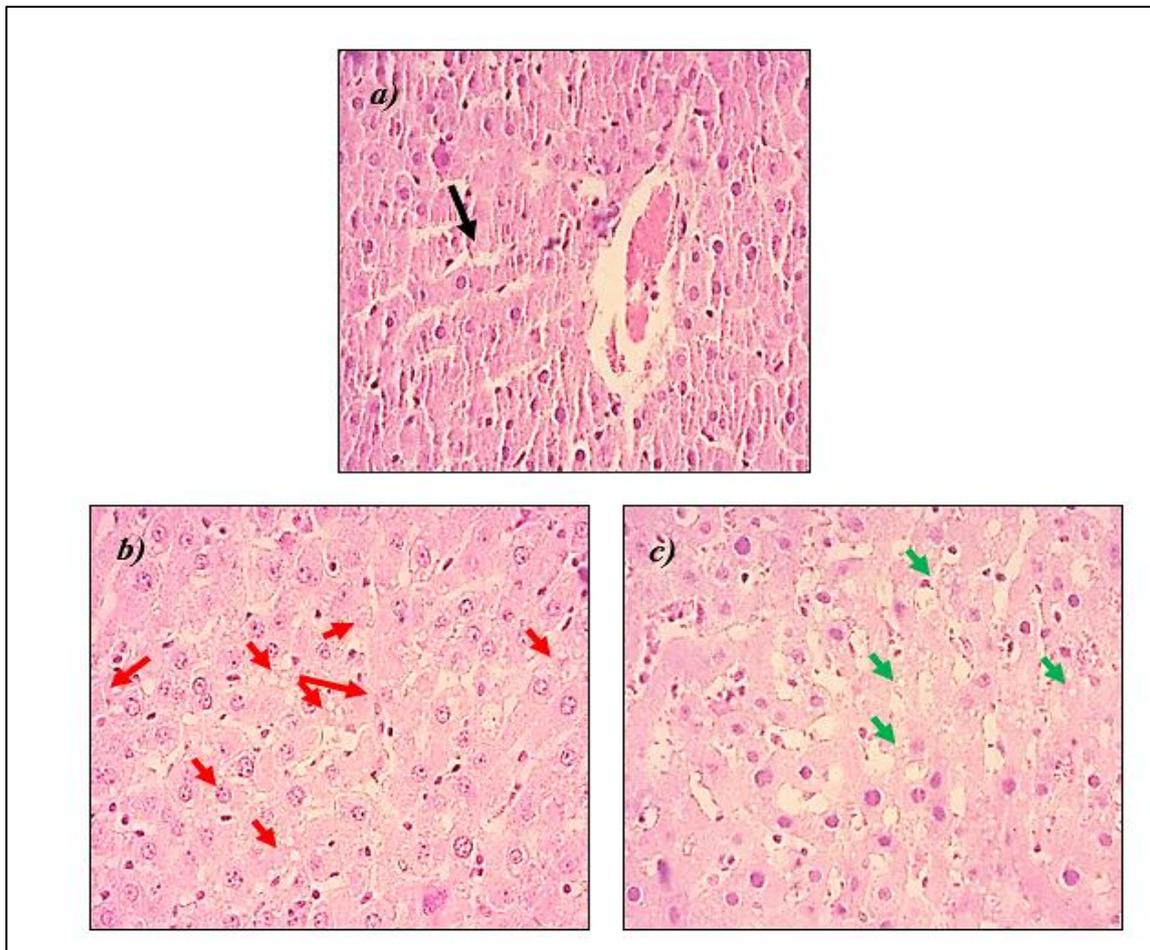
**Figure 53:** Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/g}$  de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG et HGP. (###) Différence significative HG vs HGP, HGG et HGGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

### II.2.1.6 Impact du régime hypergras associé ou non aux probiotiques sur le développement d'une stéatose hépatique

Après le sacrifice des rats constituant les différents groupes, un examen macroscopique du tissu hépatique a été effectué. Aucune lésion macroscopique du foie n'a été observée chez les rats des groupes ST et HGP. Par contre, celui des rats du groupe HG présente une légère hypertrophie avec des multiples foyers de coloration jaunâtres.

A l'examen microscopique, les coupes histologiques du foie des rats du groupe ST démontrent un aspect et une architecture normale (Figure 54a), par contre, le parenchyme hépatique des rats du groupe HG présente une stéatose microvésiculaire modérée (Figure 52 b). Une réduction importante du nombre et de la taille des vacuoles lipidiques est constatée chez les rats du groupe hyper-gras supplémenté en probiotique (figure 54. c).



**Figure 54:** Observation microscopique (X40) des coupes histologiques des foies de rats Wistar sous régime hyper-gras associé ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitements.

a) Foie des rats du groupe standard (flèches noir) ; b) foie des rats du groupe nourris au régime hyper-gras, présence un grand nombre de vacuoles lipidique (flèches rouge) ; c) foies des rats nourris au régime hyper-gras supplémenté en probiotiques, diminution du nombre des vacuoles lipidique (flèches vert).

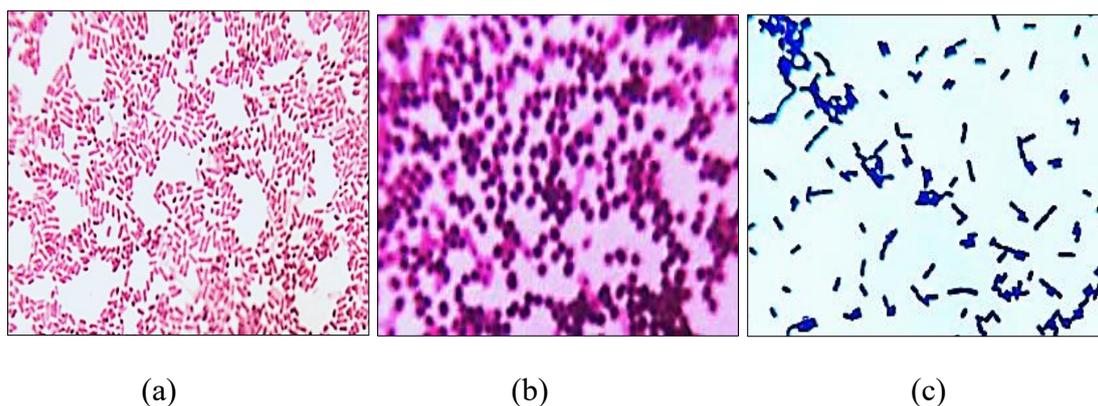
### II.2.1.7 Effets du régime HG associée ou non aux probiotiques sur la composition du microbiote intestinal

Afin d'évaluer l'impact du régime hyperlipidique et la supplémentation en probiotiques sur la composition du microbiote intestinal. Nous avons isolé, identifié et dénombré, chez les trois groupes expérimentaux, certaines bactéries à Gram négatif « *Escherichia coli* » et à Gram positif « *Lactobacillus* sp. et *Enterococcus* sp. » et ceci au niveau fécal. L'identification au cours

de ce protocole expérimentale a été basée sur l'appréciation des caractéristiques morphologiques, et certains caractères biochimiques

Les résultats d'identification basé sur les tests morphologique et biochimiques sont représentés dans le Tableau 22. L'examen macroscopique sur milieu Mac Conkey révèle des colonies roses entourées d'un hâlo opaque dû à la précipitation des sels biliaires, celui des bactéries cultivées sur milieu BEA montrent des petites colonies incolores, entourées d'un hâlo noir. L'observation macroscopique effectuée sur milieu MRS, a révélé l'apparition des colonies blanchâtres (voir annexe n° VIII).

Cependant, l'observation microscopique des bactéries cultivées sur le milieu Mac Conkey nous laisse à percevoir une forme coccobacille et elles révèlent une coloration Gram négative. Cependant, les bactéries isolées sur milieu BEA et MRS sont des coques et bacilles Gram positif, respectivement (Figure 55).



**Figure 55:** Observation microscopique des bactéries recherchées sur Mac Conkey (a), sur BEA(b) et sur MRS (c)

Dès l'apparition des colonies sur le milieu de culture, les bactéries ont été soumises à des tests biochimiques réalisés soit à l'aide des galeries Api : Api 20E, pour *E. coli*, soit par les tests (Catalase, Oxydase, ONPG, Mannitol Mobilité, Urée Indole, TSI).

Les résultats des tests biochimiques sur la galerie API 20E indiquent que la bactérie isolée possède les enzymes  $\beta$ -galactosidase (**ONPG<sup>+</sup>**), Lysine décarboxylase (**LDC<sup>+</sup>**), Ornithine décarboxylase (**ODC<sup>+</sup>**), mais elle dépourvue de l'Uréease (**URE<sup>-</sup>**), Tryptophane désaminase et Thiosulfate réductase (**production de H<sub>2</sub>S**), ainsi cette espèce utilise le glucose et l'arabinose dans son métabolisme, par contre elle n'utilise pas le citrate (**CIT<sup>-</sup>**) comme unique source de carbone et d'énergie, également elle est capable de produire l'indole. L'ensemble de ces tests

confirme l'espèce d'*E. coli*. L'interprétation de ces résultats a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification "UPBM" (lab.upbm.org/identifieur/galerie.php) voir annexe n° VII.

En outre, les résultats d'identification biochimique des bactéries isolées sur MRS et BEA ne possèdent pas l'enzyme catalase, oxydase, ONPG mais elles sont pourvues d'une uréase  
Tableau 22.

L'ensembles des résultats concernant les caractères morphologiques, biochimiques des bactéries isolées sur MRS et BEA confirment les caractères d'identifications phénotypiques de *Lactobacillus* et *Enterococcus* respectivement, ceci sont identiques aux caractéristiques de l'identification décrites dans le manuel de Bergey de la bactériologie systématique (**Kandler et Weiss, 1986**) et Procaryotes (**Knauf et al., 1992**).

**Tableau 22:** Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des bactéries isolées de la matière fécale des rats traités par probiotiques et nourris un régime hyper-gras

	Mac Conkey	BEA	MRS
Macroscopique	Colonies roses entourées d'un halo opaque	Petites colonies incolores d'un halo noir	Colonies blanchâtres légèrement allongées
Microscopique	Bacilles à Gram négatif	Coques à Gram positif	Bacilles à Gram positif
Catalase	+	-	-
Oxydase	-	-	-
ONPG	+	-	-
Mannitol	+	+	+
Mobilité	+	-	-
TSI	+	NR	NR
Urée	-	-	+
Indole	+	-	-

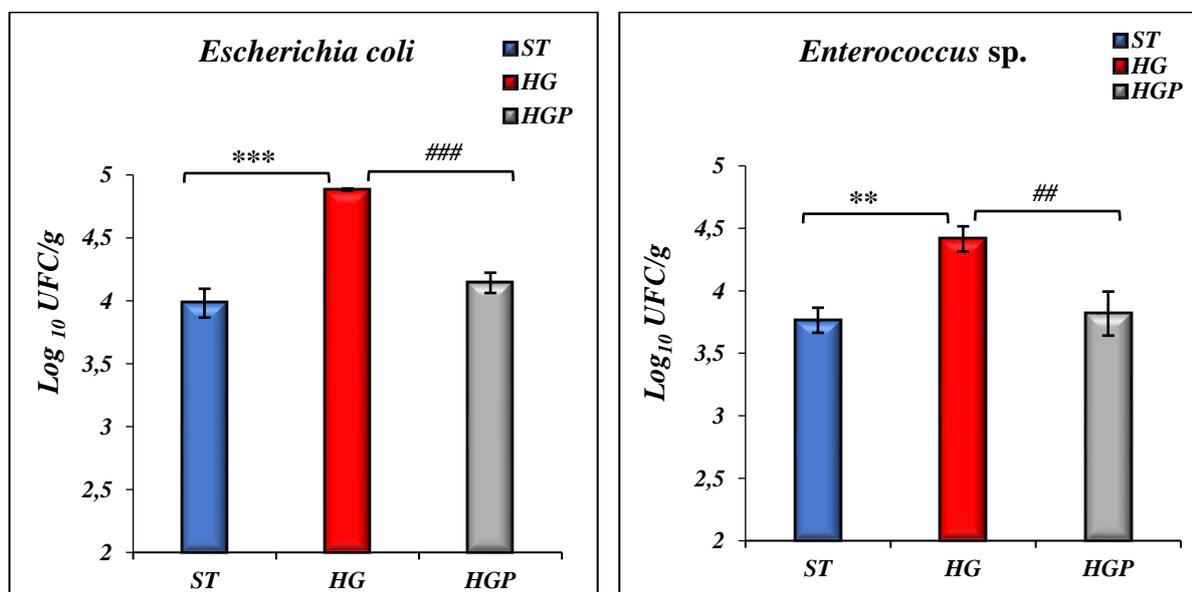
(+) : Test positif ; (-) : Test négatif ; (NR) : Test non réalisé

#### II.2.1.7.1 Dénombrement d'*Escherichia coli* sur le milieu Mac Conkey et *Enterococcus sp.* sur le milieu BEA

Les résultats de dénombrement d'*E. coli* et *Enterococcus sp.* à T<sub>0</sub> dans la matière fécale ne révèlent aucune différence significative entre les trois groupes, on note une charge

bactérienne d'*E.coli* de  $3,91 \pm 0,03$  ;  $4,15 \pm 0,05$  et  $4,12 \pm 0,03 \log_{10} UFC/g$  pour le groupe ST, HG et HGP, respectivement et une charge bactérienne d' *Enterococcus* sp.de  $3,75 \pm 0,10 \log_{10} UFC/g$  pour le groupe ST,  $3,67 \pm 0,13 \log_{10} UFC/g$  pour le groupe HG et  $3,55 \pm 0,23 \log_{10} UFC/g$  pour le groupe HGP.

Cependant, à T<sub>f</sub> les résultats de dénombrement d'*E.coli* et *Enterococcus* sp. Au niveau de la matière fécale des rats du groupe HG révèlent une augmentation évaluée à **22,65%** et à **17,26 %** pour les deux bactéries de manière respective et par rapport au groupe de rats nourris au régime standard (ST) la différence constatée est significative. Aussi, au cours de cette expérimentation une réduction de **15,16%** du nombre d'*E. coli* et de **13,51%** du nombre d'*Enterococcus* sp. a été constatée après l'administration de probiotiques aux rats de groupe HGP en comparaison avec le groupe HG (Figure 56).



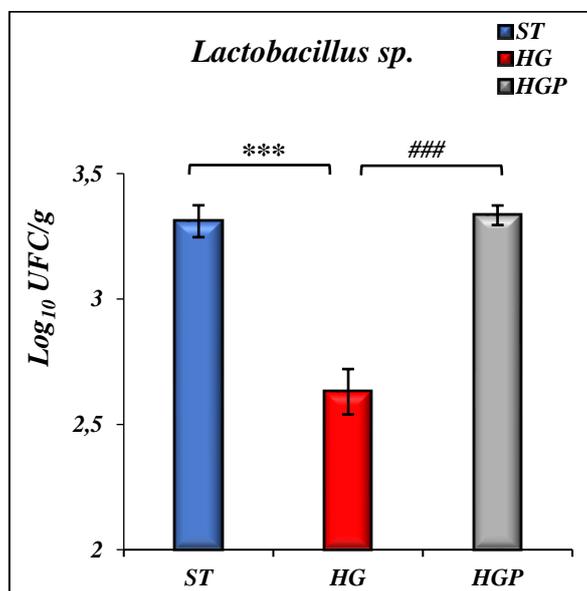
**Figure 56:** Dénombrement de *E. coli* et *Enterococcus* sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation.

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec n=7. (\*\*\*) Différence significative ST vs HG. (###) Différence significative HG vs HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

#### II.2.1.7.2 Dénombrement des *Lactobacillus* sp. sur le milieu MRS

Le dénombrement de *Lactobacillus* sp. au début de l'expérimentation (T<sub>0</sub>) n'enregistre aucune différence significative entre les trois groupes expérimentaux. Cependant Après 16 semaines de traitement, les résultats de la numération de *Lactobacillus* sp. chez les rats du groupe HG, présentent une diminution significative en comparaison avec celle des rats du groupe témoin ( $2,62 \pm 0,04$  vs  $3,31 \pm 0,03 \log_{10} UFC/g$ ).

L'incorporation des bactéries bénéfiques au régime hyperlipidique (HGP) provoque une augmentation significative dans le nombre de *Lactobacillus* sp. avec un pourcentage de 26,76 % et ce par rapport aux groupe HG (Figure 57).



**Figure 57:** Dénombrement de *Lactobacillus* sp. des rats sous le régime hyper-gras, seul ou associé aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

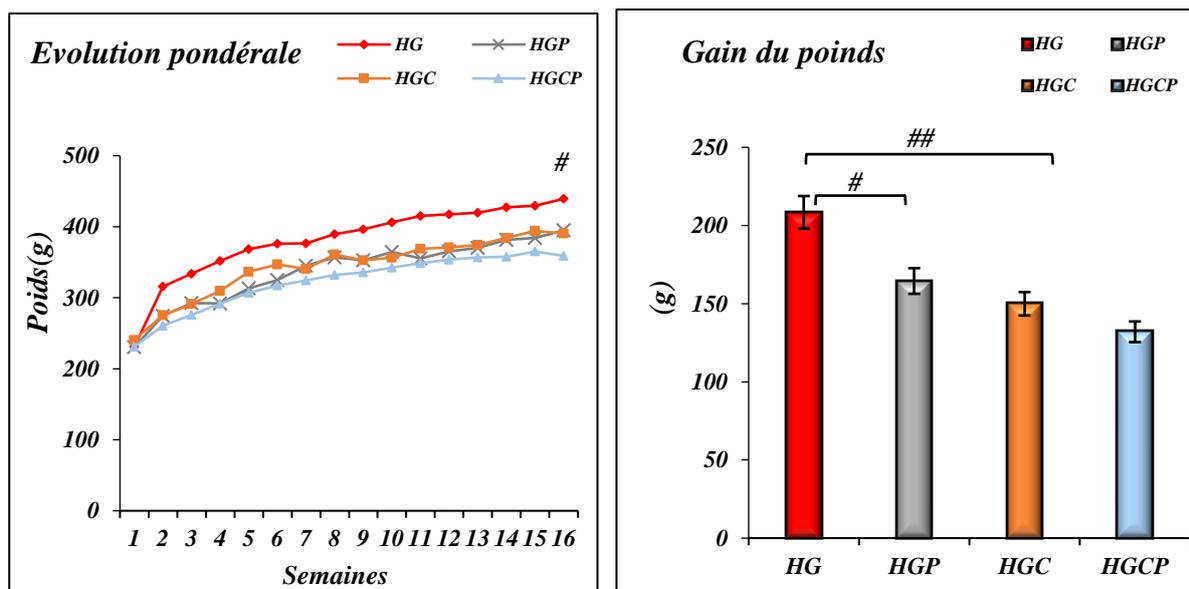
(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (\*\*\*) Différence significative ST vs HG. (###) Différence significative HG vs HGP. ST : rats du groupe standards ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques

## II.2.2 Stratégie préventive basée sur l'association des plantes médicinales et probiotiques

### II.2.2.1 Evaluation de l'effet préventif de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), combinée ou non aux probiotiques vis-à-vis des cadio-complications associées à l'obésité nutritionnellement induite

#### II.2.2.1.1 Effet sur l'évolution poids corporel et le gain du poids

Les résultats relatifs à la variation du poids corporel et l'évaluation du gain du poids durant l'expérimentation sont présentés dans la figure 58. L'incorporation de la cannelle au régime HG, influence le poids des rats de manière significative celui-ci est nettement inférieur aux poids des rats sous régime HG. En effet, à la fin de l'expérimentation, on note un poids final de  $390,35 \pm 14,71g$  pour le groupe HGC vs  $439,28 \pm 16,36 g$  pour le groupe HG. De plus, l'effet combiné cannelle/probiotique induit une perte de poids significativement différente par rapport au groupe HG associé aux probiotiques avec des gains de poids de  $132 \pm 18,56$  et  $164,5 \pm 8,44 g$  respectivement.



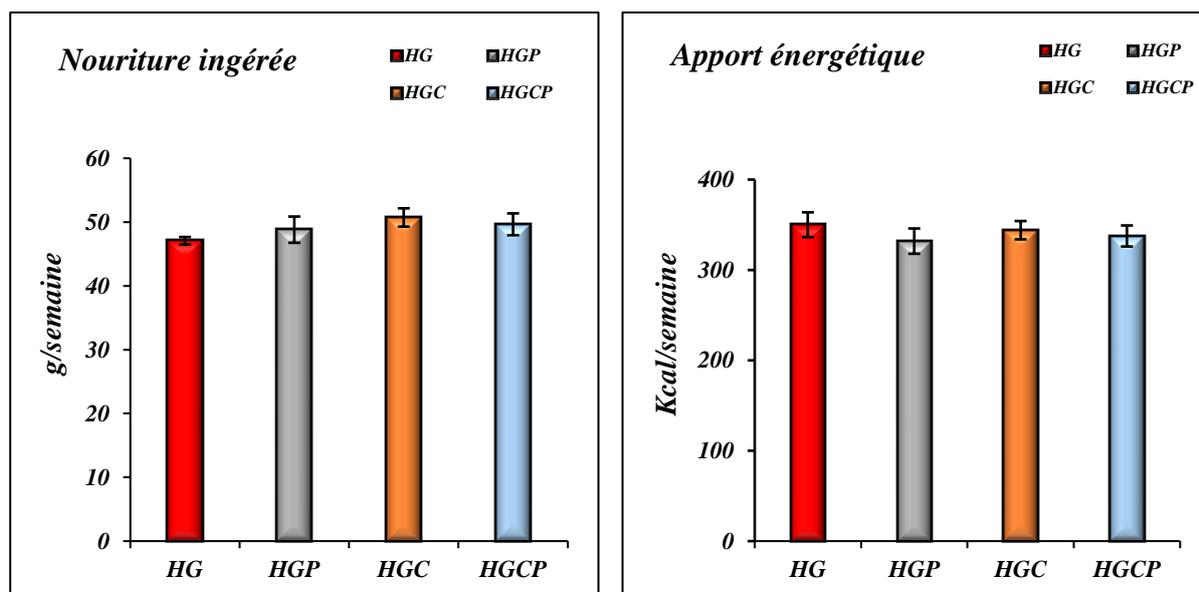
**Figure 58:** Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques pendant 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP, HGC et HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle+ probiotiques

#### II.2.2.1.2 Effet sur la prise alimentaire et l'apport calorique

La présente figure ci-dessous (n°59) ne montre aucune différence significative de l'apport calorique entre les quatre groupes HG, HGP, HGC et HGCP. De même, aucune différence significative entre la nourriture consommée durant les 16 semaines d'expérimentation n'est constatée chez les rats des groupes HG, HGP, HGC et HGCP.

Aussi, on constate que la supplémentation de la cannelle seule au régime hyper-gras (HGC) ne provoque aucune variation dans l'apport calorique ( $334,96 \pm 10,13 \text{ kcal/semaine}$  vs  $350,03 \pm 13,72 \text{ kcal/semaine}$ ). Il va de même pour les deux groupes de rats recevant le régime hyper-gras additionné de cannelle associée aux probiotiques (HGCP) et le groupe hyper-gras supplémenté en probiotiques seuls (HGP) ( $337,59 \pm 11,64 \text{ kcal/semaine}$  vs  $331,88 \pm 13,98 \text{ kcal/semaine}$ ).



**Figure 59:** Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des différents groupes de rats nourris au régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques durant les 16 semaines d'expérimentation

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec ( $n=7$ ). HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle+ probiotiques

### II.2.2.1.3 Effet sur le poids des organes

Le poids des organes chez les quatre groupes obtenus après 16 semaines d'expérimentation, est présenté dans le Tableau 23. Aucune variation significative n'est observée dans le poids du cœur et du foie entre les quatre groupes d'expérimentation. En revanche, le régime HG provoque une hypertrophie importante et hautement significative du tissu adipeux des rats, avec un poids évalué à  $21,36 \pm 0,84$  g. L'incorporation de la cannelle seule induit une réduction hautement significative de **62,6%** de la masse du tissu adipeux par rapport au groupe HG et ce avec des poids respectifs de  $7,98 \pm 0,97$  g et  $21,36 \pm 0,84$  g.

De manière similaire, la co-administration cannelle/probiotiques entraîne une réduction de la masse adipeuse chez rats recevant le régime HGP. Les résultats dévoilent une diminution très significative estimée à **49.4 %**.

Aucune différence significative n'est observée concernant le poids des cerveaux des différents groupes, à l'exception des rats du groupe HG qui se diffèrent significativement des rats du groupe HG. Concernant le poids des reins une différence significative est constatée entre les rats des deux groupe HGC et HGCP, on note  $2,21 \pm 0,12$  vs  $1,88 \pm 0,04$  g. Aussi, une

augmentation hautement significative des poids des testicules des rats du groupes HG par rapport aux autres groupes (HGP, HGC et HGCP) est constatée, voir Tableau 23.

**Tableau 23:** Poids des différents organes des rats sous régime hyper-gras supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques sur le poids des différents organes prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation

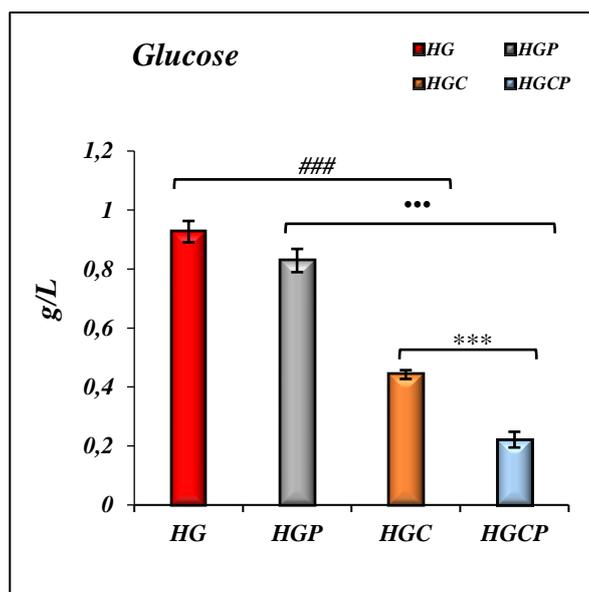
Organes (g)	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGC	HGCP
<b>Cœur</b>	1,08 ± 0,05	1,03 ± 0,01	1,14 ± 0,05	1,04 ± 0,06
<b>Foie</b>	10,94 ± 0,92	10,27 ± 0,41	10,83 ± 0,61	10,43 ± 0,51
<b>T. adipeux</b>	21,36 ± 0,84	10,03 ± 1,03 <sup>C</sup>	7,98 ± 0,97 <sup>C, b</sup>	5,07 ± 0,92 <sup>c, d</sup>
<b>Cerveau</b>	1,46 ± 0,09	1,64 ± 0,05	1,70 ± 0,08 <sup>A</sup>	1,66 ± 0,07
<b>Riens</b>	2,28 ± 0,1	1,98 ± 0,06	2,21 ± 0,12	1,88 ± 0,04 <sup>d</sup>
<b>Testicules</b>	5,81 ± 0,48	3,26 ± 0,07 <sup>C</sup>	3,41 ± 0,07 <sup>C</sup>	3,21 ± 0,17

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=7) ; (<sup>A</sup>P<0,05 ; <sup>B</sup>P<0,01 ; <sup>C</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup>P<0,05 ; <sup>b</sup>P<0,01 ; <sup>c</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HG ; ; (<sup>d</sup>P<0,05 ; <sup>e</sup>P<0,01 ; <sup>f</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HGC; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle + probiotiques.

#### II.2.2.1.4 Effet de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) associée ou non aux probiotiques sur les paramètres biochimiques plasmatiques

##### II.2.2.1.4.1 Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose

L'administration de la poudre de cannelle entraîne une diminution significative de la glycémie des rats sous régime HG, estimé à **52,28 %**. L'effet combiné de la cannelle/probiotiques (HGCP) provoque une baisse hautement significative de la glycémie des rats, réduisant celle-ci de **73,27 %** par rapport au groupe de rats recevant le régime HGP. Toutefois, cette combinaison a des répercussions positives sur le taux de la glycémie, indiquant une teneur significativement inférieure de **49,92 %** par rapport à celle observée chez les rats du groupe HGC (Figure 60).

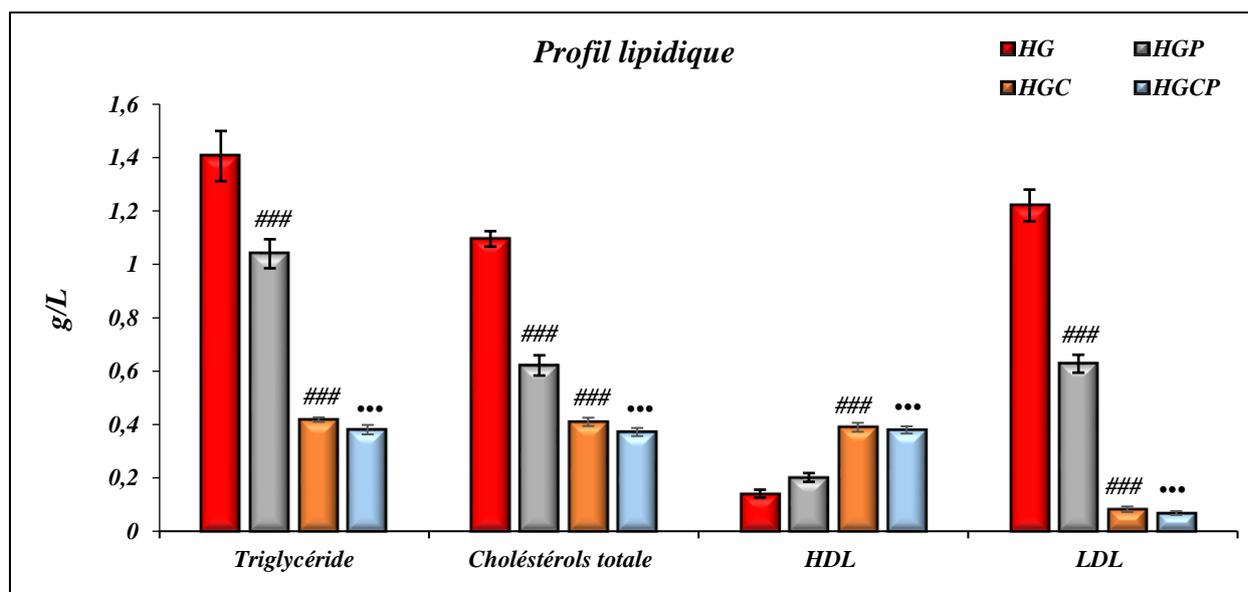


**Figure 60:** Teneur plasmatique en glucose, en g/l, chez les différents groupes de rats recevant le régime HG supplémenté de la poudre de la cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines de d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGC. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. (\*\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle+ probiotiques

#### II.2.2.1.4.2 Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL

Une influence significative sur le profil lipidique des rats est remarquée lors de l'incorporation de la cannelle dans les régimes expérimentaux qu'ils soient additionnés ou non aux probiotiques. En effet, elle induit une réduction des taux des triglycérides, cholestérol total et le C-LDL de **70,25 %**, **62,58 %** et **93,25 %** respectivement, ainsi que l'augmentation significative des taux du C-HDL de **176,9 %** chez le groupe HGC et de manière significative en comparaison avec le groupe HG. De manière similaire, le profil lipidique plasmatique du groupe HGCP présente une diminution significative des triglycérides (**63,38%**), de cholestérol total (**40,15 %**) et de C-LDL (**89,10 %**), ainsi qu'une augmentation significative de C-HDL (**88,32%**) versus le groupe de rats soumis au régime hyper-gras additionné de probiotiques uniquement (HGP). Il convient de noter qu'aucune différence significative n'a été révélée entre le groupe HGC et HGCP sur les paramètres précédemment étudiés (voir figure 61).



**Figure 61:** Profil lipidique en triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL en g/L chez les différents groupes de rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGC. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. (\*\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle+ probiotiques

#### II.2.2.1.4.3 Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT)

Une diminution significative de **30 %** et **22,9 %** des ASAT et ALAT, respectivement, est révélée chez les rats soumis à un régime hyper-gras incorporé de cannelle par rapport au groupe HG. Également la co-administration cannelle/probiotique améliore significativement l'activité de ces enzymes hépatiques avec une diminution de **38 %** et **9 %** en comparaison aux groupes HGP (Tableau 24).

#### II.2.2.1.4.4 Effet sur le taux en acide urique, urée et protéine totale au niveau plasmatique

La supplémentation de la cannelle en poudre au régime hyper-gras induit une diminution des teneurs sériques de l'acide urique, urée et protéine totale on note une diminution de **54 %**, **54,73 %** et **24,61 %** respectivement *versus* le groupe HG. La même constatation est décelée avec le traitement cannelle/probiotiques, ce dernier va diminuer la teneur en acide urique, urée et protéine totale de **32%**, **38 %** et **31 %**, dans l'ordre, et ce par rapport au groupe HGP (Tableau 24).

**Tableau 24:** Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) chez les différents groupes de rats nourris un régime HG supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGC	HGCP
ASAT(UI/mL)	114,36 ± 3,18	85,01 ± 1,87 <sup>C</sup>	79,03 ± 3,03 <sup>C</sup>	52,5 ± 2,65 <sup>c, f</sup>
ALAT(UI/mL)	101,85 ± 3,85	86,91 ± 5,08 <sup>A</sup>	78,52 ± 2,67 <sup>B</sup>	78,75 ± 3,86 <sup>B</sup>
Acide urique (mg/L)	38,55 ± 0,47	29,71 ± 1,40 <sup>C</sup>	17,71 ± 0,65 <sup>C, c</sup>	20,15 ± 0,79 <sup>c</sup>
Urée (g/L)	2,44 ± 0,08	1,63 ± 0,10 <sup>C</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>C, c</sup>	1 ± 0,08 <sup>c</sup>
Protéine totale (g/L)	5,75 ± 0,39	4,54 ± 0,20 <sup>A</sup>	4,34 ± 0,28 <sup>B</sup>	3,14 ± 0,31 <sup>b</sup>

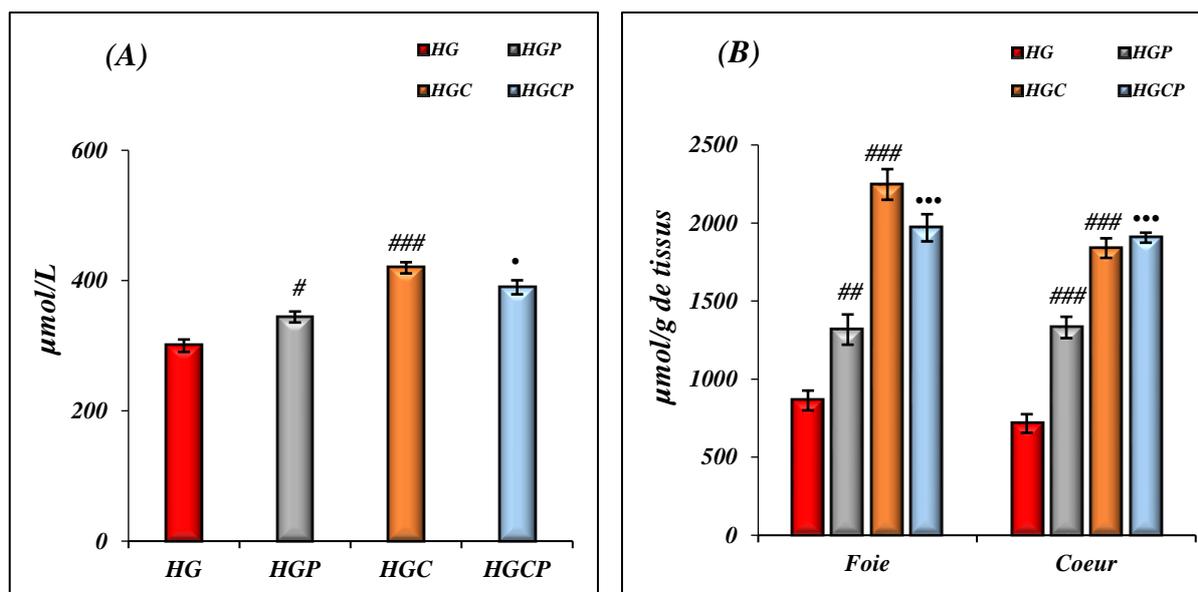
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=7) ; (<sup>A</sup>P<0,05 ; <sup>B</sup>P<0,01 ; <sup>C</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup>P<0,05 ; <sup>b</sup>P<0,01 ; <sup>c</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HG ; (<sup>d</sup>P<0,05 ; <sup>e</sup>P<0,01 ; <sup>f</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HGC; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+cannelle+probiotique.

### II.2.2.1.5 Effet de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) associée ou non aux probiotiques sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique et tissulaire

#### II.2.2.1.5.1 Effet sur le pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats du pouvoir réducteur total sont représentés dans la figure 62. Ces derniers dévoilent que ce paramètre augmente significativement lors de l'administration de la cannelle seule ou combinée aux probiotiques celui-ci est évalué à **39,86 %** par rapport au groupe HG et à **13,34 %** par rapport au groupe HGP, respectivement.

Egalement, elle augmente le pouvoir réducteur tissulaire d'une manière hautement significative on constate une hausse de **160 %** au niveau hépatique et de **156 %** au niveau cardiaque en comparaison avec le groupe HG. L'association cannelle/probiotique est capable d'améliorer significativement le pouvoir réducteur hépatique ainsi que cardiaque des rats par rapport au groupe HGP, avec une élévation de **49 %** et **43 %**, respectivement (Figure 62). Néanmoins, aucune différence significative n'a été appréciée entre les deux groupes expérimentaux (HGC et HGCP).



**Figure 62:** Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A), et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$  de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP, HGC et HGCP. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. (\*\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras + probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras + cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras + cannelle + probiotiques

### II.2.2.1.5.2 Impact sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire

Une augmentation significative des taux de la vitamine C plasmatique et tissulaire est constatée chez les rats ingérant le régime riche en graisse supplémenté de cannelle seule ou associée aux probiotiques (HGC et HGCP) voir Tableau 25. Chez les rats du groupe HGC la concentration en vitamine C plasmatique est de  $(48.38 \pm 2.45 \mu\text{g/L})$ , hépatique est de  $(483.26 \pm 33.31 \mu\text{g/g})$  et cardiaque est de  $(330.75 \pm 9.06 \mu\text{g/g})$  ces dernières sont significativement supérieures à celles des rats du groupe HG.

Chez les rats du groupe HGCP la teneur en vitamine C plasmatique est augmentée de manière significative par rapport au groupe HGP, on note une teneur de  $49,38 \pm 2,51$  versus  $37,61 \pm 1,67 \mu\text{g/L}$ . La même constatation est décelée au niveau tissulaire, la co-administration cannelle/probiotiques provoque une augmentation significative de la teneur de la vitamine C avec un pourcentage de  $65.23 \%$  au niveau hépatique et de  $93.24 \%$  au niveau cardiaque et ceux par rapport le groupe HGP.

**Tableau 25:** Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$  de tissus) en vitamine C des rats nourris par le régime HG supplémenté en poudre de cannelle combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGC	HGCP
<i>Teneur plasmatique en Vit C</i> ( $\mu\text{g/L}$ )	24,9 $\pm$ 3,1	37,6 $\pm$ 1,6 <sup>A</sup>	48,3 $\pm$ 2,45 <sup>C, a</sup>	49,9 $\pm$ 2,51 <sup>b</sup>
<i>Teneur hépatique en Vit C</i> ( $\mu\text{g/g}$ tissus)	164,2 $\pm$ 21,4	369,01 $\pm$ 26,06 <sup>C</sup>	483,2 $\pm$ 33,3 <sup>C</sup>	609,7 $\pm$ 31,4 <sup>c, e</sup>
<i>Teneur cardiaque en Vit C</i> ( $\mu\text{g/g}$ tissus)	78,8 $\pm$ 7,8	161,02 $\pm$ 7,8 <sup>C</sup>	330,7 $\pm$ 9,06 <sup>C, e</sup>	311,1 $\pm$ 11,4 <sup>c</sup>

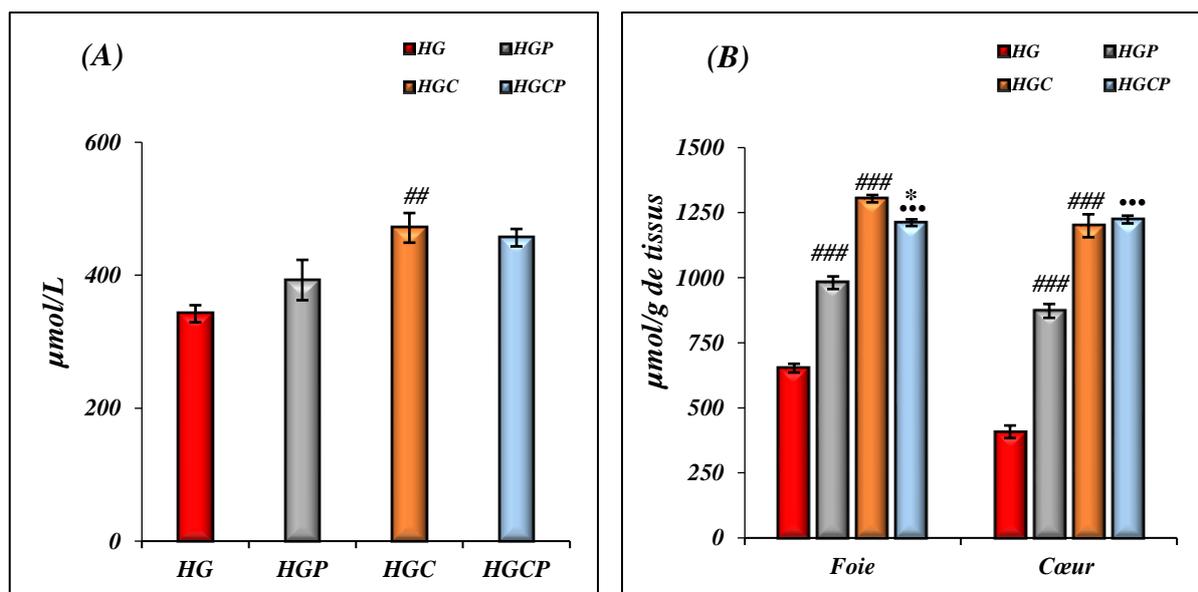
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec ( $n=7$ ) ; (<sup>A</sup> $P<0,05$  ; <sup>B</sup> $P<0,01$  ; <sup>C</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HG ; (<sup>a</sup> $P<0,05$  ; <sup>b</sup> $P<0,01$  ; <sup>c</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HGP ; (<sup>d</sup> $P<0,05$  ; <sup>e</sup> $P<0,01$  ; <sup>f</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HGC; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+cannelle+probiotique.

### II.2.2.1.5.3 Effet sur l'oxydation des protéines (groupement thiols) plasmatique et tissulaire

Les résultats de l'évaluation de l'oxydation des protéines au niveau plasmatique indiquent que l'ajout de cannelle et de probiotiques dans les régimes expérimentaux induit une augmentation significative des groupements thiols (SH) cette dernière est évaluée à **37,78 %** et **16,22 %** pour les groupes HGC et HGCP, respectivement *versus* les groupes HG et HGP (Figure 63).

De même, au niveau tissulaire l'addition de la cannelle seule ou bien combinée aux bactéries probiotiques offre une protection hautement significative contre l'oxydation protéique générée par le régime HG, ceci est indiqué par une amélioration apportée sur le taux des groupement SH au niveau hépatique, ce qui se traduit par une augmentation de **99 %** pour le groupe HGC et de **23,5 %** pour le groupe HGCP au niveau hépatique, et ceux par rapport aux deux groupes HG et HGP, respectivement.

Par ailleurs, une meilleure protection vis-à-vis de l'oxydation protéique est observée au niveau cardiaque chez le groupe HGC, elle est évaluée à **194 %** en comparaison au groupe HG. Parallèlement, l'association cannelle/probiotique (HGCP) montre une augmentation significative de **40 %** des groupements thiols au niveau cardiaque versus le groupe HGP. Ceci indique un effet protecteur de la supplémentation de la cannelle seule ou combinée aux probiotiques vis-à-vis des altérations oxydatives protéiques.

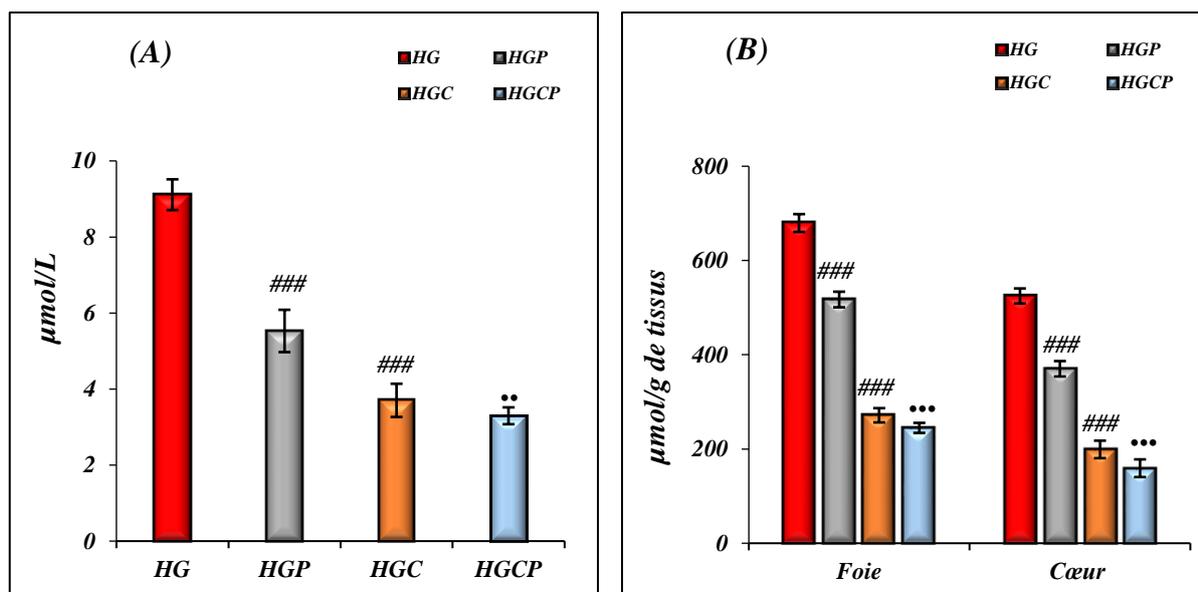


**Figure 63:** Oxydation protéique plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$  de tissus) (B), des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du hyper-gras +cannelle+ probiotiques.

#### II.2.2.1.5.4 Effet sur de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats d'appréciation des teneurs en TBARS sont indiqués dans la Figure ci-dessous. On constate chez les deux groupes de rats HGC et HGCP, une réduction significative de **59 %** et de **40 %** des taux de MDA plasmatique, et de **60 %** et de **52 %** de la teneur en MDA hépatique, alors qu'au niveau cardiaque cette réduction est de **62 %** et de **56 %** et ce on les comparant aux deux groupes HG et HGP.



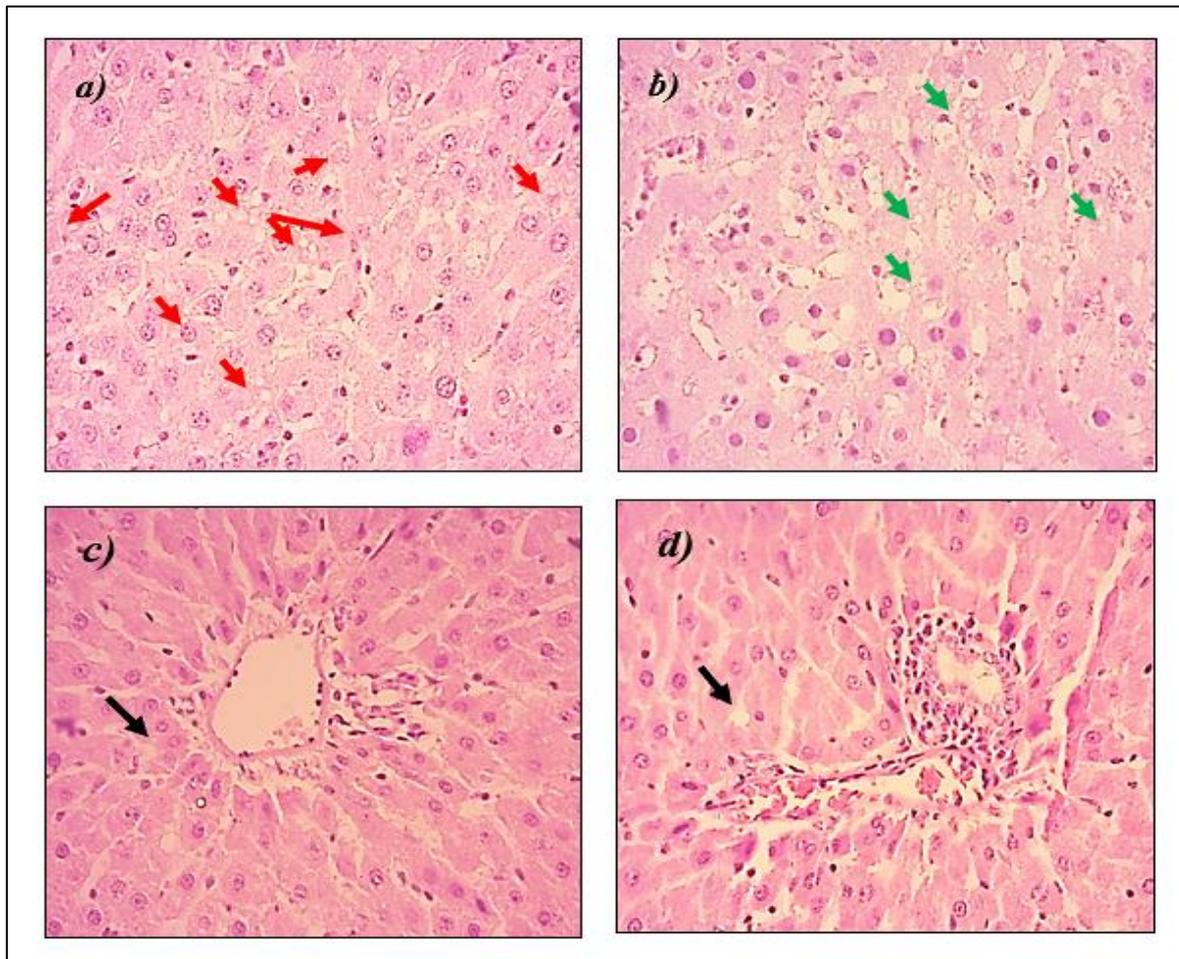
**Figure 64:** Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/g}$  de tissu) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (•) Différence significative HGP vs HGCP. (\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+cannelle+probiotique.

#### II.2.2.1.6 Effet contre la stéatose hépatique

L'examen macroscopique du foie des rats recevant le traitement la poudre de cannelle et probiotique (HGC et HGCP) a montré l'absence des lésions hépatiques.

Par ailleurs, l'examen microscopique des foies des rats des deux groupes HGC et HGCP, montre des coupes histologiques normales avec absence des gouttelettes lipidiques (Figure 65c et d) et ce en comparaison avec celui de groupe HG et HGP (Figure 65 a et b).



**Figure 65:** Observation microscopique (X40) des sections histologiques des foies des rats traités par la cannelle combinée ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitement

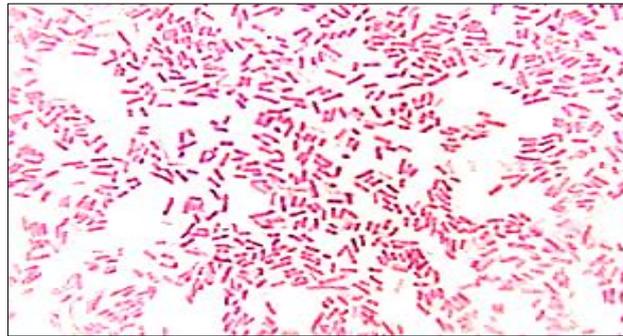
*a) foie des rats du groupe nourris au régime hyper-gras, présence un grand nombre de vacuoles lipidique (flèches rouge) ; b) foies des rats nourris au régime hyper-gras supplémenté en probiotiques, diminution du nombre des vacuoles lipidique (flèches vert) ; c) foie des rats du groupe HGC ; d) foie des rats du groupe HGCP une forte diminution du nombre des vacuoles lipidique (flèches noir)*

#### II.2.2.1.7 Effet sur le déséquilibre du microbiote intestinale

Afin d'estimer l'impact de cette plante associée ou non aux probiotiques sur la composition du microbiote intestinal, nous avons isolé, identifié et dénombré, chez les quatre groupes expérimentaux (HG, HGP, HGC et HGCP), certaines bactéries à Gram négatif et à Gram positif et ceci au niveau fécal. L'identification au cours de ce protocole expérimentale a été basée sur l'appréciation des caractéristiques morphologiques et biochimiques.

### II.2.2.1.7.1 Isolement, identification et dénombrement des entérobactéries sur milieu Mac Conkey

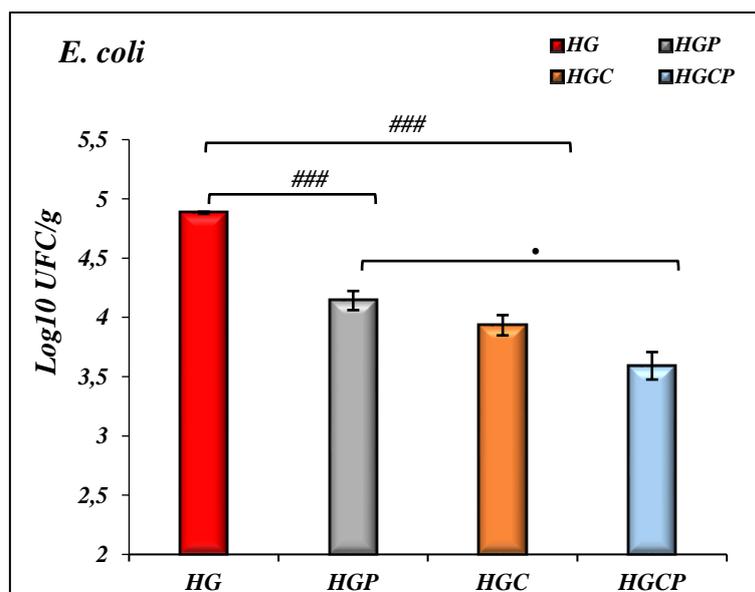
L'examen macroscopique sur milieu Mac Conkey révèle des colonies roses entourées d'un halo opaque dû à la précipitation des sels biliaires (annexe n° VIII). Cependant, l'observation microscopique révèle des cellules bactériennes sous forme de coccobacille et elle dévoile une coloration Gram négative figure 66.



**Figure 66:** Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur Mac Conkey issues du contenu fécal

L'identification de ces bactéries a été effectuée par le biais de la galerie l'Api « Api 20 E ». Les résultats obtenus indiquent que la bactérie isolée possède les enzymes  $\beta$ -galactosidase (**ONPG<sup>+</sup>**), Lysine décarboxylase (**LDC<sup>+</sup>**), Ornithine décarboxylase (**ODC<sup>+</sup>**), mais elle est dépourvue de l'Uréase (**URE<sup>-</sup>**), Tryptophane désaminase et Thiosulfate réductase (production de H<sub>2</sub>S), cette bactérie peut utiliser le glucose et l'arabinose au cours de son métabolisme, par contre elle n'utilise pas le citrate (**CIT<sup>-</sup>**) comme seule source de carbone et d'énergie mais elle est également capable de produire de l'indole. L'ensemble de ces tests confirme que les bactéries isolées sur Mac Conkey sont des espèces d'*E. coli* (annexe n° VII).

Les résultats de dénombrement d'*E. coli* à T<sub>0</sub> dans la matière fécale ne révèlent aucune différence significative entre les quatre groupes HG, HGP, HGC et HGCP. En outre, les résultats après 16 semaines d'expérimentation (T<sub>f</sub>) dévoilent une réduction significative de **19,43 %** du nombre d'*E. coli* chez les groupes ayant reçu le régime HG incorporé de la poudre de cannelle (HGC), et ceux en comparaison avec le groupe de rats sous régime HG. D'autre part une réduction de **13,29 %** du nombre d'*E. coli* est constaté chez les rats du groupe HGCP par rapport au groupe de rats HGP (Figure 67)



**Figure 67:** Dénombrement d'*E. coli* chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. (\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+ cannelle+ probiotiques.

#### II.2.2.1.7.2 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu BEA

Les bactéries isolées sur milieu BEA sont de petites tailles sans couleur, entourées d'un halo noir (voir annexe n° VIII). Par contre l'observation microscopique de ces bactéries indique des cellules bactériennes sous forme de coque avec une coloration à Gram positif (Figure 68).

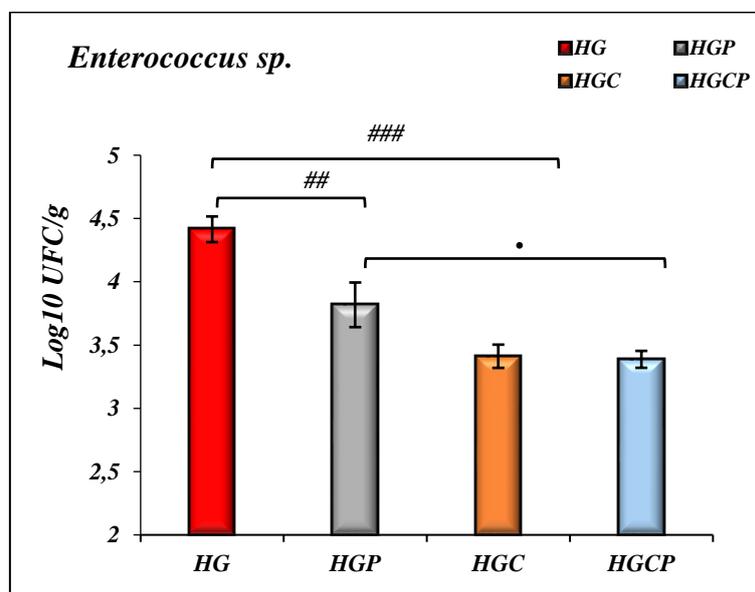


**Figure 68:** Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur BEA issues du contenu fécal

De plus, l'identification biochimique des bactéries isolées sur BEA montre que ces dernières sont caractérisées par une absence de la catalase, de l'oxydase, de l'ONPG et de l'uréase Tableau 26. Les résultats concernant les caractéristiques morphologiques et

biochimiques des bactéries isolées sur BEA sont en faveur de l'identification phénotypique du genre *Enterococcus* sp. Les caractéristiques de cette identification est basée sur celles décrites dans le manuel de Bergey de la bactériologie systématique (**Kandler et Weiss, 1986**) et dans Procaroyotes (**Knauf et al., 1992**).

Le dénombrement au niveau fécal de la bactérie présumée *Enterococcus* sp. à T<sub>0</sub> n'enregistre aucune différence significative entre les quatre lots de rats cités précédemment. Cependant, après 16 semaines d'expérimentation on constate une réduction significative de la charge bactérienne estimée à **22,72 %** chez les groupes ayant reçu le régime HG incorporé de la poudre de cannelle (HGC), et ceux en comparaison avec le groupe HG. Aussi respectivement une diminution de **11,23 %** a été distingué chez les rats du groupe hyper-gras cannelle /probiotiques (HGCP) par rapport le groupe HGP (Figure 69).



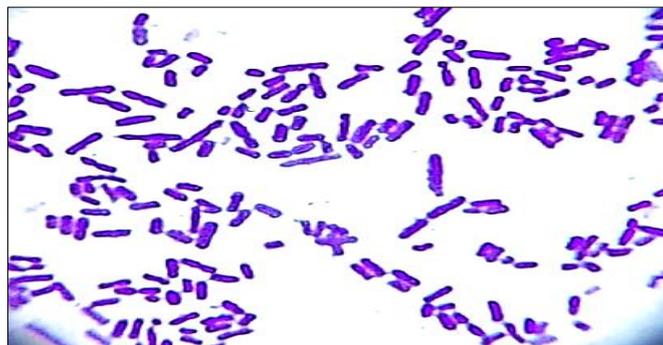
**Figure 69:**Dénombrement d'*Enterococcus* sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (\*) Différence significative HGP vs HGCP. (\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+ cannelle+ probiotiques.

### II.2.2.1.7.3 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu MRS

L'observation macroscopique réalisée sur les colonies bactériennes obtenues sur MRS met en évidence des colonies de forme circulaires, moyennes, avec une surface lisse plus ou moins bombées de couleur blanchâtre (voir annexe n° VIII). L'examen microscopique laisse à

percevoir la présence de cellules bactériennes de forme bacillaire, isolées ou disposées en amas (Figure 70).



**Figure 70:** Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur MRS issues du contenu fécal

Les résultats des caractéristiques biochimiques des bactéries isolées sur MRS indiquent que ces dernières ne possèdent pas de catalase, d'oxydase, d'ONPG mais elles contiennent l'uréase.

Les résultats concernant les caractéristiques morphologiques et biochimiques des bactéries isolées sur MRS confirment l'identification phénotypique du genre *Lactobacillus* sp., les critères d'identification utilisés au cours de cette identification sont décrites dans le manuel de Bergey de la bactériologie systématique (**Kandler et Weiss, 1986**) et dans Prokaryotes (**Knauf et al., 1992**).

**Tableau 26:** Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des germes isolés de la matière fécale des rats sous régime hypergras traités par la cannelle associée ou non aux probiotiques

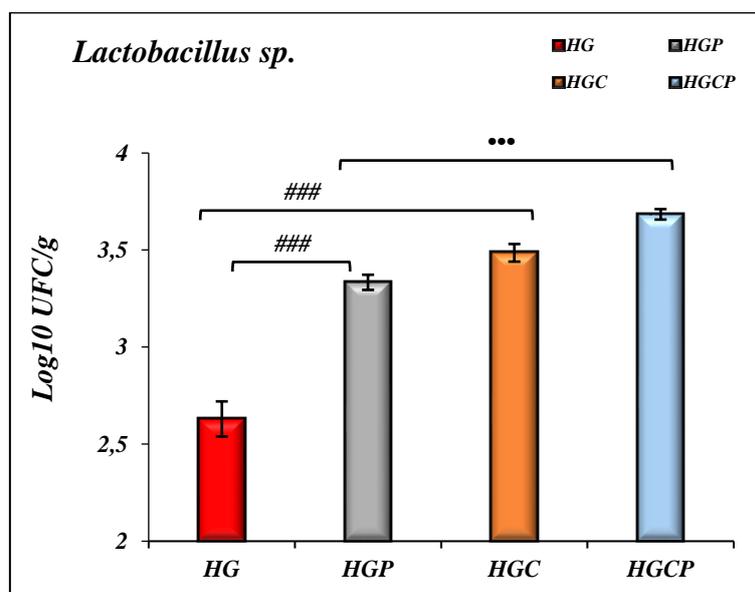
	Mac Conkey	BEA	MRS
Macroscopique	Colonies roses entourées d'un halo opaque	Petites colonies incolores d'un halo noir	Colonies blanchâtres légèrement allongées
Microscopique	Bacilles à Gram négatif	Coques à Gram positif	Bacilles à Gram positif
Catalase	+	-	-
Oxydase	-	-	-
ONPG	+	-	-
Mannitol	+	+	+
Mobilité	+	-	-
TSI	+	NR	NR

Urée	-	-	+
Indole	+	-	-

(+): Test positif ; (-) : Test négatif ; (NR) : Test non réalisé

Les résultats de dénombrement de *Lactobacillus* sp. à T<sub>0</sub> indiquent aucune différence significative entre les lots de rats (HG, HGC, HGP, HGCP) la numération après 16 semaines de consommation des différents régimes expérimentaux dévoile un accroissement significatif du nombre de *Lactobacillus* sp. chez les rats constituant le groupe HGC en comparaison avec le groupe HG cette élévation est estimée à **32,54 %**.

La co-administration cannelle/probiotique rehausse de manière hautement significative de la charge de *Lactobacillus* sp en comparaison avec le groupe HGP, on note une augmentation de **10,58 %**. Il va de même pour le groupe de rat ayant reçu le traitement cannelle/probiotique, en effet une augmentation de 5 % par rapport au groupe HGC est constatée, néanmoins, celle-ci reste non significative (Figure 71).



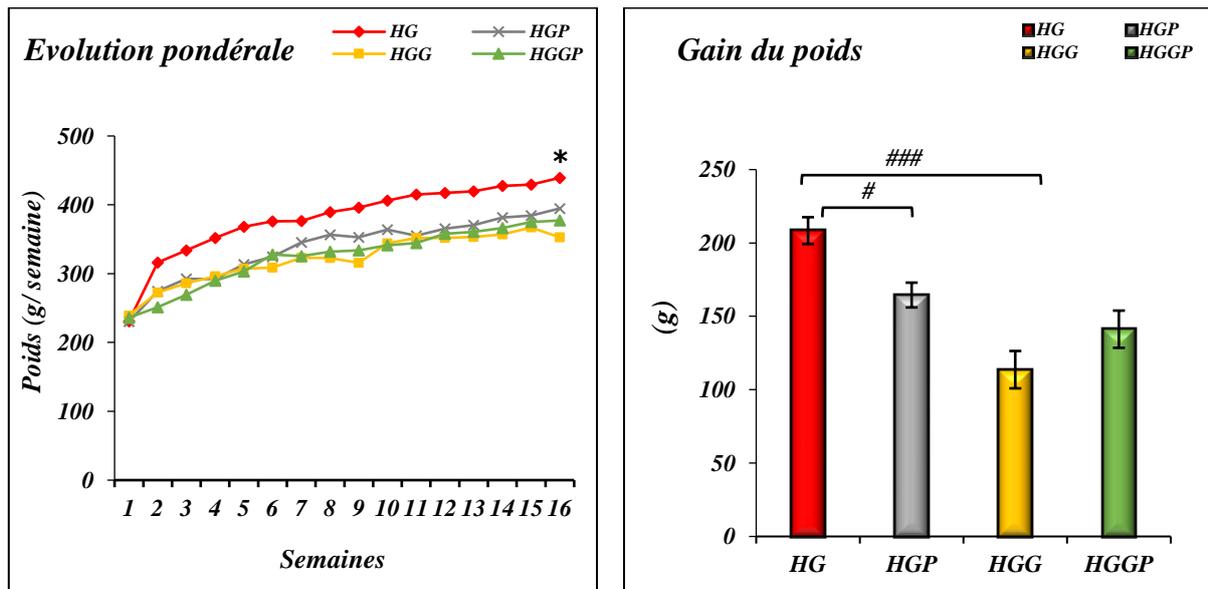
**Figure 71:** Dénombrement de *Lactobacillus* sp. chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de cannelle combinée ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (•) Différence significative HGP vs HGCP. (\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques ; HGC : rats du groupe hyper-gras+cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+ cannelle+ probiotiques.

## II.2.2.2 Evaluation de l'effet préventif de gingembre (*Zingiber officinale*), combinée ou non aux probiotiques vis-à-vis des cadio-complications associées à l'obésité nutritionnellement induite

### II.2.2.2.1 Effet sur l'évolution poids corporel et le gain du poids

Au terme de l'étude le traitement basé sur l'utilisation du régime hyper-gras supplémenté en poudre de gingembre (HGG) et du régime hyper gras supplémenté en poudre de gingembre associée aux probiotiques (HGGP), réduit la masse corporelle des rats de manière significative en comparaison avec celle des rats constituant le groupe HG. Ces animaux atteints un poids final de  $432,28 \pm 16,36$  g contre un poids final de  $352,92 \pm 11,79$  g et  $377,21 \pm 9,18$  g pour le groupe HGG et HGGP respectivement. Néanmoins aucune variation significative entre ces deux derniers groupes n'est décelée. Parallèlement, les résultats concernant le taux du gain de poids obtenus après 16 semaines de traitement, indiquent que la plus faible valeur est de  $47,94 \pm 5,83$  % celle-ci est enregistré avec le groupe HGG. Cependant le groupe de rats sous régime HGGP, présentent un taux de gain de poids évalué à  $60,62 \pm 6,62$  % (figure ci-dessous).

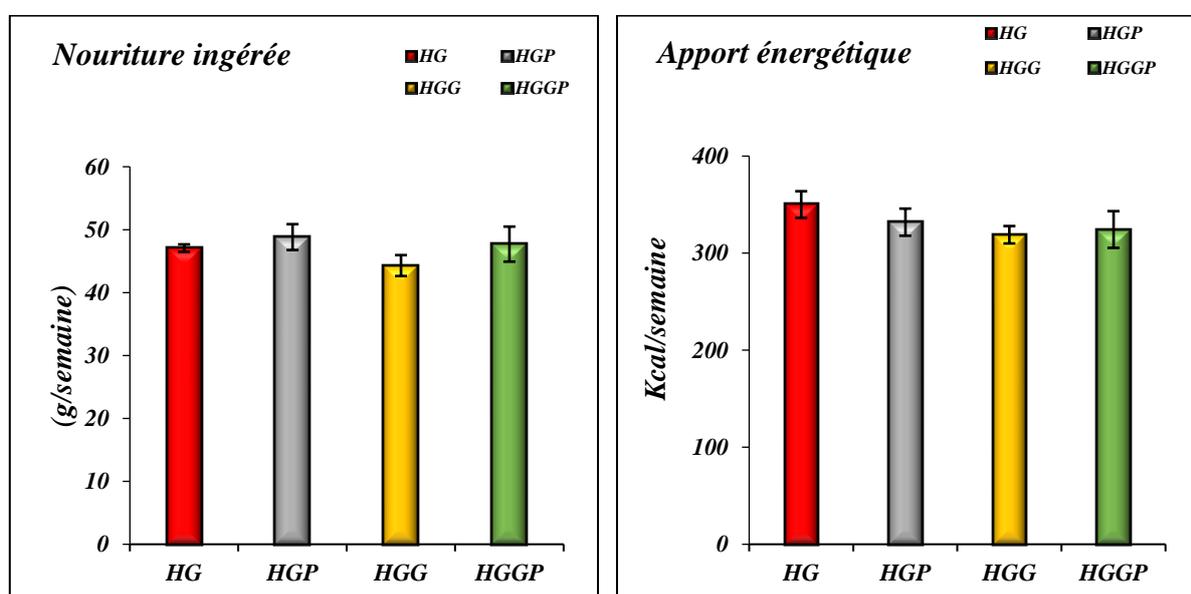


**Figure 72:** Evolution du poids corporel et le gain de poids des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques pendant 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (\*) Différence significative HG vs HG, HGP, HGG et HGGP. (#) Différence significative HG vs HGP et HGG. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques

### II.2.2.2.2 Effet sur la prise alimentaire et l'apport calorique

Au cours de la présente expérimentation, les quatre groupes de rats sous régime HG, HGP, HGG ou sous régime HGGP ont un apport énergétique de  $350,03 \pm 13,72$  kcal/semaine, de  $331,88 \pm 13,98$  kcal/semaine, de  $318,92 \pm 8,95$  kcal/semaine et de  $324,32 \pm 18,92$  kcal/semaine, respectivement. Aucune différence significative n'est notée entre ces quatre groupes. Il va de même pour la nourriture ingérée, cependant ils présentent une quantité de nourriture ingérée significativement inférieure en comparaison à celle des rats constituant le groupe (ST), on note  $47,06 \pm 0,59$  g,  $48,81 \pm 2,05$  g,  $44,28 \pm 1,66$  et  $47,70 \pm 2,78$ g Versus  $72,55 \pm 1,54$  g, respectivement voir Figure 73.



**Figure 73:** Nourriture ingérée (g) et Apport énergétique (Kcal) des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques durant les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGG. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembres et probiotiques

### II.2.2.2.3 Effet sur le poids des organes

Après 16 semaines d'expérimentation, le poids des organes chez les quatre groupes est présenté dans le Tableau 27. Aucune variation significative du poids du cœur n'est constatée entre les différents groupes expérimentaux. Cependant, le poids du foie des rats du groupe HGG ( $8,97 \pm 0,41$ g) et les rats du groupe HGGP ( $9,75 \pm 0,42$  g) est significativement inférieur à celui des rats du groupe HG ( $10,94 \pm 0,92$  g). Bien que cette différence demeure non significative.

Le groupe de rats nourris au régime hyper-gras additionné de la poudre de gingembre (HGG) présente une diminution estimée **71,61 %** du poids de tissus adipeux cette diminution est hautement significative en comparaison avec le groupe de rats qui reçoit le régime hyper-gras (HG) on note **6,06 ± 0,76 g vs 21,36 ± 0,84 g** respectivement. De même, la combinaison gingembre/probiotique (HGGP) diminue d'une façon hautement significative le poids du tissu adipeux des rats avec un pourcentage de **22,2 %** en comparaison avec le groupe HG supplémenté en probiotiques (**7,08 ± 0,51g vs 10,03 ± 1,03 g**). Le poids des reins des rats du groupe HGG et HGGP est significativement inférieure à celui du groupe HG (**1,86 ± 0,05g et 1,82 ± 0,19 g vs 2,28 ± 0,10 g**). En revanche, aucune différence n'est constatée entre le groupe HG et HGP. Aucune variation significative n'est observée pour le poids du cerveau de différents groupes, à l'exception des rats HG qui présentent au terme de l'étude un poids significativement différent de celui des rats HGGP (**1,46 ± 0,09 g versus 1,71 ± 0,03 g**). Aussi Une augmentation hautement significative de la masse des testicules des rats du groupes HG est constatée par rapport aux rats des autres groupes (HGP, HGG et HGGP) voir Tableau 27.

**Tableau 27:** Poids des différents organes, des rats sous régime hyper-gras supplémenté du gingembre associé ou non aux probiotiques seul ou associée au probiotiques, prélevés (g) après 16 semaines d'expérimentation

Organes (g)	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGG	HGGP
<b>Cœur</b>	1,08 ± 0,05	1,03 ± 0,01	0,98 ± 0,01	1,04 ± 0,03
<b>Foie</b>	10,94 ± 0,92	10,27 ± 0,41	8,97 ± 0,41 <sup>A</sup>	9,75 ± 0,42
<b>T. adipeux</b>	21,36 ± 0,84	10,03 ± 1,03 <sup>C</sup>	6,06 ± 0,76 <sup>C</sup>	7,80 ± 0,51
<b>Cerveau</b>	1,46 ± 0,09	1,64 ± 0,05	1,66 ± 0,06	1,71 ± 0,03 <sup>A</sup>
<b>Riens</b>	2,28 ± 0,1	1,98 ± 0,06	1,86 ± 0,05 <sup>A</sup>	1,82 ± 0,19 <sup>A</sup>
<b>Testicules</b>	5,81 ± 0,48	3,26 ± 0,07 <sup>C</sup>	3,18 ± 0,14 <sup>C</sup>	3,65 ± 0,06 <sup>C</sup>

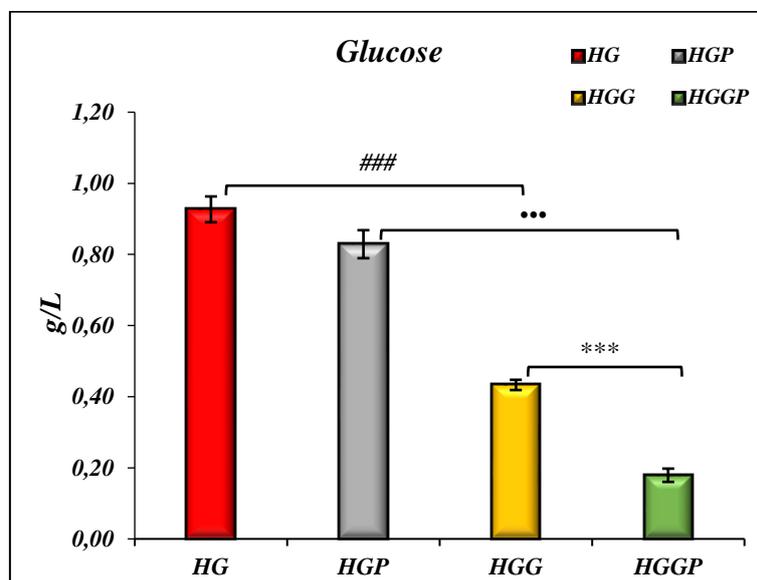
*Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=7) ; (<sup>A</sup>P<0,05 ; <sup>B</sup>P<0,01 ; <sup>C</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup>P<0,05 ; <sup>b</sup>P<0,01 ; <sup>c</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HG ; (<sup>d</sup>P<0,05 ; <sup>e</sup>P<0,01 ; <sup>f</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HGG ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques.*

#### II.2.2.2.4 Effet sur les paramètres biochimiques plasmatiques

##### II.2.2.2.4.1 Effet sur les teneurs plasmatiques en glucose

La supplémentation de la poudre du gingembre seule ou bien combinée aux probiotiques (HGG et HGGP) provoque une diminution hautement significative estimée à **53,27 %** pour le

groupe HGG vs HG, et une réduction de **78,40 %** pour le groupe HGGP vs HGP. De plus, une réduction significative est évaluée à **58.67 %** chez rats constituant le groupe HGGP *versus* les rats du groupe HGG. (Figure 74).



**Figure 74:** Teneur plasmatique en glucose des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation en g/L

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGG. (\*) Différence significative HGP vs HGGP. (\*\*) Différence significative HGG vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques

#### II.2.2.2.4.2 Effet sur le profil lipidique plasmatique : triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL

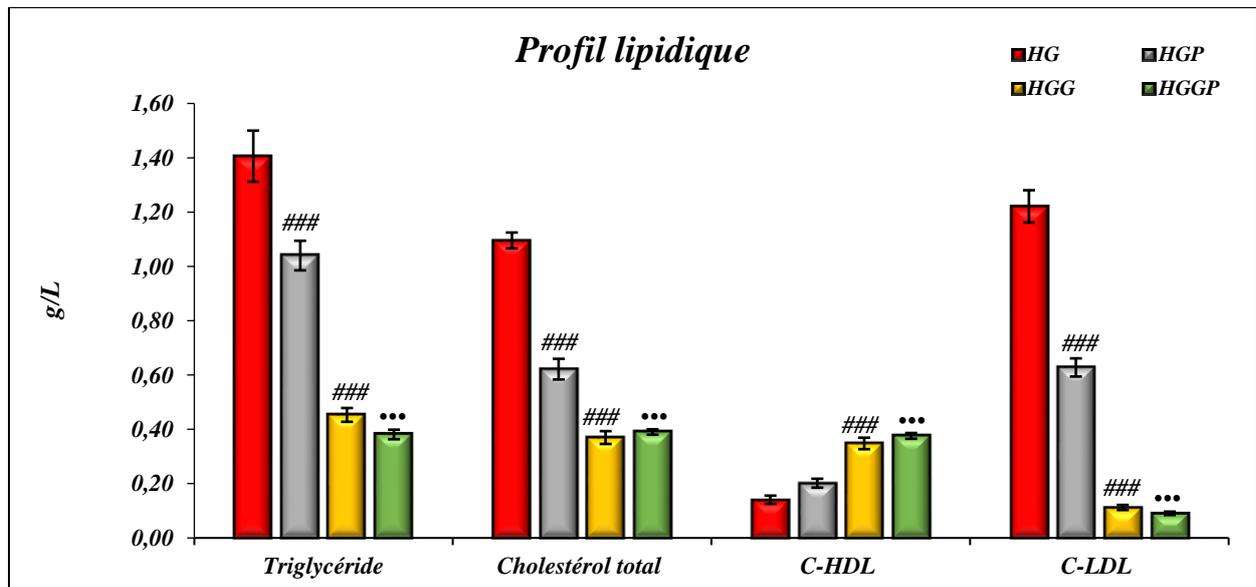
Comme cité précédemment dans le premier volet de cette partie de l'étude la consommation quotidienne d'un régime riche en lipide pendant 16 semaines entraine une perturbation lipidique du profil lipidique des rats *Wistar* ceci se traduit par une élévation des taux plasmatique du cholestérol total, des triglycérides et les fraction lipoprotéines C-LDL ainsi que par une diminution hautement significative des taux plasmatiques des fractions lipoprotéiques en C-HDL, cette perturbation est légèrement restaurée par l'addition des probiotiques au régime HG comme le montre la Figure 75.

Toutefois, l'incorporation de gingembre seul ou bien associé aux probiotiques (HGG et HGGP) provoque une diminution hautement significative au niveau plasmatique de la teneur en triglycérides avec un pourcentage de **67,77 %** pour le groupe HGG en opposition au groupe HG et de **63,35 %** pour le groupe HGGP en opposition avec le groupe HGP.

La même constatation est obtenue, une diminution hautement significative du taux de cholestérol évaluée à **66,26 %** est enregistré pour le groupe HGG et de **37,21 %** pour le groupe HGGP par rapport les deux groupes HG et HGP, respectivement (Figure 75).

Toutefois, l'incorporation du gingembre dans les régimes expérimentaux additionnés ou non en probiotiques (HGG et HGGP), influence de manière hautement significative la teneur en C-LDL. En effet, cette dernière subit une diminution de **90,8 %** par rapport au groupe HG et de **85,56 %** par rapport au groupe HGP, respectivement.

Parallèlement, la supplémentation du gingembre associé ou non aux probiotiques (HGG et HGGP) améliore le profil lipidique en termes de C-HDL (Figure 75), on a enregistré une augmentation hautement significative de **147,25 %** chez les rats ayant reçus le régime hyper-gras incorporé de gingembre (HGG) par rapport aux rats ayant ingéré le régime HG. L'association gingembre probiotique (HGGP) augmente de manière hautement significative le taux du bon cholestérol (C-HDL) en comparaison avec le groupe de rats nourris par le régime HG associé aux probiotiques HGP avec un taux de **85,56 %**.



**Figure 75:** Profil lipidique en triglycéride, cholestérol total, HDL et LDL en g/L des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGG. (•) Différence significative HGP vs HGGP. (\*) Différence significative HGG vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+probiotique

#### II.2.2.2.4.3 Effet sur les lésions hépatiques évalués par les taux des transaminases (ASAT et ALAT)

Le régime hyperlipidique provoque des lésions hépatiques appréciées par les taux plasmatiques élevés des transaminases (ASAT et ALAT). Néanmoins, l'incorporation du gingembre combiné ou non aux probiotiques (HGG et HGGP) restaure ces lésions en provoquant une diminution des taux enzymatiques évaluée à  $63,76 \pm 0,69$  UI/mL et  $52,26 \pm 2,59$  UI/mL pour les ASAT et de  $61,18 \pm 2,45$  UI/mL et  $73,16 \pm 2,87$  UI/mL pour les ALAT, pour les groupes HGG et HGGP respectivement *versus* le groupe HG (Tableau 28).

#### II.2.2.2.4.4 Effet sur le taux en acide urique, urée et protéine totale au niveau plasmatique

Le régime hyper-gras induit une diminution des niveaux plasmatiques d'acide urique, d'urée et de protéines totale. Cependant, l'incorporation de la poudre de gingembre au régime hyper-gras provoque une diminution significative de la concentration en acide urique en urée et en protéine totale, évaluée à  $51,85$  %,  $54,46$ % et  $35,6$ % dans l'ordre par rapport au groupe HG.

La même tendance est observée avec l'administration gingembre/probiotique celle-ci induit une diminution de la teneur en acide urique, urée et en protéines totale d'une manière significative celle-ci est estimée à  $32,56$  % pour l'acide urique de  $24,43$  % pour l'urée et de  $13,63$  % pour les protéines totales, en comparaison avec le groupe HGP.

**Tableau 28:** Activités enzymatiques (UI/L) des ASAT et ALAT, Acide urique (mg/L), urée (g/L) et protéine totale (g/L) des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGG	HGGP
ASAT(UI/mL)	114,36 ± 3,18	85,01 ± 1,87 <sup>C</sup>	63,76 ± 0,69 <sup>C, c</sup>	52,26 ± 2,59 <sup>c</sup>
ALAT(UI/mL)	101,85 ± 3,85	86,91 ± 5,08 <sup>A</sup>	61,18 ± 2,45 <sup>C, c</sup>	73,16 ± 2,87
Acide urique (mg/L)	38,55 ± 0,47	29,71 ± 1,40 <sup>C</sup>	18,56 ± 0,69 <sup>C, c</sup>	20,03 ± 0,90 <sup>c</sup>
Urée (g/L)	2,44 ± 0,08	1,63 ± 0,10 <sup>C</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>C, c</sup>	1,24 ± 0,01 <sup>b</sup>
Protéine totale (g/L)	5,75 ± 0,39	4,54 ± 0,20 <sup>A</sup>	3,70 ± 0,28 <sup>C</sup>	3,92 ± 0,29

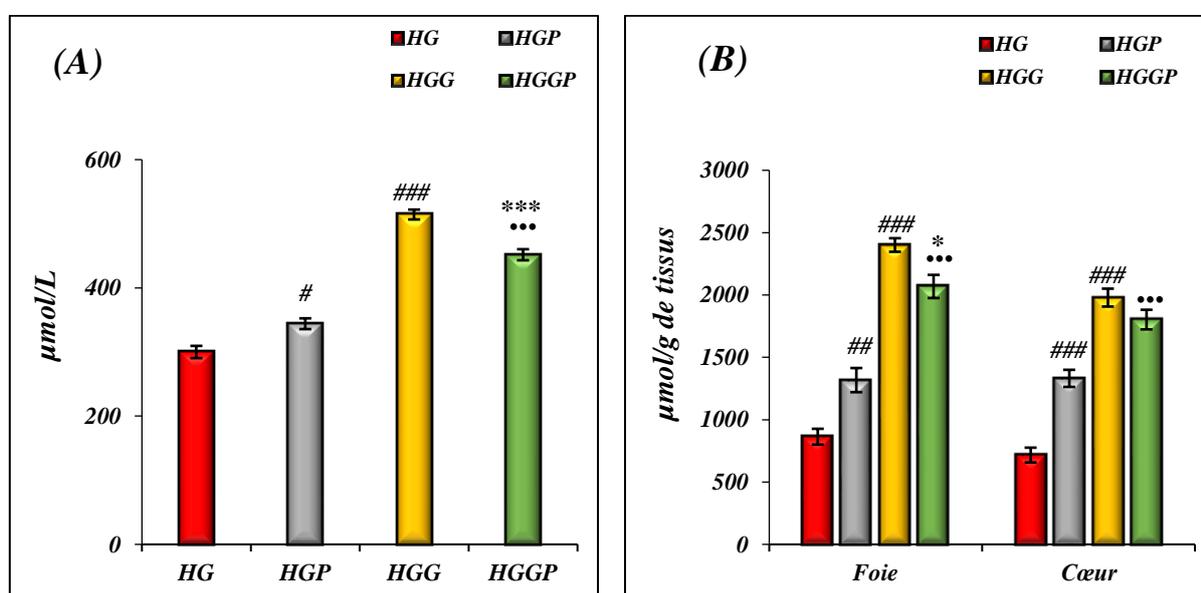
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard ; avec (n=7) ; (<sup>A</sup>P<0,05 ; <sup>B</sup>P<0,01 ; <sup>C</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup>P<0,05 ; <sup>b</sup>P<0,01 ; <sup>c</sup>P<0,001) différence

significative par rapport au groupe HG ; (<sup>d</sup>P<0,05 ; <sup>e</sup>P<0,01 ; <sup>f</sup>P<0,001) différence significative par rapport au groupe HGG; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+probiotique.

### II.2.2.2.5 Effet sur les paramètres oxydatifs au niveau plasmatique et tissulaire

#### II.2.2.2.5.1 Effet sur le pouvoir réducteur total au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats du pouvoir réducteur sont représentés dans la Figure 76, ces derniers montrent que le régime hyper-gras influence de manière significative le pouvoir réducteur évalué par la technique FRAP au niveau plasmatique et tissulaire. En effet, les rats recevant le régime hyper-gras présentent un pouvoir réducteur, plasmatique ou tissulaire, significativement inférieur à celui des autres groupes à savoir le groupe HGP, HGG et HGGP.



**Figure 76:** Pouvoir réducteur total au niveau plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A), et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$  de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP, HGG et HGGP. (\*) Différence significative HGP vs HGGP. (\*\*) Différence significative HGG vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+probiotique.

L'administration de la plante seule ou associée aux probiotiques augmente de manière hautement significative le pouvoir réducteur plasmatique, au terme de l'étude un taux d'augmentation de **71,46 %** pour le groupe HGG versus HG et de **31,26 %** pour le groupe HGGP versus HGP est enregistré. Il va de même pour le pouvoir réducteur tissulaires, ce dernier est rehaussé de **178,08 %** pour le groupe HGG et de **57 %** pour le groupe HGGP au niveau hépatique, alors qu'au niveau cardiaque une augmentation de **176,38 %** est constatée avec le

groupe HGG. Le groupe HGGP présente, quant à lui, une augmentation du pouvoir réducteur cardiaque de **35,41 %**.

Il est important de noter que la combinaison gingembre/probiotique diminue le pouvoir antioxydant totale au niveau plasmatique, hépatique ainsi que cardiaque et ce avec des taux de **12,19%**, **13,85%** et **8,9 %**, respectivement. Ceci est constaté en comparaison avec le groupe de rats nourris par le régime HG associée au gingembre seul, cependant cette différence reste non significative

#### **II.2.2.2.5.2 Effet sur la teneur en vitamine C plasmatique et tissulaire**

Les résultats présentés dans le Tableau 29, indiquent que l'incorporation du gingembre combiné ou non aux probiotique au régime HG, améliore significativement les concentrations plasmatiques en vitamine C, cette amélioration est estimée par un pourcentage d'augmentation de **111,69%** pour les rats du groupe HGG en opposition aux rats du groupe HG et de **53,47 %** chez le groupe HGGP en opposition aux rats du groupe HGP.

En parallèle, nos résultats signalent que les concentrations en vitamine C au niveau hépatique aussi bien chez les groupes de rats HGG que chez les rats recevant un HGGP, sont supérieures et de manière hautement significative à celles des rats des deux groupes HG et HGP. En effet, on note des teneurs de l'ordre de **557,98 ± 27,96 et 643,68 ± 30,49 µg/g de tissus**, respectivement voir tableau ci-dessous.

L'incorporation de la plante seule ou associée aux probiotiques induit des variations des taux de vitamines C constatées au niveau cardiaque. Les résultats du dosage de la vitamine C au niveau de ce tissu, montrent des teneurs en vitamine C de **(303,88 ± 8,54 µg/g de tissu)** pour le groupe de rats HGG cette dernière est hautement supérieure et de manière significative à celle remarquée chez les rats HG **(78,8±7,8 µg/L)**. Aussi Co-traitement gingembre / probiotiques (HGGP) montre une augmentation hautement significative du contenu en vitamine C cardiaque de **(339,94 ± 8,36 g/g de tissus)** par rapport aux rats nourris par le régime HGP **(161,02±7,8 µg/L)**.

Bien que la teneur en vitamine C soit rehaussée chez les rats du groupe HGGP, cette teneur reste cependant statistiquement non significative par rapport aux rats du groupe HGG. Il est à noter que les rats de ce groupe présentent une augmentation de **15,33 %** au niveau hépatique et de **11,86 %** au niveau cardiaque.

**Tableau 29:** Teneurs plasmatique ( $\mu\text{g/L}$ ), et tissulaires ( $\mu\text{g/g}$  de tissus) en vitamine C des rats nourris par le régime HG supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

Paramètres	Groupes expérimentaux			
	HG	HGP	HGG	HGGP
<i>Teneur plasmatique en Vit C (<math>\mu\text{g/L}</math>)</i>	24,9 $\pm$ 3,1	37,6 $\pm$ 1,6 <sup>B</sup>	52,8 $\pm$ 1,4 <sup>C, b</sup>	47,7 $\pm$ 2,2 <sup>a</sup>
<i>Teneur hépatique en Vit C (<math>\mu\text{g/g}</math> tissus)</i>	164,2 $\pm$ 21,4	369,01 $\pm$ 26,06 <sup>C</sup>	557,9 $\pm$ 27,9 <sup>C, c</sup>	643,6 $\pm$ 30,4 <sup>c</sup>
<i>Teneur cardiaque en Vit C (<math>\mu\text{g/g}</math> tissus)</i>	78,8 $\pm$ 7,8	161,02 $\pm$ 7,8 <sup>C</sup>	303,8 $\pm$ 8,5 <sup>C, c</sup>	339,9 $\pm$ 8,3 <sup>c</sup>

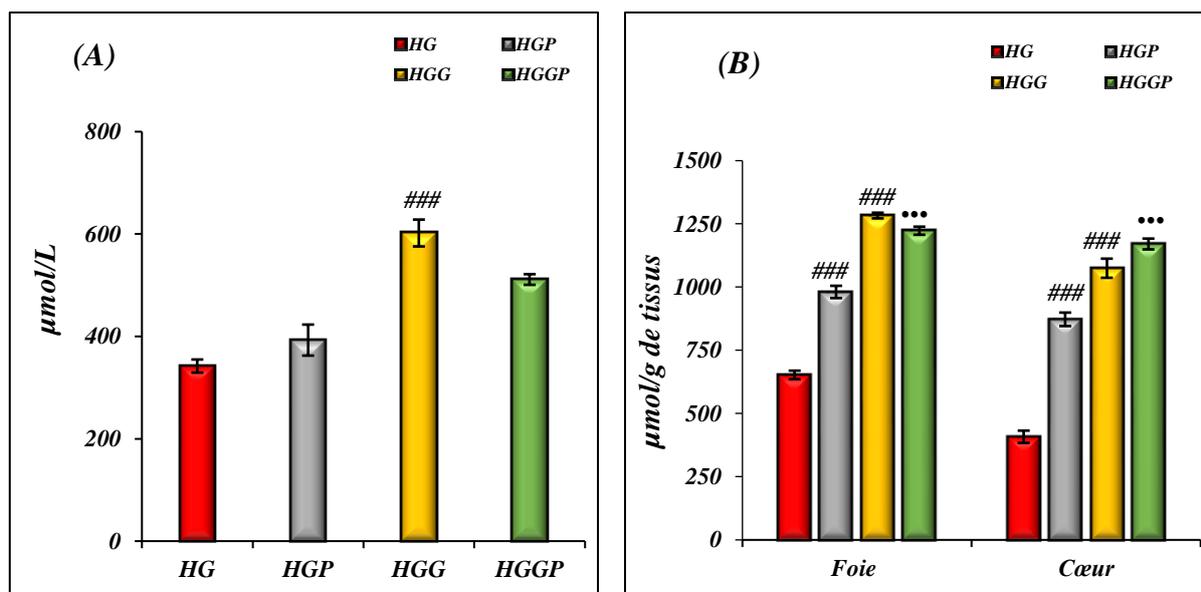
Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard ; avec ( $n=7$ ) ; (<sup>A</sup> $P<0,05$  ; <sup>B</sup> $P<0,01$  ; <sup>C</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe ST ; (<sup>a</sup> $P<0,05$  ; <sup>b</sup> $P<0,01$  ; <sup>c</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HG ; (<sup>d</sup> $P<0,05$  ; <sup>e</sup> $P<0,01$  ; <sup>f</sup> $P<0,001$ ) différence significative par rapport au groupe HGG ; HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques.

### II.2.2.2.5.3 Effet sur l'oxydation des protéines (groupement thiols) plasmatique et tissulaire

La supplémentation du gingembre combiné ou non aux probiotiques exerce un effet protecteur vis-à-vis des altérations oxydatives protéiques. Ceci est reflété par des teneurs importantes au niveau plasmatique des groupements thiols estimées à **601,99  $\pm$  26,24** et **511,17  $\pm$  10,35  $\mu\text{mol/L}$**  pour les deux groupes de rats recevant le régime hyper-gras enrichi en poudre de gingembre (HGG) et en probiotiques (HGGP), respectivement.

De même, les résultats obtenus après 16 semaines d'expérimentation indiquent une différence hautement significative dans les concentrations en groupements thiols au niveau du foie lors de l'addition de la poudre du gingembre, celle-ci est marquée par une augmentation estimée à **96,57 %** par rapport au groupe HG. Il va de même pour le groupe de rats sous régime hyper-gras supplémenté en gingembre et en probiotiques, en effet cette synergie améliore la protection hépatique contre les altérations oxydatives protéiques un taux de protection évaluée à **24,69 %** est constaté par rapport au groupe HGP.

Une meilleure protection cardiaque est remarquée avec les deux groupes de rats HGG et HGGP, celle-ci est estimée par un pourcentage d'augmentation de **163,38 %** chez le groupe HGG et de **34,14 %** chez le groupe HGGP en opposition avec les groupes HG et HGP, respectivement (Figure 77).



**Figure 77:** Oxydation protéique plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaire ( $\mu\text{mol/g}$  de tissu) (B), des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGG. (\*) Différence significative HGP vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+ gingembres ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques.

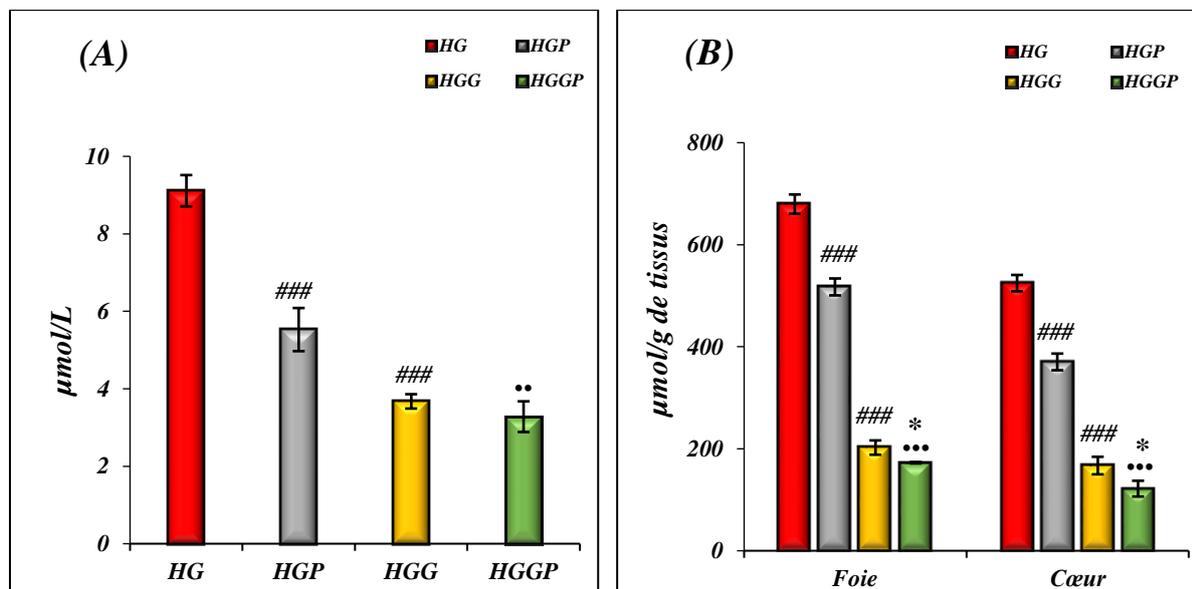
#### II.2.2.2.5.4 Effet sur de l'oxydation lipidique au niveau plasmatique et tissulaire

Les résultats d'estimation des teneurs en malondialdéhyde (MDA) sont représentés dans la figure 78, ces derniers montrent que le régime hypergras élaboré au cours de cette étude génère une oxydation lipidique importante et ceux au niveau plasmatique et tissulaire chez les rats du groupe HG.

Parallèlement, Au cours de cette expérimentation le traitement basé sur l'incorporation du gingembre combiné ou non aux probiotiques réduisent de manière hautement significative le taux des MDA plasmatiques des rats Wistar engendrés par le régime hyper-gras. On note respectivement une teneur de  $(3,67 \pm 0,18 \mu\text{mol/L}$  versus  $9,11 \pm 0,40 \mu\text{mol/L}$ ) ceci se traduit par diminution de **59,68 %** en opposition au groupe HG.

L'addition des probiotiques au régime HG associé au gingembre induit une diminution de la teneur en MDA plasmatique évaluée à  $3,27 \pm 0,39 \mu\text{mol/L}$  versus la teneur en MDA du groupe HGP avec une valeur de  $5,52 \pm 0,55 \mu\text{mol/L}$ . Cette diminution est estimée en pourcentage à **40,67%**.

Les résultats obtenus indiquent clairement que l'effet préventif de la co-administration gingembre/probiotiques, sur l'oxydation lipidique plasmatique, est plus importante que le traitement basé sur l'utilisation du gingembre seul. Cette protection est appréciée par une réduction des taux des MDA de **10,73 %** chez le groupe HGGP *versus* HGG (Figure 78), cependant elle reste statistiquement non significative.



**Figure 78:** Oxydation lipidique (MDA) plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (A) et tissulaires ( $\mu\text{mol/g}$  de tissus) (B) des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP et HGG. (•) Différence significative HGP vs HGGP. (\*) Différence significative HGG vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras +gingembre+ probiotiques

De manière similaire, les résultats d'évaluation des taux des MDA tissulaires représentés dans la figure ci-dessous montrent une diminution hautement significative des teneurs en MDA tissulaires des rats constituant les groupes HGG et HGGP, vis-à-vis des rats constituant les groupes HG et HGP. Après 16 semaines d'expérimentation, on enregistre une réduction hépatique de **70,23 %** et cardiaque de **68,17 %** chez les rats recevant le régime hypergras incorporé de gingembre (HGG) et ceci en les opposant au groupe HG.

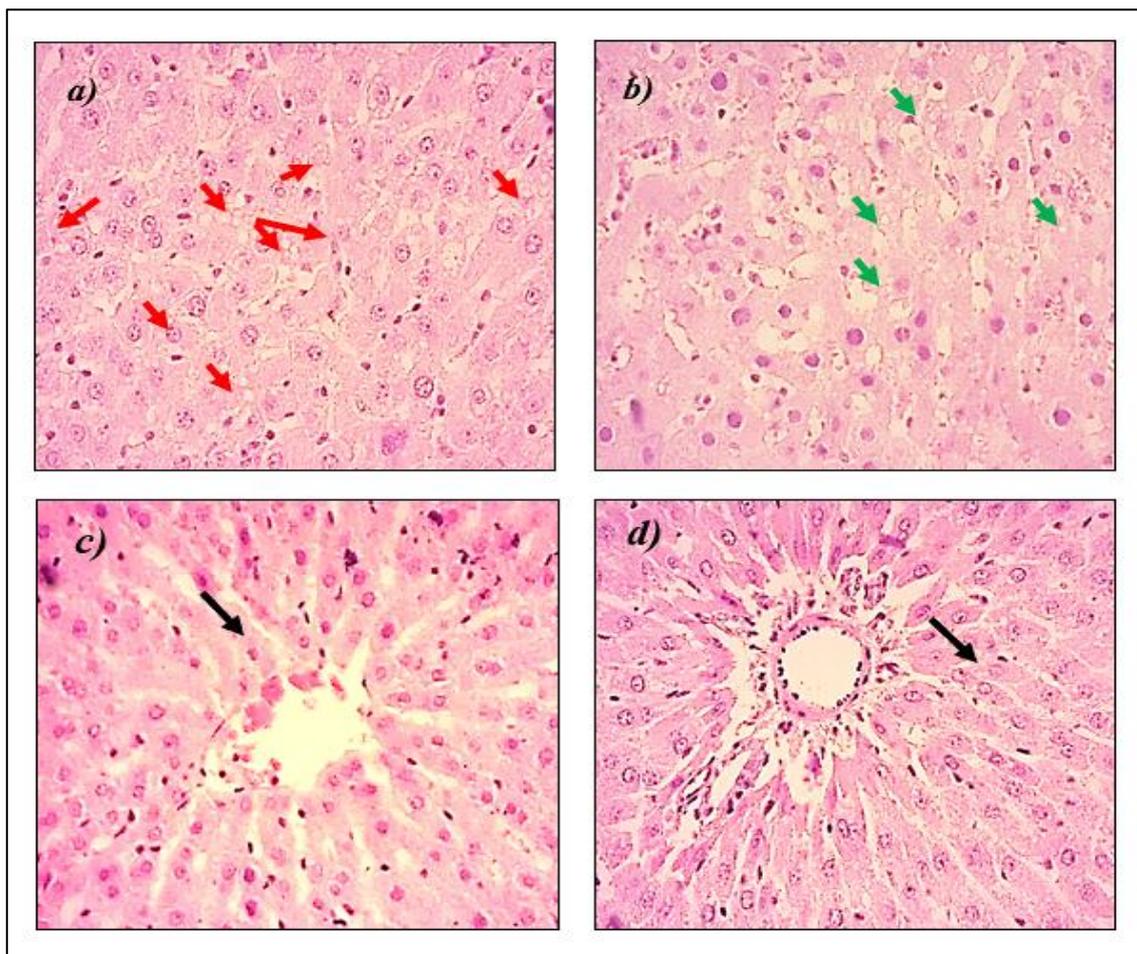
La supplémentation basée sur la combinaison gingembre/probiotiques induit une diminution hautement significative des taux de MDA, que ce soit au niveau hépatique **66,64 %** ou bien au niveau cardiaque **67,11 %** comparée à la supplémentation à base de probiotique seul (HGP). Il semblerait que la plante seule ou combinée aux probiotiques, exerce une action cardio et hépato-protectrice vis-à-vis des oxydations lipidiques. Toutefois, il est important de noter que

cette co-administration à un effet préventif accentué, vis-à-vis de la formation des lipides oxydés, au niveau tissulaire qu'au niveau plasmatique.

#### II.2.2.2.6 Effet contre la stéatose hépatique

Après 16 semaines de traitement par la poudre de gingembre combinée ou non aux probiotiques, les foies des rats du groupes HGG et HGGP ont été observées macroscopiquement, cette observation n'a révélé aucune lésion au niveau de cette organe

Les coupes histologiques des foies des rats nourris au régime HGG et HGGP présentent un tissu normal avec absence de toutes forme de vacuoles lipidiques (Figure 79 c et d) en comparaison avec les foies des rats constituant les deux groupes de rats HG et HGP (Figure 79 a et b). Il semblerait que la poudre du gingembre seule ou combinée aux probiotiques exerce une action protectrice vis-à-vis l'accumulation des lipides au niveau des cellules hépatocytaires induisant ainsi une inhibition de la formation des vacuoles lipidiques.



**Figure 79:** Observation microscopique (X40) des sections histologiques des foies des rats traités par le gingembre combiné ou non aux probiotiques après 16 semaines de traitement

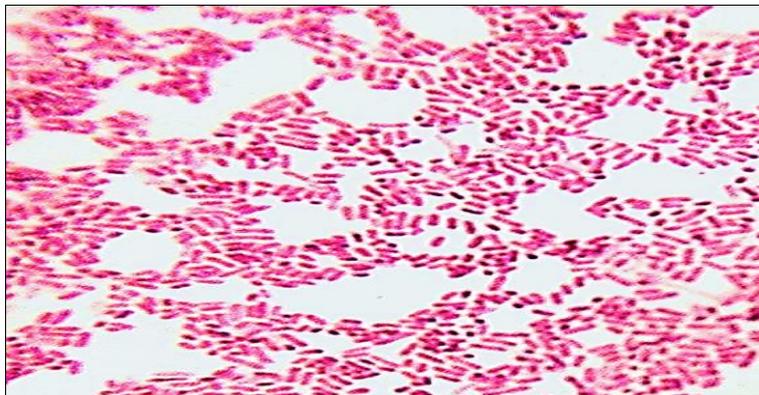
a) foie des rats du groupe nourris au régime hyper-gras, présence un grand nombre de vacuoles lipidique (flèches rouge); b) foies des rats nourris au régime hyper-gras supplémenté en probiotiques, diminution du nombre des vacuoles lipidique (flèches vert) ; c) foie des rats du groupe HGG ; d) foie des rats du groupe HGGP une forte diminution du nombre des vacuoles lipidique (flèches noir)

#### II.2.2.2.7 Effet sur le déséquilibre du microbiote intestinal

L'évaluation de l'effet du gingembre en poudre associé ou non aux bactéries probiotiques sur le déséquilibre du microbiote intestinal provoqué par le régime hyper-gras des rats *Wistar*, a réalisée par un isolement, une identification et un dénombrement au niveau fécal comme cités précédemment. de certaines bactéries intestinales à Gram négatif chez les différents groupes expérimentaux *HG, HGP, HGG et HGGP*.

##### II.2.2.2.7.1 Isolement, identification et dénombrement des entérobactéries sur milieu Mac

Sur un milieu de culture Mac Conkey, l'aspect macroscopique des colonies apparaissent de couleur rose, sont généralement rondes, convexes et lisses. Elles peuvent avoir un aspect humide ou brillant. En outre, une caractéristique distinctive de ces colonies sur le milieu Mac Conkey est la présence d'une zone ou halo autour. Cela est dû à la production d'acide et à la précipitation des sels biliaires contenus dans le milieu, formant cette zone opaque (annexe n° VIII). L'observation microscope de ces bactéries est de forme coccobacilles à Gram négatif (Figure 80)



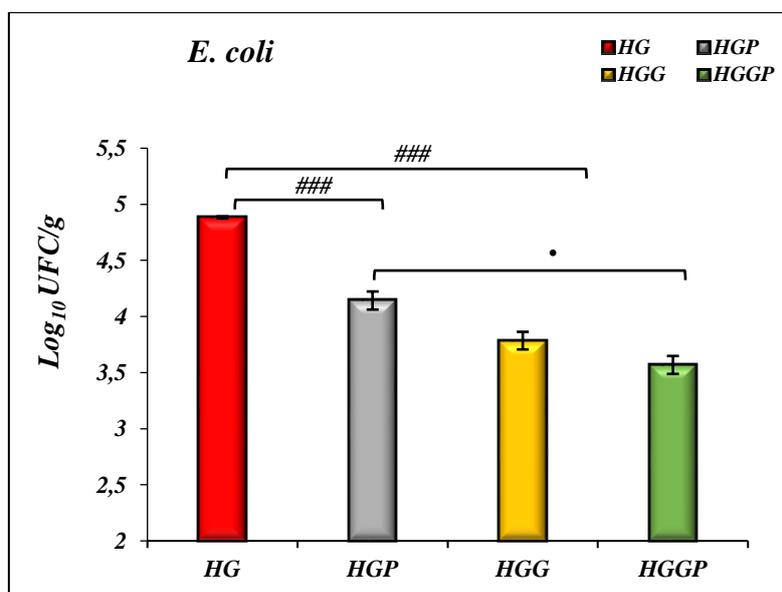
**Figure 80:** Observation microscopique (100X) des bactéries isolées sur Mac Conkey issues du contenu fécal

Les résultats d'identification biochimique effectués sur la galerie API 20 E obtenus indiquent que les bactéries isolées sur Mac Conkey contenaient les enzymes galactosidase (ONPG<sup>+</sup>), lysine décarboxylase (LDC<sup>+</sup>) et ornithine décarboxylase (ODC<sup>+</sup>), mais dépourvue l'uréase (URE<sup>-</sup>), de tryptophane désaminase et de thiosulfate réductase (produit du H<sub>2</sub>S). Ainsi, cette espèce utilise le glucose et l'arabinose comme sources, par contre elle n'utilise pas le citrate

(CIT-) comme seule source de carbone et d'énergie mais est également capable de produire de l'indole exporté. Les résultats de chacun de ces tests ont confirmé que les bactéries isolées sur Mac Conkey est *E. coli*. Le logiciel de reconnaissance "UPBM" (lab.upbm.org) a été utilisé pour interpréter ces résultats annexe VII.

A T<sub>0</sub> les résultats de dénombrement d'*E. coli* au niveau fécal ne présente aucune différence significative entre les quatre lots expérimentaux (HG, HGP, HGG et HGGP). Après 16 semaines d'expérimentation, le régime hyper-gras additionné du gingembre seul réduit de manière significative le nombre d'*E. coli* de **22,48 %** avec une charge bactérienne de **3,78 ± 0,07 log<sub>10</sub> UFC/g** en comparaison au groupe HG.

Aussi, la co-administration gingembre/probiotique chez les rats sous régime hyper-gras induit une diminution des concentrations d'*E. coli* au niveau fécal. Cette diminution est estimée à **13,68 %** en comparaison avec le groupe de HGP. Cependant, le traitement basé sur l'association du gingembre/probiotique réduit le nombre de cette population de **5,73 %** par rapport au groupe HGG (Figure 81).

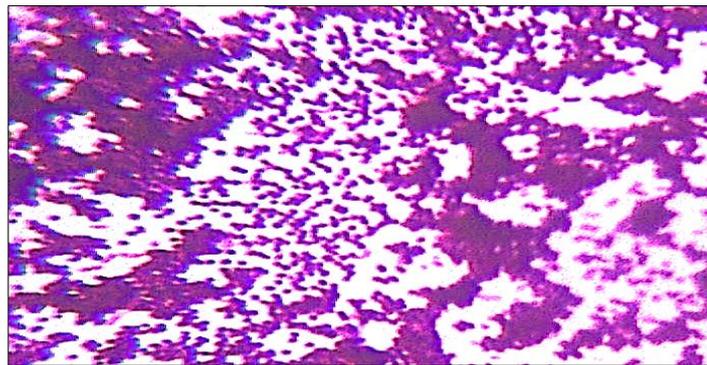


**Figure 81:** Dénombrement d'*E. coli* chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard avec n=7). (#) Différence significative HG vs HGP. (•) Différence significative HGP vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras + gingembre+probiotiques

#### II.2.2.2.7.2 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu BEA

L'apparence des colonies sur le milieu BEA en taille petites, mais elles sont généralement rondes, convexes et lisses. Elles sont souvent de couleur noire à très foncée, en raison de la réaction d'hydrolyse de l'esculine présente dans le milieu, ce qui produit du glucose et de l'esculétine. En présence de fer dans le milieu, l'esculétine réagit avec le citrate ferrique pour former un précipité noir caractéristique autour des colonies (annexe VIII). L'examen microscopique de ces bactéries apparaît des coques à Gram positif (Figure 82).



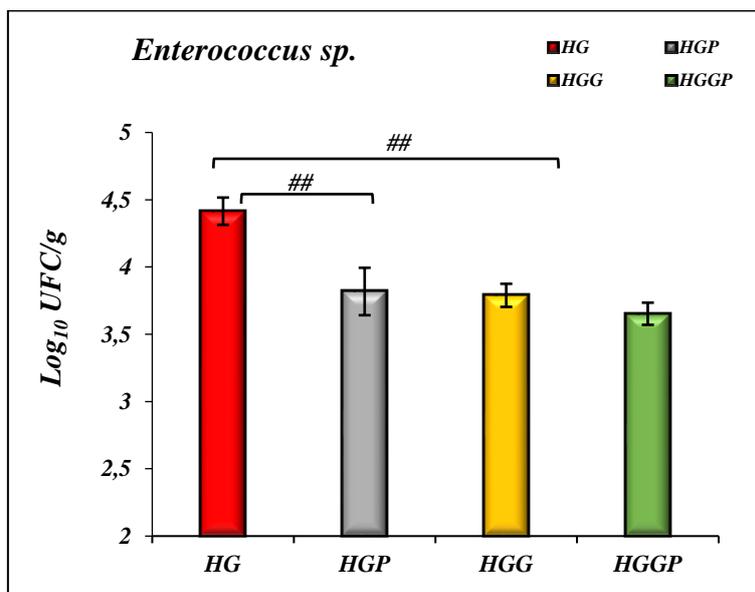
**Figure 82:** Observation microscopique (100X) des bactéries recherchées sur BEA issues du contenu fécal

Les résultats de l'identification biochimique des bactéries isolées sur BEA indiquent que ces dernières sont caractérisées par une absence de la catalase, de l'oxydase, de l'ONPG et de l'uréase Tableau 30. Les résultats concernant les caractéristiques morphologiques et biochimiques des bactéries isolées sur BEA sont en faveur de l'identification phénotypique du genre *Enterococcus* sp. Les caractéristiques de cette identification est basée sur celles décrites dans le manuel de Bergey de la bactériologie systématique (**Kandler et Weiss, 1986**) et dans Prokaryotes (**Knauf et al., 1992**).

A T<sub>0</sub> on constate que le dénombrement d'*Enterococcus* sp. dans les quatre lots de rats (HG, HGP, HGG et HGGP) ne présente aucune différence significative. Cependant, après 16 semaines de la supplémentation du gingembre au régime hyper-gras on remarque une diminution de manière significative (**22,72 %**) de la population d'*Enterococcus* sp. en comparaison avec le groupe de rat nourris par le régime HG.

De plus, la combinaison gingembre/probiotique chez les rats sous régime hyper-gras provoque une diminution des concentrations d'*Enterococcus* sp. Cette diminution est estimée à **4,33 %** en comparaison avec le groupe de HGP. Néanmoins, le traitement combiné

gingembre/probiotique réduit le nombre de cette population de **3,61 %** par rapport au groupe HGG (Figure 83).



**Figure 83:** Dénombrement d'*Enterococcus sp.* chez des rats sous le régime hyper-gras, supplémenté de la poudre de gingembre combiné ou non aux probiotiques après les 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes ± erreur standard avec n=7). (#) Différence significative HG vs HGP et HGC. (•) Différence significative HGP vs HGCP. (\*) Différence significative HGC vs HGCP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotique ; HGC : rats du groupe hyper-gras+ cannelle ; HGCP : rats du groupe hyper-gras+ cannelle+ probiotique.

### II.2.2.2.7.3 Isolement, identification et dénombrement des bactéries à Gram positif sur milieu MRS

Macroscopiquement l'apparence des colonies sur milieu MRS de différentes tailles, généralement petites à moyennes, et peuvent être rondes ou légèrement irrégulières. Elles sont souvent convexes avec une surface lisse et régulière, de couleur souvent blanche crème à jaunâtres (annexe VIII). Cependant, les bactéries trouvées dans le MRS étaient des bacilles à Gram positif (Figure 84).



**Figure 84:** Observation microscopique (100X) des bactéries recherchées sur MRS issues du contenu fécal

Les caractéristiques biochimiques des bactéries isolées sur MRS (Tableau 30), qui manquent de l'enzyme catalase, de l'enzyme oxydase et de l'enzyme ONPG, mais possèdent l'uréase, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. L'identification phénotypique de *Lactobacillus* sp. est confirmée par tous les résultats concernant les caractéristiques morphologiques, biochimiques des bactéries isolées sur MRS. Il en est de même pour les caractéristiques d'identification mentionnées dans le manuel de Bergey de la bactériologie systématique et dans Prokaryotes (Kandler et Weiss, 1986).

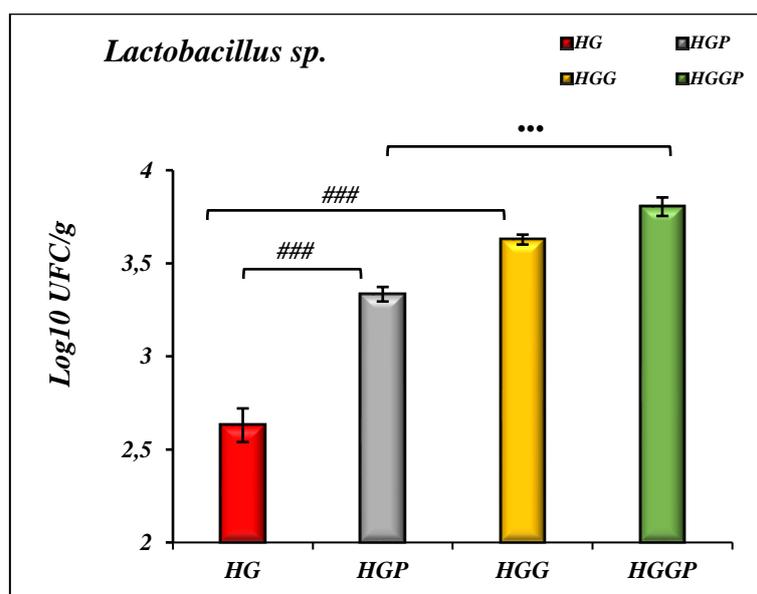
**Tableau 30:** Caractères macroscopiques, microscopiques et biochimiques des germes isolés de la matière fécale des rats traités par la cannelle associée ou non aux probiotiques et nourris un régime hyper-gras

	Mac Conkey	BEA	MRS
Macroscopique	Colonies roses entourées d'un halo opaque	Petites colonies incolores d'un halo halo noir	Colonies blanchâtres légèrement allongées
Microscopique	Bacilles à Gram négatif	Coques à Gram positif	Bacilles à Gram positif
Catalase	+	-	-
Oxydase	-	-	-
ONPG	+	-	-
Mannitol	+	+	+
Mobilité	+	-	-
TSI	+	NR	NR
Urée	-	-	+
Indole	+	-	-

(+): Test positif ; (-) : Test négatif ; (NR) : Test non réalisé

Le dénombrement de *Lactobacillus* sp. à temps initial ne dévoile aucune différence significative entre les quatre groupes expérimentaux (HG, HGP, HGG et HGGP). En revanche, à T<sub>f</sub> les résultats du dénombrement des *Lactobacillus* sp. effectué chez le groupe de rats sous régime HGG indiquent une augmentation significative de la concentration bactérienne en comparaison avec le groupe HG ( $3,62 \pm 0,02$  versus  $2,62 \pm 0,09 \log_{10}$  UFC/g), cette augmentation est estimée à **32,54 %** (Figure 85).

Parallèlement, le traitement combiné gingembre/probiotique (HGGP) chez les rats sous régime hyper-gras augmente le nombre des *Lactobacillus* de façon hautement significative par rapport au groupe HGP, on note une concentration de ( $3,80 \pm 0,04$  versus  $3,33 \pm 0,03 \log_{10}$  UFC/g), cette augmentation est évaluée à **14,10 %**. D'autre part, la co-administration gingembre/probiotique augmente significativement le nombre des *lactobacillus* sp. à **4,87 %** en comparaison avec le groupe HGG (Figure 85).



**Figure 85:** Effet du gingembre seul ou associé aux probiotiques sur la charge bactérienne des *Lactobacillus* sp. au niveau fécal après 16 semaines d'expérimentation

(Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes  $\pm$  erreur standard avec  $n=7$ ). (#) Différence significative HG vs HGP. (\*) Différence significative HGP vs HGGP. HG : rats du groupe hyper-gras ; HGP : rats du groupe hyper-gras +probiotiques ; HGG : rats du groupe hyper-gras+gingembre ; HGGP : rats du hyper-gras + gingembre+probiotiques.

# **CHAPITRE-III-**

## ***Discussion***

---

## Chapitre III: Discussion

### III.1 Evaluation *In Vitro* de l'activité antibactérienne et antioxydante des extraits issus des plantes médicinales étudiées

Actuellement, près de la moitié des médicaments que nous utilisons ont une composition d'origine naturelle et le quart renferme des extraits ou des molécules bioactives provenant directement des plantes médicinales. Ainsi, par l'intermédiaire des médicaments de synthèse ou d'hémi-synthèse autant que par le biais de la phytothérapie, les plantes constituent le mode de traitement le plus répandu dans le monde, y compris dans les pays occidentaux (**Ladoh et al., 2014**). Dans l'arsenal des plantes médicinales formant une source naturelle de ces molécules bioactives, on trouve la cannelle et le gingembre. Tous deux des éléments essentiels de la médecine ayurvédique, ainsi que l'armoise blanche très utilisée en pharmacopée traditionnelle depuis la nuit des temps (**Han et al., 2013** et **Beejmohun et al., 2014**). Ces dernières sont caractérisées par plusieurs vertus phytothérapeutiques (**Ranasinghe et al., 2013**). Cependant, il a été établi que l'efficacité phytothérapeutique et/ou pharmaceutique d'une plante médicinale, repose essentiellement sur l'aspect qualitatif et quantitatif de l'extrait issu de cette plante (**Gülçin et al., 2011**). Dans ce contexte, l'objectif de cette première partie de l'étude s'intéresse dans un premier temps à évaluer l'effet du solvant d'extraction sur la composition et la teneur en composés phénoliques issus des trois plantes médicinales : cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), gingembre (*Zingiber officinale*) et armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso.) et dans un deuxième temps à déterminer et cribler l'extrait le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes ayant l'activité antioxydante et antibactérienne la plus importante et ce dans l'optique de l'exploiter dans les stratégies de lutte et de prévention vis-à-vis des pathologies à stress oxydatif et infectieuses.

#### III.1.1 Analyse phytochimique des composés phénoliques

Le résultat du rendement en polyphénol d'extrait éthanolique de la cannelle obtenu au cours de cette présente étude ( $9,42 \pm 0,29$  %) diffère de celui de **Kamath et al., (2003)**, ces derniers indiquent un rendement de 15,30 % et ce après avoir réalisé une extraction des composés phénoliques de la cannelle en utilisant l'éthanol comme solvant et la macération comme technique d'extraction, cependant la durée d'extraction utilisée par ces auteurs est de **72 h au lieu de 24 h**.

D'après la recherche menée par **Ervina et ses collaborateurs., (2016)**, l'extraction des composés phénoliques de *C. zeylanicum* par infusion à 90°C pendant 20 min sans agitation, donne un rendement de 18.83%. Cependant **Santiago-Adame et al., (2015)**, signalent un

rendement en polyphénols d'environ 4,75%. Ces chercheurs ont utilisé la même technique que Ervina et son équipe, à savoir une infusion de *C. zeylanicum* à 80 °C et sous agitation continue pendant 10 minutes.

Dans une autre investigation menée sur les activités antioxydantes et antimutagéniques de l'écorce de cannelle, l'extraction des composés phénoliques, en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction, révèle un rendement nettement supérieur, évalué à  $4.99 \pm 1.31\%$ , en comparaison avec les rendements obtenus en utilisant l'éthyle acétate et l'acétone comme solvants d'extraction, on note  $1.87 \pm 0.18 \%$  et  $1.74 \pm 0.78 \%$  respectivement. Ces rendements sont très inférieurs à ceux enregistrés au cours de notre étude, cette différence pourrait s'expliquer par le fait que la technique d'extraction utilisée par ces auteurs est la technique de soxhlet et non pas la macération (**Jayaprakasha et al., 2007**).

L'extrait éthanolique du gingembre quant à lui présente un rendement d'extraction nettement supérieur ( $5,73 \pm 0,33 \%$ ), à celui obtenu par **Oke et al., (2019)**. Ils rapportent un rendement d'extraction de 2%, malgré qu'ils aient utilisé la même technique et le même solvant **que ceux utilisés durant cette présente étude. Toutefois**, le rhizome du gingembre utilisé par Okea était pelé et frais. Ce résultat est confirmé par une autre étude, ou le rendement d'extraction de gingembre est de 2,96 % (**K. An et al., 2016**). Cependant, un rendement supérieur d'un extrait hydroalcoolique du rhizome de gingembre, évalué à 25.26 % , est indiqué par **Thiraphatthanavong et ses collaborateurs., (2014)**.

Les résultats de l'extraction des composés phénoliques de l'armoise blanche montrent des différences par rapport à ceux obtenus dans l'étude de **Lim et al., (2013)**. Cet auteur indique que les meilleurs rendements sont obtenus en utilisant un solvant plus polaire, éthanol/eau 50%, (v/v), ce dernier donne à un rendement de 15.8 % comparativement à l'éthanol pur et à 70 % (v/v), qui ont respectivement enregistré des rendements de 10.4 % et de 15.2 %. Alors que les rendements obtenus au cours de cette présente étude sont  $6,75 \pm 0,36 \%$ ,  $7,89 \pm 0,31 \%$  et  $12,14 \pm 0,20 \%$  pour les extraits méthanolique, éthanolique et aqueux respectivement.

Toutefois, la comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature se révèle complexe étant donné que le rendement est un concept relatif étroitement lié aux conditions expérimentales dans lesquelles l'extraction a été effectuée, essentiellement la méthode, les solvants utilisés, la température et la durée d'extraction. Ces facteurs exercent une influence significative sur le contenu globale en polyphénols (**Ghasemzadeh et al., 2010**). De plus, il est largement admis que les variations des rendements d'extraction pourraient être attribuées non seulement à la polarité du solvant utilisé, qui impacte la solubilité des

composés phénoliques, mais aussi à la polarité intrinsèque des composés phénoliques présents dans l'extrait (Ryan *et al.*, 1999 ; Naczki *et al.*, 2004 ; Conde *et al.*, 2009 ; Felhi *et al.*, 2017).

Les résultats de la quantification des polyphénols obtenus au cours de cette étude concordent avec ceux mis avant par Przygodzka *et al.*, (2014), ces derniers rapportent que l'extrait éthanolique de la cannelle présente l'une des concentrations les plus élevées en composés phénoliques parmi les extraits d'épices, en comparaison notamment avec l'extrait éthanolique du gingembre (140,8 à 170,4 mg EAG/g de MS *versus* 2,2 à 10,8 mg EAG/g de MS). Ce constat est également rapporté par Lu *et al.*, (2011) dans leur étude. Les teneurs en polyphénols de l'extrait éthanolique de la cannelle et du gingembre obtenus par cette équipe est de  $45,24 \pm 2,41$  et de  $9,20 \pm 0,50$  mg EAG/ g de MS respectivement, toutefois ces teneurs demeurent inférieures aux teneurs obtenues au cours de cette présente étude ( $855,89 \pm 4,14$  EAG/g de MS). Cette divergence est liée aux conditions d'extraction utilisées par Lu et ses collaborateurs, ces derniers ont réalisé une extraction par macération dans de l'éthanol à 60°, sur une durée de 24 heures et à une température de 35 C°. Par ailleurs dans une étude comparative des propriétés antioxydantes et du contenu phénolique total réalisée sur 30 extraits issus de plantes à intérêt industriel, les quantités en polyphénols de l'extrait aqueux issu de la cannelle et du gingembre sont respectivement de  $309,23 \pm 0,05$  et  $26,18 \pm 0,23$  mg EAG/g de MS (Dudonne *et al.*, 2009).

Les résultats concernant les teneurs en composés phénoliques de l'extrait méthanolique de la cannelle obtenus au cours de notre étude est considérablement plus élevés que ceux signalés par Mathew *et Abraham*, (2006), avec des valeurs de  $825,30 \pm 36,02$  *versus*  $289,0 \pm 2,2$  mg EAG/g de MS. Cependant ces investigateurs ont utilisé le méthanol comme solvant d'extraction. En effet, la polarité du solvant peut influencer considérablement la teneur en composés phénoliques de l'extrait. Ceci est confirmé par Tohma *et al.*, (2017). Ces derniers indiquent que l'extrait éthanolique du gingembre est l'extrait le plus riche en composés phénoliques et flavonoïdes, avec une teneur de 137,5 µg /mg d'EAG pour les polyphénols et de 25,1 µg /mg d'EQ pour les flavonoïdes, par rapport à l'extrait aqueux, celui-ci présente des valeurs inférieures de l'ordre 52,8 µg /mg d'EAG pour les teneurs en polyphénols et de 3,9 µg /mg d'EQ pour les flavonoïdes.

Nos résultats de quantification des composés phénoliques de l'extrait méthanolique de l'armoise blanche sont similaires à ceux obtenus par Megdiche-Ksouri *et al.*, (2015) ( $158,23$

$\pm 7,2$  mg EAG/g de MS) par contre la teneur en polyphénols de leur extrait aqueux ( $10,63 \pm 2,16$  mg EAG/g de MS) est largement inférieure à celle rapportée par notre étude ( $52,44 \pm 0,99$  mg EAG/g de MS). Cependant, les teneurs en flavonoïdes de l'extrait méthanolique et aqueux rapportées par **Megdiche-Ksouri et al., (2015)** sont largement supérieures ( $175,23 \pm 7,2$  et  $63,81 \pm 0,52$  mg EC/g de MS, respectivement) à celles obtenues à partir de nos extraits ( $47,97 \pm 0,32$  mg EQ/g de MS pour l'extrait méthanolique et  $31,86 \pm 0,80$  mg EQ/g de MS pour l'extrait aqueux). Des études ont montré que les solvants polaires comme le méthanol et l'éthanol permettent une meilleure extraction des composés phénoliques que les solvants moins polaires (**Mohsen & Ammar, 2009**).

En opposant nos résultats à ceux de la littérature, il est clair qu'il existe des divergences entre les teneurs en polyphénols et flavonoïdes obtenues et celles évoquées par les littératures. Ceci peut trouver son explication dans le fait que les méthodes, les types de solvants, le pourcentage des solvants, la température, et la durée de l'extractions, peuvent influencer de manière significative l'estimation de la teneur et le type des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes dans les différents extraits (**Hayouni et al., 2007 ; Grujic et al., 2012**). En outre, **Moure et al., (2001)** ont démontré que la polarité la plus élevée du solvant a tendance à donner de plus grandes quantités de polyphénols. Le processus de séchage peut influencer considérablement les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. On a souvent constaté que la teneur en composés phénoliques dans diverses plantes et des épices change de manière irrégulière selon les différents processus de séchage (**An et al., 2016 ; Wijayanti et al., 2018 ; Mustafa et al., 2019**). Aussi la méthode de quantification des polyphénols peut être un facteur de divergence fondamental. En effet, la technique au Folin-Ciocalteu est une technique à faible spécificité. Ceci est dû à la sensibilité extrême de ce réactif à réduire tous les groupes d'hydroxyles ce qui est l'inconvénient principal de cette technique (**Gómez-Caravaca et al., 2006**).

### III.1.2 Evaluation de l'activités antioxydante

Il est largement admis que les composés phénoliques et leurs dérivés peuvent contribuer aux activités biologiques de la plante lui conférant ainsi une valeur thérapeutique importante. Parmi ces activités, les propriétés antioxydantes (**Pandey et Rizvi, 2009**), attribuées à leur capacité redox en agissant en tant que donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons. En effet ces composés sont capables également de piéger les radicaux libres, de désactiver l'oxygène singulet, de décomposer les peroxydes et / ou de chélater les métaux de transition (**Stoilova et**

*al.*, 2007; Akhtar *et al.*, 2015). De plus, ils ont la capacité de retarder ou d'inhiber les étapes de la peroxydation lipidique, réduisant ainsi la formation des produits de peroxydation (Gülçin, 2011). Ces produits peuvent favoriser la mutagenèse ou l'oxydation des protéines, perturbant ainsi l'homéostasie cellulaire, et leurs implications sur la santé humaine ont été largement étudiées (Halliwell, 2000 ; Ramana *et al.*, 2017).

Au cours de cette étude, la capacité réductrice, les activités antiradicalaires ainsi que l'activité scavenger à l'égard du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des extraits (méthanolique, éthanolique et aqueux) issus de la cannelle, du gingembre et de l'armoise blanche, semblent être proportionnellement liés à l'augmentation de la concentration des composés phénoliques de l'extrait. Ces constatations concordent avec celles rapportées par d'autres chercheurs, qui ont établi une corrélation positive entre la teneur totale des composés phénoliques et l'activité antioxydante (Wojdylo *et al.*, 2007; Abdul Qadir *et al.*, 2017). Ce résultat va de pair avec celui obtenu par Abdul Qadir et ses collaborateurs, qui ont noté une augmentation des composés antioxydants dans les plantes médicinales testées, en corrélation avec une augmentation du pouvoir réducteur (Abdul Qadir *et al.*, 2017).

La capacité réductrice observée pour la cannelle est nettement plus élevée que celle du gingembre et de l'armoise blanche, probablement en raison de la forte puissance de réduction, la classe et les types des composés phénoliques présents dans la cannelle. En effet, ces résultats corroborent avec ceux de Mathew et Abraham, (2006). Leur étude a mis en évidence une augmentation du pouvoir réducteur en relation avec l'augmentation de la concentration d'acide ascorbique et l'extrait méthanolique de l'écorce de cannelle, cela suggère que l'extrait méthanolique de la cannelle peut agir comme donneur d'électrons en réagissant avec les radicaux libres pour les convertir en produits plus stables interrompant ainsi les réactions radicalaires en chaîne.

Les résultats du test de piégeage du radical DPPH pour l'extrait méthanolique obtenu au cours de cette étude et exprimés par la CI<sub>50</sub>, (on note une valeur de 11,31 ± 1,07 µg/mL), sont considérablement plus bas que les données rapportées par Mazimba et son équipe. Leur recherche a révélé une CI<sub>50</sub> de l'extrait méthanolique d'écorce de cannelle de 76,5 µg/ml, montrant une plus grande capacité antioxydante par rapport à l'extrait méthanolique issu des feuilles de cannelle (Mazimba *et al.*, 2015). Dans une autre étude menée par Varalakshmi *et al.* (2012), les extraits de cannelle (obtenus en utilisant le méthanol, l'eau et le chloroforme comme solvants d'extraction) ont révélé une capacité à neutraliser divers types de radicaux

(DPPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ABTS, anion Superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), oxyde nitrique (NO), radical hydroxyle (HO<sup>•</sup>) ainsi qu'une capacité à réduire le Fer. Toutefois, parmi les trois extraits testés, l'extrait méthanolique a démontré une plus forte activité de piégeage des radicaux libres, suivi de des extraits obtenus avec le chloroforme et l'eau.

Notre recherche a démontré que l'extrait méthanolique de gingembre possède une capacité significative à neutraliser les radicaux libres. Cependant, le pourcentage d'inhibition du radical DPPH<sup>•</sup> est de 95,24 %, dépasse celui rapporté dans une étude antérieure menée par Ali Ghasemzadeh, qui rapport un pourcentage d'inhibition de 58 % (**Ghasemzadeh et al., 2010**).

Une étude comparative sur l'activité antioxydante des plantes fraîches a révélé que le gingembre se démarque par une activité réductrice significative (**Maizura et al., 2011**). Par ailleurs, selon **Mao et al., (2019)**, ce rhizome séché présente une capacité antioxydante importante en raison de sa teneur 5,2 fois plus élevée en composés phénoliques, caractérisés par la présence des groupements hydroxyles, reconnus pour leurs propriétés antioxydantes par rapport au gingembre frais (**Li et al., 2016 ; Si et al., 2018 ; Mohd Sahardi & Makpol, 2019**).

**Mohammed et al., (2021)** ont mené une étude récente examinant les capacités des différentes fractions d'armoise blanche issues d'une extraction par la méthode de Soxhlet à réduire le fer et à neutraliser les radicaux DPPH<sup>•</sup>. L'évaluation de l'activité réductrice du fer révèle des valeurs de CE<sub>50</sub> de 40,4 et 76,9 µg/mL pour les fractions d'acétate d'éthyle, tandis que les fractions éthanoliques ont montré des valeurs de 8,3, 20,2 et 13,8 µg/mL. De même, pour le test DPPH, les valeurs de l'CI<sub>50</sub> sont de l'ordre de 38,2 et 36,3 µg/mL pour les fractions d'acétate d'éthyle, tandis que les fractions d'éthanol ont présenté des valeurs de 13,6, 18,5 et 15,0 µg/mL. Cependant, l'activité antiradicalaire de ces extraits demeure inférieure à celle de nos extraits issus d'armoise blanche.

Dans une étude similaire réalisée par Lee et son équipe, l'extrait méthanolique provenant d'*A. japonica* possède une capacité de scavenger du radical DPPH<sup>•</sup> 3,83 fois plus élevée que l'extrait d'*A. montana*, avec des valeurs de CI<sub>50</sub> de (48,8 vs 260,1 µg/mL), ces chercheurs suggèrent que l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits d'*Artemisia* pourraient résulter de la donation d'électrons, permettant de neutraliser les radicaux libres et de les transformer en composés plus stables. Cette action pourrait mettre un terme aux réactions

radicalaires en chaîne, potentiellement impliquées dans le déclenchement des réactions inflammatoires causés (J. H. Lee, 2014).

Nos résultats sont en grande partie similaires à ceux de Seddik *et al.* (2010), ils rapportent des valeurs de  $CI_{50}$  contre le radical DPPH• de l'ordre de  $32,9 \pm 0,036$  et  $154 \pm 0,014$   $\mu\text{g/mL}$  et ce pour les extraits d'armoise blanche : éthyle acétate et aqueux, respectivement. En outre, Younsi *et al.*, (2016) présentent une valeur de  $IC_{50}$  de  $100$   $\mu\text{g/mL}$  pour les extraits méthanoliques d'armoise blanche. Cette valeur est inférieure à la valeur obtenue avec notre extrait, celui-ci est doté d'un pouvoir antioxydant plus élevé, avec des  $CI_{50}$  de  $34,71$   $\mu\text{g/mL}$ . On suggère que les solvants utilisés pour extraire les composés phénoliques de la plante pourraient influencer considérablement la capacité à piger le radical DPPH, ceci concorde les résultats obtenus par Amorati & Valgimigli, (2015).

### III.1.3 Activité anti-péroxydation lipidique

Dans une étude menée par Bekkouch *et al.* sur l'effet protecteur de l'extrait aqueux et de la fraction méthanolique du gingembre contre la peroxydation lipidique du plasma des rats, induite par le sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4$ ), une augmentation significative des niveaux de MDA plasmatiques par rapport au groupe non traité a été observée. De plus, les deux extraits de gingembre utilisés par ces chercheurs dans la prévention ont démontré un effet antioxydant contre l'action du  $\text{CuSO}_4$ . Les chercheurs ont noté une inhibition significative de la formation des MDA après le traitement avec la fraction méthanolique et aqueuse du gingembre avec une concentration de  $25$   $\mu\text{g/mL}$ , cette inhibition est reflétée par une diminution des concentrations des MDA de  $300$  % et  $233,32$  % respectivement, (Bekkouch *et al.*, 2019).

Les résultats de l'effet préventif de nos extraits issus de l'armoise blanche dépassent considérablement ceux obtenus par Seddik *et al.*, (2010). Ces derniers dévoilent des capacités inhibitrices des MDA respectives évaluée à  $45,7 \pm 5,6$  % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et à  $43 \pm 5,12$  % pour l'extrait aqueux. Cependant au cours de notre étude les pourcentages inhibition sont de  $51,02 \pm 2,64$  % pour l'EMA, de  $47,14 \pm 3,20$  % pour l'EEA et de  $40,19 \pm 1,68$  % pour l'EAA.

Il est démontré que les extraits phénoliques issus de l'armoise blanche exercent un effet inhibiteur et protecteur vis-à-vis des dommages cellulaires oxydatifs provoqués par  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{HO}^\circ$  via la réaction de Fenton (Jeon & Murray, 2008).

L'ensemble de ces résultats suggèrent que la cannelle, le gingembre et l'armoise blanche pourraient être une source potentielle de molécules bioactives et prometteuses dans la prévention des pathologies associées au stress oxydatif. Cependant, la variabilité du pouvoir antioxydant constatée entre les plantes et les extraits testés peut être liée à la nature physico-chimique des molécules présentes dans les extraits et à l'affinité du solvant pour certains groupes d'antioxydants (Djeridane et al., 2007). Selon Cowan, (1999), lors de l'extraction, les molécules bioactives sont réparties entre les solvants en fonction de leur polarité et leur solubilité. Par conséquent, le changement de la nature du solvant modifie son efficacité pour extraire un groupe spécifique des antioxydants par rapport à d'autres groupes, ce qui influence l'activité antioxydante des extraits (Chernane et al., 2014).

#### III.1.4 Evaluation de l'activité antibactérienne

Les molécules phytochimiques issues des plantes médicinales présentent un potentiel et une alternative thérapeutique contre les maladies infectieuses. Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de la cannelle, gingembre et l'armoise blanche évaluée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition et la détermination des valeurs de CMI et de CMB révèlent que ces derniers exercent un effet inhibiteur sur la croissance de l'ensemble des souches testées. Cette activité antibactérienne est due essentiellement à la richesse en composés phénoliques. Les bactéries à Gram positif (*B. cereus* et *S. aureus*) sont les plus sensibles par rapport aux bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*), ceci est lié à la différence de structure de la paroi entre les bactéries à Gram positif et négatif (Ali-Shtayeh et al., 1998 ; Ait-Ouazzou et al., 2012 ; Ramdani et al., 2013).

Nos résultats sont en accord avec ceux de Sibanarayan et Rabindra, dans leur investigation ils indiquent que l'extrait méthanolique de cannelle figuré parmi les 15 épices les plus efficaces sur les 26 épices étudiées avec des diamètres des zones d'inhibition évalués à 27, 25 et 21 mm pour *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*, respectivement. Ce qui correspond à des CMI et des CMB de 1.51 et 3.41 mg/ml pour *S. aureus* et *P. aeruginosa* et de 3.41 et 4.27 mg/ml pour *E. coli* (Rath et Padhy, 2014). Ces résultats sont similaires à ceux indiqués par Abdulla et al., (2019), ils déclarent que *S. aureus* et *E. coli* s'avèrent les plus sensibles à l'égard de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique brut de cannelle avec des zones d'inhibitions évaluées 29 mm et 25 mm, respectivement et à une concentration de 30 mg/mL ce qui suggère une forte activité antibactérienne contre les deux bactéries à gram positif et négatif.

Les effets antibactériens des molécules naturelles issues de la cannelle se manifeste via des mécanismes très complexes et dépendent essentiellement du profil chimique de l'extrait. En effet il est démontré que le cinnamaldéhyde et l'eugénol, inhibe la production de la  $\beta$ -lactamase une enzyme bactérienne responsable de la résistance, ces deux composés peuvent induire une lyse de la paroi cellulaire (**Helander et al., 1998; Di Pasqua et al., 2007**). Aussi les composés terpènes sont capables de modifier et d'augmenter la perméabilité de la paroi bactérienne favorisant ainsi la pénétration des agents antimicrobiens (**Lambert et al., 2001**).

Il va de même, pour les extraits issus du gingembre, ces derniers exercent une forte activité vis-à-vis des bactéries à Gram positif (*B. cereus* et *S. aureus*) par rapport aux bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) (**Ali-Shtayeh et al., 1998**). Les résultats de l'étude menée par **Yusuf et al., (2018)** confirme nos résultats, les zones d'inhibition augmentent proportionnellement avec les concentrations croissantes de l'extrait. Les données de cette investigation montrent une forte sensibilité de *Klebsiella pneumoniae*, avec un diamètre d'inhibition de  $29,04 \pm 0,35$  mm à 100  $\mu\text{g/mL}$ , suivi par *P. aeruginosa* ( $26,03 \pm 0,41$  mm), *E. coli* ( $22,45 \pm 0,32$  mm) et *Salmonella typhi* ( $18,05 \pm 0,21$  mm), En revanche, la plus petite zone d'inhibition est observée pour *S. aureus*, mesurant  $15,08 \pm 0,20$  mm. Les valeurs de la CMI et de la CMB pour toutes les souches, à l'exception de *K. pneumoniae*, sont respectivement de 25  $\mu\text{g/mL}$  et 50  $\mu\text{g/mL}$ . Pour *K. pneumoniae*, les valeurs sont de 12,5  $\mu\text{g/mL}$  pour la CMI et 50  $\mu\text{g/mL}$  pour la CMB.

Cependant, **Rath et Padhy, (2014)**, indiquent que l'extrait méthanolique de gingembre est moins efficace par rapport à l'extrait méthanolique de cannelle, ceci est constaté avec des diamètres d'inhibition de 18, 19 et 21 mm pour *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* respectivement et des CMI et des CMB de 9,63 et 21,67 mg/ml pour *S. aureus* ; 3,41 et 4,27 mg/ml pour *P. aeruginosa* et *E. coli*. Les mécanismes sous-jacents à l'activité antimicrobienne de gingembre, pourraient être principalement liés à la suppression de la formation de biofilms bactériens en affectant l'intégrité de la membrane (**Chakotiya et al., 2017 ; Mao et al., 2019**). Ainsi, l'extrait du gingembre aqueux bloque la synthèse de bis-(30 - 50)-cyclique dimère de guanosine monophosphate (c-di-GMP) chez *P. aeruginosa* (PA14) (**Kim et Park, 2013**). En outre, **Rampogu et ses collaborateurs., (2018)**, ont prouvé que la gingérénone-A et le 6-shogaol, en supprimant l'activité de la 6-hydroxyméthyl-7,8-dihydroptérine pyrophosphokinase responsable de la pathogénicité de *S. aureus*, inhibent la croissance de cette bactérie.

Les différents extraits issus du gingembre sont capables de réduire la biosynthèse de l'ergostérol et affectent l'intégrité de la membrane cellulaire, ce qui affecte considérablement la croissance de *Fusarium verticillioides* (Mao et al., 2019), ces extraits possèdent des propriétés lipophiles et altèrent la perméabilité de la paroi cellulaire ainsi que la membrane cytoplasmique induisant donc une perte de l'intégrité membrane chez les champignons (Nerilo et al., 2016). De plus, Moon et al., (2018) ont constaté que le  $\gamma$ -terpinène et le citral du gingembre possèdent des propriétés antifongiques puissantes contre *Aspergillus flavus* réduisent l'expression de certains gènes liés à la biosynthèse des aflatoxines (San Chang et al., 2013).

Nos résultats indiquent que tous les extraits de l'armoise blanche se sont révélés actifs envers toutes les souches bactériennes testées mais avec des degrés différents ce qui se traduit par l'obtention des CMI et des CMB différentes. Cependant ils corroborent avec les résultats de Naili et al., (2010), ils constatent que l'extrait méthanolique des feuilles d'*A. campestris* possède un effet inhibiteur sur toutes les bactéries étudiées dont *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. Les CMI sont de 12,5, 250 et 500  $\mu\text{g/mL}$ , respectivement.

Younsi et al., (2016), ont confirmé l'activité antimicrobienne de l'extrait méthanolique et l'huile essentielle issus de l'armoise blanche, ces auteurs suggèrent que les flavonoïdes, C-glycosyl et des acides caffeoylquiniques sont responsables de cette activité.

Des études antérieures, déclarent avoir identifié des composés phénoliques majeurs tels que le 1,8-cinéole, le camphre, l' $\alpha$ -thujone et la  $\beta$ -thujone, les flavonoïdes aglycones et les flavonoïdes glycosyles, ces derniers pourraient être les principaux agents responsables de l'activité antibactérienne constatée avec les extraits de l'armoise à l'égard des différents microorganismes (Liu et al., 2010; Sbayou et al., 2014; Pirbalouti et al., 2014; Ahmadizadeh et al., 2018). Batiha et al., (2020) dans leur étude réalisée sur l'*A. absinthium*, rapportent que le potentiel antimicrobien constaté peut être dû à une action synergique entre les composés mineurs ( $\alpha$  et  $\beta$ -pinène) et majeurs (camphre, p-cymène, caryophyllène).

De plus, d'autres études, suggèrent que l'activité antibactérienne pourrait être associée à la présence des composés principaux tels que la  $\beta$ -thujone, la chrysanthénone, l' $\alpha$ -terpinéol, l' $\alpha$ -thujone, l' $\alpha$ -pinène et l'acétate de bornyle. En outre, d'autres composants mineurs tel que le bornéol (avec une représentation de 0,29 %) ont également été identifiés comme ayant un potentiel antimicrobien (Mighri et al., 2010; Lairini et al., 2018), l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles issues de l'armoise blanche avec une CMI d'ordre de 32, 64 et 32  $\mu\text{g/mL}$  et des CMI de l'extrait éthanolique de 32, 32 et 128  $\mu\text{g/mL}$  a été constatée

essentiellement contre *E. coli*, *B. subtilis* et *P.aerogenosa*, (**Ahameethunisa & Hopper, 2010**). D'autres investigations attribuent aux composants bioactifs notamment l' $\alpha$ -pinène, le caryophyllène, le camphre, le  $\beta$ -pinène et le p-cymène, issus de *Artemisia absinthium* un mécanisme d'action (lié à l'activité antimicrobienne) en relation avec une perméabilité et l'intégrité membranaire (**Moslemi et al., 2012 ; Batiha et al., 2020**). En outre, d'autres métabolites secondaires telle que l'huile essentielle sont impliqués dans l'inhibition de *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* et *B. cereus*, et ce par le biais de la suppression de la biosynthèse des protéines, de l'ARN, de l'ADN et des polysaccharides dans les cellules bactériennes (**Belay et al., 2011**).

## III.2 Etude -II- *In Vivo*

### III.2.1 Impact de différents régimes sur l'évolution du poids corporel et le gain

Au cours de cette présente étude, l'administration d'un régime hyper-gras aux rats pendant une période expérimentale de 16 semaines entraîne une prise de poids significative, voire une obésité. Cette augmentation pondérale se manifeste non seulement par rapport au poids initial des rats, mais également par rapport aux autres groupes de l'expérimentation. Il est bien établi que la consommation d'un régime hypercalorique est associée à une accumulation de tissu adipeux et une surcharge pondérale pouvant aller jusqu'à l'obésité chez l'homme et chez l'animal (**Golay, 1998**). En effet des rongeurs nourris à base d'un régime alimentaire contenant plus de 30 % d'apport énergétique sous forme de lipides développent une obésité due à une augmentation de la prise calorique (**Norazmir & Ayub, 2010**). Ainsi, des rats *Wistar* soumis pendant 4 semaines à un régime composé de lipides comptant pour 60 % des calories totales, ont une masse corporelle de 20 % supérieure à celle des rats soumis à un régime standard (12 % de lipides). Ceci est en concordance avec nos résultats obtenus après traitement de nos animaux par un régime hyper-gras élaboré et contenant 48 % de lipides, représentant 66 % des calories totales. Ce dernier induit l'apparition d'une obésité (suite à un apport énergétique augmenté) constatée par une augmentation de la masse corporelle évaluée à **45,92 %** en comparaison aux rats témoins sous régime standard. Cette constatation est confirmée par plusieurs auteurs, ils évoquent qu'un régime alimentaire contenant 30 à 70 % de graisses induit l'apparition d'une obésité voire un syndrome métabolique avec une élévation de la masse corporelle, associée à une hyperglycémie, une insulino-résistance, une dyslipidémie et à une augmentation des acides gras libres au niveau sanguin (**Yao et al., 2017; Crawford et al., 2019; Gunawan et al., 2021**). Dans une étude récente réalisée par Ryyti et son équipe, un régime hypergras contenant 46 % de lipides administrés à des souris pendant 6 semaines, engendre

également un gain de poids considérable par rapport aux souris nourries avec un régime faible en lipides (10 %), les moyennes de poids enregistrées sont respectivement de  $37,9 \pm 0,4$  g versus  $27,7 \pm 0,3$  g (Ryyti et al., 2021). Bartness et ses collègues., 1992 rapportent que l'administration d'un régime lipidique représentant 60 % des calories totales aux rats *Wistar* pendant un mois entraîne une obésité, caractérisée par une augmentation significative du poids corporel de 20 % par rapport aux rats soumis à un régime standard, où l'augmentation pondérale est de 12 %.

Cependant, nous avons constaté que la supplémentation des probiotiques au régime hyper-gras influence de manière significative la prise de poids des rats. En effet, le traitement aux probiotiques à une dose journalière de  $10^9$  UFC/kg/j, induit une réduction significative de la masse corporelle des rats du groupe HGP évaluée à **21,08 %** en comparaison avec le groupe HG. Il est important de souligner que le probiotique utilisé dans cette approche expérimentale est un mélange de ferments lactiques représentés par les souches suivantes : *Bifidobacterium lactis* LA 303 ; *Lactobacillus acidophilus* LA 201 ; *Lactobacillus plantarum* LA 301 ; *Lactobacillus salivarius* LA 302 ; *Bifidobacterium lactis* LA 304. Ces bactéries possèdent une bonne résistance au suc gastrique ce qui leur accorde une bonne résistance aux conditions rencontrées au cours du transit digestif (Drouault-Holowacz et al., 2006). De ce fait, les bactéries ayant ces critères de qualité sont capables de s'implanter durablement dans le tube digestif et restent viables afin d'exercer un effet bénéfique sur la santé (Tap et al., 2009). L'influence et les effets bénéfiques des probiotiques, entre autres les répercussions de ces souches lactiques sur l'obésité et les désordres métaboliques, sont confirmées par plusieurs études réalisées sur divers modèles expérimentaux (Yadav et al., 2007 ; Mahboobi et al., 2014 ; Yoo & Kim, 2016). Dans ce contexte, l'étude entreprise par Lee et ses collaborateurs indique qu'une administration de *Lactobacillus rhamnosus* PL60 réduit le poids corporel sans réduire l'apport énergétique des souris sous régime hyper-gras. Les auteurs ont attribué ces effets à la production d'acide linoléique t10, c12-conjugué par le probiotique (H.-Y. Lee et al., 2006). D'autres auteurs indiquent que l'ingestion de souches *L. plantarum* et *L. paracasei* réduit la taille des adipocytes et de la masse graisseuse chez les souris obèses alimentées avec une diète riche en gras (Takemura et al., 2010).

S.-W. Kim et al., (2013) ont étudié l'effet de la supplémentation en *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), administrée à des souris par voie orale pendant 13 semaines, sur la sensibilisation à l'insuline chez des souris soumises à un régime riche en graisses. Ces auteures ont constaté que ce traitement a significativement atténué la prise de poids et améliorer la

sensibilité à l'insuline. Parallèlement, *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) a augmenté l'expression des gènes liés à l'oxydation des acides gras dans le foie, tout en réduisant l'expression des gènes associés à gluconéogenèse. Cela a conduit à diminuer l'accumulation des lipides en stimulant la sécrétion d'adiponectine et l'activation en aval de l'AMPK, une enzyme impliquée dans le contrôle du statut énergétique des cellules.

Aussi, dans une étude similaire réalisée sur des rats nourris avec une diète riche en lipides, la supplémentation en *Lactobacillus plantarum* DK211 durant 4 semaines inhibe la prise de poids et l'accumulation de graisse corporelle chez les rats du groupe traité par rapport aux rats nourris par le régime HG (Hong et al., 2015).

La supplémentation en *Lactobacillus plantarum* TN8 non seulement induit un rôle immunomodulateur, des effets promoteurs sur le profil lipidique, hépatique et rénal chez des rats obèses, mais aussi une diminution de la production des cytokines pro-inflammatoires telles que IL-12, TNF- $\alpha$  et IFN- $\gamma$  (Salah et al., 2013).

Chez un modèle de souris d'obésité provoquée par le glutamate monosodique la supplémentation d'un mixte de probiotiques constitué de 14 souches de plusieurs genres (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Acetobacter*), entraîne une réduction significative du poids corporel, du tissu adipeux viscéral et améliore la sensibilité à l'insuline par rapport aux témoins (Savcheniuk et al., 2014).

La supplémentation réduit également les troubles métaboliques générés au cours de l'évolution de l'obésité telles que les lésions hépatiques, l'inflammation et le stress oxydatif probablement engendrées par le régime hyper-gras. Cet effet est en relation avec une dérégulation négative des gènes pro-inflammatoires dans le foie, ainsi qu'une régulation positive des gènes d'oxydation des acides gras (Kim et al., 2013)

Alard et ses collègues évoquent que le traitement basé sur la combinaison de *Lactobacillus rhamnosus* LMG S-28148 et *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis LMG P-28149 chez des souris nourris avec un régime hyper-gras, induit une réduction significative du gain du poids et de la masse grasseuse. Ils notent aussi une amélioration de la résistance à l'insuline et de la dyslipidémie. Parallèlement, des changements ont été observés au niveau intestinal dans l'absorption des acides gras et dans l'expression des gènes codant le récepteur GPR43 des acides gras à chaîne courte (Alard et al., 2016).

Comme démontré précédemment, l'association cannelle/probiotiques renforce l'effet bénéfique des probiotiques sur la prise du poids. En effet, ce traitement combiné induit une réduction du poids corporel de **19,76 %** en comparaison avec le groupe de rats sous régime hyper-gras additionné de probiotiques (HGP).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans des travaux antérieurs, entrepris sur l'effet anti-obésité de la cannelle et ses extraits (**Sheng et al., 2008; Cheng et al., 2012; Sellami et al., 2017**). L'administration d'extrait aqueux de cannelle, à raison de 200 et 400 mg/kg du poids corporel, à des rats recevant un régime HG pendant quatre semaines, induit une réduction significative du poids corporels avec un effet dose-dépendant en comparaison avec les rats nourris par le régime HG, cette diminution est évaluée à 45 % (**Shalaby et Saifan, 2014**). Le traitement à base de 30 et 100 mg/kg/j d'extrait aqueux de cannelle pendant 22 jours chez des rats rendus diabétiques par la Streptozotocine, réduit le gain du poids chez ces derniers par rapport aux rats diabétique non traités par l'extrait ( $153,4 \pm 3,4$  et  $164,9 \pm 3,3$  g *versus*  $249,0 \pm 6,6$  g, respectivement) (**Shen et al., 2010**).

Plusieurs données scientifiques affirment que la cannelle possèdent des composés actifs de nature polyphénolique ayant un effet anti-obésogène, ces composés peuvent affecté la différenciation des adipocytes par une inhibition de la lipolyse (**Ogasawara et al., 2010**), la lipogénèse (**Mercader et al., 2011**) ou l'absorption intestinale des lipides (**Uchiyama et al., 2011**). En effet, dans une étude réalisée par Van Hul et ses collaborateurs, l'extrait polyphénolique provenant de l'écorce de cannelle réduit la prise de masse grasse et l'inflammation du tissu adipeux chez les souris soumises à un régime riche en graisses (60 %) pendant 8 semaines (**Van Hul et al., 2018**).

De manière similaire, l'administration de l'acide cinnamique, à 30 mg/kg/j pendant 7 semaines à des rats nourris au régime HG, améliore le profil lipidique sérique et restaure l'activité de la lipase à un taux normal (**Mnafgui et al., 2015**). En outre, la cinnamaldéhyde administrée à 0,2 %, réduit de manière significative le gain de poids corporel cumulé et améliore la tolérance au glucose des souris rendues obèses par le biais d' un régime contenant 60 % lipides (**Camacho et al., 2015**). L'effet anti-obésogène de la cannelle peut être lié à sa capacité à induire la thermogénèse dans les adipocytes par l'intermédiaire de la protéine de découplage, cette enzyme améliore le métabolisme en favorisant la perte de poids (**Marlatt et Ravussin, 2017**).

Le traitement cannelle/ probiotiques utilisé au cours de notre étude, induit une réduction significative du poids corporel chez le groupe HG. De ce fait nos résultats corroborent ceux

présentés par **Shahrestan et al., (2020)**, ces derniers signalent une réduction du poids corporel des rats diabétiques traités par une combinaison d'extrait aqueux de cannelle à 200 mg/kg et de probiotiques à une dose de  $3,2 \times 10^8$  UFC/J et ce pendant une période de 30 jours. Une réduction de  $11,96 \pm 2,14$  g est constatée en comparaison avec le groupe de rats traités uniquement par les probiotiques.

Comme cité précédemment, le traitement par la poudre du gingembre à 2% induit une réduction hautement significative de la masse corporelle évaluée à **45,48 %**. Cependant, le traitement basé sur la combinaison gingembre et probiotiques induit une réduction de la masse corporelle mais moins importante que le gingembre seul, cette diminution a été estimée à **14,16 %** en comparaison avec le groupe HG.

Nos résultats vont de pair à ceux présentés par **Mahmoud et Elnour, (2013)** après quatre semaines d'administration de régime hypergras à 30 % additionné de 5 % du gingembre, ces chercheurs ont remarqué une réduction du poids corporel chez les rats sous régime HG additionné de gingembre et en comparaison avec le groupe témoin nourri uniquement par le régime hyper-gras, les gains du poids finaux sont de  $172 \pm 16$  versus  $280 \pm 18$  g, respectivement. Une autre étude menée par **Nammi et al., (2009)** sur les propriétés protectives d'extrait éthanolique du rhizome de gingembre contre le développement du syndrome métabolique chez les rats obèses, indique une réduction significative du gain du poids associé à une diminution des taux des lipides, de l'insuline, des acides gras libres ainsi que la diminution des phospholipides, au niveau sérique et ce après l'ingestion de différentes doses de l'extrait à savoir 100,200 et 400 mg/kg. Une administration par voie orale d'extrait aqueux de gingembre à 100 et 200 mg/kg du poids corporel (avec un effet dose dépendante) chez des rats obèses et diabétiques (sous régime hyper-gras à 45 % pendant six semaines), provoque une diminution significative du poids corporel ( $270 \pm 11$  g) en comparaison avec les rats obèses diabétiques sans traitement ( $300 \pm 12,5$  g). Ces chercheurs confirment que le gingembre possède des propriétés antidiabétiques hépato protectrice, anti-hyperlipidiques et antioxydantes (**Nazish et al., 2016**) ; **Salaramoli et al., 2022**).

En outre, une étude menée sur l'effet du gingérol, (principe actif du gingembre), sur la modulation des facteurs inflammatoires et des marqueurs enzymatiques du métabolisme lipidique, indique que l'administration journalière de 75 mg/kg de ce principe pendant 30 jours élimine la prise de poids induit par le régime hyperlipidique chez le rat, il améliore l'hyperlipidémie et la diminution de la masse grasseuse. Ainsi, il module le métabolisme

lipidique par une réduction de la lipogenèse, l'oxydation des acide gras et la réduction des facteurs inflammatoires. Les auteurs de cette étude suggèrent que le gingérol possède un potentiel thérapeutique puissant contre l'obésité et ces complications métaboliques, essentiellement l'hyperlipidémie ce qui peut prévenir les maladies cardiovasculaires (**Brahma Naidu et al., 2016**). Ces résultats sont confirmés par d'autres recherches, qui indiquent que la supplémentation orale en gingérol (75 mg/kg pc) pendant 30 jours réduit de manière significative l'augmentation du poids corporel chez les rats sous régime HG et supplémenté en gingerols *versus* les rats sous régime HG seul (témoin). Cette étude explique que le gingérol pourrait exercer son action anti-obésité par l'inhibition de l'absorption intestinale des graisses alimentaires et par le biais de l'activité hypophagique et hypolipidémique. Cela suggère fortement que le gingérol a un potentiel thérapeutique pour la gestion de l'obésité et de l'hyperlipidémie, et pour la prévention contre les maladies cardiovasculaires (**Saravanan et al., 2014**). Chez les souris recevant un régime hyperlipidique durant 15 semaines, le gingerenone A, composé polyphénolique issu du gingembre, administré à 50 mg/kg/j réduit l'infiltration des macrophages et l'inflammation du tissu adipeux induites par le régime hyper-gras en modulant les adipokines dans le tissu adipeux blanc épидidymaire **Suk et al., 2017**.

Parmi les mécanismes sous-jacents d'anti-obésité les plus décrits du gingembre et ses composés phénoliques tels que les [10]-shogaol, Zingéron et galanolactone, est une augmentation de l'activité de la lipase hormono-sensible en activant le système nerveux sympathique et donc l'augmentation de la lipolyse du tissu adipeux blanc (**Iwasaki et al., 2006 ; Pulbutr et al., 2011; Ahn et Oh, 2012**), aussi, il est rapporté que les composés bioactifs du gingembre peuvent également diminuer l'expression de certaines enzymes impliquées dans la lipogenèse, par exemple, l'acide gras synthase et l'acétyl CoA carboxylase. D'autres auteurs suggèrent que le gingembre est capable de supprimer l'action de l'enzyme pancréatique lipase ce qui conduit à une inhibition de l'absorption des lipides au niveau intestinale (**Mahmoud et Elnour, 2013**).

### III.2.2 Impact des régimes expérimentaux sur l'évolution du tissu adipeux

Les résultats de l'analyse de la masse adipeuse révèlent une augmentation significative chez les rats du groupe HG par rapport aux groupes ST et HGP, confirmant ainsi une adiposité. Des études antérieures ont démontré que l'excès d'énergie provenant des aliments, sous forme d'acides gras, entraîne une obésité en favorisant l'accumulation de lipides dans le tissu adipeux. Cette accumulation active certains facteurs de transcription, entraînant une augmentation du

nombre et de la taille des adipocytes. En conséquence, cela crée une hyperplasie du tissu adipeux, se manifestant par le phénotype d'hypertrophie (Coppack, 2005; Veyrat-Durebex et al., 2011).

Nos résultats concordent avec ceux de Zaman et al., (2011) qui ont observé une augmentation de la masse du tissu adipeux chez des rats soumis à un régime riche en graisses (65%) pendant 10 semaines, par rapport aux témoins. Ces résultats sont également cohérents avec des études antérieures montrant que les régimes hyper-gras entraînent une hypertrophie des adipocytes (De Wit et al., 2012 ; Cavalera et al., 2014).

La supplémentation en probiotique (HGP) a réduit le poids du TA (53%) en comparaison avec celui des rats recevant le régime HG. Ce qui va de pair avec les travaux menés par Lee et ses collaborateurs., (2006), ces derniers ont constaté que *L. rhamnosus* PL60 réduisait significativement la masse adipeuse blanche, en particulier les dépôts épидидymaires, l'effet de *L. rhamnosus* PL60 sur le tissu adipeux épидидymaire a été étudié par l'analyse des niveaux d'expression de l'ARNm de plusieurs protéines impliquées dans la régulation du métabolisme énergétique (UCP-2), de l'adipogenèse comme les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (PPAR- $\gamma$ ) et acide gras synthase (FAS) et de l'adipolyse (TNF- $\alpha$ )

Karimi et ses collègues (2017) ont rapporté que des rats sous régime hyper-gras associé à *Bifidobacterium longum*, présentés une masse grasse réduite par rapport aux rats recevant uniquement le régime hyper-gras. Cette constatation est appuyée par l'étude de Roselli et al., (2018), ces derniers ont utilisé la microscopie électronique à balayage (SEM) pour observer le tissu adipeux épидидymaire. Les résultats de cette étude montrent que la supplémentation d'un mélange de *Bifidobacterium* chez les souris obèses est capable de réduire considérablement la masse du tissu adipeux blanc (TA) ainsi que le nombre et la taille des adipocytes par rapport aux souris nourries avec le régime hyper-gras sans supplémentation.

Au cours de notre étude nous constatons qu'après 16 semaines d'expérimentation une diminution hautement significative de 62,6 % de la masse du tissu adipeux chez les rats traités par le régime HGC et ce en comparaison avec le groupe de rats sous régime HG. L'effet combiné de la cannelle/probiotique (HGCP) quant à lui provoque une diminution significative de la masse grasse de 49,4 % par rapport au groupe HGP et de 36,4 % par rapport au groupe HGC.

L'acide trans-cinnamique a réduit l'expression des principaux facteurs de transcription adipogénèse comme protéines CCAAT-enhancer-lien (C/EBP $\alpha$ ) et récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) dans les adipocytes blancs tout en améliorant leur expression dans ceux bruns. En outre, le trans-cinnamique a régulé le catabolisme des lipides. L'équipe de Kang a montré que l'acide trans-cinnamique a le potentiel de traiter l'obésité en induisant la lipolyse, en augmentant l'oxydation des graisses, en réduisant la adipogénèse et la lipogénèse dans les adipocytes 3T3-L1 (N. H. Kang *et al.*, 2019).

D'autre par nos résultats révèlent que le gingembre associé ou non aux probiotiques administré simultanément au régime HG est associé à une réduction de poids du tissu adipeux estimé par 71,61 % et 22,29 % par rapport au groupe HG et HGP, respectivement. Ces résultats corroborent ceux rapportés par Misawa *et al.*, (2015) ils indiquent que les souris recevant l'extrait éthanolique du gingembre à 0,3 %, avaient des adipocytes significativement plus petits que ceux du groupe nourris avec le régime HG, aussi l'extrait aqueux du gingembre testé à 100, 200 et 400 mg/kg du poids corporel donne le même effet, il induit une diminution du poids de tissus adipeux (Shalaby & Saifan, 2014; Ismail, 2014).

En outre, plusieurs études montrent que les principes actifs du gingembre tels que les [6]-gingérol, aza [6]-gingérol, [6]-shogaol et gingerenone A, peuvent réduire le poids du tissu adipeux par une inhibition de l'accumulation de graisse et réduit ainsi le volume des adipocytes (Saravanan *et al.*, 2014; Suk *et al.*, 2017). Ces résultats sont en accord avec ceux de Suk *et al.*, (2016), ces auteurs constatent que l'exposition des préadipocytes 3T3-L1 au [6]-shogaol à une dose de 40  $\mu$ M pendant 3 jours inhibe l'adipogénèse et diminue l'expression de diverses protéines marqueurs d'adipogénèse/lipogénèse et augmente la lipolyse dans les adipocytes matures.

D'autre part, il est démontré que le [6]-gingérol non seulement diminuait de manière significative l'accumulation de lipides en supprimant l'adipogénèse, mais favorise également le brunissement du tissu adipeux : un processus qui consiste à transformer le tissu adipeux blanc en tissu adipeux brun, sa principale fonction est d'assurer la thermogénèse grâce à la lipolyse de ses adipocytes ce qui pourrait être un nouveau traitement pour guérir le diabète lié à l'obésité (Le Marec *et al.*, 2018). Ce composé actif supprime l'accumulation des lipides en entraînant une baisse de l'expression des gènes adipogéniques, cependant, il augmente le PPAR- $\gamma$  au niveau des adipocytes qui joue un rôle clé dans le métabolisme des adipocytes, car il permet non seulement de stocker l'énergie excédentaire mais aussi de dissiper l'énergie dans les adipocytes. De plus, la [6]-gingérol semble favoriser la lipolyse, car elle augmente les niveaux

d'expression de la lipase hormono-sensible (HSL), une enzyme clé responsable de la lipolyse (Roberts *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2017 ; J. Wang *et al.*, 2019).

### III.2.3 Effet des régimes expérimentaux sur les paramètres biochimiques plasmatiques

#### III.2.3.1 Impact sur les teneurs plasmatiques en glucose

Comme évoqué auparavant, un taux supérieur de glucose chez les rats recevant le régime hyper-gras a été constaté en comparaison avec les deux groupes. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Cheng *et al.*, (2019). L'installation progressive de l'obésité est associée à une résistance à l'insuline (Ye, 2021). En effet l'action intracellulaire de cette hormone semble être inhibée par une accumulation de dérivés lipidiques comme les acyl-CoA à longue chaîne, les céramides et les diacylglycérols capables de réguler l'activité des enzymes intracellulaires (Kojta *et al.*, 2020). Les mécanismes moléculaires de cette inhibition commencent à être bien connus. Ils mettraient en jeu la perturbation de la translocation à la membrane des transporteurs de glucose (GLUT-4) et l'inhibition d'un certain nombre d'enzymes importantes dans le métabolisme intracellulaire des glucides (ex : glycogène synthase). L'inhibition de ces facteurs va réduire la sensibilité du tissu à l'insuline et diminuer les capacités d'utilisation du glucose (L.-Y. Wu *et al.*, 2004).

Une réduction de la glycémie de **10,57 %** est notée chez le groupe de rats nourris au régime hypergras supplémenté au probiotiques (HGP) comparés aux rats du groupe (HG). Ces résultats sont analogues aux études menées par Raso *et al.*, (2014) ; Yan *et al.*, (2020) ; E.-J. Park *et al.*, (2020), qui indiquent que le traitement avec des probiotiques améliore la résistance à l'insuline dans le cas de la maladie du foie gras non alcoolique (NAFLD). Dans ce contexte, l'effet hypoglycémiant de *Lactobacillus* est associé à la modulation du microbiote intestinal, à l'augmentation des bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte, ce qui induit une amélioration du métabolisme du glucose (E.-J. Park *et al.*, 2020).

L'un des probiotiques connu pour son potentiels élevé est *Bifidobacterium lactis*, ce dernier peut augmenter la synthèse du glycogène et diminuer l'expression des gènes liés à la gluconéogenèse hépatique, améliorer la translocation du transporteur de glucose-4 (GLUT4) et l'absorption de glucose stimulée par l'insuline (S. Kim *et al.*, 2014). Cependant, *Lactobacillus plantarum* à la capacité de réduire l'expression de la flavine monooxygénase 3 hépatique (W.-C. Liu *et al.*, 2018), une enzyme clé du métabolisme des xénobiotiques dont le blocage a permis de prévenir le développement de l'hyperglycémie et de l'hyperlipidémie chez les souris résistantes à l'insuline (Miao *et al.*, 2015; Gurung *et al.*, 2020).

L'estimation des taux du glucose au niveau plasmatique des rats recevant le régime HG enrichi de la cannelle en poudre associée ou non aux probiotique pendant 16 semaines, montre une diminution significative de la glycémie importante estimée à **52,2 %** pour le groupe HGC et de **46,6 %** pour les rats du groupe HGCP en comparaison avec les deux groupes de rats HG et HGP, respectivement. En outre, l'association cannelle/probiotiques réduit le taux du glucose d'une manière significative cette diminution est de **49,9 %** par rapport au groupe HGC.

Nos résultats sont en concordance avec des travaux antérieurs qui montrent l'effet hypoglycémiant puissant de la cannelle (**Shalaby et Saifan, 2014; Zhu et al., 2017; Sharma et al., 2020**). **Beji et al., (2018)** évoquent que la poudre de cannelle améliore significativement l'hyperglycémie et le profil lipidique des rats rendus diabétiques par l'alloxane. (**El-Desoky et al., 2012**). Des investigations plus récentes suggèrent que la fraction méthanolique issue de la cannelle réduit significativement le taux du cholestérol élevé et induit une inhibition de l'activité de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase chez un modèle expérimental hyper-lipidémiques et athérosclérotiques (**Joshi et al., 2017 ; Yousefifar et al., 2018**). On a également révélé que l'extrait hydroalcoolique de cannelle est un agent antidiabétique plus puissant que son extrait aqueux (**Beejmohun et al., 2014**). Il est suggéré que les polyphénols de cannelle aident à réparer les cellules bêta du pancréas, ce qui renforce les effets hypoglycémiques et hypolipidémique, ils augmentent la synthèse du glycogène, la sensibilité à l'insuline, réduisent ainsi les marqueurs du stress oxydatif (**Couturier et al., 2011; R. Li et al., 2013**).

Aussi, on constate que le traitement basé sur l'association probiotique/gingembre induit un impact plus important sur la glycémie des rats que celui basé sur le probiotique seul. En effet, le traitement par le régime HGGP induit une diminution hautement significative évaluée à **78,4 %** *versus* le traitement par le régime HGP. Parallèlement, une réduction significative évaluée à **58,67 %** est enregistrée chez les rats constituant le groupe HGGP *versus* les rats du groupe HGG. Ces résultats sont en accord avec ceux évoqués par **Shanmugam et al., (2011)**, ils indiquent que l'administration de gingembre en poudre améliore le poids corporel des rats diabétiques, et exerce un effet antidiabétique et anti-hyperlipidémique. les extraits du gingembre, essentiellement ceux contenant le 6-gingérol exercent un effet régulateur de glycémie en ralentissant l'absorption des graisses au niveau intestinal et améliorent la sensibilité à l'insuline via l'activation des transporteurs du glucose (GLUT-4).(**Saravanan et al., 2014 ; Brahma Naidu et al., 2016**). En effet, il est démontré que les composés phénoliques issus du gingembre sont capables d'augmenter l'expression des ARNm codant pour les protéines impliquées dans le transport du glucose (GLUT-4), aussi bien au niveau musculaire qu'au

niveau hépatique. Cette augmentation pourrait être bénéfique à la régulation de la voie de signalisation à l'insuline et prévenir ainsi l'installation de l'insulinorésistance et l'état inflammatoire de bas grade, deux éléments clé très fortement impliqués dans la genèse des pathologies associées à l'obésité (**Garvey et al., 1991**). Conformément à ces données, le [6]-gingerol régule l'hyperglycémie chez des souris diabétiques en augmentant l'expression des gènes codants pour les récepteurs de l'insuline (IRS1, IRS2) (**Chakraborty et al., 2012**). Ils ont aussi constaté une réduction des niveaux d'expression des gènes du TNF- $\alpha$  et IL-6, entraînant une certaine amélioration de la signalisation/réponse à l'insuline (**Nammi et al., 2009 ; Chakraborty et al., 2012**). Une supplémentation en gingembre améliore l'effet du probiotique, ceci confirme son activité prébiotique.

### III.2.3.2 Impact sur le profil lipidique

L'ensemble des résultats précédemment décrits suggère que le régime hyper-gras utilisé dans cette expérimentation perturbe le métabolisme lipidique, entraînant une dyslipidémie caractérisée par une triade métabolique comprenant une augmentation des triglycérides, une diminution du taux de C-HDL et un surplus de la fraction des C-LDL. Ces altérations lipidiques contribuent à l'élévation du risque cardiométabolique associé à l'excès de tissu adipeux lié à l'obésité (**J. H. Y. Wu et al., 2019**). Parmi les mécanismes impliqués dans la perturbation du métabolisme lipidique engendrée par le régime hyperlipidique, la lipoprotéine lipase (LPL) semble jouer un rôle crucial. Cette enzyme occupe une place centrale dans la dégradation des triglycérides présents dans les lipoprotéines sériques. Les molécules de LPL sont ancrées dans la membrane des cellules endothéliales vasculaires, où elles hydrolysent les triglycérides des chylomicrons et des VLDL. Des études ont suggéré une réduction de l'activité de la lipoprotéine lipase en cas d'obésité (**M. Lee et al., 2009**).

L'administration des bactéries bénéfiques associées à un régime HG réduit les niveaux de cholestérol total (TC) et les triglycérides (TG) en comparaison avec les rats recevant le régime HG. En outre, nous avons constaté que les niveaux de triglycérides étaient réduits dans le groupe HGP. Des résultats similaires ont été observés avec certaines souches probiotiques (**Takemura et al., 2010 ; Song et al., 2015 ; Q. Zhang et al., 2021**). En effet il est décrit que les bactéries lactiques, notamment *Bifidobacterium longum* (**Xiao et al., 2003**) et *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 (**Y.-H. Park et al., 2007**) possèdent des effets hypocholestérolémiques chez le rat ainsi que chez l'homme (**H. M. An et al., 2011**).

Les mécanismes par lesquels les probiotiques exercent un effet bénéfique sur le métabolisme lipidique essentiellement sur le cholestérol, sont basés sur l'inhibition des

enzymes de synthèse du cholestérol et la réduction ainsi de sa production par l'action des produits de fermentation des bactéries lactiques. Ces dernières facilitent l'élimination du cholestérol dans les excréments en inhibant son absorption par l'organisme (**P. S. Lim et al., 2020**). Un mode d'action supplémentaire sous-jacent est décrit, il met en jeu l'effet stimulateur des probiotiques sur l'activité de la BSH « bile-salt hydrolase » une enzyme fortement impliquée dans la synthèse des acides biliaires déconjugés, ce qui entraîne une augmentation des niveaux de sels biliaires déconjugés, et une excrétion plus élevée dans les fèces (**Begley et al., 2006 ; Ooi & Liang, 2010; P. S. Lim et al., 2020**).

Une réduction de **48,57%** de la teneur plasmatique en lipoprotéine C-LDL est constatée chez les rats constituant le groupe HGP, chez le même groupe la supplémentation en probiotique améliore les taux des C-HDL de **43,23%** en comparaison avec le groupe HG, ces résultats corroborent ceux indiqués par **Balakumar et al., (2018)**, ces derniers évoquent que l'addition des probiotiques au régime HG améliore le profil lipidique des souris diabétiques et obèses en 6 mois. En effet, il a été observé que la supplémentation en probiotiques composés de multiples souches bactériennes, principalement les espèces *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*, pendant 8 et 12 semaines, produit une diminution des TG, du cholestérol total. et des C-LDL (**Kobyliak et al., 2018**). Cavalcante et son équipe confirment aussi que l'ajout des *Lactobacillus fermentum 296* à  $10^9$  UFC/mL améliore le profil lipidique plasmatique, en réduisant de manière significative le taux des triglycérides, abaisse sensiblement le cholestérol total, le C-LDL et augmentant le bon cholestérol C-HDL, ceci a été observé après quatre semaines de traitement (**Cavalcante et al., 2019**). Au cours de notre étude, nous avons observé une diminution significative des taux de triglycérides, de cholestérol total et de LDL-C, ainsi qu'une augmentation significative du HDL-C chez les rats traités avec de la poudre de cannelle seule ou en association avec des probiotiques, en comparaison avec les groupes HG et HGP. Ces résultats concordent avec plusieurs études qui ont largement décrit l'effet hypolipidémique et hypocholestérolémiant de la cannelle (**Sheng et al., 2008 ;Ranasinghe et Galappaththy, 2016 ; Shahrestan et al., 2020**). Parallèlement, de nombreuses études cliniques sur la cannelle et ses composants ont démontré que la consommation quotidienne de 1, 3 ou 6 g de cannelle entraînait une réduction des taux de cholestérol, de LDL-C et du taux moyen de triglycérides (**Khan et al., 2003; Ou et al., 2006; Wang et al., 2015; Ranasinghe et al., 2017**).

En effet, le mode d'action lié à l'amélioration du profil lipidique par la cannelle et ses extraits est principalement associé à la régulation des enzymes et des gènes impliqués dans la

génération, l'accumulation, le transport et la dégradation des lipides. De plus, la cannelle réduit les processus lipogéniques dans le foie et le tissu adipeux (**Shang et al., 2021**).

Le même résultat est constaté en incorporant la poudre du gingembre dans nos régimes expérimentaux. la poudre de gingembre ajoutée à 2% réduit l'hyperglycémie et l'hypercholestérolémie engendrées par le régime HG, ceci est en accord avec l'étude récente de **Sayed et al., (2020)** qui évoque que le traitement au gingembre pendant 4 semaines réduit significativement le poids corporel, les TG, les CT, et modifie le niveau de transcription des protéines impliquées dans le métabolisme énergétique au sein des tissus hépatique et adipeux.

Des extraits éthanoliques de gingembre ont été rapportés comme étant capables de diminuer le taux de cholestérol sanguin en inhibant la biosynthèse hépatique du cholestérol tout en améliorant son absorption dans la circulation (**Nammi et al., 2010**). Selon **Lei et al., (2014)**, les composés actifs du gingembre, le gینگérol et le shogaol, ont la capacité de réduire le cholestérol total plasmatique (CT) et le LDL-C en favorisant l'excrétion fécale des stérols neutres et des acides biliaires. Ce processus est accompagné d'une régulation à la hausse de la 7 $\alpha$ -hydroxylase du cholestérol (CYP7A1) hépatique, enzyme catalysant la conversion du cholestérol en acides biliaires dans le foie. (**Chiang et al., 2001**). De plus, le gingembre semble réguler à la baisse l'expression intestinale de la protéine Niemann Pick C1 like 1 (NPC1L1), qui participe à l'absorption du cholestérol dans la lumière de l'intestin grêle. Par ailleurs, elle agit sur l'acétyl-CoA acétyltransférase 2 (ACAT2) qui estérifie ou ré-estérifie le cholestérol libre absorbé une fois qu'il atteint le réticulum endoplasmique (RE), donnant ainsi naissance à des esters de cholestérol (**Rudel et al., 2005**).

Au cours de la présente étude, l'administration de poudre de gingembre, seule ou en combinaison avec des souches bénéfiques, à des rats soumis à un régime hypergras (HG), induit une diminution des niveaux de C-LDL et une augmentation des niveaux de C-HDL au niveau plasmatique. Ces résultats sont en corrélation avec les conclusions de **Nazish et al., (2016)**, qui ont démontré qu'un extrait aqueux de gingembre, administré à une dose de 20 mg/kg de poids corporel pendant 42 jours, augmente la concentration de C-HDL chez les rats rendus obèses par un régime hyper-gras par rapport au groupe témoin ( $31,99 \pm 7,65$  vs  $23,23 \pm 9,69$  mg/dl, respectivement). De plus, cet extrait a entraîné une diminution des fractions C-LDL et VLDL, notant des valeurs de  $84,35 \pm 6,91$  et  $29,81 \pm 6,84$  mg/dl, respectivement, par rapport au groupe témoin qui présente des valeurs de  $107,28 \pm 9,54$  et  $34,26 \pm 5,03$  mg/dl.

### III.2.4 Impact des régimes expérimentaux sur les paramètres oxydatifs aux niveaux plasmatique et tissulaire chez les différents lots de rats *Wistar*

Comme précédemment mentionné, les résultats tirés de cette présente étude révèlent de manière concordante que les rats exposés à un régime HG présentent une altération de l'état oxydatif, tant au niveau tissulaire que plasmatique, par rapport aux groupes de rats témoins. L'augmentation de la charge pondérale induite par le régime HG semble jouer un rôle déterminant en favorisant une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), tout en compromettant l'efficacité des mécanismes de défense antioxydante. En effet, cette perturbation de l'équilibre entre les processus oxydants et antioxydants au sein de l'organisme des rats obèses engendre des conséquences dommageables au niveau cellulaire. Ces conséquences incluent notamment une augmentation de la peroxydation lipidique, l'oxydation des protéines et une élévation des dommages à l'ADN (**Bugger et Dale Abel, 2008 ; Kesh et al., 2013**). Ainsi, il est possible de conclure que l'obésité, en altérant la balance oxydant/antioxydant, contribue de manière significative aux altérations cellulaires et aux répercussions métaboliques observées dans ce modèle d'étude. Ceci corrobore avec diverses études menées chez l'homme et l'animal, elles convergent vers l'association entre l'accumulation des graisses et un stress oxydatif systémique. Cette relation est caractérisée par une augmentation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), une expression accrue de la NADPH oxydase, un dysfonctionnement mitochondrial et d'une expression réduite des enzymes antioxydantes (**Charradi et al., 2013 ; Le Lay et al., 2014**). Une investigation réalisée par **Aydın et ses collaborateurs., (2017)**, souligne une élévation significative des niveaux de MDA et du FRAP sérique chez des rats rendus diabétiques et obèse suite à un régime riche en lipide de 12 semaines, en comparaison avec le groupe témoin constitué de rats soumis à un régime standard. Ces résultats indiquent des teneurs plasmatiques de MDA de l'ordre de ( $6.51 \pm 0.48$  vs  $5.28 \pm 0.49$   $\mu\text{mol/L}$ ) et un pouvoir réducteur total plasmatique de l'ordre de ( $277.3 \pm 49.7$  versus  $318.4 \pm 34.7$   $\mu\text{mol/L}$ ). Par ailleurs, une alimentation quotidienne composée à 60% d'un régime hyperlipidique pendant huit semaines conduit à une augmentation des niveaux de MDA sériques de rats obèses insulino-résistants par rapport aux rats témoins, avec des teneurs enregistrées de :  $267.4 \pm 15.5$  versus  $70.2 \pm 8.2$  ng/mg protéine (**Maciejczyk et al., 2018**). Comme le souligne l'étude menée par Gerardi et ses collaborateurs, la capacité antioxydante plasmatique évaluée par la méthode FRAP est altérée chez les rats soumis à un régime hyperlipidique (HG) par rapport à ceux soumis à un régime standard (ST) pendant une période de 14 semaines. Les rats du groupe (ST) présentent des valeurs de 0,5 mM pour le test FRAP, tandis que les rats du groupe HG présentaient des valeurs de 0,19 mM pour le même

test. Une altération similaire a été observée dans le statut redox du foie des rats alimentés avec le régime HG. En effet, au cours de cette étude les auteurs se sont intéressés à trois types de biomarqueurs du stress oxydatif à savoir les groupements carbonyles (CG) en tant que biomarqueurs des dommages aux protéines, le malondialdéhyde (MDA) pour les analyses de peroxydation lipidique et les guanines oxydées, les 8-hydroxydeoxyguanosines (8OHdG) en tant qu'indicateur des dommages à l'ADN, les trois biomarqueurs sont augmentés chez les rats du groupe HG, en comparaison avec les rats du groupe ST (**Gerardi et al., 2020**). D'autre part, le régime (HG) entraîne une augmentation de la quantité de chylomicrons dans l'intestin. Lorsqu'ils pénètrent dans la circulation, ces chylomicrons génèrent des acides gras libres (AGL) qui sont ensuite absorbés par le foie. Ces AGL hépatiques sont dirigés soit vers les mitochondries pour la  $\beta$ -oxydation, soit ils sont estérifiés pour former des triglycérides (TG) (**Pessayre et al., 2001 ; S.B. Kesh et al., 2016**). En conséquence, une consommation excessive de régimes riches en graisses augmente la  $\beta$ -oxydation mitochondriale des AGL. Cela conduit à un flux d'électrons excessif utilisant la cytochrome-c oxydase, augmentant ainsi la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces ERO oxydent les lipides insaturés, entraînant la peroxydation des lipides oxydés. Ces intermédiaires réagissent ensuite avec l'oxygène pour former davantage d'anion superoxyde et d'autres ERO (**Matsuzawa-Nagata et al., 2008**). D'autre part L'épuisement des enzymes et les vitamines antioxydantes favorise la production ERO et ainsi que les dommages causés par ces ERO (**Le Lay et al., 2014**). Ils peuvent activer la transcription de l'un des principaux gènes liés à l'inflammation, le NF- $\kappa$ B (**Weisberg et al., 2008 ; Savini et al., 2013**).

Parmi les vitamines antioxydantes à prendre en considération, la vitamine C, elle joue un rôle crucial dans la défense antioxydante non enzymatique, en tant qu'agent réducteur susceptible d'influencer la peroxydation lipidique (**Quilliot et al., 2011**). Elle peut donc en conséquent être utilisée comme un indicateur du pouvoir antioxydant de l'organisme. Nos résultats mettent en évidence une diminution des taux plasmatiques et tissulaires de cette vitamine chez les rats HG. Cette observation concorde avec celle de **Perticone et al., (2001)**, ils signalent une diminution de la vitamine C au cours de l'obésité. Cette dernière est un excellent piègeur des ERO qui peut protéger divers substrats biologiques (protéines, acides gras, ADN) de l'oxydation. Parallèlement, les résultats obtenus au cours de cette étude indiquent que l'incorporation du probiotique dans le régime HG présente une capacité d'améliorer plusieurs paramètres liés au stress oxydatif à la fois aux niveaux tissulaire et plasmatique, le probiotique favorise une augmentation du pouvoir réducteur et de la teneur en vitamine C. De plus, il exerce

une action protectrice en préservant les groupements SH protéiques des attaques radicalaires, contribuant ainsi à la préservation des protéines cellulaires. En outre, le probiotique démontre une efficacité significative dans la prévention de l'oxydation lipidique. Une étude menée par **X. Zhang et al., (2017)** sur des souris soumises à une alimentation hyperlipidique, associée à un lait de soja fermenté contenant un mélange de probiotique (*B. bifidum* JLAU4, *L. casei* B10 et *L. plantarum* CGMCC NO.11172) durant une période de 8 semaines, a révélé l'effet protecteurs des probiotiques vis-à-vis du stress oxydatif. En effet, cette investigation montre qu'une consommation du lait fermenté aux bactéries probiotiques induit une réduction de l'hyperlipidémie et atténue les lésions hépatiques en diminuant la production de lipopolysaccharides (LPS), de TNF- $\alpha$  et d'enzymes hépatiques. Ainsi, parallèlement, le lait fermenté aux probiotiques a stimulé la production de la leptine adipeuse. Les résultats suggèrent que ce lait de soja fermenté, enrichi en probiotiques, exerce une action inhibitrice sur la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), contribuant ainsi à réduire le stress oxydatif au niveau du foie. Cette constatation souligne le rôle potentiellement protecteur des probiotiques dans le contexte de l'alimentation hyperlipidique.

Aussi, nos résultats corroborent ceux obtenus par Toral et ses associés, ces chercheurs ont mis en évidence le rôle des probiotiques dans la neutralisation du stress oxydant développé au cours de l'obésité. Ils démontrent au cours de leur étude que l'administration par voie orale de *L. coryniformis* pendant 12 semaines à une dose journalière de  $10^8$  UFC à des souris sous régime riche en lipides constituant 60 % des calories totales a atténué le stress oxydatif par le biais de la réduction de la production des ERO. Cette administration induit aussi la réduction de l'endotoxémie métabolique, reflétée par la diminution des taux des LPS plasmatiques, et l'expression du TNF- $\alpha$  contribuant ainsi à la modulation de l'état inflammatoire. Ces effets bénéfiques ont également été associés à la restauration des fonctions de la barrière intestinale et à la correction de la dysbiose intestinale (**Toral et al., 2014**). Les résultats d'une étude menée sur un modèle expérimental cellulaire ont mis en évidence l'activité antioxydante significative de *L. delbrueckii* ATCC7830 face à un stress induit par le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Au cours de cette étude, les auteurs ont évalué le pouvoir antioxydant de cette bactérie par le biais de la mesure de la capacité de piger le radical libre (l'anion superoxyde) et la mesure de la capacité antioxydante totale. Les résultats obtenus indiquent une augmentation des capacités antioxydantes des cellules Caco-2 traitées par *L. delbrueckii* en présence d' $H_2O_2$  évaluées à 74 %, en comparaison avec des cellules Caco-2 traitées par le  $H_2O_2$  seul. Cette bactérie améliore aussi de manière significative la capacité cellulaire à piéger l'anion superoxyde des cellules

soumises au stress H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comparées aux cellules sous stress H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mais non exposées à *L. delbrueckii* (19,11 ± 2,21% vs 9,9 ± 1,04 %) (D. Wu et al., 2014).

**W. Song et al., (2016)** ont réalisé une évaluation approfondie des effets antioxydants de trois souches de *Lactobacillus*, à savoir *L. coryniformis* subsp. *torquens* T3, *L. paracasei* subsp. *Paracasei* M5 et *L. paracasei* subsp. *paracasei* X12, chez des souris rendues obèses par la consommation d'un régime HG pendant six semaines. Les résultats ont révélé qu'une dose élevée de 10<sup>9</sup> CFU/mL de ces souches, augmente les activités de certaines enzymes antioxydantes, notamment la glutathion peroxydase (GSH Px), la catalase (CAT) et la superoxyde dismutase totale (T-SOD), de plus, elle a conduit à une réduction significative de la teneur en MDA, chez les souris nourries au HG pendant six semaines.

L'ingestion d'un régime alimentaire riche en glucose et en graisses contenant *L. paracasei* TD062 (10<sup>9</sup> CFC/mL) pendant 8 semaines de traitement induit une réduction significative des lipides peroxydés dans le foie et une augmentation des activités de la SOD et GPx hépatique. De plus, le traitement quotidien à base de *B. animalis* 01 à 10<sup>9</sup> CFU/mL, associer un régime HG durant dix semaines, chez des rats diabétiques diminue la quantité des LPS, l'expression génétique de la glyconéogenèse hépatique, réduit les lésions oxydatives lipidiques hépatique et augmente l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques (SOD, CAT et GSH-Px) (**J. Zhang et al., 2020**).

Il est bien établi l'existence d'un lien étroit entre l'état inflammatoire l'insulinorésistance et le stress oxydatif au cours du développement de l'obésité par l'intervention des voies NF-kB et Jun N-terminal kinase (JNK) (**Verdile et al., 2015**). Ceci pourrait expliquer la capacité antioxydant de notre probiotique (Lactibiane tolérance®) observée au cours de cette étude. Il est fort probable que celui-ci exerce un effet préventif contre les altérations oxydatives via un caractère immunomodulateur et en régulant l'état inflammatoire. En effet, ce dernier présente un profil immunomodulateur évalué *in vitro* via la quantification des cytokines IL-10, IL-12 et IFN-γ après incubation pendant 24 heures d'une souche probiotique ou d'un mélange de souches probiotiques, Lactibiane tolérance, avec des cellules mononuclées sanguines humaines. Les souches présentes dans le produit Lactibiane tolérance, et plus particulièrement *L. salivarius* LA 302, sont capables d'induire la production d'IL-10 par les cellules mononuclées sanguines. L'IL-10 est considérée comme une cytokine présentant des propriétés régulatrices vis-à-vis des lymphocytes Th1 et Th2 (**Drouault-Holowacz et al., 2006**). En effet, ces propriétés immunomodulatrices semblent très bien

corrélées à leur capacité anti-inflammatoire *in vivo* (Foligne et al., 2007; Ng et al., 2009). L'action des probiotiques dans la modulation de l'état inflammatoire peut être expliquée par son pouvoir de réagir sur le maintien et le renforcement de la barrière intestinale et limiter ainsi le passage anarchique des LPS, des endotoxines reconnues depuis longtemps comme étant un facteur clé de l'induction d'une forte réponse inflammatoire associée à l'obésité.

Au cours de cette étude nous avons constaté que l'administration de la cannelle seule ou associée aux probiotiques améliore le statut oxydatif sérique et tissulaire des rats après 16 semaines de traitement en comparaison avec les groupes HG et HGP. Nos résultats concordent les résultats évoqués par Tuzcu et al., (2017), ils signalent que l'ingestion orale d'extrait polyphénolique de cannelle (100 mg/kg) associée à un régime hyperlipidique (42 %) pendant 12 semaines a entraîné une réduction de 23 % et 25 % des concentrations de MDA hépatique et plasmatique respectivement, ainsi qu'une élévation de la CAT plasmatique de 91%, la même constatation a été signalée pour la teneur des enzymes antioxydantes au niveau hépatique comme la SOD (62%), CAT(21%) et GPx (36 %).

Les polyphénols de cannelle réduisent l'hyperlipidémie, l'inflammation et le stress oxydatif grâce à l'activation des facteurs de transcription et de la voie de signalisation de défense antioxydante au niveau hépatique ceci est constaté chez des rats nourris avec un taux élevé de lipides (Arisha et al., 2020). L'administration d'extrait méthanolique de cannelle à des rats diabétiques pendant 28 jours induit une diminution des teneurs en MAD et augmente l'activité des enzymes antioxydantes (SOD et CAT) d'une manière significative par rapport au groupe non traité (Qusti et al., 2016). Le même résultat est enregistré par une équipe de recherche qui déclare que la soumission des rats diabétiques a une consommation journalière de l'extrait méthanolique de la cannelle à 400 mg/kg pendant 42 jours, induit une réduction significative des niveaux des MDA et augmente les niveaux des groupement Thiol, ainsi que l'activité de la SOD, et la CAT est ceux au niveau hépatique et rénale en comparaison avec le groupe non traité (Niazmand et al., 2021). Aussi il est décrit que le cinnamaldéhyde présente la capacité d'améliorer la libération du cytochrome C par les mitochondries, jouant ainsi un rôle dans la régulation positive de l'activité des caspases-9 et -3. Ce composé est également impliqué dans la modulation à la hausse de l'expression des facteurs pro-apoptotiques, tel que le gène Bax, tandis qu'il régule à la baisse l'expression des inhibiteurs de l'apoptose, notamment Bcl-2. Ces actions visent à induire l'apoptose. En parallèle, le cinnamaldéhyde exerce une fonction protectrice envers la cellule en la préservant du stress oxydatif. Elle peut jouer un rôle primordial dans l'activation du facteur nucléaire Nrf2, qui est le principal régulateur du système

de défense antioxydant cellulaire. Cette double action, à la fois pro-apoptotique et protectrice contre le stress oxydatif, souligne la complexité des mécanismes régulateurs dans lesquels le cinnamaldéhyde est impliqué (**Ezzat et al., 2017; Singh et al., 2021**).

De manière similaire, notre étude met en évidence que la supplémentation en gingembre, que ce soit de manière isolée ou en combinaison avec un probiotique, améliore significativement l'état oxydatif chez les rats sous régime HG, tant aux niveaux plasmatiques que tissulaire. Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans des études antérieures qui ont également démontré les bienfaits du gingembre sur le stress oxydatif. Ces dernières suggèrent que la consommation d'extraits aqueux de gingembre conduit à une réduction du stress oxydatif chez les rats, notamment par la diminution des taux de MDA, une augmentation de la capacité antioxydante totale, ainsi que par le renforcement de l'activité des enzymes antioxydantes (CAT, SOD, GPx) (**Abdel-Azeem et al., 2013 ; Shalaby & Saifan, 2014**). En outre, la supplémentation en gingembre se révèle être un moyen significatif à la régulation du statut redox, en inhibant de manière notable la formation de la peroxydation lipidique, comme en témoigne la diminution des niveaux de malondialdéhyde (MDA) et en activant les enzymes de la défense antioxydante. De plus, elle a la capacité d'influencer la cascade inflammatoire en agissant sur la régulation en réduisant la production de diverses cytokines inflammatoires tels que le TNF- $\alpha$ , l'IL-6 et la CRP (**Askari et al., 2020**). Les mécanismes sous-jacents à l'activité antioxydante du gingembre ont été examinés dans des modèles cellulaires, comme décrit dans l'étude menée par Mao et ses collaborateurs. Les mécanismes suggérés impliquent l'inhibition de l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) (**Mao et al., 2019**). L'inhibition de l'ECA est un mécanisme qui peut contribuer à l'effet antioxydant du gingembre. Cette enzyme est associée à la régulation de la pression artérielle, mais elle est également liée à des processus oxydatifs et inflammatoires. En inhibant cette enzyme, le gingembre pourrait moduler des voies biologiques impliquées dans le stress oxydatif, offrant ainsi une protection contre les dommages cellulaires liés aux espèces réactives de l'oxygène (**Akinyemi et al., 2013**).

Il a été démontré par plusieurs études que le gingembre et ses composés bioactifs, tel que le [6] -shogaol, exercent une activité antioxydante en agissant à travers la voie de signalisation du facteur nucléaire lié à l'érythroïde 2 (Nrf2). La protéine Nrf2 est un facteur de transcription essentiel impliqué dans la défense contre le stress oxydatif. Elle exerce cette fonction en induisant l'expression de nombreuses protéines cytoprotectrices, dont des enzymes antioxydantes. La Nrf2 régule les voies de détoxification cellulaire en agissant à travers des séquences ADN spécifiques appelées "éléments de réponse antioxydant" (ARE). Ces éléments

sont présents dans le promoteur de gènes codant pour des protéines impliquées dans la réponse antioxydante. Ainsi, l'activation de la voie Nrf2 conduit à une augmentation de la synthèse d'enzymes antioxydantes, renforçant ainsi la capacité de la cellule à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et à faire face au stress oxydatif (Peng et al., 2015 ; Genard, 2015 ; Mao et al., 2019).

### III.2.5 Impact des régimes expérimentaux sur la composition du microbiote intestinal

Au cours de notre étude, nous avons observé que le régime hyperlipidique (HG) provoque un déséquilibre de la flore intestinale chez les rats. Cette perturbation se traduit par une augmentation du nombre de bactéries pathogènes telles qu'*E. coli* et *Enterococcus*, tandis que les bactéries bénéfiques telles que *Lactobacillus* sont en diminution au sein de ce groupe. Ces résultats concordent avec plusieurs études antérieures indiquant qu'une alimentation riche en lipides entraîne une dysbiose intestinale chez les rats et les humains, favorisant la translocation des bactéries pathogènes et entraînant une endotoxémie (Cani et al., 2007a; Muccioli et al., 2010; Porras et al., 2017; Díez-Sainz et al., 2021).

La supplémentation des bactéries probiotiques au régime HG améliore significativement le profil bactérien après 16 semaines d'expérimentation. Cette amélioration se manifeste par une restauration de la flore bénéfique comme *Lactobacillus* et une diminution de la flore potentiellement pathogène, notamment *E. coli* et *Enterococcus*. Dans une étude menée par Park et ses collaborateurs, l'impact direct et fonctionnel des probiotiques sur l'état pro-inflammatoire induit par l'obésité a été examiné. Pour ce faire, des souris C57BL/6J soumises à un régime hypergras ont été traitées avec un mélange de probiotiques composé de *L. curvatus* HY7601 et *L. plantarum* KY1032. Après 8 semaines d'expérimentation, les résultats obtenus révèlent que l'administration du mélange de probiotiques influence la diversité et la composition du microbiote intestinal des souris obèses. Ce mélange régule l'expression des gènes impliqués dans l'oxydation lipidique, tels que PGC1 $\alpha$ , CPT1, CPT2 et ACOX1, et exerce une activité anti-inflammatoire en modulant l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1b et MCP1. Ces résultats suggèrent que le traitement par le mélange de probiotiques contribue à la restauration des perturbations métaboliques liées à l'obésité (D.-Y. Park et al., 2013). Plusieurs études ont démontré que les probiotiques sont impliqués dans le maintien de la barrière intestinale en favorisant une meilleure intégrité de la muqueuse intestinale. Les probiotiques augmentent également la fonction de la barrière de la muqueuse intestinale en

favorisant la production de mucus et de certains anticorps de type IgA (**Ohland et MacNaughton, 2010**).

Il a largement démontré que les probiotiques sont des modulateurs pouvant modifier la sécrétion d'hormones, de neurotransmetteurs et de facteurs inflammatoires, agissant ainsi comme des régulateurs des déclencheurs de la prise alimentaire susceptibles d'induire une prise de poids (**Aoun et al., 2020**). Des études expérimentales ont mis en évidence des effets anti-obésogènes après des traitements à base de probiotiques, principalement des Lactobacilles et des Bifidobacteries, cet effet anti-obésogène se traduisant par une réduction de la prise de poids et une diminution de l'accumulation de graisse (**Ejtahed et al., 2019**). Certains des mécanismes d'action proposés incluent l'induction des gènes responsables de l'oxydation des acides gras ou la régulation des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides (**Dahiya et al., 2017**). De plus, certaines souches de lactobacilles ont la capacité de produire des bactériocines, des peptides antimicrobiens associés au poids corporel. Les probiotiques jouent également un rôle dans la prévention de la dysbiose et la protection de la barrière intestinale en modulant le cytosquelette (**Cerdó et al., 2019**). Un autre mécanisme d'action proposé est associé à la capacité des probiotiques à rivaliser avec les microorganismes pour les sites de liaison, agissant ainsi en tant qu'antagonistes de ces agents pathogènes ou en modulant les récepteurs de la réponse immunitaire (**Tomé-Castro et al., 2021**).

Parallèlement, il est évident que les polyphénols, en raison de leurs effets antibactériens et prébiotiques, sont en mesure de modifier la composition du microbiote en le restaurant (**Neyrinck et al., 2013**). Cet effet est largement documenté dans la littérature, en indiquant leur contribution significative au processus anti-obésité (**Van Hul et al., 2018 ; Corrêa et al., 2019**). Les polyphénols présents dans la cannelle, lorsqu'ils atteignent le côlon servent de substrats pour le métabolisme bactérien, ils sont associés à une augmentation des bactéroïdes et à une diminution des protéobactéries, contribuant ainsi efficacement à l'enrichissement du microbiote intestinal. (**Van Hul et al., 2018 ; A. Li et al., 2020**).

Une étude menée sur des souris C57BL/6J a révélé que l'utilisation d'un extrait d'écorce de cannelle, particulièrement riche en proanthocyanidines polymères de type A à une concentration de 90 mg/g d'extrait, favorise la restauration du microbiote intestinal déséquilibré par un régime riche en graisses. De plus, cette étude a mis en évidence une amélioration significative de la fonction immunitaire, de la barrière colique, ainsi qu'une nette amélioration de l'indice de résistance à l'insuline chez les souris (**Van Hul et al., 2018**).

Une étude menée avec des rats sevrés précocement, très sensibles au stress et aux altérations intestinales, a révélé que le traitement avec 100 ou 200 mg/kg de poids corporel par jour de cinnamaldéhyde pendant 2 semaines pouvait améliorer efficacement l'intégrité de la barrière intestinale, améliorer les réponses inflammatoires et remodeler le microbiote intestinal (**Qi et al., 2021**). Ces auteurs ont suggéré que l'apparition de ces effets est due à l'inhibition de l'activation de NF- $\kappa$ B; de la régulation de l'expression de la mucine 2, et la réduction de l'expression de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$ , potentiellement médiée par une augmentation de la diversité de la flore intestinale (**Qi et al., 2021**).

De même, les effets bénéfiques des polyphénols du gingembre, ou en association avec des probiotiques, ont démontré un impact significatif sur le profil microbien de la flore intestinale des rats soumis à un régime riche en graisses. Cela est mis en évidence par la réduction de la population d'*E. coli* et d'*Enterococcus sp.*, ainsi que par l'augmentation des bactéries bénéfiques. Cette diminution reflète les effets positifs des composés bioactifs, tels que les polyphénols et les fibres alimentaires, présents dans la poudre de gingembre.

En effet Il a été prouvé de manière concluante que les polyphénols bioactifs du gingembre se comportent comme des prébiotiques pour le microbiote intestinal et favorisent ainsi la santé intestinale. En effet, (**Ooi et al., 2022**). **Kang et al., (2022)** ont rapporté que l'extrait de gingembre digéré module de manière significative la structure du microbiote fécal et favorisait la croissance de certaines populations bactériennes bénéfiques telle que *Bifidobacterium*. La supplémentation en gingembre peut moduler la composition du microbiote intestinal, entraînant une diminution du surpoids, de la résistance à l'insuline, de la stéatose hépatique et de l'inflammation de bas grade chez la souris (**J. Wang et al., 2020**). L'extrait de gingembre pourrait augmenter les niveaux d'acides gras à chaîne courte (AGCC) accompagnés d'une diminution du pH. De plus, le 6-gingérol (6G), principal polyphénol du gingembre, a considérablement augmenté l'abondance de bifidobactéries. Par conséquent, la 6G devrait être un prébiotique potentiel qui améliore la santé humaine en favorisant la santé intestinale (**J. Wang et al., 2020**).

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

---

## Conclusion et perspectives

À l'heure actuelle, les maladies cardiovasculaires demeurent l'une des principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde (Goldsborough et al., 2022). L'obésité est considérée comme un facteur prédominant de ces maladies, elle exerce une influence significative sur le système cardiovasculaire en augmentant considérablement les risques de développer diverses complications. Afin de réduire de manière significative le risque de ces maladies. Il est donc impératif de prendre des mesures préventives contre l'obésité. Cependant et malgré la prévalence croissante de cette pathologie, son arsenal thérapeutique actuel est plutôt limité. Face à cette difficulté et afin de combler ce manque, des stratégies altérative et préventives peuvent être largement envisagées, En effet, les recherches de l'heure actuelle s'orientent vers la manipulation des différentes voies métaboliques, particulièrement le stress oxydatif et la dysbiose intestinale, deux voies fortement impliquées dans le développement de cette épidémie et ses complications. Dans ce contexte la présente étude s'intéresse dans un premier temps, à évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante, *in vitro*, des extraits polyphénoliques issus de trois plantes médicinales, à savoir la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), le gingembre (*Zingiber officinale*) et l'armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso.). Et ce pour sélectionner l'extrait le plus riche en polyphénols et en flavonoïdes ayant l'activité antioxydante et antibactérienne la plus puissante, dans l'optique de l'exploiter dans les stratégies de lutte et de prévention vis-à-vis des désordres métaboliques, associés à l'obésité. Dans un deuxième temps, elle cherche à développer une stratégie nutritionnelle préventive, basée sur une combinaison de probiotiques et plantes médicinales, contre l'obésité et ses complications, nutritionnellement induite chez le rat Wistar. Les résultats de l'étude *in vitro* montrent que les extraits méthanoliques issus de la cannelle (EMC) et du gingembre (EMG) possèdent des activités antioxydantes et antibactérienne supérieures aux celles de l'extrait issu de l'armoise blanche (EMA). Une capacité antioxydante très élevée et de manière hautement significative a été constatée avec l'EMC en comparaisant avec l'EMG et ce pour l'ensemble des techniques utilisées. Les  $CE_{50}$  déterminées par le test FRAP sont de  $108.56 \pm 4.18 \mu\text{g/ml}$  versus  $310.07 \pm 6.94 \mu\text{g/ml}$  respectivement. Aussi l'EMC présente une concentration inhibitrice du radical DPPH' inférieure à celle du gingembre ( $CI_{50} = 5.27 \pm 0.11 \mu\text{g/ml}$  versus  $CI_{50} = 22.50 \pm 0.45 \mu\text{g/ml}$ ). Il va de même pour la capacité de neutraliser le  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Un potentiel d'inhibition de la peroxydation lipidique très significatif a été obtenu avec la EMC par rapport à la EMG les pourcentages d'inhibition des MDA obtenus sont  $57.82 \pm 1.20\%$  et  $53.91 \pm 2.15\%$  dans l'ordre. L'EMC, en comparaison avec l'EMG, exerce une forte activité antibactérienne contre les

bactéries à Gram positive (*S. aureus*, *B. cereus*) et bactéries à Gram négatives (*E. coli* et *P. aeruginosa*), avec des CMI évaluée entre 5 et 6 mg/ml et des CMB entre 16 et 20 mg/ml. Cependant l'effet l'antibactérien de l'EMG est caractérisé par des CMI entre 8 et 12 mg/ml et des CMB entre 16 et 22 mg/ml pour *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*, respectivement. Parallèlement les résultats de l'expérimentation *in vivo* révèlent que l'association des plantes médicinales, (gingembre ou cannelle) aux probiotiques a des répercussions positives sur les troubles du profil lipidique induits par le régime HG, cela se reflète par une diminution significative de la teneur en cholestérol et des LDL-C de 37 % et de 85 % pour le groupe HGGP et de 40 % et 89 % pour le groupe HGCP, et en comparaison avec le groupe de rats nourris par le régime HGP. Chez les rats sous régime HG le traitement basé sur l'association des plantes aux probiotiques augmente les HDL-C plasmatiques, on note une augmentation de 86 % et 88 % pour le groupe HGGP et HGCP respectivement. Il va de même pour les altérations oxydatives, ce traitement rétablit ces altérations induites par le régime HG, on constate une augmentation du pouvoir réducteur plasmatique et cardiaque, de 31 % et 35 % pour le groupe HGGP et de 13 % et 43 % pour le groupe HGCP, *versus* le groupe HGP. Aussi, il inhibe la formation des lipides oxydés reflétée par une diminution significative de 40 % et 67 % pour le groupe HGGP, et de 40 % et 56 % pour le groupe HGCP, respectivement. Les résultats de l'étude histologique indiquent que la supplémentation des plantes aux probiotiques (HGGP et HGCP) inhibe la formation des gouttelettes lipidiques au niveau des hépatocytes, ce qui suggère un effet préventif contre la stéatose hépatique induite par le régime hypergras. De plus, cette supplémentation aide à rééquilibrer la flore intestinale altérée par ce régime et ceux par une augmentation significative de la population des bactéries bénéfiques les *Lactobacillus sp.* (14 % et 10 %) pour le groupe HGGP et HGCP, respectivement et une diminution significative de la population des bactéries pathogène *Escherichia coli* (13 %) pour les deux groupes HGGP et HGCP et *Enterococcus sp* (4 % et 11 %) pour les deux groupes HGGP et HGCP, respectivement. L'analyse globale de ces résultats nous amène à suggérer que l'utilisation combinée, gingembre ou cannelle aux probiotiques pourrait entraîner des effets positifs significatifs dans la réduction du développement excessif de l'obésité. Cette approche peut être une stratégie préventive nutritionnelle intéressante à exploiter contre les maladies cardiovasculaires. Le mécanisme plausible impliquerait vraisemblablement une triple action, combinant la modulation du stress oxydant, du métabolisme lipidique, et de la dysbiose intestinale. Cependant, il est clair que des tests supplémentaires et des investigations plus profondes sont nécessaires à entreprendre afin de compléter et consolider ces résultats ainsi

dans la continuité de ce présent travail plusieurs perspectives peuvent être envisagées. Il fort intéressant :

- D'étudier l'influence de l'association, plantes médicinales/probiotiques, sur le statut inflammatoire, essentiellement sur les marqueurs pro-inflammatoires (IL6, TNF $\alpha$ ...) impliqué dans la genèse de l'obésité et ses complications
- D'évaluer l'impact de la supplémentation, plantes médicinales/probiotiques, sur la corrélation Endotoxémie/Bifidobacterium chez des modèles expérimentaux d'obésité (rats ob/ob, rat *Wistar* obese...).
- D'évaluer l'effet la supplémentation, plantes médicinales/probiotiques, sur l'induction des gènes de la défense antioxydante (Catalase, Superoxyde dismutase, Glutathion peroxydase...), chez le rat *Wistar* obèse.
- D'approfondir l'étude de l'influence de cette association vis à vis des altérations du microbiote intestinal via les techniques de biologie moléculaire (la métagénomique intestinale).
- D'évaluer l'impact de cette supplémentation sur l'expression des gènes impliqués dans la voie de signalisation de l'insuline du rat *Wistar* obèse.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

## Références bibliographiques

- Abdel-Azeem, A. S., Hegazy, A. M., Ibrahim, K. S., Farrag, A.-R. H., & El-Sayed, E. M. (2013). Hepatoprotective, antioxidant, and ameliorative effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and vitamin E in acetaminophen treated rats. *Journal of Dietary Supplements*, *10*(3), 195–209.
- Abdel-Kawi, S. H., Hashem, K. S., Saad, M. K., Fekry, G., & Abdel-Hameed, E. M. M. (2022). The ameliorative effects of cinnamon oil against ethanol-induced gastric ulcer in rats by regulating oxidative stress and promoting angiogenesis. *Journal of Molecular Histology*, *53*(3), 573–587.
- Abdul Qadir, M., Shahzadi, S. K., Bashir, A., Munir, A., & Shahzad, S. (2017). Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. *International Journal of Analytical Chemistry*, *2017*.
- Abdulla, E. H., Abdoun, M. A., Mahmoud, W. S., & Alhamdani, F. (2019). Antibacterial activity of crude *Cinnamomum zeylanicum* ethanol extract on bacterial isolates from orofacial infections. *Acta Sci. Dent. Sci*, *3*, 58–63.
- Abele-Oeschger, D., Sartoris, F. J., & Pörtner, H.-O. (1997). Hydrogen peroxide causes a decrease in aerobic metabolic rate and in intracellular pH in the shrimp *Crangon crangon*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, *117*(2), 123–129.
- Abolaji, A. O., Ojo, M., Afolabi, T. T., Arowoogun, M. D., Nwawolor, D., & Farombi, E. O. (2017). Protective properties of 6-gingerol-rich fraction from *Zingiber officinale* (Ginger) on chlorpyrifos-induced oxidative damage and inflammation in the brain, ovary and uterus of rats. *Chemico-Biological Interactions*, *270*, 15–23.
- Abou El-ezz, D., Maher, A., Sallam, N., El-Brairy, A., & Kenawy, S. (2018). Trans-cinnamaldehyde modulates hippocampal Nrf2 factor and inhibits amyloid beta aggregation in LPS-induced neuroinflammation mouse model. *Neurochemical Research*, *43*, 2333–2342.
- Abraham, K., Wöhrlin, F., Lindtner, O., Heinemeyer, G., & Lampen, A. (2010). Toxicology and risk assessment of coumarin: focus on human data. *Molecular Nutrition & Food Research*, *54*(2), 228–239.
- Adesokan, A. A., Akanji, M. A., & Yakubu, M. T. (2007). Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *African Journal of Biotechnology*, *6*(22).
- Ahameethunisa, A. R., & Hopper, W. (2010). Antibacterial activity of *Artemisia nilagirica* leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *10*(1), 1–6.
- Ahmadizadeh, C., Monadi, A., Rezaie, A., Rad, M. G., & Jafari, B. (2018). Antibacterial activity of methanolic extract and essence of Sagebrush (*Artemisia vulgaris*) against pathogenic bacteria. *Life Science Journal*, *15*(5), 69–73.
- Ahn, E.-K., & Oh, J. S. (2012). Inhibitory effect of galanolactone isolated from *Zingiber officinale* roscoe extract on adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, *55*(1), 63–68.
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R., & Conchello, P. (2012). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco. *Food Research International*, *45*(1), 313–319.
- Ak, T., & Gülçin, İ. (2008). Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-Biological Interactions*, *174*(1), 27–37.
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D., & Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chemistry*, *174*, 417–425.
- Akinyemi, A. J., Ademiluyi, A. O., & Oboh, G. (2013). Aqueous extracts of two varieties of ginger (*Zingiber*

- officinale) inhibit Angiotensin i-converting enzyme, iron (II), and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in the rat heart in vitro. *Journal of Medicinal Food*, 16(7), 641–646.
- Al-Numair, K. S., Ahmad, D., Ahmed, S. B., & Al-Assaf, A. H. (2007). Nutritive value, levels of polyphenols and anti-nutritional factors in Sri Lankan cinnamon (*Cinnamomum Zeyalnicum*) and Chinese Cinnamon (*Cinnamomum Cassia*). *Food Science & Agriculture Research Center, King Saud University*, 154, 5–21.
- Alard, J., Lehrter, V., Rhimi, M., Mangin, I., Peucelle, V., Abraham, A., Mariadassou, M., Maguin, E., Waligora-Dupriet, A., & Pot, B. (2016). Beneficial metabolic effects of selected probiotics on diet-induced obesity and insulin resistance in mice are associated with improvement of dysbiotic gut microbiota. *Environmental Microbiology*, 18(5), 1484–1497.
- Albasher, G., Alwahaibi, M., Abdel-Daim, M. M., Alkahtani, S., & Almeer, R. (2020). Protective effects of *Artemisia judaica* extract compared to metformin against hepatorenal injury in high-fat diet/streptozotocine-induced diabetic rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 40525–40536.
- Alfadda, A. A., & Sallam, R. M. (2012). Reactive oxygen species in health and disease. *BioMed Research International*, 2012.
- Ali-Shtayeh, M. S., Yaghmour, R. M.-R., Faidi, Y. R., Salem, K., & Al-Nuri, M. A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(3), 265–271.
- Ali, B. H., Blunden, G., Tanira, M. O., & Nemmar, A. (2008). Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): a review of recent research. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 409–420.
- Alilou, H., Akssira, M., HASSANI, L. M. I., Chebli, B., El Hakmoui, A., Mellouki, F., Rouhi, R., Boira, H., & Blázquez, M. A. (2008). Chemical composition and antifungal activity of *Bubonium imbricatum* volatile oil. *Phytopathologia Mediterranea*, 47(1), 3–10.
- Alshehri, M. A., Panneerselvam, C., Murugan, K., Trivedi, S., Mahyoub, J. A., Maggi, F., Sut, S., Dall'Acqua, S., Canale, A., & Benelli, G. (2018). The desert wormwood (*Artemisia herba-alba*)—From Arabian folk medicine to a source of green and effective nanoinsecticides against mosquito vectors. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 225–234.
- Algérie Presse Service, 2023. <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/148016-obesite-mise-en-garde-contre-une-recrudescence-du-phenomene-en-algerie.26/02/2024> ; 04 :24
- Alzahrani, H. A., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, Y., & Bakhotmah, B. A. (2012). Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules*, 17(9), 10540–10549.
- Amlerova, J., Šroubek, J., Angelucci, F., & Hort, J. (2021). Evidences for a role of gut microbiota in pathogenesis and management of epilepsy. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5576.
- Amorati, R., & Valgimigli, L. (2015). Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants. *Free Radical Research*, 49(5), 633–649.
- An, H. M., Park, S. Y., Lee, D. K., Kim, J. R., Cha, M. K., Lee, S. W., Lim, H. T., Kim, K. J., & Ha, N. J. (2011). Antiobesity and lipid-lowering effects of *Bifidobacterium* spp. in high fat diet-induced obese rats. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 1–8.
- An, K., Zhao, D., Wang, Z., Wu, J., Xu, Y., & Xiao, G. (2016). Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): Changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. *Food Chemistry*, 197, 1292–1300.
- Andrews, J. M. (2001). The development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl\_1), 29–42.

- Ansari, A., Bose, S., Yadav, M. K., Wang, J. H., Song, Y. K., Ko, S. G., & Kim, H. (2016). CST, an herbal formula, exerts anti-obesity effects through brain-gut-adipose tissue axis modulation in high-fat diet fed mice. *Molecules*, *21*(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules21111522>
- Aoun, A., Darwish, F., & Hamod, N. (2020). The influence of the gut microbiome on obesity in adults and the role of probiotics, prebiotics, and synbiotics for weight loss. *Preventive Nutrition and Food Science*, *25*(2), 113.
- Arisha, S. M., Saker, S. A., El-Haseeb, A., & Fatma, R. (2020). Cinnamon reduces dyslipidemia and liver steatosis induced by high fat diet in albino rats: histological, ultrastructural, and biochemical studies. *Egyptian Journal of Zoology*, *73*(73), 67–83.
- Askari, G., Aghajani, M., Salehi, M., Najafgholizadeh, A., Keshavarzpour, Z., Fadel, A., Venkatakrisnan, K., Salehi-sahlabadi, A., Hadi, A., & Pourmasoumi, M. (2020). The effects of ginger supplementation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Herbal Medicine*, *22*, 100364.
- Atek, M., Ouchfoun, A., Laid, Y., Ait, M. A., Fourar, D., & Kabrane, A. (2007). La transition épidémiologique et le système de santé en Algérie: Enquête Nationale Santé 2005. *Institut National de Santé Publique Algérie & Projet TAHINA. (Contrat No ICA3-CT-2002-10011) Ed.*
- Atek, Madjid, Traissac, P., El Ati, J., Laid, Y., Aounallah-Skhiri, H., Eymard-Duvernay, S., Mézimèche, N., Bougatef, S., Béji, C., & Boutekdjiret, L. (2013). Obesity and association with area of residence, gender and socio-economic factors in Algerian and Tunisian adults. *PloS One*, *8*(10), e75640.
- Aydın, A. F., Bingül, İ., Küçükgergin, C., Doğan-Ekici, I., Doğru Abbasoğlu, S., & Uysal, M. (2017). Carnosine decreased oxidation and glycation products in serum and liver of high-fat diet and low-dose streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Experimental Pathology*, *98*(5), 278–288.
- Bäckhed, F., Ding, H., Wang, T., Hooper, L. V., Koh, G. Y., Nagy, A., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2004). The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(44), 15718–15723.
- Backhed, F., Ley, R. E., Sonnenburg, J. L., Peterson, D. A., & Gordon, J. I. (2005). Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, *307*(5717), 1915–1920.
- Bäckhed, F., Manchester, J. K., Semenkovich, C. F., & Gordon, J. I. (2007). Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(3), 979–984.
- Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. C., & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*, *46*(11), 1086–1089.
- Baillon, H. (1884). *Traité de botanique médicale, phanérogamique* (Vol. 2). Librairie Hachette et Cie.
- Balakumar, M., Prabhu, D., Sathishkumar, C., Prabu, P., Rokana, N., Kumar, R., Raghavan, S., Soundarajan, A., Grover, S., & Batish, V. K. (2018). Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *European Journal of Nutrition*, *57*(1), 279–295.
- Baliga, M. S., Haniadka, R., Pereira, M. M., D’Souza, J. J., Pallaty, P. L., Bhat, H. P., & Popuri, S. (2011). Update on the chemopreventive effects of ginger and its phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(6), 499–523.
- Barazzoni, R., Cappellari, G. G., Ragni, M., & Nisoli, E. (2018). Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eating and Weight Disorders-Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, *23*(2), 149–157.
- Barry, A. L. (1985). Susceptibility tests: Diffusion test procedure. *Manual of Clinical Microbiology*, 978–987.

- Bartness, T. J., Polk, D. R., McGriff, W. R., Youngstrom, T. G., & DiGirolamo, M. (1992). Reversal of high-fat diet-induced obesity in female rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 263(4), R790–R797.
- Basdevant, A. (2008). Obésité: évolution des conceptions physiopathologiques. *Revue Du Rhumatisme*, 10(75), 935–936.
- Batiha, G. E.-S., Olatunde, A., El-Mleeh, A., Hetta, H. F., Al-Rejaie, S., Alghamdi, S., Zahoor, M., Magdy Beshbishy, A., Murata, T., & Zaragoza-Bastida, A. (2020). Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*, 9(6), 353.
- Beejmohun, V., Peytavy-Izard, M., Mignon, C., Muscente-Paque, D., Deplanque, X., Ripoll, C., & Chapal, N. (2014). Acute effect of Ceylon cinnamon extract on postprandial glycemia: alpha-amylase inhibition, starch tolerance test in rats, and randomized crossover clinical trial in healthy volunteers. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1–11.
- Begley, M., Hill, C., & Gahan, C. G. M. (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1729–1738.
- Behera, S. S., & Panda, S. K. (2020). Ethnic and industrial probiotic foods and beverages: efficacy and acceptance. *Current Opinion in Food Science*, 32, 29–36.
- Beji, R. S., Khemir, S., Wannas, W. A., Ayari, K., & Ksouri, R. (2018). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant influences of the spice cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) in experimental rats. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54.
- Belamri, S., Aouba, A., Pavillon, G., & Jouglu, E. (2010). Connaissance des causes de décès en Algérie. Étude des décès enregistrés par l'INSP. Méthodes et premiers résultats. *Revue d'épidémiologie et de Santé Publique*, 58(3), 226–230.
- Belay, G., Tariku, Y., Kebede, T., Hymete, A., & Mekonnen, Y. (2011). Ethnopharmacological investigations of essential oils isolated from five Ethiopian medicinal plants against eleven pathogenic bacterial strains. *Phytopharmacology*, 1(5), 133–143.
- Bellik, Y., Benabdesselam, F., Ayad, A., Dahmani, Z., Boukraa, L., Nemmar, A., & Iguer-Ouada, M. (2013). Antioxidant Activity of the Essential Oil and Oleoresin of Zingiber Officinale Roscoe as Affected by Chemical Environment. *International Journal of Food Properties*, 16(6), 1304–1313. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.584257>
- Khaldia, B., Khouloud, B., & Amel, C. (2021). Étude ethnopharmacologique des produits naturels utilisés pour le traitement de l'obésité en Algérie: aspect cellulaire et moléculaire, vertus et toxicité. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Ben Jemaa, H., Khelifi, S., Ben Hmed, H., Karmous, I., Benzarti, A., Elati, J., & Aouidet, A. (2015). Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Artemisia herba alba* extract on experimental diabetes. *International Journal of Pharmacology*, 11(6), 552–560.
- Benbekhti, S., Saïm, H., Chabni, N., Attar, S., Rouigueb, K., & Meguenni, K. (2016). La mortalité hospitalière au centre hospitalier universitaire de Tlemcen, Algérie, 2013–2014. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 64, S256–S257.
- Benkeblia, N. (2005). Free-radical scavenging capacity and antioxidant properties of some selected onions (*Allium cepa* L.) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 753–759.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76.
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160–174.

- Bernstein, A. M., Sun, Q., Hu, F. B., Stampfer, M. J., Manson, J. E., & Willett, W. C. (2010). Major dietary protein sources and risk of coronary heart disease in women. *Circulation*, *122*(9), 876–883.
- Bielawiec, P., Harasim-Symbor, E., Sztolsztener, K., Konstantynowicz-Nowicka, K., & Chabowski, A. (2021). Attenuation of Oxidative Stress and Inflammatory Response by Chronic Cannabidiol Administration Is Associated with Improved n-6/n-3 PUFA Ratio in the White and Red Skeletal Muscle in a Rat Model of High-Fat Diet-Induced Obesity. *Nutrients*, *13*(5), 1603.
- Bien, J., Palagani, V., & Bozko, P. (2013). The intestinal microbiota dysbiosis and *Clostridium difficile* infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, *6*(1), 53–68.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*(4617), 1199–1200.
- Bougle, A., & Annane, D. (2009). Effect of insulin: from the cell to the total body. *Annales Francaises d'anesthesie et de Reanimation*, *28*(5), e193-9.
- Boulangé, C. L., Neves, A. L., Chilloux, J., Nicholson, J. K., & Dumas, M.-E. (2016). Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Medicine*, *8*, 1–12.
- Bourgou, S., Bettaieb Rebey, I., Mkadmini, K., Isoda, H., Ksouri, R., & Ksouri, W. M. (2017). LC-ESI-TOF-MS and GC-MS profiling of *Artemisia herba-alba* and evaluation of its bioactive properties. *Food Research International*, *99*, 702–712. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.009>
- Boyle, R. J., Robins-Browne, R. M., & Tang, M. L. K. (2006). Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *The American Journal of Clinical Nutrition*, *83*(6), 1256–1264.
- Brahma Naidu, P., Uddand Rao, V. V. S., Ravindar Naik, R., Suresh, P., Meriga, B., Begum, M. S., Pandiyan, R., & Saravanan, G. (2016). Ameliorative potential of gingerol: Promising modulation of inflammatory factors and lipid marker enzymes expressions in HFD induced obesity in rats. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *419*, 139–147. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.10.007>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30.
- Bugger, H., & Dale Abel, E. (2008). Molecular mechanisms for myocardial mitochondrial dysfunction in the metabolic syndrome. *Clinical Science*, *114*(3), 195–210.
- Bulaj, G., Kortemme, T., & Goldenberg, D. P. (1998). Ionization– reactivity relationships for cysteine thiols in polypeptides. *Biochemistry*, *37*(25), 8965–8972.
- Burstein, M., Scholnick, H. R., & Morfin, R. (1970). Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *Journal of Lipid Research*, *11*(6), 583–595.
- Calixto, J. B. (2005). Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *Journal of Ethnopharmacology*, *100*(1–2), 131–134.
- Camacho, S., Michlig, S., de Senarclens-Bezençon, C., Meylan, J., Meystre, J., Pezzoli, M., Markram, H., & Le Coutre, J. (2015). Anti-obesity and anti-hyperglycemic effects of cinnamaldehyde via altered ghrelin secretion and functional impact on food intake and gastric emptying. *Scientific Reports*, *5*(1), 7919.
- Camille, D. (2014). *Pratique en microbiologie de laboratoire? Recherche de bactéries et de levures-moisissures*. Lavoisier.
- Cani, P D, & Delzenne, N. M. (2010). Impact du microbiote intestinal sur la perméabilité intestinale et les désordres métaboliques liés à l'obésité. *Louvain Médical*, *129*(3).
- Cani, Patrice D, Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., & Chabo, C. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, *56*(7), 1761–1772.

- Cani, Patrice D, Bibiloni, R., Knauf, C., Waget, A., Neyrinck, A. M., Delzenne, N. M., & Burcelin, R. (2008). Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, *57*(6), 1470–1481.
- Cani, Patrice D, & Delzenne, N. M. (2009). The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Current Pharmaceutical Design*, *15*(13), 1546–1558.
- Cani, Patrice D, Neyrinck, A. M., Fava, F., Knauf, C., Burcelin, R. G., Tuohy, K. M., Gibson, G. R., & Delzenne, N. M. (2007). Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. *Diabetologia*, *50*, 2374–2383.
- Cao, H., Polansky, M. M., & Anderson, R. A. (2007). Cinnamon extract and polyphenols affect the expression of tristetraprolin, insulin receptor, and glucose transporter 4 in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *459*(2), 214–222.
- Capurso, C., & Capurso, A. (2012). From excess adiposity to insulin resistance: the role of free fatty acids. *Vascular Pharmacology*, *57*(2–4), 91–97.
- Cavalcante, R. G. S., de Albuquerque, T. M. R., de Luna Freire, M. O., Ferreira, G. A. H., Dos Santos, L. A. C., Magnani, M., Cruz, J. C., Braga, V. A., de Souza, E. L., & de Brito Alves, J. L. (2019). The probiotic *Lactobacillus fermentum* 296 attenuates cardiometabolic disorders in high fat diet-treated rats. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *29*(12), 1408–1417.
- Cavalera, M., Wang, J., & Frangogiannis, N. G. (2014). Obesity, metabolic dysfunction, and cardiac fibrosis: pathophysiological pathways, molecular mechanisms, and therapeutic opportunities. *Translational Research*, *164*(4), 323–335.
- Cerdó, T., García-Santos, J. A., G Bermúdez, M., & Campoy, C. (2019). The Role of Probiotics and Prebiotics in the Prevention and Treatment of Obesity. *Nutrients*, *11*(3), 635. <https://doi.org/10.3390/nu11030635>
- Chakotiya, A. S., Tanwar, A., Narula, A., & Sharma, R. K. (2017). Zingiber officinale: Its antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa* and mode of action evaluated by flow cytometry. *Microbial Pathogenesis*, *107*, 254–260.
- Chakraborty, D., Mukherjee, A., Sikdar, S., Paul, A., Ghosh, S., & Khuda-Bukhsh, A. R. (2012). [6]-Gingerol isolated from ginger attenuates sodium arsenite induced oxidative stress and plays a corrective role in improving insulin signaling in mice. *Toxicology Letters*, *210*(1), 34–43.
- Chan, Y. K., Estaki, M., & Gibson, D. L. (2013). Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Annals of Nutrition and Metabolism*, *63*(Suppl. 2), 28–40.
- Chang, C.-C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J.-C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3).
- Chareonrungrueangchai, K., Wongkawinwoot, K., Anothaisintawee, T., & Reutrakul, S. (2020). Dietary factors and risks of cardiovascular diseases: an umbrella review. *Nutrients*, *12*(4), 1088.
- Charradi, K., Elkahoui, S., Limam, F., & Aouani, E. (2013). High-fat diet induced an oxidative stress in white adipose tissue and disturbed plasma transition metals in rat: prevention by grape seed and skin extract. *The Journal of Physiological Sciences*, *63*(6), 445–455.
- Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, *14*(6), 355–362.
- Chen, H., Fu, J., Chen, H., Hu, Y., Soroka, D. N., Prigge, J. R., Schmidt, E. E., Yan, F., Major, M. B., & Chen, X. (2014). Ginger compound [6]-shogaol and its cysteine-conjugated metabolite (M2) activate Nrf2 in colon epithelial cells in vitro and in vivo. *Chemical Research in Toxicology*, *27*(9), 1575–1585.
- Cheng, D. M., Kuhn, P., Poulev, A., Rojo, L. E., Lila, M. A., & Raskin, I. (2012). In vivo and in vitro antidiabetic effects of aqueous cinnamon extract and cinnamon polyphenol-enhanced food matrix. *Food Chemistry*,

- 135(4), 2994–3002.
- Cheng, H. S., Phang, S. C. W., Ton, S. H., Abdul Kadir, K., & Tan, J. B. L. (2019). Purified ingredient-based high-fat diet is superior to chow-based equivalent in the induction of metabolic syndrome. *Journal of Food Biochemistry*, 43(2), e12717.
- Chernane, H., Mansori, M., Latique, S., & El Kaoua, M. (2014). Evaluation of antioxidant capacity of methanol extract and its solvent fractions obtained from four Moroccan macro algae species. *European Scientific Journal*, 10(15).
- Chiang, J. Y. L., Kimmel, R., & Stroup, D. (2001). Regulation of cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene (CYP7A1) transcription by the liver orphan receptor (LXR $\alpha$ ). *Gene*, 262(1–2), 257–265.
- Chooi, Y. C., Ding, C., & Magkos, F. (2019). The epidemiology of obesity. *Metabolism*, 92, 6–10.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258–1270.
- Čolak, E., & Pap, D. (2021). The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. *Journal of Medical Biochemistry*, 40(1), 1.
- Conde, E., Cara, C., Moure, A., Ruiz, E., Castro, E., & Domínguez, H. (2009). Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chemistry*, 114(3), 806–812.
- Coppack, S. W. (2005). Adipose tissue changes in obesity. *Biochemical Society Transactions*, 33(5), 1049–1052.
- Corrêa, T. A. F., Rogero, M. M., Hassimotto, N. M. A., & Lajolo, F. M. (2019). The two-way polyphenols-microbiota interactions and their effects on obesity and related metabolic diseases. *Frontiers in Nutrition*, 6, 188.
- Couturier, K., Qin, B., Batandier, C., Awada, M., Hininger-Favier, I., Canini, F., Leverve, X., Roussel, A. M., & Anderson, R. A. (2011). Cinnamon increases liver glycogen in an animal model of insulin resistance. *Metabolism*, 60(11), 1590–1597.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–582.
- Crawford, M. S., Gumprich, E., & Sweazea, K. L. (2019). A novel organic mineral complex prevented high fat diet-induced hyperglycemia, endotoxemia, liver injury and endothelial dysfunction in young male Sprague-Dawley rats. *PloS One*, 14(8), e0221392.
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Research International*, 136, 109502.
- Cuevas-Sierra, A., Ramos-Lopez, O., Riezu-Boj, J. I., Milagro, F. I., & Martinez, J. A. (2019). Diet, gut microbiota, and obesity: links with host genetics and epigenetics and potential applications. *Advances in Nutrition*, 10(suppl\_1), S17–S30.
- Cullimore, R. D. (2000). *Principal atlas for bacterial identification*. Lewis Publisher. United States of America.
- Da Rosa, C. E., Bianchini, A., & Monserrat, J. M. (2008). Antioxidant responses of *Laonereis acuta* (Polychaeta) after exposure to hydrogen peroxide. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 41, 117–121.
- Dahiya, D. K., Renuka, Puniya, M., Shandilya, U. K., Dhewa, T., Kumar, N., Kumar, S., Puniya, A. K., & Shukla, P. (2017). Gut microbiota modulation and its relationship with obesity using prebiotic fibers and probiotics: a review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 563.
- Dahle, L. K., Hill, E. G., & Holman, R. T. (1962). The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 98(2), 253–261.
- de La Serre, C. B., Ellis, C. L., Lee, J., Hartman, A. L., Rutledge, J. C., & Raybould, H. E. (2010). Propensity to

- high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*.
- de Vos, W. M., Tilg, H., Van Hul, M., & Cani, P. D. (2022). Gut microbiome and health: mechanistic insights. *Gut*, *71*(5), 1020–1032.
- De Wit, N., Derrien, M., Bosch-Vermeulen, H., Oosterink, E., Keshtkar, S., Duval, C., de Vogel-van den Bosch, J., Kleerebezem, M., Müller, M., & van der Meer, R. (2012). Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, *303*(5), G589–G599.
- Debré, P., & Le Gall, J.-Y. (2014). Le microbiote intestinal. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, *198*(9), 1667–1684.
- DeGruttola, A. K., Low, D., Mizoguchi, A., & Mizoguchi, E. (2016). Current understanding of dysbiosis in disease in human and animal models. *Inflammatory Bowel Diseases*, *22*(5), 1137–1150.
- Deng, R. (2012). A review of the hypoglycemic effects of five commonly used herbal food supplements. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, *4*(1), 50–60.
- Di Lorenzo, C., Ferretti, F., Moro, E., Ceschi, A., Colombo, F., Frigerio, G., Lüde, S., & Restani, P. (2018). Identification and Quantification of Thujone in a Case of Poisoning Due to Repeated Ingestion of an Infusion of *Artemisia Vulgaris* L. *Journal of Food Science*, *83*(8), 2257–2264.
- Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D., & Mauriello, G. (2007). Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(12), 4863–4870.
- Díez-Sainz, E., Milagro, F. I., Riezu-Boj, J. I., & Lorente-Cebrian, S. (2021). Effects of gut microbiota-derived extracellular vesicles on obesity and diabetes and their potential modulation through diet. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 1–15.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Vidal, N., Lesgards, J. F., & Stocker, P. (2007). Screening of some Algerian medicinal plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, *224*(6), 801–809.
- Drikvandi, P., Bahramikia, S., & Alirezaei, M. (2020). Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. *Journal of Food Biochemistry*, *44*(12), e13527.
- Drouault-Holowacz, S., Foligné, B., Dennin, V., Goudercourt, D., Terpend, K., Burckel, A., & Pot, B. (2006). Anti-inflammatory potential of the probiotic dietary supplement Lactibiane Tolerance: in vitro and in vivo considerations. *Clinical Nutrition*, *25*(6), 994–1003.
- Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J.-M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5), 1768–1774.
- Durak, A., Gawlik-Dziki, U., & Pecio, Ł. (2014). Coffee with cinnamon—Impact of phytochemicals interactions on antioxidant and anti-inflammatory in vitro activity. *Food Chemistry*, *162*, 81–88.
- Ejtahed, H.-S., Angoorani, P., Soroush, A.-R., Atlasi, R., Hasani-Ranjbar, S., Mortazavian, A. M., & Larijani, B. (2019). Probiotics supplementation for the obesity management; A systematic review of animal studies and clinical trials. *Journal of Functional Foods*, *52*, 228–242.
- El-Desoky, G. E., Aboul-Soud, M. A. M., & Al-Numair, K. S. (2012). Antidiabetic and hypolipidemic effects of Ceylon cinnamon (*Cinnamomum verum*) in alloxan-diabetic rats. *J Med Plants Res*, *6*(9), 1685–1691.
- El Ghazi, I., Berni, I., Menouni, A., Kestemont, M.-P., Amame, M., & El Jaafari, S. (2018). Profil épidémiologique des maladies cardiovasculaires dans la ville de Meknès (Maroc). *European Scientific Journal November*.

- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77.
- Eloukili, M. A. (2013). Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba alba*) comparée à l'unité fourragère de l'orge. *Mémoire de Master Option: Science Des Aliments. Université Abou BakrBelkaid de Tlemcen*.
- Ercan, P., & El, S. N. (2020). Inhibitory effects of bioaccessible anthocyanins and procyanidins from apple, red grape, cinnamon on  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase and lipase. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*.
- Ervina, M., Nawu, Y. E., & Esar, S. Y. (2016). Comparison of in vitro antioxidant activity of infusion, extract and fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark. *International Food Research Journal*, 23(3), 1346.
- Ezzat, S. K., AbuElkhair, M. T., Mourad, M. I., Helal, M. E., & Grawish, M. E. (2017). Effects of aqueous cinnamon extract on chemically-induced carcinoma of hamster cheek pouch mucosa. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 12, 72–78.
- Fahed, G., Aoun, L., Bou Zerdan, M., Allam, S., Bou Zerdan, M., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic syndrome: updates on pathophysiology and management in 2021. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 786.
- Faivre, C., Lejeune, R., Staub, H., & Goetz, P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe. *Phytothérapie*, 4, 99–102.
- Felhi, S., Daoud, A., Hajlaoui, H., Mnafigui, K., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2017). Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology*, 37, 483–492.
- Fernández-Sánchez, A., Madrigal-Santillán, E., Bautista, M., Esquivel-Soto, J., Morales-González, Á., Esquivel-Chirino, C., Durante-Montiel, I., Sánchez-Rivera, G., Valadez-Vega, C., & Morales-González, J. A. (2011). Inflammation, oxidative stress, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(5), 3117–3132.
- Foligne, B., Nutten, S., Grangette, C., Dennin, V., Goudercourt, D., Poirer, S., Dewulf, J., Brassart, D., Mercenier, A., & Pot, B. (2007). Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 13(2), 236.
- Fontana, L., Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Munoz-Quezada, S., & Gil, A. (2013). Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 109(S2), S35–S50.
- Fossati, P., & Prencipe, L. (1982). Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*, 28(10), 2077–2080.
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6), 499–502.
- Fuller, M. F., McWilliam, R., Wang, T. C., & Giles, L. R. (1989). The optimum dietary amino acid pattern for growing pigs: 2. Requirements for maintenance and for tissue protein accretion. *British Journal of Nutrition*, 62(2), 255–267.
- Garait, B. (2006). *Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®*. Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- Garait, B., Couturier, K., Servais, S., Letexier, D., Perrin, D., Batandier, C., Rouanet, J.-L., Sibille, B., Rey, B., & Lèveve, X. (2005). Fat intake reverses the beneficial effects of low caloric intake on skeletal muscle mitochondrial H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production. *Free Radical Biology and Medicine*, 39(9), 1249–1261.
- Garvey, W. T., Maianu, L., Huecksteadt, T. P., Birnbaum, M. J., Molina, J. M., & Ciaraldi, T. P. (1991). Pretranslational suppression of a glucose transporter protein causes insulin resistance in adipocytes from patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, 87(3), 1072–1081.

- Genard, R. (2015). *Rôle du facteur de transcription Nrf2 dans l'immunomodulation induit par les adjuvants vaccinaux*. Université Paris Saclay (COMUE).
- Gerardi, G., Cavia-Saiz, M., Rivero-Pérez, M. D., González-SanJosé, M. L., & Muñoz, P. (2020). Wine pomace product modulates oxidative stress and microbiota in obesity high-fat diet-fed rats. *Journal of Functional Foods*, 68, 103903.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules*, 15(6), 4324–4333.
- Gigon, F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phytothérapie*, 10(2), 87–91.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Cinnamomum zeylanicum* Nees (Lauraceae): Cannelle de Ceylan. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 247–252). Springer.
- Golay, A. (1998). Rôle des graisses alimentaires dans le développement de l'obésité: Obésité et Lipides. *OCL. Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 5(3), 205–207.
- Goldsborough, E., Osuji, N., & Blaha, M. J. (2022). Assessment of cardiovascular disease risk: a 2022 update. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 51(3), 483–509.
- Gómez-Caravaca, A. M., Gómez-Romero, M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(4), 1220–1234.
- Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem*, 177(2), 751–766.
- Goulet, O., Colomb-Jung, V., & Joly, F. (2009). Role of the colon in short bowel syndrome and intestinal transplantation. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 48, S66–S71.
- Gowder, S. J. T. (2014). Safety assessment of food flavor-cinnamaldehyde. *Biosafety*, 3(01), 1.
- Grujic, N., Lepojevic, Z., Srdjenovic, B., Vlastic, J., & Sudji, J. (2012). Effects of different extraction methods and conditions on the phenolic composition of mate tea extracts. *Molecules*, 17(3), 2518–2528.
- Guerre-Millo, M. (2006). La fonction sécrétrice du tissu adipeux: implication dans les complications métaboliques et cardiovasculaires de l'obésité. *Journal de La Société de Biologie*, 200(1), 37–43.
- Guignard, J. L. (1998). *Botanique*, Ed. masson, 159p.
- Guilherme, A., Virbasius, J. V., Puri, V., & Czech, M. P. (2008). Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(5), 367–377.
- Gul, S., & Safdar, M. (2009). Proximate composition and mineral analysis of cinnamon. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(9), 1456–1460.
- Gülçin, İ. (2011). Antioxidant activity of eugenol: A structure–activity relationship study. *Journal of Medicinal Food*, 14(9), 975–985.
- Gulcin, I., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Topal, M., Bingol, Z., Cetin Çakmak, K., Ozturk Sarikaya, S. B., Durmaz, L., & Alwasel, S. (2019). Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1511–1526.
- Gunawan, S., Aulia, A., & Soetikno, V. (2021). Development of rat metabolic syndrome models: A review. *Veterinary World*, 14(7), 1774.
- Gupta, V., & Sharma, M. (2010). Protective effect of *Cinnamomum tejpatha* on lipid peroxide formation in isolated

- rat liver homogenate. *Curr Res J Biol Sci*, 2, 246–249.
- Gurung, M., Li, Z., You, H., Rodrigues, R., Jump, D. B., Morgun, A., & Shulzhenko, N. (2020). Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology. *EBioMedicine*, 51, 102590.
- Hadrich, F., Cher, S., Gargouri, Y. T., & Adel, S. (2014). Antioxidant and lipase inhibitory activities and essential oil composition of pomegranate peel extracts. *Journal of Oleo Science*, 63(5), 515–525.
- Halliwell, B. (2000). Lipid peroxidation, antioxidants and cardiovascular disease: how should we move forward? *Cardiovascular Research*, 47(3), 410–418.
- Halvorsen, B. L., Carlsen, M. H., Phillips, K. M., Bøhn, S. K., Holte, K., Jacobs Jr, D. R., & Blomhoff, R. (2006). Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 95–135.
- Han, S.-F., Jiao, J., Zhang, W., Xu, J.-Y., Zhang, W., Fu, C.-L., & Qin, L.-Q. (2017). Lipolysis and thermogenesis in adipose tissues as new potential mechanisms for metabolic benefits of dietary fiber. *Nutrition*, 33, 118–124.
- Haniadka, R., Saldanha, E., Sunita, V., Palatty, P. L., Fayad, R., & Baliga, M. S. (2013). A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Food & Function*, 4(6), 845–855.
- Hao, L., Sheng, Z., Lu, J., Tao, R., & Jia, S. (2016). Characterization and antioxidant activities of extracellular and intracellular polysaccharides from *Fomitopsis pinicola*. *Carbohydrate Polymers*, 141, 54–59.
- Hariri, A., Ouis, N., Sahnouni, F., & Bouhadi, D. (2009). Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environ*, 37–55.
- Hasan, S., Danishuddin, M., & Khan, A. U. (2015). Inhibitory effect of zingiber officinale towards *Streptococcus mutans* virulence and caries development: in vitro and in vivo studies. *BMC Microbiology*, 15(1), 1–14.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105(3), 1126–1134.
- Heijtz, R. D., Wang, S., Anuar, F., Qian, Y., Björkholm, B., Samuelsson, A., Hibberd, M. L., Forssberg, H., & Pettersson, S. (2011). Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(7), 3047–3052.
- Helander, I. M., Alakomi, H.-L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., & von Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3590–3595.
- Hill, J. O., Wyatt, H. R., & Peters, J. C. (2012). Energy balance and obesity. *Circulation*, 126(1), 126–132.
- Hong, S.-M., Chung, E.-C., & Kim, C.-H. (2015). Anti-obesity effect of fermented whey beverage using lactic acid bacteria in diet-induced obese rats. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(5), 653.
- Hooper, L. V. (2004). Bacterial contributions to mammalian gut development. *Trends in Microbiology*, 12(3), 129–134.
- Ismail, N. S. (2014). Protective effects of aqueous extracts of cinnamon and ginger herbs against obesity and diabetes in obese diabetic rat. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 9(2), 145–153.
- Iwasaki, Y., Morita, A., Iwasawa, T., Kobata, K., Sekiwa, Y., Morimitsu, Y., Kubota, K., & Watanabe, T. (2006). A nonpungent component of steamed ginger—[10]-shogaol—increases adrenaline secretion via the activation of TRPV1. *Nutritional Neuroscience*, 9(3–4), 169–178.
- Jagota, S. K., & Dani, H. M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry*, 127(1), 178–182.

- Jakobsson, H. E., Rodríguez-Piñeiro, A. M., Schütte, A., Ermund, A., Boysen, P., Bemark, M., Sommer, F., Bäckhed, F., Hansson, G. C., & Johansson, M. E. V. (2015). The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *EMBO Reports*, *16*(2), 164–177.
- Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S., Jena, B. S., & Rao, L. J. M. (2007). Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(3–4), 330–336.
- Jayaprakasha, G. K., & Rao, L. J. M. (2011). Chemistry, biogenesis, and biological activities of *Cinnamomum zeylanicum*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(6), 547–562.
- Jeon, C. Y., & Murray, M. B. (2008). Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Medicine*, *5*(7), e152.
- Ji, K., Fang, L., Zhao, H., Li, Q., Shi, Y., Xu, C., Wang, Y., Du, L., Wang, J., & Liu, Q. (2017). Ginger oleoresin alleviated  $\gamma$ -ray irradiation-induced reactive oxygen species via the Nrf2 protective response in human mesenchymal stem cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Jin, L., Shi, X., Yang, J., Zhao, Y., Xue, L., Xu, L., & Cai, J. (2021). Gut microbes in cardiovascular diseases and their potential therapeutic applications. *Protein & Cell*, *12*(5), 346–359. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00785-9>
- Joannès, F., Michel, C., & Bachelot, L. (2001). *Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne*. Laffont.
- Joffin, N., Paschoal, V. A., Gliniak, C. M., Crewe, C., Elnwasany, A., Szwedra, L. I., Zhang, Q., Hepler, C., Kusminski, C. M., & Gordillo, R. (2021). Mitochondrial metabolism is a key regulator of the fibro-inflammatory and adipogenic stromal subpopulations in white adipose tissue. *Cell Stem Cell*, *28*(4), 702–717.
- Joint, F. A. O. (2002). WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. *London, Ontario, Canada*, *30*(1), 16–22.
- Joshi, S. C., Jain, P. K., & Sharma, P. (2017). Antiatherosclerotic and lipid-lowering effects of *Cinnamomum verum* in cholesterol-fed rabbits. *Int J Curr Pharm Res*, *9*(1), 75–80.
- Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellog, E. A., & Stevens, P. (2002). Botanique systématique; une perspective phylogénétique (Traduction et révision scientifique de la 1e édition américaine par Jules Bouharmont & Charles Marie Evrard). *DeBoeck Université, Belgique*.
- Kamada, N., Seo, S.-U., Chen, G. Y., & Núñez, G. (2013). Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, *13*(5), 321–335.
- Kamath, J. V., Rana, A. C., & Roy Chowdhury, A. (2003). Pro-healing effect of *Cinnamomum zeylanicum* bark. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *17*(8), 970–972.
- Kang, N. H., Mukherjee, S., & Yun, J. W. (2019). Trans-cinnamic acid stimulates white fat browning and activates brown adipocytes. *Nutrients*, *11*(3), 577.
- Kang, Y., Kang, X., Yang, H., Liu, H., Yang, X., Liu, Q., Tian, H., Xue, Y., Ren, P., & Kuang, X. (2022). *Lactobacillus acidophilus* ameliorates obesity in mice through modulation of gut microbiota dysbiosis and intestinal permeability. *Pharmacological Research*, *175*, 106020.
- Karimi, G., Jamaluddin, R., Mohtarrudin, N., Ahmad, Z., Khazaai, H., & Parvaneh, M. (2017). Single-species versus dual-species probiotic supplementation as an emerging therapeutic strategy for obesity. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *27*(10), 910–918.
- Kawai, T., Autieri, M. V., & Scalia, R. (2021). Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *320*(3), C375–C391.
- Kesh, SWARAJ BANDHU, Sarkar, D., & Manna, K. (2016). High-fat diet-induced oxidative stress and its impact

- on metabolic syndrome: a review. *Asian J Pharm Clin Res*, 9(1), 47–52.
- Kesh, Swaraj Bandhu, Sikder, K., Manna, K., Das, D. K., Khan, A., Das, N., & Dey, S. (2013). Promising role of ferulic acid, atorvastatin and their combination in ameliorating high fat diet-induced stress in mice. *Life Sciences*, 92(17–19), 938–949.
- Khaldia, B., Khouloud, B., & Amel, C. (2021). *Étude ethnopharmacologique des produits naturels utilisés pour le traitement de l'obésité en Algérie: aspect cellulaire et moléculaire, vertus et toxicité*. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- Khan, A., Safdar, M., Ali Khan, M. M., Khattak, K. N., & Anderson, R. A. (2003). Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 26(12), 3215–3218.
- Khares, C. P. (2007). *Artemisia maritima* Linn. In *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary* (Vol. 64). Springer, India.
- Khlifi, D., Sghaier, R. M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., & Bouajila, J. (2013). Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 202–208.
- Kim, H.-S., & Park, H.-D. (2013). Ginger extract inhibits biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *PloS One*, 8(9), e76106.
- Kim, K.-A., Gu, W., Lee, I.-A., Joh, E.-H., & Kim, D.-H. (2012). High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway.
- Kim, S.-K., Guevarra, R. B., Kim, Y.-T., Kwon, J., Kim, H., Cho, J. H., Kim, H. B., & Lee, J.-H. (2019). Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases.
- Kim, S.-W., Park, K.-Y., Kim, B., Kim, E., & Hyun, C.-K. (2013). *Lactobacillus rhamnosus* GG improves insulin sensitivity and reduces adiposity in high-fat diet-fed mice through enhancement of adiponectin production. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 431(2), 258–263.
- Kim, S., Huh, C., Choi, I., Jeong, J., Ku, H., Ra, J., Kim, T., Kim, G., Sim, J., & Ahn, Y. (2014). The anti-diabetic activity of *Bifidobacterium lactis* HY 8101 in vitro and in vivo. *Journal of Applied Microbiology*, 117(3), 834–845.
- Klejduš, B., & Kováčik, J. (2016). Quantification of phenols in cinnamon: A special focus on “total phenols” and phenolic acids including DESI-Orbitrap MS detection. *Industrial Crops and Products*, 83, 774–780.
- Knauf, H. J., Vogel, R. F., & Hammes, W. P. (1992). Cloning, sequence, and phenotypic expression of *katA*, which encodes the catalase of *Lactobacillus sake* LTH677. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(3), 832–839.
- Kobyliak, N., Abenavoli, L., Mykhalchyshyn, G., Kononenko, L., Boccuto, L., Kyriienko, D., & Dynnyk, O. (2018). A multi-strain probiotic reduces the fatty liver index, cytokines and aminotransferase levels in NAFLD patients: evidence from a randomized clinical trial.
- Koenen, M., Hill, M. A., Cohen, P., & Sowers, J. R. (2021). Obesity, adipose tissue and vascular dysfunction. *Circulation Research*, 128(7), 951–968.
- Kohn, H. I., & Liversedge, M. (1944). On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 82(3), 292–300.
- Kojta, I., Chacińska, M., & Błachnio-Zabielska, A. (2020). Obesity, bioactive lipids, and adipose tissue inflammation in insulin resistance. *Nutrients*, 12(5), 1305.
- Krim, M. (2014). *L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats*. Thèse de doctorat, Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar, Annaba.

- Kulak, M., Gul, F., & Sekeroglu, N. (2020). Changes in growth parameter and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in response to various salt stresses. *Industrial Crops and Products*, *145*, 112078.
- Kumar, S., Kumar, D., Singh, N., & Vasisht, B. D. (2007). In vitro, free radicals scavenging and antioxidant activity of Moringa Oleifera pods. *J Herb Med Toxicol*, *1*(2), 17–22.
- Laid, M., Hegazy, M.-E. F., Ahmed, A. A., Ali, K., Belkacemi, D., & Ohta, S. (2008). Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry Letters*, *1*(2), 85–88.
- Lairini, S., Farah, A., Taghzouti, K., & Lalami, A. E. O. (2018). Antioxidant and Antibacterial Activities of *Artemisia herba-alba* Asso Essential Oil from Middle Atlas, Morocco. *Phytotherapy*, *16*(S1), S48–S54.
- Lakshmi, S. V., Padmaja, G., Kuppusamy, P., & Kutala, V. K. (2009). *Oxidative stress in cardiovascular disease*.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, *91*(3), 453–462.
- LARPENT, J. P., & LARPENT-GOURGAUD, M. (1990). Les techniques microbiologiques. *Mémento Technique de Microbiologie*, *2*.
- Le Lay, S., Simard, G., Martinez, M. C., & Andriantsitohaina, R. (2014). Oxidative stress and metabolic pathologies: from an adipocentric point of view. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2014*.
- Le Marec, A., Sungeelee, S., Zeghouani, A., Gonzalez, L., & Le Stunff, H. (2018). Rôle du métabolisme des céramides adipocytaires dans le brunissement du tissu adipeux blanc-Impact sur le métabolisme énergétique au cours de l'obésité. *Médecine/Sciences*, *34*(2), 132–135.
- LECERF, J.-M. (2011). Alimentation et inflammation: Quels liens?: L'INFLAMMATION DANS TOUS SES ETATS. *Diabète & Obésité*, *6*(47), 100–104.
- Lee, H.-Y., Park, J.-H., Seok, S.-H., Baek, M.-W., Kim, D.-J., Lee, K.-E., Paek, K.-S., Lee, Y., & Park, J.-H. (2006). Human originated bacteria, *Lactobacillus rhamnosus* PL60, produce conjugated linoleic acid and show anti-obesity effects in diet-induced obese mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1761*(7), 736–744.
- Lee, H., Lee, Y. J., Choi, H., Ko, E. H., & Kim, J. (2009). Reactive oxygen species facilitate adipocyte differentiation by accelerating mitotic clonal expansion. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(16), 10601–10609.
- Lee, H. Y., Park, S. H., Lee, M., Kim, H., Ryu, S. Y., Kim, N. D., Hwang, B. Y., Hong, J. T., Han, S., & Kim, Y. (2012). 1-Dehydro-[10]-gingerdione from ginger inhibits IKK $\beta$  activity for NF- $\kappa$ B activation and suppresses NF- $\kappa$ B-regulated expression of inflammatory genes. *British Journal of Pharmacology*, *167*(1), 128–140.
- Lee, M., Kim, C., Kim, I., & Kim, Y. (2009). Inhibitory effects of green tea catechin on the lipid accumulation in 3T3-L1 adipocytes. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *23*(8), 1088–1091.
- Lei, L., Liu, Y., Wang, X., Jiao, R., Ma, K. Y., Li, Y. M., Wang, L., Man, S. W., Sang, S., & Huang, Y. (2014). Plasma cholesterol-lowering activity of gingerol-and shogaol-enriched extract is mediated by increasing sterol excretion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(43), 10515–10521.
- Li, A., Ni, W., Zhang, Q., Li, Y., Zhang, X., Wu, H., Du, P., Hou, J., & Zhang, Y. (2020). Effect of cinnamon essential oil on gut microbiota in the mouse model of dextran sodium sulfate-induced colitis. *Microbiology and Immunology*, *64*(1), 23–32.
- Li, R., Liang, T., Xu, L., Li, Y., Zhang, S., & Duan, X. (2013). Protective effect of cinnamon polyphenols against STZ-diabetic mice fed high-sugar, high-fat diet and its underlying mechanism. *Food and Chemical Toxicology*, *51*, 419–425.

- Li, Y., Hong, Y., Han, Y., Wang, Y., & Xia, L. (2016). Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. *Journal of Chromatography B*, *1011*, 223–232.
- Lim, D. W., Kim, Y. T., Jang, Y.-J., Kim, Y.-E., & Han, D. (2013). Anti-obesity effect of *Artemisia capillaris* extracts in high-fat diet-induced obese rats. *Molecules*, *18*(8), 9241–9252.
- Lim, P. S., Loke, C. F., Ho, Y. W., & Tan, H. Y. (2020). Cholesterol homeostasis associated with probiotic supplementation in vivo. *Journal of Applied Microbiology*, *129*(5), 1374–1388.
- Ling, Y.-R. (1991). The Old World *Artemisia* (Compositae). *Bull. Bot. Res.(Harbin)*, *12*, 1–108.
- Liu, W.-C., Yang, M.-C., Wu, Y.-Y., Chen, P.-H., Hsu, C.-M., & Chen, L.-W. (2018). *Lactobacillus plantarum* reverse diabetes-induced Fmo3 and ICAM expression in mice through enteric dysbiosis-related c-Jun NH2-terminal kinase pathways. *PLoS One*, *13*(5), e0196511.
- Liu, X.-T., Winkler, A. L., Schwan, W. R., Volk, T. J., Rott, M., & Monte, A. (2010). Antibacterial compounds from mushrooms II: lanostane triterpenoids and an ergostane steroid with activity against *Bacillus cereus* isolated from *Fomitopsis pinicola*. *Planta Medica*, *76*(05), 464–466.
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Raciti, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(9), 2358.
- Lu, M., Yuan, B., Zeng, M., & Chen, J. (2011). Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Research International*, *44*(2), 530–536.
- Luca, S. V., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoae, A. C., & Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(4), 626–659.
- Luche, É. (2011). *Rôle de l'endotoxémie métabolique sur le tissu adipeux blanc au cours du développement des maladies métaboliques*. Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- Lutgen, P. (2018). Tannins in *Artemisia*: The hidden treasure of prophylaxis. *Pharm. Pharmacol. Int. J*, *6*(3), 176–181.
- Lv, J., Huang, H., Yu, L., Whent, M., Niu, Y., Shi, H., Wang, T. T. Y., Luthria, D., Charles, D., & Yu, L. L. (2012). Phenolic composition and nutraceutical properties of organic and conventional cinnamon and peppermint. *Food Chemistry*, *132*(3), 1442–1450.
- Maciejczyk, M., Żebrowska, E., Zalewska, A., & Chabowski, A. (2018). Redox balance, antioxidant defense, and oxidative damage in the hypothalamus and cerebral cortex of rats with high fat diet-induced insulin resistance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Mahboobi, S., Iraj, B., Maghsoudi, Z., Feizi, A., Ghiasvand, R., Askari, G., & Maayeshi, N. (2014). The effects of probiotic supplementation on markers of blood lipids, and blood pressure in patients with prediabetes: a randomized clinical trial. *International Journal of Preventive Medicine*, *5*(10), 1239.
- Mahmoud, R. H., & Elnour, W. A. (2013). Comparative evaluation of the efficacy of ginger and orlistat on obesity management, pancreatic lipase and liver peroxisomal catalase enzyme in male albino rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, *17*(1), 75–83.
- Maizura, M., Aminah, A., & Wan Aida, W. M. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *International Food Research Journal*, *18*(2).
- Malesza, I. J., Malesza, M., Walkowiak, J., Mussin, N., Walkowiak, D., Aringazina, R., Bartkowiak-Wieczorek, J., & Mądry, E. (2021). High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells*, *10*(11), 3164.

- Mammeri, A., & Tebaibia, A. (2020). Cardiometabolic risk in Algeria: past and present. *Internal and Emergency Medicine*, 15(4), 531–535.
- Mao, Q.-Q., Xu, X.-Y., Cao, S.-Y., Gan, R.-Y., Corke, H., & Li, H.-B. (2019). Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6), 185.
- Marchal, N., Bourdon, J.-L., & Richard, C. (1982). *Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries*. Doin Paris.
- Marlatt, K. L., & Ravussin, E. (2017). Brown adipose tissue: an update on recent findings. *Current Obesity Reports*, 6, 389–396.
- Mathew, S., & Abraham, T. E. (2006). Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 94(4), 520–528.
- Matkowski, A., Tasarz, P., & Szypua, E. (2008). Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from Lamiaceae, subfamily Lamioideae. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(11), 321–330.
- Matsuzawa-Nagata, N., Takamura, T., Ando, H., Nakamura, S., Kurita, S., Misu, H., Ota, T., Yokoyama, M., Honda, M., & Miyamoto, K. (2008). Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism*, 57(8), 1071–1077.
- McArdle, M. A., Finucane, O. M., Connaughton, R. M., McMorrow, A. M., & Roche, H. M. (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Frontiers in Endocrinology*, 4, 52.
- Megdiche-Ksouri, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., Barbria, R., Tebourbi, O., & Ksouri, R. (2015). *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 63, 104–113.
- Mendes, V., Galvao, I., & Vieira, A. T. (2019). Mechanisms by which the gut microbiota influences cytokine production and modulates host inflammatory responses. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 39(7), 393–409.
- Mercader, J., Palou, A., & Bonet, M. L. (2011). Resveratrol enhances fatty acid oxidation capacity and reduces resistin and Retinol-Binding Protein 4 expression in white adipocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(9), 828–834.
- Miao, J., Ling, A. V., Manthena, P. V., Gearing, M. E., Graham, M. J., Crooke, R. M., Croce, K. J., Esquejo, R. M., Clish, C. B., & Vicent, D. (2015). Flavin-containing monooxygenase 3 as a potential player in diabetes-associated atherosclerosis. *Nature Communications*, 6(1), 1–10.
- Mighri, Hédi, Akrou, A., El-jeni, H., Zaidi, S., Tomi, F., Casanova, J., & Neffati, M. (2010). Composition and intraspecific chemical variability of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in a Tunisian arid zone. *Chemistry & Biodiversity*, 7(11), 2709–2717.
- Mighri, Hedi, Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3), 380–386.
- Miller, S. I., Ernst, R. K., & Bader, M. W. (2005). LPS, TLR4 and infectious disease diversity. *Nature Reviews Microbiology*, 3(1), 36–46.
- Misawa, K., Hashizume, K., Yamamoto, M., Minegishi, Y., Hase, T., & Shimotoyodome, A. (2015). Ginger extract prevents high-fat diet-induced obesity in mice via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  pathway. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(10), 1058–1067.
- Mnafgui, K., Derbali, A., Sayadi, S., Gharsallah, N., Elfeki, A., & Allouche, N. (2015). Anti-obesity and cardioprotective effects of cinnamic acid in high fat diet-induced obese rats. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 4369–4377.

- Mohamed, A. E.-H. H., El-Sayed, M., Hegazy, M. E., Helaly, S. E., Esmail, A. M., & Mohamed, N. S. (2010). Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba-alba*. *Records of Natural Products*, 4(1).
- Mohammed, M. J., Anand, U., Altemimi, A. B., Tripathi, V., Guo, Y., & Pratap-Singh, A. (2021). Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of white wormwood (*Artemisia herba-alba*). *Plants*, 10(1), 164.
- Mohd Sahardi, N. F. N., & Makpol, S. (2019). Ginger (*zingiber officinale roscoe*) in the prevention of ageing and degenerative diseases: Review of current evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019.
- Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. M. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112(3), 595–598.
- Mompon, B., Lemaire, B., Mengal, P., & Surbled, M. (1998). Extraction des polyphénols: du laboratoire à la production industrielle. *COLLOQUES-INRA*, 31–44.
- mondiale de la Santé, O. (2016). *Rapport mondial sur le diabète*.
- Monteiro, C. A., Moubarac, J., Cannon, G., Ng, S. W., & Popkin, B. (2013). Ultra-processed products are becoming dominant in the global food system. *Obesity Reviews*, 14, 21–28.
- Moon, Y.-S., Lee, H.-S., & Lee, S.-E. (2018). Inhibitory effects of three monoterpenes from ginger essential oil on growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* and their gene regulation in aflatoxin biosynthesis. *Applied Biological Chemistry*, 61(2), 243–250.
- Moreira, L. de S. G., Brum, I. de S. da C., de Vargas Reis, D., Trugilho, L., Chermut, T. R., Esgalhado, M., Cardozo, L. F. M. F., Stenvinkel, P., Shiels, P. G., & Mafra, D. (2023). Cinnamon: an aromatic condiment applicable to chronic kidney disease. *Kidney Research and Clinical Practice*, 42(1), 4–26.
- Morowitz, M. J., Carlisle, E. M., & Alverdy, J. C. (2011). Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill. *Surgical Clinics*, 91(4), 771–785.
- Moslemi, H. R., Hoseinzadeh, H., Badouei, M. A., Kafshdouzan, K., & Fard, R. M. N. (2012). Antimicrobial activity of *Artemisia absinthium* against surgical wounds infected by *Staphylococcus aureus* in a rat model. *Indian Journal of Microbiology*, 52(4), 601–604.
- Moufid, A., & Eddouks, M. (2012). *Artemisia herba alba*: a popular plant with potential medicinal properties. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 15(24), 1152–1159.
- Moukette, B. M., Pieme, C. A., Njimou, J. R., Biapa, C. P. N., Marco, B., & Ngogang, J. Y. (2015). In vitro antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*. *Biological Research*, 48(1), 1–17.
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M. J., & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145–171.
- Muccioli, G. G., Naslain, D., Bäckhed, F., Reigstad, C. S., Lambert, D. M., Delzenne, N. M., & Cani, P. D. (2010). The endocannabinoid system links gut microbiota to adipogenesis. *Molecular Systems Biology*, 6(1), 392.
- Muhammad, D. R. A., & Dewettinck, K. (2017). Cinnamon and its derivatives as potential ingredient in functional food—A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup2), 2237–2263.
- Murray, R., & Kaplan, A. (1984). Aspartate aminotransferase. *Clinical Chemistry. Theory, Analysis and Correlation. Kaplan LA, Pesce AJ (Ed), CV Mosby Company*, 1105–1108.
- Murray, R. L. (1984). Creatinine. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*.
- Mustafa, I., Chin, N. L., Fakurazi, S., & Palanisamy, A. (2019). Comparison of phytochemicals, antioxidant and anti-inflammatory properties of sun-, oven- and freeze-dried ginger extracts. *Foods*, 8(10), 456.

- Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1–2), 95–111.
- Naili, M. B., Alghazeer, R. O., Saleh, N. A., & Al-Najjar, A. Y. (2010). Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arabian Journal of Chemistry*, 3(2), 79–84.
- Nammi, S., Kim, M. S., Gavande, N. S., Li, G. Q., & Roufogalis, B. D. (2010). Regulation of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase expression by *Zingiber officinale* in the liver of high-fat diet-fed rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 106(5), 389–395.
- Nammi, S., Sreemantula, S., & Roufogalis, B. D. (2009). Protective effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* rhizome on the development of metabolic syndrome in high-fat diet-fed rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 104(5), 366–373.
- Nazish, I., Ansari, S. H., Arora, P., & Ahmad, A. (2016). Antiobesity activity of *Zingiber officinale*. *Pharmacognosy Journal*, 8(5).
- Nerilo, S. B., Rocha, G. H. O., Tomoike, C., Mossini, S. A. G., Grespan, R., Mikcha, J. M. G., & Machinski Jr, M. (2016). Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production by *Zingiber officinale* essential oil in *Aspergillus flavus*. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(2), 286–292.
- Network, G. B. of D. C. (2018). Global burden of disease study 2017 (GBD 2017) results. *Seattle, United States: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME)*.
- Neugent, M. L., Hulyalkar, N. V., Nguyen, V. H., Zimmern, P. E., & De Nisco, N. J. (2020). Advances in understanding the human urinary microbiome and its potential role in urinary tract infection. *MBio*, 11(2), 10–1128.
- Newman, T. J., Baker, P. J., & Harris, S. (2002). Nutritional condition and survival of red foxes with sarcoptic mange. *Canadian Journal of Zoology*, 80(1), 154–161.
- Neyrinck, A. M., Van Hée, V. F., Bindels, L. B., De Backer, F., Cani, P. D., & Delzenne, N. M. (2013). Polyphenol-rich extract of pomegranate peel alleviates tissue inflammation and hypercholesterolaemia in high-fat diet-induced obese mice: potential implication of the gut microbiota. *British Journal of Nutrition*, 109(5), 802–809.
- Ng, S. C., Hart, A. L., Kamm, M. A., Stagg, A. J., & Knight, S. C. (2009). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflammatory Bowel Diseases*, 15(2), 300–310.
- Niazmand, S., Mirzaei, M., Hosseinian, S., Khazdair, M. R., Gowhari Shabgah, A., Baghcheghi, Y., & Hedayati-Moghadam, M. (2021). The effect of *Cinnamomum cassia* extract on oxidative stress in the liver and kidney of STZ-induced diabetic rats. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 19(2), 311–321.
- Nicholson, J. K., Holmes, E., & Wilson, I. D. (2005). Gut microorganisms, mammalian metabolism and personalized health care. *Nature Reviews Microbiology*, 3(5), 431–438.
- Norazmir, M. N., & Ayub, M. Y. (2010). Beneficial lipid-lowering effects of pink guava puree in high fat diet induced-obese rats. *Malays J Nutr*, 16(1), 171–185.
- O'Toole, P. W., & Cooney, J. C. (2008). Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2008.
- Ogasawara, J., Kitadate, K., Nishioka, H., Fujii, H., Sakurai, T., Kizaki, T., Izawa, T., Ishida, H., Tanno, M., & Ohno, H. (2010). Oligonol, an oligomerized lychee fruit-derived polyphenol, activates the Ras/Raf-1/MEK1/2 cascade independent of the IL-6 signaling pathway in rat primary adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 402(3), 554–559.
- Ohland, C. L., & MacNaughton, W. K. (2010). Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function.

- American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 298(6), G807–G819.
- Ojewole, J. A. O. (2006). Analgesic, antiinflammatory and hypoglycaemic effects of ethanol extract of *Zingiber officinale* (Roscoe) rhizomes (Zingiberaceae) in mice and rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(9), 764–772.
- Oke, G. O., Abiodun, A. A., Imafidon, C. E., & Monsi, B. F. (2019). *Zingiber officinale* (Roscoe) mitigates CCl<sub>4</sub>-induced liver histopathology and biochemical derangements through antioxidant, membrane-stabilizing and tissue-regenerating potentials. *Toxicology Reports*, 6, 416–425.
- Ooi, L.-G., & Liong, M.-T. (2010). Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: a review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(6), 2499–2522.
- Ooi, S. L., Pak, S. C., Campbell, R., & Manoharan, A. (2022). Polyphenol-Rich Ginger (*Zingiber officinale*) for Iron Deficiency Anaemia and Other Clinical Entities Associated with Altered Iron Metabolism. *Molecules*, 27(19), 6417.
- Organization, W. H. (2014). *Noncommunicable diseases country profiles 2014*.
- Ou, H.-C., Chou, F.-P., Lin, T.-M., Yang, C.-H., & Sheu, W. H.-H. (2006). Protective effects of eugenol against oxidized LDL-induced cytotoxicity and adhesion molecule expression in endothelial cells. *Food and Chemical Toxicology*, 44(9), 1485–1495.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315.
- Pagano, E., Souto, E. B., Durazzo, A., Sharifi-Rad, J., Lucarini, M., Souto, S. B., Salehi, B., Zam, W., Montanaro, V., & Lucariello, G. (2021). Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) as a nutraceutical: Focus on the metabolic, analgesic, and antiinflammatory effects. *Phytotherapy Research*, 35(5), 2403–2417.
- Pålsson-McDermott, E. M., & O’Neill, L. A. J. (2004). Signal transduction by the lipopolysaccharide receptor, Toll-like receptor-4. *Immunology*, 113(2), 153–162.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., & Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products—A healthy approach. *Food Bioscience*, 21, 80–89.
- Park, D.-Y., Ahn, Y.-T., Park, S.-H., Huh, C.-S., Yoo, S.-R., Yu, R., Sung, M.-K., McGregor, R. A., & Choi, M.-S. (2013). Supplementation of *Lactobacillus curvatus* HY7601 and *Lactobacillus plantarum* KY1032 in diet-induced obese mice is associated with gut microbial changes and reduction in obesity. *PloS One*, 8(3), e59470.
- Park, E.-J., Lee, Y.-S., Kim, S. M., Park, G.-S., Lee, Y. H., Jeong, D. Y., Kang, J., & Lee, H.-J. (2020). Beneficial effects of *Lactobacillus plantarum* strains on non-alcoholic fatty liver disease in high fat/high fructose diet-fed rats. *Nutrients*, 12(2), 542.
- Park, Y.-H., Kim, J.-G., Shin, Y.-W., Kim, S.-H., & Whang, K.-Y. (2007). Effect of dietary inclusion of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 on cholesterol metabolism in rats. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(4), 655–662.
- Patton, S., & Kurtz, G. W. (1951). 2-Thiobarbituric acid as a reagent for detecting milk fat oxidation. *Journal of Dairy Science*, 34(7), 669–674.
- Peng, S., Yao, J., Liu, Y., Duan, D., Zhang, X., & Fang, J. (2015). Activation of Nrf2 target enzymes conferring protection against oxidative stress in PC12 cells by ginger principal constituent 6-shogaol. *Food & Function*, 6(8), 2813–2823.

- Pérez-Torres, I., Castrejón-Téllez, V., Soto, M. E., Rubio-Ruiz, M. E., Manzano-Pech, L., & Guarner-Lans, V. (2021). Oxidative stress, plant natural antioxidants, and obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1786.
- Perticone, F., Ceravolo, R., Candigliota, M., Ventura, G., Iacopino, S., Sinopoli, F., & Mattioli, P. L. (2001). Obesity and body fat distribution induce endothelial dysfunction by oxidative stress: protective effect of vitamin C. *Diabetes*, 50(1), 159–165.
- Pessayre, D., Berson, A., Fromenty, B., & Mansouri, A. (2001). Mitochondria in steatohepatitis. *Seminars in Liver Disease*, 21(01), 57–70.
- Pirbalouti, A. G., Neshat, S. H., Rahimi, E., Hamed, B., & Malekpoor, F. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of Iranian herbs against *Staphylococcus aureus* isolated from milk. *International Journal of Food Properties*, 17(9), 2063–2071.
- Porras, D., Nistal, E., Martínez-Flórez, S., Pisonero-Vaquero, S., Olcoz, J. L., Jover, R., González-Gallego, J., García-Mediavilla, M. V., & Sánchez-Campos, S. (2017). Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation. *Free Radical Biology and Medicine*, 102, 188–202.
- Postler, T. S., & Ghosh, S. (2017). Understanding the holobiont: how microbial metabolites affect human health and shape the immune system. *Cell Metabolism*, 26(1), 110–130.
- Pottier-Alapetite, G. (1981). *Flore de la Tunisie. Angiospermes-dicotyledones [...] Gamopétales*.
- Poulain, J.-P. (2009). Éléments pour une histoire de la médicalisation de l'obésité. *Obésité*, 4(1), 7–16.
- Przygodzka, M., Zielińska, D., Ciesarová, Z., Kukurová, K., & Zieliński, H. (2014). Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. *LWT-Food Science and Technology*, 58(2), 321–326.
- Pulbutr, P., Thunchomnang, K., Lawa, K., Mangkhalathon, A., & Saenubol, P. (2011). Lipolytic effects of zingerone in adipocytes isolated from normal diet-fed rats and high fat diet-fed rats. *Int J Pharmacol*, 7(5), 629–634.
- Qi, L., Mao, H., Lu, X., Shi, T., & Wang, J. (2021). Cinnamaldehyde promotes the intestinal barrier functions and reshapes gut microbiome in early weaned rats. *Frontiers in Nutrition*, 8, 748503.
- Qian, L., Gao, R., Huang, J., & Qin, H. (2019). Supplementation of triple viable probiotics combined with dietary intervention is associated with gut microbial improvement in humans on a high-fat diet. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(3), 2262–2270.
- Qin, W., Shi, Y., Zhao, B., Yao, C., Jin, L., Ma, J., & Jin, Y. (2010). miR-24 regulates apoptosis by targeting the open reading frame (ORF) region of FAF1 in cancer cells. *PLoS One*, 5(2), e9429.
- Quilliot, D., Bohme, P., & Ziegler, O. (2011). La stéatohépatite non alcoolique. Influence de la nutrition, de la physiopathologie au traitement. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 25(3), 153.
- Qusti, S., El Rabey, H. A., & Balashram, S. A. (2016). The hypoglycemic and antioxidant activity of cress seed and cinnamon on streptozotocin induced diabetes in male rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- Ramana, K. V., Srivastava, S., & Singhal, S. S. (2017). Lipid peroxidation products in human health and disease 2016. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., Bouchaala, M., & Zerrar, S. (2013). Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(11), 22.
- Rampogu, S., Baek, A., Gajula, R. G., Zeb, A., Bavi, R. S., Kumar, R., Kim, Y., Kwon, Y. J., & Lee, K. W. (2018).

- Ginger (*Zingiber officinale*) phytochemicals—gingerenone-A and shogaol inhibit SaHPPK: molecular docking, molecular dynamics simulations and in vitro approaches. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 17(1), 1–15.
- Ranasinghe, P., & Galappaththy, P. (2016). Health benefits of Ceylon cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a summary of the current evidence. *Ceylon Medical Journal*, 61(1).
- Ranasinghe, Priyanga, Jayawardena, R., Pigera, S., Wathurapatha, W. S., Weeratunga, H. D., Premakumara, G. A. S., Katulanda, P., Constantine, G. R., & Galappaththy, P. (2017). Evaluation of pharmacodynamic properties and safety of *Cinnamomum zeylanicum* (Ceylon cinnamon) in healthy adults: a phase I clinical trial. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 1–9.
- Ranasinghe, Priyanga, Pigera, S., Premakumara, G. A., Galappaththy, P., Constantine, G. R., & Katulanda, P. (2013). Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), 1–10.
- Raso, G. M., Simeoli, R., Iacono, A., Santoro, A., Amero, P., Paciello, O., Russo, R., D'Agostino, G., Di Costanzo, M., & Canani, R. B. (2014). Effects of a *Lactobacillus paracasei* B21060 based synbiotic on steatosis, insulin signaling and toll-like receptor expression in rats fed a high-fat diet. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(1), 81–90.
- Rath, S., & Padhy, R. N. (2014). Monitoring in vitro antibacterial efficacy of 26 Indian spices against multidrug resistant urinary tract infecting bacteria. *Integrative Medicine Research*, 3(3), 133–141.
- Ren, D., Zhao, Y., Nie, Y., Yang, N., & Yang, X. (2014). Hypoglycemic and hepatoprotective effects of polysaccharides from *Artemisia sphaerocephala* Krasch seeds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 296–306.
- Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Madella, D., Martinazzo, A. P., Moura, L. de A. G., de Melo, N. R., & Sanches-Silva, A. (2017). Revisiting an ancient spice with medicinal purposes: Cinnamon. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 154–169.
- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggianno, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14.
- Roberfroid, M. B. (2000). Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. *Nutrition*, 16(7–8), 677–679.
- Roberts, L. D., Murray, A. J., Menassa, D., Ashmore, T., Nicholls, A. W., & Griffin, J. L. (2011). The contrasting roles of PPAR $\delta$  and PPAR $\gamma$  in regulating the metabolic switch between oxidation and storage of fats in white adipose tissue. *Genome Biology*, 12(8), 1–19.
- Rong, X., Peng, G., Suzuki, T., Yang, Q., Yamahara, J., & Li, Y. (2009). A 35-day gavage safety assessment of ginger in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54(2), 118–123.
- Roselli, M., Finamore, A., Brasili, E., Rami, R., Nobili, F., Orsi, C., Zambrini, A. V., & Mengheri, E. (2018). Beneficial effects of a selected probiotic mixture administered to high fat-fed mice before and after the development of obesity. *Journal of Functional Foods*, 45, 321–329.
- Rudel, L. L., Lee, R. G., & Parini, P. (2005). ACAT2 is a target for treatment of coronary heart disease associated with hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(6), 1112–1118.
- Ryan, M. T., Müller, H., & Pfanner, N. (1999). Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 274(29), 20619–20627.
- Ryyti, R., Pemmari, A., Peltola, R., Hämäläinen, M., & Moilanen, E. (2021). Effects of Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) Supplementation on Hepatic Gene Expression in High-Fat Diet Fed Mice. *Nutrients*, 13(11), 3693. <https://doi.org/10.3390/nu13113693>

- Sáez-Lara, M. J., Robles-Sanchez, C., Ruiz-Ojeda, F. J., Plaza-Diaz, J., & Gil, A. (2016). Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: a review of human clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(6), 928.
- Salah, R. Ben, Trabelsi, I., Hamden, K., Chouayekh, H., & Bejar, S. (2013). Lactobacillus plantarum TN8 exhibits protective effects on lipid, hepatic and renal profiles in obese rat. *Anaerobe*, *23*, 55–61.
- Salaramoli, S., Mehri, S., Yarmohammadi, F., Hashemy, S. I., & Hosseinzadeh, H. (2022). The effects of ginger and its constituents in the prevention of metabolic syndrome: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *25*(6), 664.
- San Chang, J., Wang, K. C., Yeh, C. F., Shieh, D. E., & Chiang, L. C. (2013). Fresh ginger (*Zingiber officinale*) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, *145*(1), 146–151.
- Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J. A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *76*(2), 270–276.
- santé, O. mondiale de la. (2003). *Obésité: prévention et prise en charge de l'épidémie mondiale: rapport d'une consultation de l'OMS*. (Vol. 894). World Health Organization.
- Santiago-Adame, R., Medina-Torres, L., Gallegos-Infante, J. A., Calderas, F., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Ochoa-Martínez, L. A., & Bernad-Bernad, M. J. (2015). Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. *LWT-Food Science and Technology*, *64*(2), 571–577.
- Saravanan, G., Ponmurugan, P., Deepa, M. A., & Senthilkumar, B. (2014). Anti-obesity action of gingerol: effect on lipid profile, insulin, leptin, amylase and lipase in male obese rats induced by a high-fat diet. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*(14), 2972–2977.
- Savcheniuk, O., Kobyliak, N., Kondro, M., Virchenko, O., Falalyeyeva, T., & Beregova, T. (2014). Short-term periodic consumption of multiprobiotic from childhood improves insulin sensitivity, prevents development of non-alcoholic fatty liver disease and adiposity in adult rats with glutamate-induced obesity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*(1), 1–17.
- Savini, I., Catani, M. V., Evangelista, D., Gasperi, V., & Avigliano, L. (2013). Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(5), 10497–10538.
- Sayed, S., Ahmed, M., El-Shehawi, A., Alkafafy, M., Al-Otaibi, S., El-Sawy, H., Farouk, S., & El-Shazly, S. (2020). Ginger water reduces body weight gain and improves energy expenditure in rats. *Foods*, *9*(1), 38.
- Sbayou, H., Ababou, B., Boukachabine, K., Manresa, A., Zerouali, K., & Amghar, S. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of artemisia herba-alba and mentha pulegium essential oils. *Journal of Life Sciences*, *8*(1).
- Schadich, E., Hlaváč, J., Volná, T., Varanasi, L., Hajdúch, M., & Džubák, P. (2016). Effects of ginger phenylpropanoids and quercetin on Nrf2-ARE pathway in human BJ fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *BioMed Research International*, 2016.
- Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C. M., & Finlay, B. B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*.
- Sellami, M., Louati, H., Kamoun, J., Kchaou, A., Damak, M., & Gargouri, Y. (2017). Inhibition of pancreatic lipase and amylase by extracts of different spices and plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *68*(3), 313–320.
- Sen, T., Cawthon, C. R., Ihde, B. T., Hajnal, A., DiLorenzo, P. M., de La Serre, C. B., & Czaja, K. (2017). Diet-driven microbiota dysbiosis is associated with vagal remodeling and obesity. *Physiology & Behavior*, *173*, 305–317.

- Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in humans. *Cell*, *164*(3), 337–340.
- Shahrestan, F., Jafari, P., Gharebaghi, A., Khani Farahani, I., & Shahrestan, E. (2020). Effect of bioflora and cinnamon extract consumption on dyslipidemia and cardiovascular disease in a diabetic rat model. *Journal of Arak University of Medical Sciences*, *23*(2), 198–209.
- Shalaby, M., & Saifan, H. (2014). Some pharmacological effects of cinnamon and ginger herbs in obese diabetic rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, *3*(4), 144. <https://doi.org/10.5455/jice.20140818050741>
- Shalaby, M A, & Hamowieh, A. R. (2010). Safety and efficacy of Zingiber officinale roots on fertility of male diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(10), 2920–2924.
- Shalaby, Mostafa Abbas, & Saifan, H. Y. (2014). Some pharmacological effects of cinnamon and ginger herbs in obese diabetic rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, *3*(4), 144.
- Shang, C., Lin, H., Fang, X., Wang, Y., Jiang, Z., Qu, Y., Xiang, M., Shen, Z., Xin, L., & Lu, Y. (2021). Beneficial effects of cinnamon and its extracts in the management of cardiovascular diseases and diabetes. *Food & Function*, *12*(24), 12194–12220.
- Shanmugam, K. R., Mallikarjuna, K., Nishanth, K., Kuo, C. H., & Reddy, K. S. (2011). Protective effect of dietary ginger on antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues. *Food Chemistry*, *124*(4), 1436–1442.
- Sharifi-Rad, J., Dey, A., Koirala, N., Shaheen, S., El Omari, N., Salehi, B., Goloshvili, T., Cirone Silva, N. C., Bouyahya, A., Vitalini, S., Varoni, E. M., Martorell, M., Abdolshahi, A., Docea, A. O., Iriti, M., Calina, D., Les, F., López, V., & Caruntu, C. (2021). Cinnamomum Species: Bridging Phytochemistry Knowledge, Pharmacological Properties and Toxicological Safety for Health Benefits . In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 12, p. 882). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2021.600139>
- Sharma, S., Mandal, A., Kant, R., Jachak, S., & Jagzape, M. (2020). Is cinnamon efficacious for glycaemic control in type-2 diabetes mellitus? *Journal of the Pakistan Medical School*, *30*, 32.
- Shen, Y., Fukushima, M., Ito, Y., Muraki, E., Hosono, T., Seki, T., & Ariga, T. (2010). Verification of the antidiabetic effects of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) using insulin-uncontrolled type 1 diabetic rats and cultured adipocytes. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *74*(12), 2418–2425.
- Sheng, X., Zhang, Y., Gong, Z., Huang, C., & Zang, Y. Q. (2008). Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *PPAR Research*, *2008*.
- Si, W., Chen, Y. P., Zhang, J., Chen, Z.-Y., & Chung, H. Y. (2018). Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chemistry*, *239*, 1117–1125.
- Singh, N., Rao, A. S., Nandal, A., Kumar, S., Yadav, S. S., Ganaie, S. A., & Narasimhan, B. (2021). Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl-a versatile spice used in food and nutrition. *Food Chemistry*, *338*, 127773.
- Singh, R. G., Yoon, H. D., Wu, L. M., Lu, J., Plank, L. D., & Petrov, M. S. (2017). Ectopic fat accumulation in the pancreas and its clinical relevance: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Metabolism*, *69*, 1–13.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, *299*, 152–178.
- Singleton, W. S., Gray, M. S., Brown, M. L., & White, J. L. (1965). Chromatographically homogeneous lecithin from egg phospholipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *42*(1), 53–56.
- Song, J., Fan, H., Li, H., Ding, H., Lv, Q., & Hou, S. (2016). Zingerone ameliorates lipopolysaccharide-induced

- acute kidney injury by inhibiting Toll-like receptor 4 signaling pathway. *European Journal of Pharmacology*, 772, 108–114.
- Song, M., Park, S., Lee, H., Min, B., Jung, S., Kim, E., & Oh, S. (2015). Effect of *Lactobacillus acidophilus* NS1 on plasma cholesterol levels in diet-induced obese mice. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1492–1501.
- Song, W., Song, C., Shan, Y., Lu, W., Zhang, J., Hu, P., Wu, X., Li, L., & Guo, S. (2016). The antioxidative effects of three lactobacilli on high-fat diet induced obese mice. *RSC Advances*, 6(70), 65808–65815.
- Sonnenburg, E. D., Sonnenburg, J. L., Manchester, J. K., Hansen, E. E., Chiang, H. C., & Gordon, J. I. (2006). A hybrid two-component system protein of a prominent human gut symbiont couples glycan sensing in vivo to carbohydrate metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(23), 8834–8839.
- Srinivasan, K., Adhya, P., & Sharma, S. S. (2019). Nutraceutical potential of ginger. *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*, 51–70.
- Stadlbauer, V., Leber, B., Lemesch, S., Trajanoski, S., Bashir, M., Horvath, A., Tawdrous, M., Stojakovic, T., Fauler, G., & Fickert, P. (2015). *Lactobacillus casei* Shirota supplementation does not restore gut microbiota composition and gut barrier in metabolic syndrome: A randomized pilot study. *PLoS One*, 10(10), e0141399.
- Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., & Gargova, S. (2007). Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*, 102(3), 764–770.
- Suk, S., Kwon, G. T., Lee, E., Jang, W. J., Yang, H., Kim, J. H., Thimmegowda, N. R., Chung, M., Kwon, J. Y., & Yang, S. (2017). Gingerenone A, a polyphenol present in ginger, suppresses obesity and adipose tissue inflammation in high-fat diet-fed mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(10), 1700139.
- Suk, S., Seo, S. G., Yu, J. G., Yang, H., Jeong, E., Jang, Y. J., Yaghmoor, S. S., Ahmed, Y., Yousef, J. M., & Abualnaja, K. O. (2016). A Bioactive Constituent of Ginger, 6-Shogaol, Prevents Adipogenesis and Stimulates Lipolysis in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal of Food Biochemistry*, 40(1), 84–90.
- Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Takemura, N., Okubo, T., & Sonoyama, K. (2010). *Lactobacillus plantarum* strain No. 14 reduces adipocyte size in mice fed high-fat diet. *Experimental Biology and Medicine*, 235(7), 849–856.
- Tang, W. H. W., Kitai, T., & Hazen, S. L. (2017). Gut microbiota in cardiovascular health and disease. *Circulation Research*, 120(7), 1183–1196.
- Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J., Ugarte, E., Muñoz-Tamayo, R., Paslier, D. L. E., & Nalin, R. (2009). Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environmental Microbiology*, 11(10), 2574–2584.
- Thiraphatthanavong, P., Wattanathorn, J., Muchimapura, S., Thukham-mee, W., Lertrat, K., & Suriharn, B. (2014). The combined extract of purple waxy corn and ginger prevents cataractogenesis and retinopathy in streptozotocin-diabetic rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014.
- Tilg, H., & Kaser, A. (2011). Gut microbiome, obesity, and metabolic dysfunction. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2126–2132.
- Tohma, H., Gülçin, İ., Bursal, E., Gören, A. C., Alwasel, S. H., & Köksal, E. (2017). Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11(2), 556–566.
- Tomé-Castro, X. M., Rodríguez-Arrastia, M., Cardona, D., Rueda-Ruzafa, L., Molina-Torres, G., & Román, P. (2021). Probiotics as a therapeutic strategy in obesity and overweight: a systematic review. *Beneficial Microbes*, 12(1), 5–15.
- Toral, M., Gómez-Guzmán, M., Jiménez, R., Romero, M., Sánchez, M., Utrilla, M. P., Garrido-Mesa, N.,

- Rodríguez-Cabezas, M. E., Olivares, M., & Gálvez, J. (2014). The probiotic *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 reduces the vascular pro-oxidant and pro-inflammatory status in obese mice. *Clinical Science*, *127*(1), 33–45.
- Trayhurn, P. (2013). Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiological Reviews*, *93*(1), 1–21.
- Trinder, P. (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. *Annals of Clinical Biochemistry*, *6*(1), 24–27.
- Tuzcu, Z., Orhan, C., Sahin, N., Juturu, V., & Sahin, K. (2017). Cinnamon polyphenol extract inhibits hyperlipidemia and inflammation by modulation of transcription factors in high-fat diet-fed rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Uchiyama, S., Taniguchi, Y., Saka, A., Yoshida, A., & Yajima, H. (2011). Prevention of diet-induced obesity by dietary black tea polyphenols extract in vitro and in vivo. *Nutrition*, *27*(3), 287–292.
- Uddand Rao, V. V. S., & Naidu, P. B. (2022). *Advancements in Cardiovascular Research and Therapeutics: Molecular and Nutraceutical Perspectives*. Bentham Science Publishers.
- Ultee, A., Kets, E. P. W., & Smid, E. J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(10), 4606–4610.
- Urzúa, A., Rezende, M. C., Mascayano, C., & Vásquez, L. (2008). A structure-activity study of antibacterial diterpenoids. *Molecules*, *13*(4), 882–891.
- Vallès, J., Garcia, S., Hidalgo, O., Martín, J., Pellicer, J., Sanz, M., & Garnatje, T. (2011). Biology, genome evolution, biotechnological issues and research including applied perspectives in *Artemisia* (Asteraceae). *Advances in Botanical Research*, *60*, 349–419.
- Van Hul, M., Geurts, L., Plovier, H., Druart, C., Everard, A., Ståhlman, M., Rhimi, M., Chira, K., Teissedre, P. L., Delzenne, N. M., Maguin, E., Guilbot, A., Brochot, A., Gérard, P., Bäckhed, F., & Cani, P. D. (2018). Reduced obesity, diabetes, and steatosis upon cinnamon and grape pomace are associated with changes in gut microbiota and markers of gut barrier. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *314*(4), E334–E352. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00107.2017>
- Verdile, G., Fuller, S. J., & Martins, R. N. (2015). The role of type 2 diabetes in neurodegeneration. *Neurobiology of Disease*, *84*, 22–38.
- Veyrat-Durebex, C., Poher, A.-L., Caillon, A., & Rohner-Jeanreneaud, F. (2011). P264-Métabolisme des lipides et thermogénèse chez le rat Lou/C, un modèle de résistance au développement de l'obésité: implication de la protéine découplante 1 (UCP1) dans le tissu adipeux blanc. *Diabetes & Metabolism*, *37*(1), A95–A96.
- Vinderola, G., Gueimonde, M., Gomez-Gallego, C., Delfederico, L., & Salminen, S. (2017). Correlation between in vitro and in vivo assays in selection of probiotics from traditional species of bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, *68*, 83–90.
- Vivas, A. P. M., & Migliari, D. A. (2015). Cinnamon-induced oral mucosal contact reaction. *The Open Dentistry Journal*, *9*, 257.
- Wang, F., Pu, C., Zhou, P., Wang, P., Liang, D., Wang, Q., Hu, Y., Li, B., & Hao, X. (2015). Cinnamaldehyde prevents endothelial dysfunction induced by high glucose by activating Nrf2. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *36*(1), 315–324.
- Wang, J., Wang, P., Li, D., Hu, X., & Chen, F. (2020). Beneficial effects of ginger on prevention of obesity through modulation of gut microbiota in mice. *European Journal of Nutrition*, *59*(2), 699–718.
- Wang, J., Zhang, L., Dong, L., Hu, X., Feng, F., & Chen, F. (2019). 6-gingerol, a functional polyphenol of ginger, promotes browning through an AMPK-dependent pathway in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *67*(51), 14056–14065.

- Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009). Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2), 289–292.
- Wang, W.-M. (2004). On the origin and development of *Artemisia* (Asteraceae) in the geological past. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 145(3), 331–336.
- Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J.-G., Hu, F., & Wei, Z.-J. (2020). Antibacterial activity and mechanism of ginger essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(17), 3955.
- Wang, Z., & Zhao, Y. (2018). Gut microbiota derived metabolites in cardiovascular health and disease. *Protein & Cell*, 9(5), 416–431.
- Weisberg, S. P., Leibel, R., & Tortoriello, D. V. (2008). Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabetes. *Endocrinology*, 149(7), 3549–3558.
- Wiebe, N., Stenvinkel, P., & Tonelli, M. (2019). Associations of chronic inflammation, insulin resistance, and severe obesity with mortality, myocardial infarction, cancer, and chronic pulmonary disease. *JAMA Network Open*, 2(8), e1910456–e1910456.
- Wijayanti, I. I., Budiharjo, A., Pangastuti, A., Prihapsara, F., & Artanti, A. N. (2018). Total phenolic content and antioxidant activity of ginger extract and SNEDDS with eel fish bone oil (*Anguilla* spp.). *Nusantara Bioscience*, 10(3), 164–169.
- Wilson, A. S., Koller, K. R., Ramaboli, M. C., Nesengani, L. T., Ocvirk, S., Chen, C., Flanagan, C. A., Sapp, F. R., Merritt, Z. T., & Bhatti, F. (2020). Diet and the human gut microbiome: an international review. *Digestive Diseases and Sciences*, 65, 723–740.
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3), 940–949.
- Wu, D., Sun, M. Z., Zhang, C., & Xin, Y. (2014). Antioxidant properties of *Lactobacillus* and its protecting effects to oxidative stress Caco-2 cells. *J. Anim. Plant Sci*, 24(6), 1766–1771.
- Wu, J. H. Y., Micha, R., & Mozaffarian, D. (2019). Dietary fats and cardiometabolic disease: mechanisms and effects on risk factors and outcomes. *Nature Reviews Cardiology*, 16(10), 581–601.
- Wu, L.-Y., Juan, C.-C., Hwang, L. S., Hsu, Y.-P., Ho, P.-H., & Ho, L.-T. (2004). Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *European Journal of Nutrition*, 43(2), 116–124.
- Wuu-Kuang, S. (2011). Taxonomic revision of *Cinnamomum* (Lauraceae) in Borneo. *Blumea-Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants*, 56(3), 241–264.
- Xiao, J. Z., Kondo, S., Takahashi, N., Miyaji, K., Oshida, K., Hiramatsu, A., Iwatsuki, K., Kokubo, S., & Hosono, A. (2003). Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers. *Journal of Dairy Science*, 86(7), 2452–2461.
- Yadav, H., Jain, S., & Sinha, P. R. (2007). Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition*, 23(1), 62–68.
- Yagi, K. (1976). A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.*, 15, 212–216.
- Yan, Y., Liu, C., Zhao, S., Wang, X., Wang, J., Zhang, H., Wang, Y., & Zhao, G. (2020). Probiotic *Bifidobacterium lactis* V9 attenuates hepatic steatosis and inflammation in rats with non-alcoholic fatty liver disease. *AMB Express*, 10(1), 1–11.
- Yao, L., Wei, J., Shi, S., Guo, K., Wang, X., Wang, Q., Chen, D., & Li, W. (2017). Modified lingguizhugan decoction incorporated with dietary restriction and exercise ameliorates hyperglycemia, hyperlipidemia and

- hypertension in a rat model of the metabolic syndrome. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–12.
- Ye, J. (2021). Mechanism of insulin resistance in obesity: a role of ATP. *Frontiers of Medicine*, 15(3), 372–382.
- Yoo, J. Y., & Kim, S. S. (2016). Probiotics and prebiotics: present status and future perspectives on metabolic disorders. *Nutrients*, 8(3), 173.
- Younsi, F., Trimech, R., Boulila, A., Ezzine, O., Dhahri, S., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016). Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *International Journal of Food Properties*, 19(7), 1425–1438.
- Yousefifar, H., Kunyanga, C. N., & Imungi, J. K. (2018). *Antidiabetic and antioxidant properties of methanolic extract for a diabetic supplement developed from drumsticks leaves (Moringa oleifera), garlic (Allium sativum) and cinnamon (Cinnamomum verum) powders.*
- Yun, J.-W., You, J.-R., Kim, Y.-S., Kim, S.-H., Cho, E.-Y., Yoon, J.-H., Kwon, E., Jang, J.-J., Park, J.-S., & Kim, H.-C. (2018). In vitro and in vivo safety studies of cinnamon extract (*Cinnamomum cassia*) on general and genetic toxicology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 95, 115–123.
- Yusuf, A. A., Lawal, B., Abubakar, A. N., Berinyuy, E. B., Omonije, Y. O., Umar, S. I., Shebe, M. N., & Alhaji, Y. M. (2018). In-vitro antioxidants, antimicrobial and toxicological evaluation of Nigerian Zingiber officinale. *Clinical Phytoscience*, 4(1), 1–8.
- Zaman, M.-Q., Leray, V., Le Bloc'h, J., Thorin, C., Ouguerram, K., & Nguyen, P. (2011). Lipid profile and insulin sensitivity in rats fed with high-fat or high-fructose diets. *British Journal of Nutrition*, 106(S1), S206–S210.
- Zarena, A. S., & Sankar, K. U. (2009). A study of antioxidant properties from *Garcinia mangostana* L. pericarp extract. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 8(1), 23–34.
- Zhang, J., Wang, S., Zeng, Z., Qin, Y., Shen, Q., & Li, P. (2020). Anti-diabetic effects of *Bifidobacterium animalis* 01 through improving hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic rat model. *Journal of Functional Foods*, 67, 103843.
- Zhang, M., Zhao, R., Wang, D., Wang, L., Zhang, Q., Wei, S., Lu, F., Peng, W., & Wu, C. (2021). Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its bioactive components are potential resources for health beneficial agents. *Phytotherapy Research*, 35(2), 711–742.
- Zhang, Q., Fan, X.-Y., Cao, Y.-J., Zheng, T.-T., Cheng, W.-J., Chen, L.-J., Lv, X.-C., Ni, L., Rao, P.-F., & Liang, P. (2021). The beneficial effects of *Lactobacillus brevis* FZU0713-fermented *Laminaria japonica* on lipid metabolism and intestinal microbiota in hyperlipidemic rats fed with a high-fat diet. *Food & Function*, 12(16), 7145–7160.
- Zhang, W., XU, Y., Guo, F., Meng, Y., & Li, M. (2008). Anti-diabetic effects of cinnamaldehyde and berberine and their impacts on retinol-binding protein 4 expression in rats with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal*, 121(21), 2124–2128.
- Zhang, X., Wu, Y., Wang, Y., Wang, X., Piao, C., Liu, J., Liu, Y., & Wang, Y. (2017). The protective effects of probiotic-fermented soymilk on high-fat diet-induced hyperlipidemia and liver injury. *Journal of Functional Foods*, 30, 220–227. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.01.002>
- Zhao, H., Zhang, M., Zhou, F., Cao, W., Bi, L., Xie, Y., Yang, Q., & Wang, S. (2016). Cinnamaldehyde ameliorates LPS-induced cardiac dysfunction via TLR4-NOX4 pathway: the regulation of autophagy and ROS production. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 101, 11–24.
- Zhu, R., Liu, H., Liu, C., Wang, L., Ma, R., Chen, B., Li, L., Niu, J., Fu, M., & Zhang, D. (2017). Cinnamaldehyde in diabetes: A review of pharmacology, pharmacokinetics and safety. *Pharmacological Research*, 122, 78–89.

Zielinska-Blizniewska, H., Sitarek, P., Merez-Sadowska, A., Malinowska, K., Zajdel, K., Jablonska, M., Sliwinski, T., & Zajdel, R. (2019). Plant extracts and reactive oxygen species as two counteracting agents with anti-and pro-obesity properties. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(18), 4556.

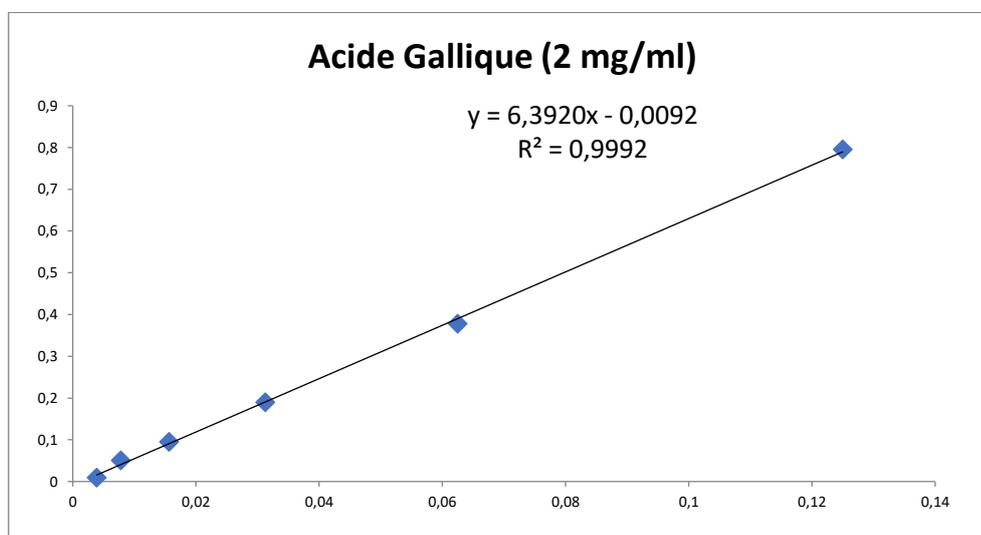
Zouari, S., Zouari, N., Fakhfakh, N., Bougatef, A., Ayadi, M. A., & Neffati, M. (2010). Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso. *Journal of Medicinal Plants Research*, *4*(10), 871–880.

# **ANNEXES**

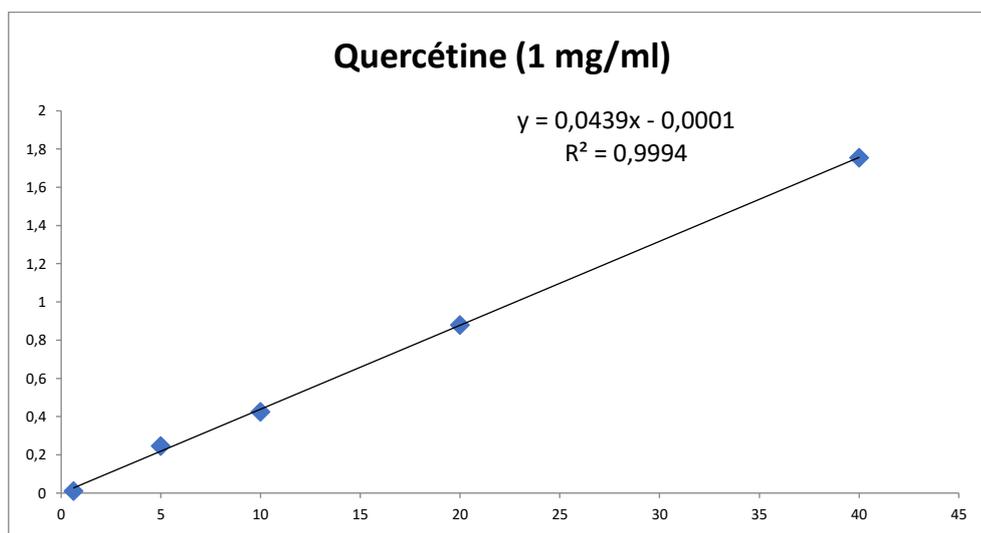
---

## Annexes

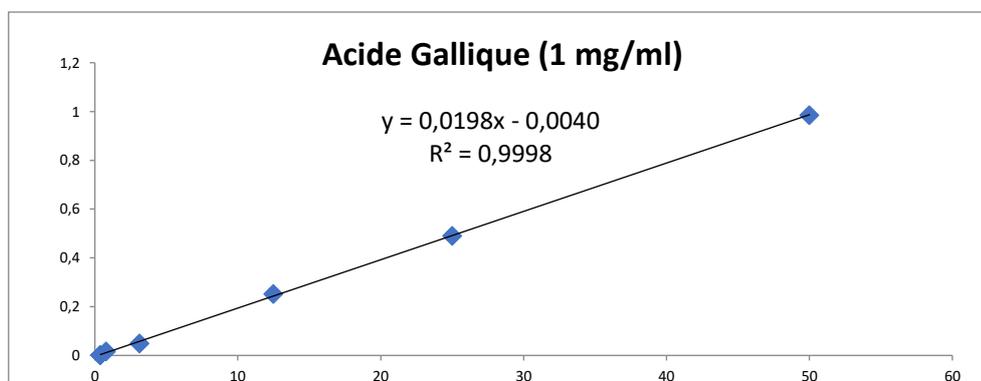
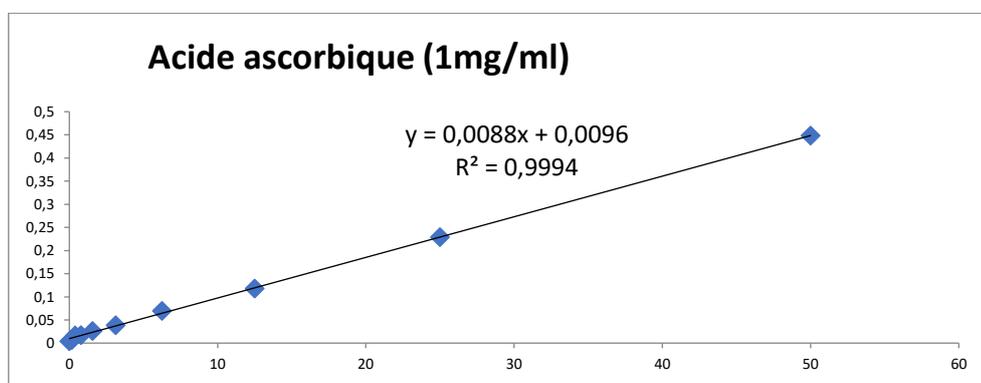
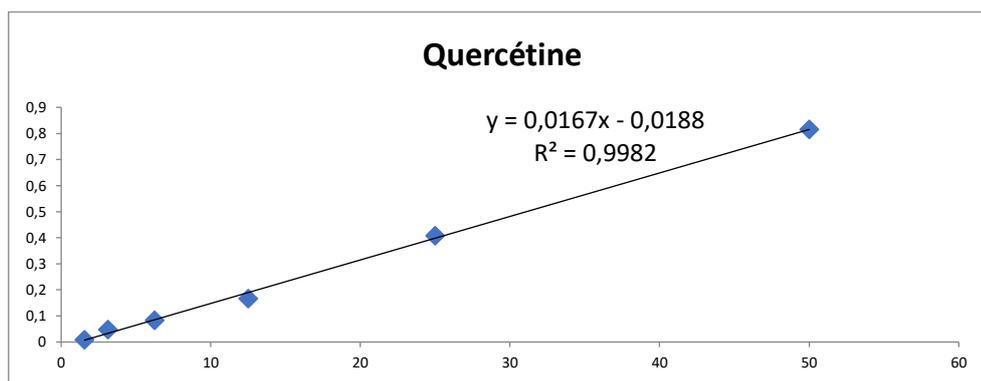
**Annexe I:** Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques de la cannelle, du gingembre et l'armoise blanche



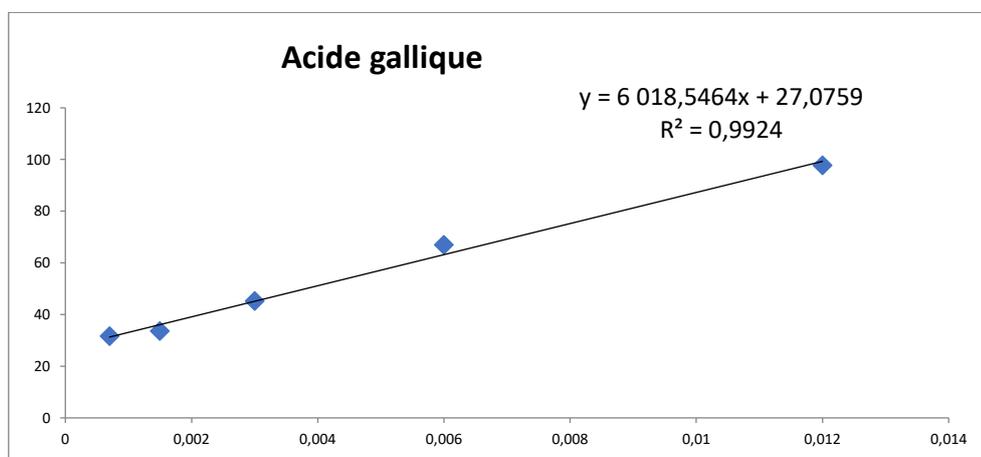
**Figure 86:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique (1mg/mL)



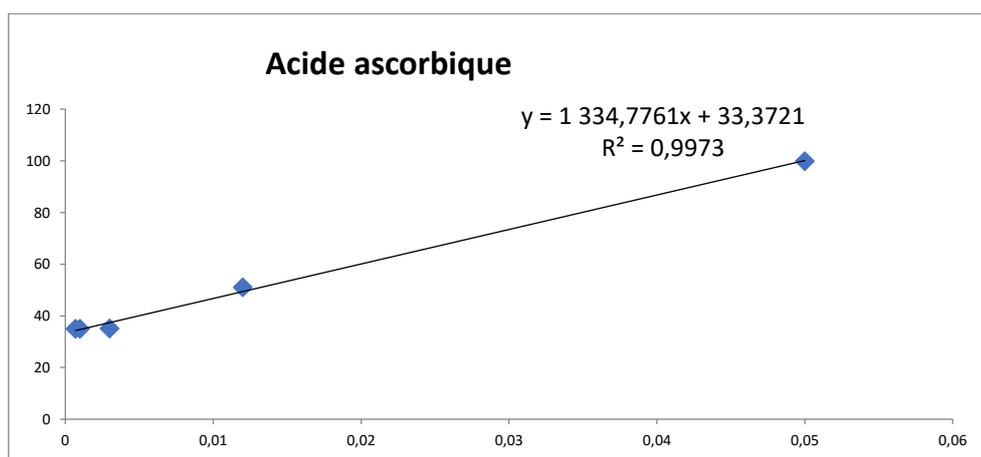
**Figure 87:** Courbe d'étalonnage de la quercétine (1mg/mL)

**Annexe II: Courbes d'étalonnage pour l'activité antioxydante des antioxydants de références****1. Pouvoir réducteur de fer (FRAP) des molécules de référence****Figure 88:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test FRAP**Figure 89:** Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique pour le test FRAP**Figure 90:** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le test FRAP

## 2. Activité scavenger du peroxyde d'hydrogène des molécules de références



**Figure 91:** Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le test  $H_2O_2$



**Figure 92:** Courbe d'étalonnage d'ascorbique pour le test  $H_2O_2$

## Annexe III: Courbes d'étalonnage pour les différents dosages des paramètres oxydatifs

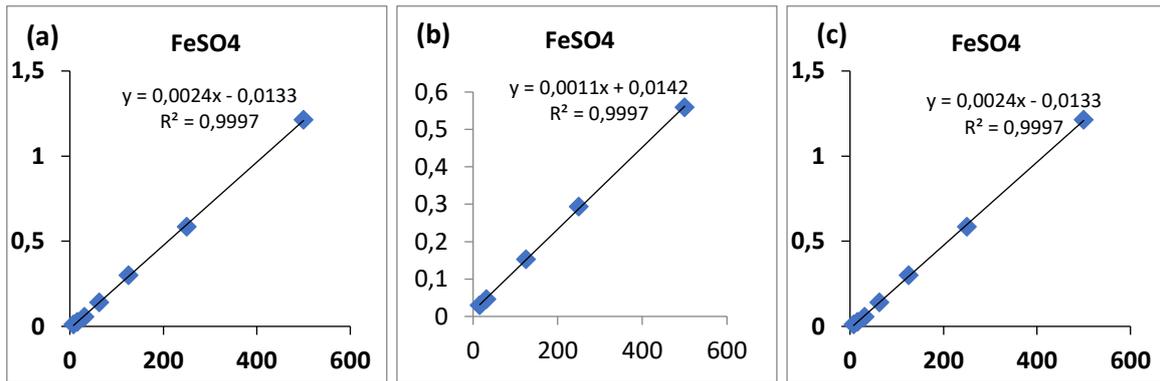


Figure 93: Gamme d'étalonnage de FRAP plasma (a) , Foie (b), Cœur (c)

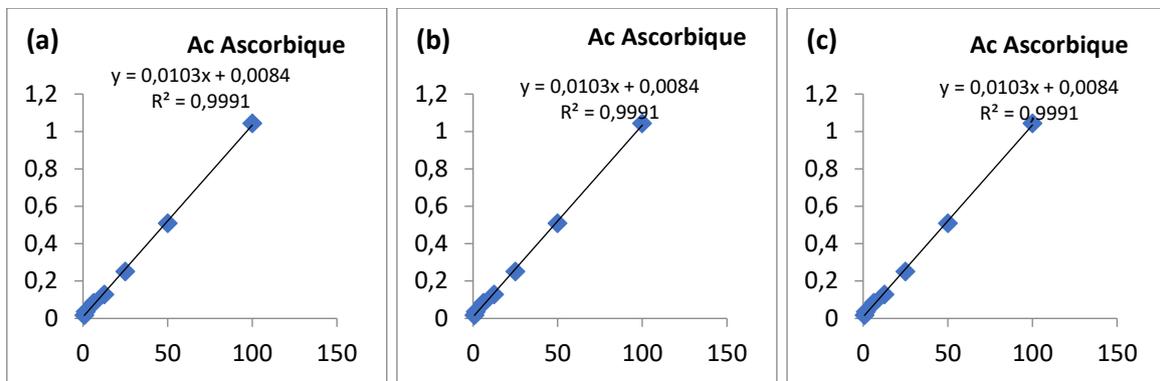


Figure 94: Gamme d'étalonnage acide ascorbique plasma(a), Foie (b), Cœur (c)

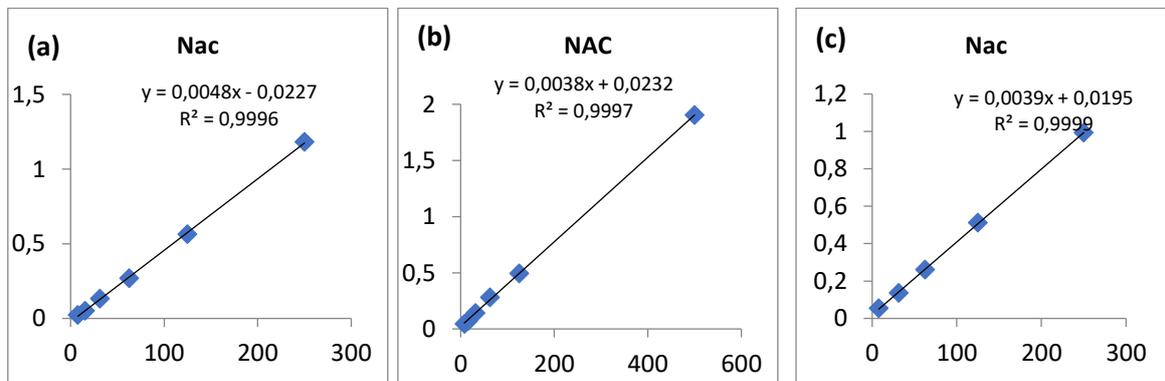
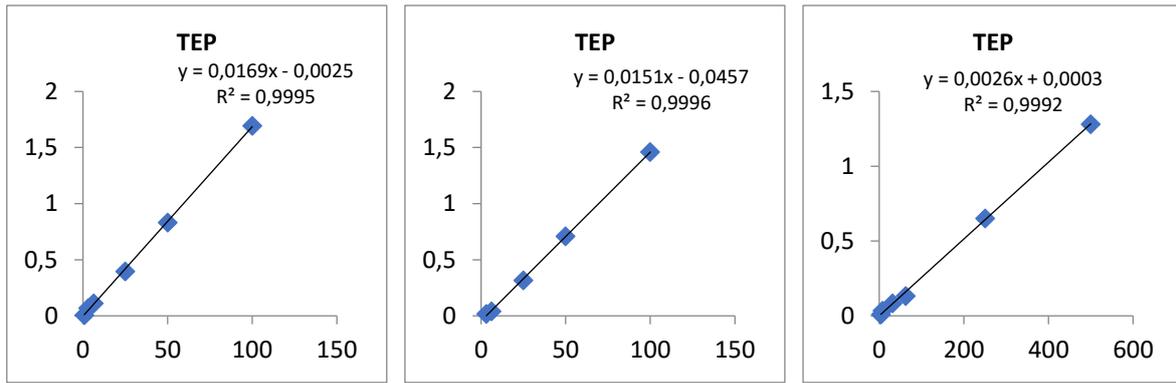


Figure 95: Gamme d'étalonnage de Thiol plasma (a), Foie (b), Cœur (c)

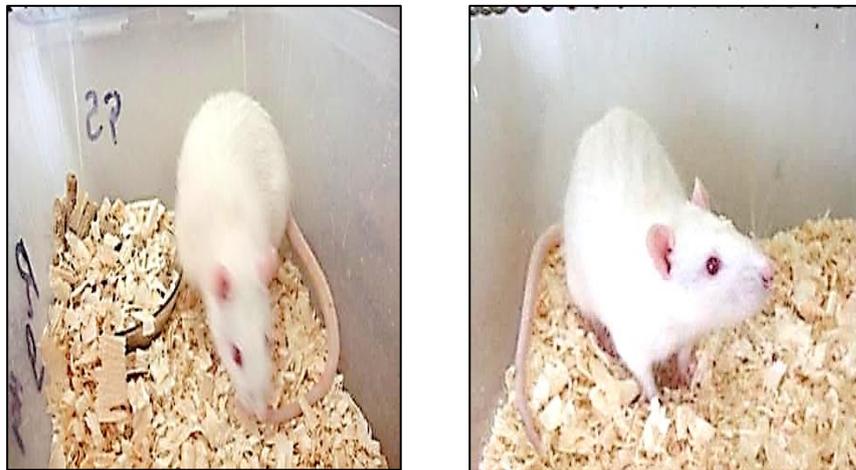


**Figure 96:** Gamme d'étannolage de TBARS plasma(a), Foie (b), Cœur (c)

**Annexe IV: Différents lots de rats après 16 semaines d'expérimentation**



**Figure 97: Rats du groupe ST, HG et HGP après 16 semaines d'expérimentation**



**Figure 98: Rats du groupe HGG et HGGP après 16 semaines d'expérimentation**



**Figure 99: Rats du groupe HGC et HGCP après 16 semaines d'expérimentation**

## Annexe V: Valeur nutritive et composition des régimes expérimentaux

## 1. Valeurs nutritives du son de blé, tourteau de soja, huile végétale, graisse d'animaux (Sauvant et al, 2004)

**Son de blé dur**  
Coproduct de la transformation de grains de blé dur (*Triticum durum* L.), constitué principalement de fragments d'enveloppes et de particules de grains dont la plus grande partie de l'albumen a été enlevée (N = 142).  
Toutes les valeurs sont exprimées par rapport au produit brut sauf indication contraire.

Composition élémentaire			Acides gras	
	Moy	ET	AG totaux / matières grasses (%)	80
Matière sèche (%)	86,6	1,1		
Protéines brutes (%)	14,6	1,1		
Cellulose brute (%)	10,1	1,1		
Matières grasses brutes (%)	4,4	0,4		
Cendres brutes (%)	4,9	0,4		
Cendres insolubles (%)	0,1			
NDF (%)	43,2			
ADF (%)	13,0			
ADL (%)	3,7			
Parois végétales (%)	41,8			
Amidon (%)	19,9	3,3		
Sucres totaux (%)	6,6			
Énergie brute (kcal/kg)	3970			

Minéraux		
	Moy	ET
Calcium (g/kg)	1,4	
Phosphore (g/kg)	9,7	
Magnésium (g/kg)	2,7	
Potassium (g/kg)	11,9	
Sodium (g/kg)	0,1	
Chlore (g/kg)	0,8	
Bilan électrolytique (mEq/kg)	290	

**Tourteau de soja 48**  
Coproduct d'huilerie obtenu par pression, extraction au solvant et traitement thermique de graines de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) avec réincorporation partielle des coques. « 48 » indique que la teneur garantie en protéines + matières grasses est de 48 % sur brut (N = 10409).  
*Tourteaux de soja extrudé et de soja tanné pour les ruminants : voir page 281.*  
Toutes les valeurs sont exprimées par rapport au produit brut sauf indication contraire.

Composition élémentaire			Acides gras		
	Moy	ET	% AG	g/kg	
Matière sèche (%)	87,8	0,6	Acide myristique C14:0	0,1	0,0
Protéines brutes (%)	45,3	1,0	Acide palmitique C16:0	10,5	1,5
Cellulose brute (%)	6,0	0,5	Acide palmitoléique C16:1	0,2	0,0
Matières grasses brutes (%)	1,9	0,4	Acide stéarique C18:0	3,8	0,5
Cendres brutes (%)	6,4	0,5	Acide oléique C18:1	21,7	3,0
Cendres insolubles (%)	0,3	0,3	Acide linoléique C18:2	53,1	7,4
NDF (%)	12,2	1,7	Acide linoléique C18:3	7,4	1,0
ADF (%)	7,3	1,9	AG totaux / matières grasses (%)	75	
ADL (%)	0,7	0,4			
Parois végétales (%)	19,1	2,3			
Amidon (%)	0,0				
Sucres totaux (%)	8,3	1,1			
Énergie brute (kcal/kg)	4130	130			

Minéraux			Vitamines	
	Moy	ET		Moy
Calcium (g/kg)	3,4	0,9	Vitamine E (mg/kg)	4
Phosphore (g/kg)	6,2	0,5	Vitamine B1 - Thiamine (mg/kg)	6
P phytique / P total (%)	60		Vitamine B2 - Riboflavine (mg/kg)	3
Magnésium (g/kg)	2,9	0,3	Vitamine B6 - Pyridoxine (mg/kg)	6
Potassium (g/kg)	21,1	1,5	Niacine (mg/kg)	39
Sodium (g/kg)	0,3	0,5	Acide pantothénique (mg/kg)	16
Chlore (g/kg)	0,5	0,9	Acide folique (mg/kg)	0,59
Soufre (g/kg)	4,0		Biotine (mg/kg)	0,27
Bilan cations-anions (mEq/kg)	289		Choline (mg/kg)	2545
Bilan électrolytique (mEq/kg)	539			
Manganèse (mg/kg)	38	11		
Zinc (mg/kg)	47	8		
Cuivre (mg/kg)	18	7		
Fer (mg/kg)	283	145		
Sélénium (mg/kg)	0,20			
Cobalt (mg/kg)	0,26			
Molybdène (mg/kg)	4			
Iode (mg/kg)	0,15			

Autres	
	Moy
Activité phytasique (UI/kg)	20

<b>Huiles végétales</b>					
	<b>Colza</b>	<b>Coprah</b>	<b>Palme</b>	<b>Soja</b>	<b>Tournesol</b>
<b>Acides gras (% AG totaux)</b>					
C6+C8+C10		13,1			
C12:0	0,2	46,4	0,3		0,2
C14:0	0,1	17,7	0,6	0,1	0,2
C16:0	4,2	8,9	43,0	10,5	6,3
C16:1	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4
C18:0	1,8	3,0	4,4	3,8	4,3
C18:1	58,0	6,5	37,1	21,7	20,3
C18:2 ω-6	20,5	1,8	9,9	53,1	64,9
C18:3 ω-3	9,8	0,1	0,3	7,4	0,3
C20:0		0,5	0,4	0,3	
C20:1				0,2	
C22:1	0,4			0,3	
<b>Vitamines</b>					
A (1000 UI/kg)	18		145	19	0,3
D (1000 UI/kg)				0	0
E (mg/kg)	219	21	95	170	625
K (mg/kg)	2	0	0	0	0
<b>Énergie brute</b>					
EB (kcal/kg)	Valeurs communes aux huiles végétales 9380				

<b>Corps gras</b>			
<b>Graisses d'animaux terrestres</b>			
	<b>Saindoux</b> Graisse fondue de porc	<b>Suif</b> Graisse de parage de ruminants avant fente de la carcasse et ayant subi un traitement thermique	<b>Graisses</b> de cuisson de volailles
<b>Acides gras (% d'AG totaux)</b>			
C12:0	0,1	0,1	0,1
C14:0	1,4	3,3	1,1
C16:0	24,4	25,3	21
C16:1	2,9	3,4	5
C18:0	14,4	19,2	7,1
C18:1	42,3	37,5	41,7
C18:2 ω-6	9,2	2,8	20,6
C18:3 ω-3	0,9	0,6	1,6
C20:0	0,4		1
C20:1	0,9		0,7
C20:4 ω-6	1,7	0,2	0,1
<b>Vitamine</b>			
E (mg/kg)	19	19	27
<b>Énergie brute</b>			
EB (kcal/kg)	Valeurs communes au saindoux, au suif et aux graisses de volailles 9380		
<b>Porcs</b>			
ED Croissance et truie (kcal/kg)		7970	
EM Croissance et truie (kcal/kg)		7920	
EN Croissance et truie (kcal/kg)		7110	
dE, dMO, dMG (%)		85	
<b>Volailles</b>			
EMAn Coq (kcal/kg)	8630	7970	9000
EMAn Poulet (kcal/kg)	8250	7220	8820
<b>Ruminants</b>			
Valeurs communes au saindoux, au suif et aux graisses de volailles			
UFL (par kg)		2,73	
UFV (par kg)		2,78	
dMO (%)		90	
dE (%)		88	
<b>Lapins</b>			
ED (kcal/kg)		8000	
EMn (kcal/kg)		8000	
dE (%)		85	

## 2. Composition du régime expérimental

La composition du régime expérimental inducteur de l'obésité chez le rat *Wistar* a été déterminé, en se basant sur des données bibliographiques qui stipulent que les régimes alimentaires contenant plus de 30% des apports énergétiques sous forme de lipides (acides gras saturés) entraînent le développement d'une obésité associée à des désordres métaboliques dus à une augmentation de la prise calorique (Garait, 2006).

Afin d'évaluer l'influence de la combinaison probiotique/polyphénols sur les désordres métaboliques et les changements de la composition bactérienne du microbiote intestinal, caractéristiques du surpoids et les pathologies qui lui sont associées, nous avons opté pour un mélange de probiotiques, constitué de souches, essentiellement des ferments lactiques, certifiées GRAS (*Generally Recognized As Safe*) et déposées à la Collection Nationale de Cultures de Micro-organismes de l'Institut Pasteur ou à l'*American Type Culture Collection*. Ces souches ont fait l'objet de plusieurs recherches garantissant et certifiant : leur innocuité, leur viabilité et survie dans le tube digestif et leur adhésion aux cellules épithéliales intestinales (Drouault-Holowacz et al., 2006).

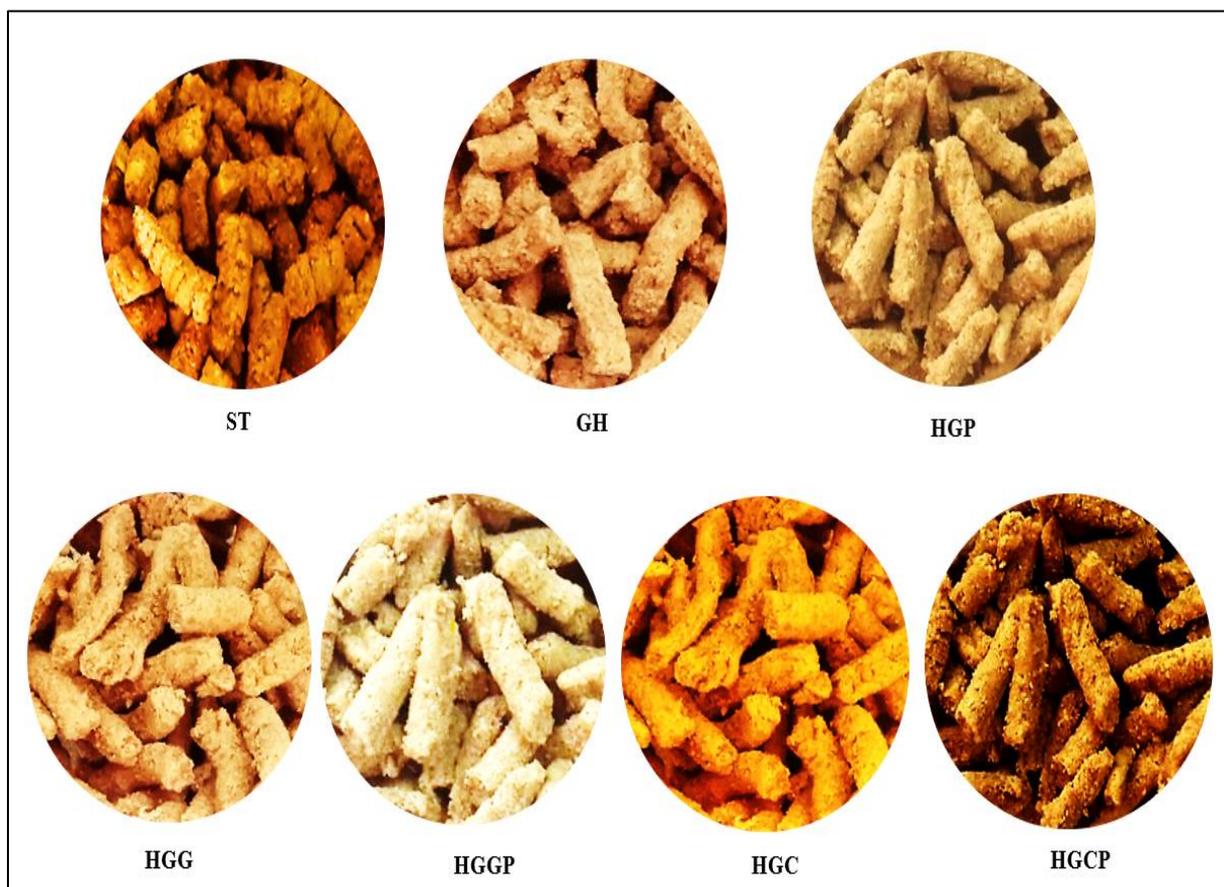
La préparation des différents régimes, au cours de cette expérimentation, a été réalisée une fois par semaine au sein du laboratoire de physiologie animale. Les ingrédients utilisés pour préparer chaque régime ont été fournis gracieusement par l'Office Nationale d'Aliment de Bétail (ONAB) et ont été répartis de telle sorte que les pourcentages des protéines, de la cellulose, des vitamines et des sels minéraux varient peu d'un régime à l'autre. La composition de régime hypergras ainsi que la constitution en acides gras saturés de la matière grasse utilisée dans la conception de ce régime figurent dans le tableau suivant.

**Tableau 31:** Composition des régimes hypergras (Sauvant et al., 2004)

<i>Constituants</i>	<i>Régime hypergras (%)</i>
<i>Amidon</i>	2.59
<i>Cellulose</i>	2.59
<i>Protéine</i>	2.59
<i>Matière grasse</i>	48
<i>Énergie (Kcal/100g)</i>	679.92

**Tableau 32:** Profile lipidique de la graisse ovine (Sauvant et al., 2004)

Acide gras	Type de liaison	Pourcentage (%)
A. laurique	C12 :0	0.1
A. myristique	C14 :0	3.3
<b>A. palmitique</b>	<b>C16 :0</b>	<b>25.3</b>
A. palmitoléique	C16 :1	3.4
<b>A. stéarique</b>	<b>C18 :0</b>	<b>19.2</b>
A. oléique	C18 :1	37.5
A. linoléique	C18 : 2 $\omega$ - 6	2.8
A. $\alpha$ Linoléique	C18 : 3 $\omega$ - 3	0.6
A. arachidonique	C20 : 4 $\omega$ - 6	0.2

**Figure 100:** Différents régimes expérimentaux

---

**Annexe VI: Milieux de culture et coloration de Gram****1. Composition des milieux de culture****Milieu de Mueller-Hinton :**

Infusion de viande de bœuf .....	300g
Hydrolysate de caséine .....	17.5g
Amidon .....	1.5g
Gélose .....	17g

**Milieu Mac Conkey (Delarras, 2014)**

Hydrolysate pancréatique de gélatine (bovine).....	20g
Lactose monohydraté bovine.....	20g
Bile déshydratée (bovine).....	5g
Pourpre de bromocrésol.....	0.01g

**Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) (Delarras, 2007)**

Polypeptone.....	10g
Extrait de viande.....	10g
Extrait autolytique de levure.....	5g
Glucose.....	20g
Tween 80.....	1.8g
Phosphate dipotassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g
Sulfate de magnésium.....	0.2g

---

Sulfate de manganèse..... 0.02g

**Milieu BEA (Bile Esculine Agar) (Delarras, 2007)**

Extrait de bœuf.....11g

Digestion enzymatique de gélatine .....34,5 g/L

Esculine .....1g

Sulfate de manganèse .....0.05g

Bile de bœuf .....2g

Citrate d'ammonium ferrique .....0,5 g/L

Gélose.....15,0 g/L

**2. Coloration de Gram**

- Déposer une goutte d'eau distillée sur une lame de verre. étaler la goutte et laisser sécher.
- Fixer par flambage à l'alcool 95°.
- Recouvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir une minute.
- Rincer rapidement à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Recouvrir la lame de lugole et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Différencier (décolorer) avec un mélange alcool/acétone .
- Rincer abondamment à l'eau du robinet.
- Recouvrir la lame de Fuchsine et laisser agir une minute.
- Rincer à l'eau du robinet.
- Sécher puis observer au microscope (objectif × 100 à immersion).

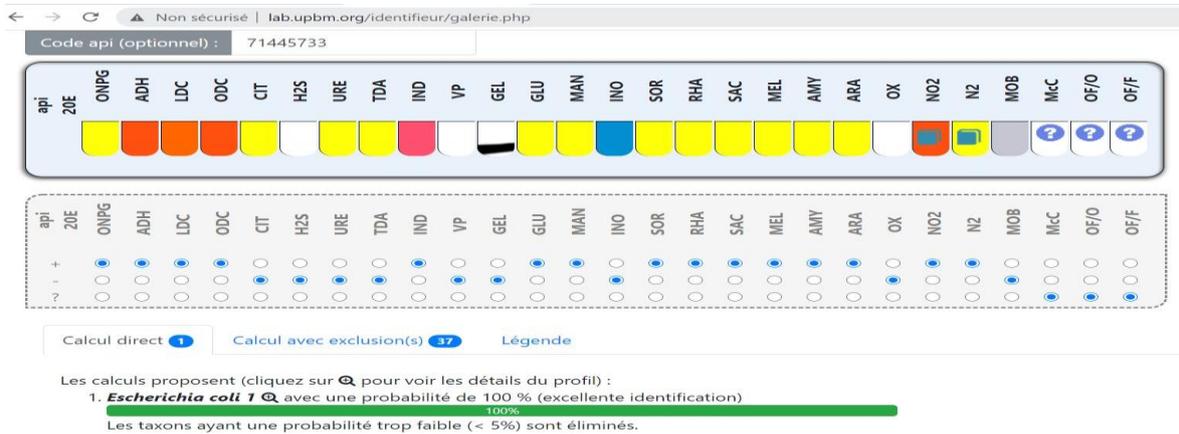
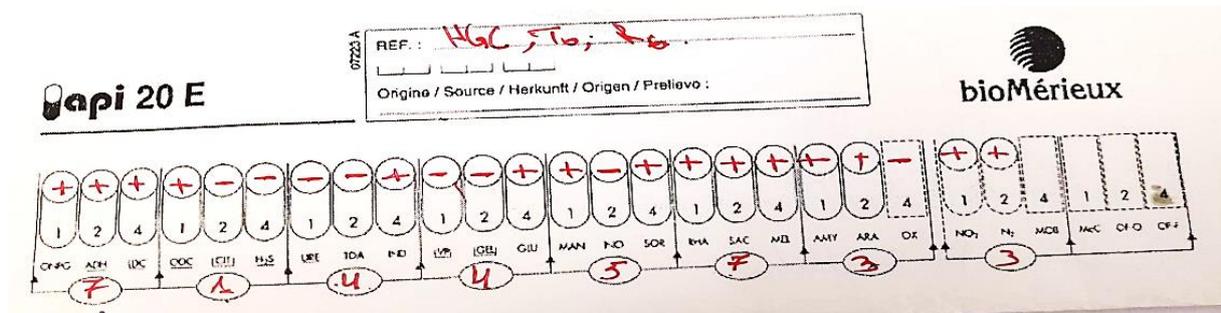
Annexe VII: Identification biochimique par la galerie Api20E

1. Résultats d'identification d'E.coli par la galerie Api20E



Figure 101: Résultat d'identification d'E.coli par la galerie Api20E

2. Profil numérique obtenu à l'aide du logiciel d'identification [lab.upbm.org/identifieur/galerie.php](http://lab.upbm.org/identifieur/galerie.php)



3. Formule de dénombrement après culture sur milieu solide :

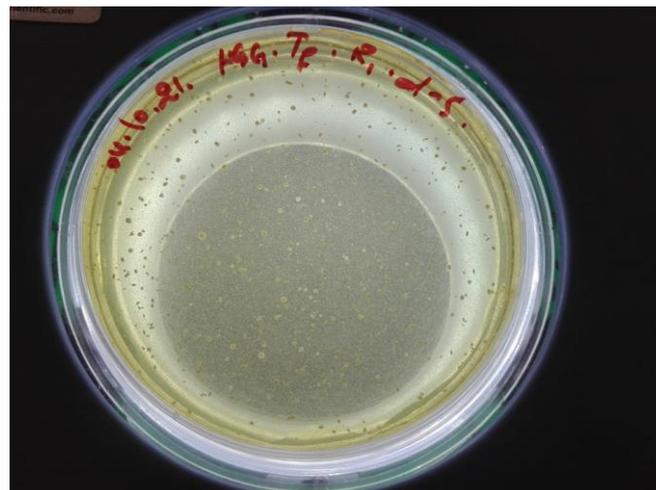
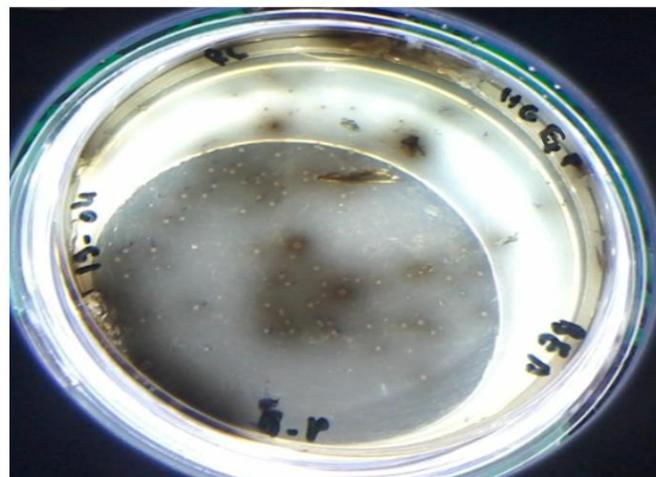
$$N = (C / V) F \text{ (UFC/g)}$$

C : nombre de colonies, V : Volume prélevé, F : Facteur de dilution

**Tableau 33:** Résultats d'identification d'E.coli par la galerie Api20E

<i>Tests</i>	<i>Composants actifs</i>	<i>Réactions/enzymes</i>	<i>Résultat Négatif</i>	<i>Résultat Positif</i>
<b>ONPG</b>	2-nitrophénol. $\beta$ D galactopyranosidase	B galactosidase (ortho nitro phényl) $\beta$ D galactopyranosidase)	Incolore	Jaune
<b>ADH</b>	L'arginine	Argininedihydrolase	Orange	Jaune Rouge
<b>LDC</b>	Lysine	Lysine décarboxylase	Orange	Jaune Rouge
<b>ODC</b>	L'ornithine	Ornithinedécarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
<b>CIT</b>	Trisodium citrate	Utilisation du citrate	Jaune	Bleu Vert pâle
<b>H2S</b>	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore/Grisâtre	Dépôt noir
<b>URE</b>	Urée	Uréase	Orange	Jaune Rouge
<b>TDA</b>	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	Jaune Marron	Rougeâtre
<b>IND</b>	L-tryptophane	Production d'indole	Incolore/vert pale	Rose
<b>VP</b>	Sodium pyruvate	Production d'acétoine (vogue proskauer)	Incolore	Rose/ rouge
<b>GEL</b>	Gélatine origine bovine	Gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
<b>GLU</b>	D-glucose	Fermentation/oxydation du glucose	Bleu /bleu vert	Jaune/jaune gris
<b>MAN</b>	D-mannitol	Fermentation/oxydation du mannitol	Bleu /bleu vert jaune	Vert jaune
<b>INO</b>	Inositol	Fermentation/oxydation du inositol	Bleu /bleu	Vert jaune
<b>SOR</b>	D-sorbitol	Fermentation/oxydation du sorbitol	Bleu /bleu	Vert jaune
<b>RHA</b>	L- mannose	Fermentation/oxydation du mannose	Bleu /bleu	Vert jaune
<b>SAC</b>	D-saccharose	Fermentation/oxydation du saccharose	Bleu /bleu	Vert jaune
<b>MEL</b>	D- melibiose	Fermentation/oxydation dmelibiose	Bleu /bleu	Vert jaune
<b>AMY</b>	Amygdaline	Fermentation/oxydationd' amygdaline	Bleu /bleu vert	Jaune
<b>ARA</b>	L- arabinose	Fermentation/oxydation d'arabinose	Bleu /bleu vert	Jaune

**Annexe VIII:** Aspect macroscopique des colonies sur les milieu de cultures



**Figure 102:** Aspect des colonies d'*E. coli* sur le milieu Mac Conkey (1), d'*Enterococcus* sp. sur le milieu BEA (2) et *Lactobacillus* sp. sur le milieu MRS (3)

**Annexe IX:** Préparation du colorant pour les coupes histologiques du foie

**Hématoxyline de Harris :**

➤ **Proportions pour environ 2 L de colorant :**

- Hématoxyline : 9 g
- Ethanol absolu : 90 ml
- Alun potassique : 180 g
- Eau distillée : 1800 ml
- Oxyde mercurique : 4,5 g
- Thymol : 9 g

**Annexe X: Probiotique Lactibiane tolérance**

**Lactibiane Tolérance** est un complément alimentaire de micro-nutrition composé de 5 souches **Bactériennes** concentrées à  $4 \times 10^9$  par sachet :

*Bifidobacterium lactis* LA 303

*Lactobacillus acidophilus* LA 201

*Lactobacillus plantarum* LA 301

*Lactobacillus salivarius* LA 302

*Bifidobacterium lactis* LA 304



L'ensemble des 5 souches sélectionnées pour **Lactibiane Tolérance®** répond à tous nos critères de qualité :

- Absence de pathogénicité pour l'homme
  - Viabilité des souches et survie dans le tube digestif
  - Adhésion aux cellules épithéliales intestinales
  - Modulation des réponses immunitaires
  - Effets souche et dose dépendants

## Annexe XI: Fiches techniques de différents analyses biochimiques

## 1- Fiche technique du kit biolabo des triglycérides



**BIOLABO**  
www.biolabo.fr  
FABRICANT :  
BIOLABO SAS,  
Les Hautes Rives  
02160, Maizy, France

## TRIGLYCERIDES GPO Method

Réactif pour le dosage quantitatif des triglycérides (TRI)  
dans le sérum et le plasma humains

REF LP80519	R1	2 x 50 mL	R2	1 x 5 mL
REF LP80619	R1	4 x 100 mL	R2	1 x 5 mL

**SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES**  
Tel : (33) 03 23 25 15 50  
Fax : (33) 03 23 25 6 256  
support@biolabo.fr


USAGE IN VITRO

**INTERET CLINIQUE (1)**

La mesure de la concentration en triglycérides sanguins est importante dans le diagnostic et le suivi des hyperlipidémies. Son augmentation peut être d'origine génétique ou secondaire à d'autres désordres métaboliques tels que : le diabète mellitus, les hyper et hypothyroïdies, les maladies hépatiques, les pancréatites aiguës et chroniques, les néphroses. Une élévation des triglycérides est aussi un facteur de risque athéro-gène. Elle est responsable de l'opalescence, voire la lactescence du sérum. Des traitements aux corticoïdes et aux oestrogènes peuvent également induire une augmentation de la triglycédermie.

**PRINCIPE (4) (5)**

Méthode de Fossati et Principe couplée à une réaction de Trinder.  
Le schéma réactionnel est le suivant :

$$\text{Triglycérides} \xrightarrow{\text{Lipase}} \text{Glycérol} + \text{acides gras libres}$$

$$\text{Glycérol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{GK}} \text{Glycérol 3 Phosphate} + \text{ADP}$$

$$\text{Glycérol 3 Phosphate} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{Dihydroxyacétone Phosphate} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$\text{H}_2\text{O}_2 + 4 \text{Chlorophénol} + \text{PAP} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinonimine (rose)} + \text{H}_2\text{O}$$

L'absorbance du complexe coloré (quinonimine), proportionnelle à la concentration en triglycérides dans le spécimen, est mesurée à 500 nm.

**PRECAUTIONS**

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Élimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectueux. Respecter la législation en vigueur.

**PREPARATION DES REACTIFS**

Prêt à l'emploi

**REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES**

1. Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre ou Analyseur de biochimie clinique.

**REACTIFS**

R1 REAGENT	REAG TRI
PIPES	100 mmol/L
Chlorure de magnésium	9.8 mmol/L
Chloro-4-phénol	3.5 mmol/L
Lipase	≥ 1000 UI/L
Péroxydase (POD)	≥ 1700 UI/L
Glycérol 3 phosphate oxydase (GPO)	≥ 2000 UI/L
Glycérol Kinase (GK)	≥ 1000 UI/L
4 - Amino - arilpyrine (PAP)	0.5 mmol/L
Adenosine triphosphate Na (ATP)	1.3 mmol/L
Agent clarifiant	1.5 mmol/L

**R2 ETALON**

STD	g/L
Triglycérides	2 g/L

Conformément à la réglementation 1272/2008, ce réactif n'est pas classé comme dangereux.

**STABILITE ET CONSERVATION**

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :

- Transvaser la quantité nécessaire, bien boucher et stocker à 2-8°C.
- Le réactif de travail (flacon R1) est stable 3 mois en l'absence de contamination.
- Ne pas utiliser le réactif s'il est trouble, en cas de baisse importante de la sensibilité ou si le blanc réactif > 0,400, à 505 nm

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)**

Sérum ou plasma (sur EDTA ou héparine) prélevés sur sujet à jeun depuis au moins 12 heures. Le sérum doit être séparé des cellules sanguines dans les 2 heures. Ne pas utiliser d'oxalate, fluorure ou citrate.

Les triglycérides sont stables dans le spécimen :

- 5 à 7 jours à 2-8°C.
- 3 mois à -20°C.
- plusieurs années à -70°C.

Eviter les congélations répétées.

**LIMITES (3)**

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

**CALIBRATION (7)**

- REF 95015 BIOLABO Multicalibrator traçable sur Masterlot interne, ou
- Etalon (flacon R2)

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

**CONTRÔLE DE QUALITE**

- REF 95010 BIOLABO EXATROL-N Taux 1
- ou REF 95516 Serum de Contrôle Lipides Taux 1
- ou REF 95011 BIOLABO EXATROL-P Taux 2
- ou REF 95526 Serum de Contrôle Lipides Taux 2

Programme externe de contrôle de la qualité  
Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série
- Au moins un contrôle par 24 heures
- Changement de flacon de réactif
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local

**INTERVALLES DE REFERENCE (4)**

Triglycérides	g/L	[ mmol/L ]
Valeur recommandée	0,35-1,60	[ 0,40-1,82 ]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

**PERFORMANCES à 37°C sur KENZA 240TX (1) (2)**

Domaine de mesure : entre 0,10 g/L et 10 g/L  
Limite de détection : environ 0,058 g/L

**Précision :**

Intra-série N = 20	Taux			Inter-série N = 20	Taux		
	normal	moyen	élevé		normal	moyen	élevé
Moy (g/L)	0,55	1,36	2,62	Moy (g/L)	0,57	1,39	2,59
S.D. g/L	0,009	0,016	0,03	S.D. g/L	0,016	0,021	0,46
C.V. %	1,6	1,2	1,1	C.V. %	2,9	1,5	1,8

**Comparaison avec réactif liquide du commerce :**

Etude réalisée sur sérums humains (n=103) entre 0,219 et 5,263 g/L  
y = 1,0139 x - 0,024376 r = 0,9977

**Sensibilité analytique :** approx. 0,200 abs pour 1 g/L

**Interférences :**

Bilirubine totale	Interférence positive à partir de 238 µmol/L
Bilirubine directe	Interférence négative à partir de 90 µmol/L
Acide ascorbique	Interférence négative à partir de 3,04 g/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 10,64 g/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 333 µmol/L
Glycérol libre (1) (2)	Suresstimulation d'environ 0,1 g/L (0,11 mmol/L), due au glycérol endogène

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

**Stabilité à bords :** 2 mois  
**Stabilité de la calibration :** 2 mois

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

**MODE OPÉRATOIRE**

L'adaptation détaillée KENZA 240TX est disponible sur demande  
Longueur d'onde : 505 nm  
Température : 37°C

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

	Analyseur automatique	Procédure manuelle
Réactif	300 µL	1000 µL
Spécimen, Etalon, Contrôle	3 µL	10 µL

Mélanger. Laisser reposer 10 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 505 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable 1 heure.

**Remarques :**

- 1- Les données de performances et stabilité ont été validées sur analyseur KENZA 240 TX et KENZA 450TX
- 2- En technique manuelle et sur autre analyseur automatique, les données de stabilité et performances doivent être établies par l'utilisateur.
- 3- Des propositions d'applications sont disponibles sur demande

**CALCUL**

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

**REFERENCES**

- (1) TIEZT N.W. Text book of clinical chemistry, 3<sup>e</sup> Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 809-857.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4<sup>e</sup> Ed., N.W. TIEZT (2000) p. 1074-1077.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4<sup>e</sup> Ed. (1995) p. 3-573 à 3-589
- (4) Fossati P., Prencipe L., Clin. Chem. (1982), 28, p.2077-2080.
- (5) Trinder P. Ann. Clin. Biochem. (1969), 6, p.27-29.
- (6) TIEZT N.W. Text book of clinical chemistry, 2<sup>e</sup> Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1994) p. 1030-1058 et p. 1073-1080
- (7) SRM - Standard Reference Material ©

Fabricant Date de péremption in vitro diagnostic. Température de conservation. Référence Produit. Consulter la notice. Numéro de lot. Stocker à l'abri de la lumière. Suffisant pour diluer avec.

Made in France Dernière version : www.biolabo.fr Version : 13/02/2019

Made in France Dernière version : www.biolabo.fr Version : 13/02/2019

## 2- Fiche technique de biosystèmes du glucose

CODE 11803 1 x 50 mL	CODE 11503 1 x 200 mL	CODE 11504 1 x 500 mL	CODE 11538 1 x 1 L
CONSERVER A 2-8°C			
Réactifs pour mesurer la concentration du glucose A utiliser uniquement in vitro dans les laboratoires cliniques			

### PRINCIPE DE LA METHODE

Le glucose présent dans l'échantillon donne, selon les réactions couplées décrites ci-dessous, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

$$\text{Glucose} + \frac{1}{2} \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{glucose oxydase}} \text{Gluconate} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4\text{-Aminoantipyrine} + \text{Phenol} \xrightarrow{\text{peroxydase}} \text{Quinoléimine} + 4 \text{H}_2\text{O}$$

### CONTENU

	CODE 11803	CODE 11503	CODE 11504	CODE 11538
A Réactif	1 x 50 mL	1 x 200 mL	1 x 500 mL	1 x 1 L
S Etalon	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL	1 x 5 mL

### COMPOSITION

**A. Réactif:** Phosphate 100 mmol/L, phenol 5 mmol/L, glucose oxydase > 10 U/ml, peroxydase > 1 U/ml, 4-aminoantipyrine 0.4 mmol/L, pH 7.5

**S. Etalon de:** Glucose/Urea/Creatinine: Glucose 100 mg/dL (5,55 mmol/L), urea 50 mg/dL, créatinine 2 mg/dL. Etalon primaire en solution aqueuse.

### CONSERVATION

Les réactifs et étalon doivent être conservés à 2-8°C. Bien refermer les flacons et éviter toute contamination lors de l'utilisation. Dans ces conditions ils resteront stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Indications de dégradation:

- Réactif: Présence de particules, turbidité, absorbance du blanc supérieure à 0,150 à 500 nm (cuvette de 1 cm).
- Etalon: Présence de particules, turbidité.

### MISES EN GARDE ET AVERTISSEMENTS

Prenez les précautions habituelles nécessaires pour manipuler tous les réactifs de laboratoire. Les fiches de sécurité sont disponibles pour l'utilisateur sur demande. L'élimination de tous les résidus doit être conforme aux guides locaux.

### PREPARATION DES REACTIFS

Réactif (A) et Etalon (S) sont prêts à l'emploi.

### EQUIPEMENT SUPPLEMENTAIRE

- Bain thermostaté à 37°C
- Analyseur, Spectrophotomètre ou photométrie pour lectures à 500 ± 20 nm

### ECHANTILLONS

Sérum ou plasma collectés par procédures normalisées. Le sérum ou le plasma doit être séparé rapidement des globules rouges pour éviter la glycolyse. Il est recommandé de prélever sur fluore de sodium.

Le glucose sérique ou plasmatique est stable 5 jours à 2-8°C. L'héparine, l'EDTA, l'oxalate et le fluorure peuvent être utilisés comme anticoagulants.

Liquide céphalorachidien prélevé par des procédures standard. Le liquide céphalorachidien peut être contaminé par des bactéries ou d'autres cellules, c'est pourquoi la glucose doit être analysée immédiatement.

### PROCEDURE

1. Placer les réactifs à température ambiante.
2. Pipeter dans des tubes à essais (Note 1)

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon glucose (S)	—	10 µL	—
Echantillon Réactif (A)	1,0 mL	1,0 mL	10 µL 1,0 mL

3. Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-20°C) ou pendant 5 minutes à 37°C.
4. Lire l'absorbance (A) de l'Etalon et de l'Echantillon face au Blanc à 500 nm. Le couleur est stable au moins 2 heures.

### CALCULS

La concentration en glucose de l'échantillon est calculée selon la formule suivante:

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}}$$

Si l'étalon glucose de 100 est utilisé pour calibrer (Note 2):

$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}}$	$\times 100 = \text{mg/dL glucose}$
	$\times 5,55 = \text{mmol/L glucose}$

### VALEURS DE REFERENCE

Sérum et plasma<sup>1)</sup>

Enfant, Adulte	80-120 mg/dL = 4,4-6,6 mmol/L
----------------	-------------------------------

## GLUCOSE




### GLUCOSE GLUCOSE OXYDASE PEROXYDASE

Liquide céphalorachidien<sup>2)</sup>

Adulte	40-70 mg/dL = 2,2-3,9 mmol/L
--------	------------------------------

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit établir ses propres valeurs de référence.

D'après le National Diabetes Data Group (US)<sup>3)</sup>, une élévation du glucose plasmatique à des taux supérieurs à 140 mg/dL (7,77 mmol/L) permettrait le diagnostic de diabète mélicite.

### CONTRÔLE DE QUALITE

Il est recommandé d'utiliser les Sérums Contrôlés de Biochimie niveau I (Code 18005, 18009 ou 18042) et II (Code 18007, 18010 ou 18043) pour vérifier la qualité de la méthodologie.

Chaque laboratoire doit établir ses propres protocoles et méthodes de Contrôle de Qualité interne afin d'apporter les modifications nécessaires en cas de dépassement des tolérances.

### CHARACTERISTIQUES METROLOGIQUES

- Limite de détection: 0,23 mg/dL = 0,0126 mmol/L
- Limite de linéarité: 500 mg/dL = 27,5 mmol/L. Pour des valeurs supérieures diluer l'échantillon au 1/4 en eau distillée et reporter l'essai.
- Répétabilité (intra-essai):

Concentration moyenne	CV	n
80 mg/dL = 4,44 mmol/L	1,2 %	20
320 mg/dL = 17,80 mmol/L	2,8 %	20

- Reproductibilité (inter-essai):

Concentration moyenne	CV	n
80 mg/dL = 4,44 mmol/L	2,7 %	25
320 mg/dL = 17,80 mmol/L	1,8 %	25

- Sensibilité: 4 mEq dU/mg = 0,22 mEq/L/mmol
- Justesse: Les résultats obtenus avec ce réactif n'ont pas montrés de différences systématiques significatives par rapport aux réactifs de référence (Note 2). Les détails des études comparatives sont disponibles sur demande.
- Interférences: L'hémolyse (hémoglobine jusqu'à 300 mg/dL), la bilirubine (jusqu'à 10 mg/dL) et la lipémie (triglycérides jusqu'à 125 mg/dL) n'interfèrent pas. L'acide ascorbique (jusqu'à 25 mg/dL) n'interfère pas. Certains médicaments et substances peuvent produire des interférences<sup>4)</sup>.

Ces données ont été obtenues en utilisant un analyseur. Les résultats peuvent varier d'un instrument à l'autre ou en utilisant une technique manuelle.

### CHARACTERISTIQUES DIAGNOSTIQUES

Le glucose est la principale source d'énergie de l'organisme. L'insuline produite par les cellules des îlots de Langerhan facilite l'entrée du glucose dans les tissus cellulaires. Une déficience de l'insuline ou une diminution de son activité entraîne une augmentation du glucose sanguin. On rencontre des concentrations élevées du glucose sanguin chez des patients atteints de diabète Mellitus (insulino-dépendant ou non) et dans d'autres syndromes<sup>5)</sup>.

L'hypoglycémie peut apparaître suite à un jeûne ou peut être due à certains médicaments, poisons, des erreurs congénitales du métabolisme ou des gastroentérites aigües<sup>6)</sup>.

Le diagnostic clinique ne doit pas être basé sur les conclusions d'un test unique mais il doit intégrer l'ensemble des données cliniques et de laboratoire.

### NOTES

1. Ces réactifs peuvent être utilisés dans la plupart des analyseurs automatiques. Demandez les informations à votre distributeur.
2. L'étalonnage avec l'étalon aqueux fourni, peut entraîner des biais sur certains analyseurs. Dans ce cas il est recommandé d'étalonner l'appareil avec un sérum étalon (Calibrateur Biochimique, Code: 18011 ou 18044).

### BIBLIOGRAPHIE

1. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor, *Ann. Clin. Biochem.* 1969; 6: 24-27.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2012.
3. National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979; 28: 1039-1057.
4. Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACCPress, 2000.
5. Fridman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCPress, 2001.

MI 1503-18

BioSystems S.A. Costa Brava, 30. 08030 Barcelona (Spain)  
www.biosystems.es  
Quality System certified according to  
EN ISO 13485 and EN ISO 9001 standards

02/2020

249

## 3- Fiche technique du kit Biomaghreb du cholestérol total

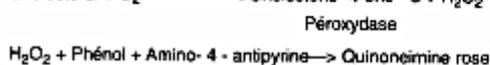
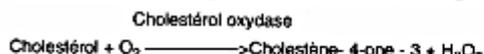
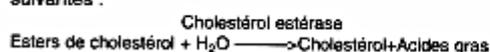
**Biomaghreb****PRESENTATION**

Ref. 20111 (260 Tests)	Ref. 20115 (500 Tests)	Ref. 20112 (120 Tests)	Ref. 20118 (500 Tests)
R1 : 3 x 120 ml	R1 : 5 x 100 ml	R1 : 4 x 30 ml	R1 : 5 x 120 ml
R2 : 3 flacons (lyophil)	R2 : 5 flacons (lyophil)	R2 : 4 flacons (lyophil)	R2 : 5 flacons (lyophil)
R3 : 1 x 5 ml	R3 : 2 x 5 ml	R3 : 1x 4ml	R3 : 2x 5ml

**PRINCIPE**

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

Détermination enzymatique selon les réactions suivantes :



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

**REACTIFS**

<b>Réactif 1</b>	Pipes pH 6.9	90 mmol/l
Solution tampon	Phénol	26 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	Cholestérol oxydase	300 U/l
	Peroxydase	1250 U/l
	Cholestérol esterase	300 U/l
	Amino-4-antipyrine	0.4 mmol/l
<b>Réactif 3</b>		200 mg/dl
Standard		2 g/l
		5.17 mmol/l

**PREPARATION ET STABILITE**

Dissoudre le contenu d'un flacon de R2 avec un flacon de tampon R1.

Le réactif de travail est stable : 1 mois à 20 - 25°C  
4 mois à 2 - 8°C

**ECHANTILLONS**

Sérum  
Plasma recueilli sur héparine

**MODE OPERATOIRE**

Longueur d'onde : .....505 nm (500 - 550)

Température : .....37°C

Cuve : .....1 cm d'épaisseur

Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

**CHOLESTEROL****Test enzymatic colorimétrique  
(CHOD- PAP)**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	10 µl	--
Echantillon	--	--	10 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les densités optiques après une incubation de 5 min. à 37° C.  
La coloration est stable 30 minutes.

**CALCUL**

$$\text{Cholesterol} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$$

mg/dl : n = 200  
g/l : n = 2  
mmol/l : n = 5,17

**LINÉARITÉ**

La méthode est linéaire jusqu'à 6 g/l (600 mg/dl - 15.4 mmol/l). Si la concentration en cholestérol est supérieure à 6 g/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et refaire le test. Multiplier le résultat par 2.

**VALEURS USUELLES**

Sérum, plasma	3,6 à 5,7 mmol/l
	1,4 à 2,2 g/l
	140 à 220 mg/dl

**BIBLIOGRAPHIE**

Trinder P., Ann. Clin. Biochem. 6, 24 (1969)  
Richmond, Clin. Chem. 19, 1350 (1973)  
Fasce C.F., Clin. Chem. 18901 (1982)

## 4- Fiche technique du kit Biomaghreb du cholestérol HDL.

**PRESENTATION**

Réf. 20113, Kit pour 500 Tests, 5 x 5 ml  
 Réf. 200112, Kit pour 100 Tests, 1 x 5 ml  
 Réf. 200113, Kit pour 2000 Tests, 10 x 10 ml

**Kit complémentaire**

Réf : 20111  
 Réf : 20112  
 Réf : 20115

**PRINCIPE**

Les chylomicrons et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient les lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique (Ref : 20111 ou 20112).

**REACTIFS**

<b>Réactif</b>	Acide phosphotungstique	13,9 mmol/l
<b>précipitant</b>	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	490mmol/l
	pH 6,2	

**STABILITE**

Conservation à 2-8°C

La date limite d'utilisation est indiquée sur chaque conditionnement.

Si le réactif est trouble ou coloré, il doit être rejeté.

**ECHANTILLONS**

Sérum ou plasma recueilli sur EDTA.

**MODE OPERATOIRE****Précipitation**

Diluer, dans une solution de NaCl 9 g/l, les sérums dont le taux est supérieur à 3,5 mmol/l de triglycérides.

Sérum.....500 µl

Réactif précipitant .....50 µl

Bien mélanger, attendre 10 min.

Centrifuger 15 min à 5000 t/min

**Dosage du cholestérol HDL**

Reconstituer le réactif «cholestérol enzymatique» selon la notice jointe au coffret. Réf. 20111ou 20112.

Longueur d'onde.....500 nm (492 à 550 nm)

Température.....37°C

Cuve.....1 cm d'épaisseur

Zéro de l'appareil .....Blanc réactif

**CHOLESTEROL HDL**

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Eau distillée	10µl	-	-
Etalon	-	-	-
Cholestérol 2g/l	-	10 µl	-
Surnageant	-	-	10 µl
Réactif Cholestérol enzymatique	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, incuber 5 min à 37°C photométrer.

Stabilité de la coloration.....30 min

**Calcul**

$$[\text{HDL-Cholestérol}] = \frac{\text{DO dosage}}{\text{DO étalon}} \times n$$

n = 5,17 mmol/l

n = 2 g/l

Multiplier le résultat obtenu par 1. 1 pour tenir compte de la dilution effectuée lors de la précipitation : on obtient la concentration du cholestérol lié aux HDL.

**M.B** : Une fois le flacon du réactif HDL est entamé il ya possibilité de formation des cristaux brillants au fond du flacon qui n'ont pas d'influence sur la qualité du produit

**Interprétation (réf 2,3)**

La Société Européenne d'Athérosclérose a établi la relation entre l'incidence des maladies coronariennes et la cholestérolémie.

Cholestérolémie	Evaluation du risque	
< 2g/l < 5,2 mmol/l	Risque faible	
2,0 à 2,5 g/l 5,2 à 6,5 mmol/l	Risque modéré si	HDL cholestérol < 0,35 g/l < 0,9 mmol/l
> 2,5 g/l > 6,5 mmol/l	Risque élevé, en particulier si :	

**BIBLIOGRAPHIE**

- BURSTEIN M. et al. Lipid Res.11. 583.(1970)
- Study Group, European Atherosclerosis Society, European Heart Journal., 9, 571 (1988)
- ARCOL, ISB, 1989, 15, 121 -124.

## 5- Fiche technique du kit Biomaghreb des TGO-ASAT.

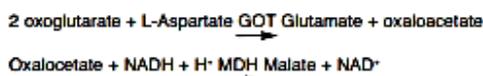
**PRESENTATION**

Ref. 20042, (50 Tests)	Ref. 20043, (100 Tests)	Ref. 20050, (450 tests)	Ref. 200492, (220 tests)
R1: 1 x 85 ml	R1: 1 x 110 ml	R1: 9 x 50ml	R1: 2 x 110 ml
R2: 20 x 3 ml (lyoph)	R2: 10 x 10 ml (lyoph)	R2: 9 x 50 ml (lyoph)	R2: 2 x 110 ml (lyoph)

**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 transferase dans l'échantillon.

GOT: Transaminase glutamique oxaloacétique

MDH: Malate Dehydrogenase

**REACTIFS**

<b>Réactif 1</b>	Tampon Tris PH 7.8 à 30°C	80 mmol/l
Solution Tampon	L- aspartate	200 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	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  $\Delta DO/\text{min} \times 1750 = \text{U/l}$

**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 16 U/l	Jusqu'à 22 U/l	Jusqu'à 31 U/l
Hommes	jusqu'à 19 U/l	Jusqu'à 26 U/l	Jusqu'à 38 U/l

**REMARQUE**

L'hémolyse peut interférer.

**BIBLIOGRAPHIE**

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

## 6- Fiche technique du kit Biomaghreb des TGP-ALAT.

**PRESENTATION**

Ref. 20046, (50 Tests)	Ref. 20047, (100 Tests)	Ref. 20040, (400 Tests)	Ref. 200462, (200 Tests)
R1: 1 x 85 ml	R1: 1 x 110 ml	R1: 9 x 50 ml	R1: 2 x 110 ml
R2: 20 x 3 ml (lyoph)	R2: 10 x 10 ml (lyoph)	R2: 9 x 50 ml (lyoph)	R2: 2 x 110 ml (lyoph)

**GPT-ALAT**

Méthode cinétique (IFCC)  
sans phosphate de pyridoxal

**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:

2-oxoglutarate + L-Alanine  $\xrightarrow{\text{GPT}}$  Glutamate + Pyruvate

Pyruvate + NADH + H<sup>+</sup>  $\xrightarrow{\text{LDH}}$  Lactate + NAD<sup>+</sup>

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**

<b>Réactif 1</b>	Tampon Tris PH 7.5 à 30°C	100 mmol/l
Solution Tampon Alanine		500 mmol/l
<b>Réactif 2</b>	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 (200462) 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.

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.		

**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 resultat par 10.

**VALEURS USUELLES**

	25°C	30°C	37°C
Femmes	jusqu'à 16 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).

## 7- Fiche technique du kit Biolabo de l'urée



## UREE Méthode colorimétrique

Réactif pour le dosage quantitatif de l'urée dans le plasma et le sérum humains, ou les urines.

REF 80221 R1 1 x 125 mL R2 1 x 1,25 mL R3 1 x 31 mL R4 1 x 10 mL  
REF 80321 R1 1 x 500 mL R2 1 x 5 mL R3 1 x 125 mL R4 1 x 10 mL

CODE CNQ : EV

## SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES

Tel : (33) 03 23 28 18 00

Fax : (33) 03 23 286 236



IVD USAGE IN VITRO

## INTERET CLINIQUE (1) (5)

Plus de 90% de l'urée est éliminée par les reins dans les urines. La mesure de la concentration plasmatique ou sérique en urée est souvent considérée comme un indicateur de la fonction rénale. Cependant certains facteurs non rénaux influencent également la concentration en urée : l'urémie est augmentée, entre autre, dans les cas de catabolisme accéléré des protéines, brûlures, traumatismes, infarctus du myocarde... Le taux d'urée est abaissé au stade terminal de grande insuffisance hépatique et s'accompagne alors d'une augmentation de l'ammoniémie. Le taux d'urée est généralement étudié conjointement au taux de créatinine (ratio urée/créatinine) pour affiner le diagnostic d'une azémie post-rénale ou pré-rénale.

## PRINCIPE (4)

Méthode enzymatique et colorimétrique basée sur l'action spécifique de l'uréase qui hydrolyse l'urée en ions ammonium et carbonate. Les ions ammonium forment ensuite avec le chlore et le salicylate un complexe coloré bleu-vert. L'intensité de coloration, proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen, est mesurée à 600 nm.

## REACTIFS

flacon R1	SALICYLATE		
Salicylate	31	mmol/L	
Nitroprussiate	1,67	mmol/L	

flacon R2	UREASE		
Uréase	≥ 15	KU/L	

flacon R3	REACTIF ALCALIN		
Sodium hypochlorite	7	mmol/L	
Hydroxyde de sodium	82	mmol/L	

Après dilution : 3L, 10x3L, litière pour le pain et les yeux.  
Après dilution : sérum  
S24-25-26-28 : Éviter le contact avec la peau et les yeux. En cas de contact, rincer abondamment à l'eau claire.

flacon R4	ETALON		
Urée 0,40 g/L (0,86 mmol/L)			

## PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
- Les réactifs contiennent de l'acide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
- La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
- Élimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

## PREPARATION DES REACTIFS

Dans un flacon R1 (Salicylate), ajouter le contenu d'un flacon R2 (Uréase). Mélanger par retournements lents.

## Réactif alcalin (flacon R3) :

Procédure n°1 et n°2 (manuelle) : Diluer (1+3) avec de l'eau déminéralisée.

Procédure n°3 (manuelle ou automatique) : Pêti à l'emploi

Étalon (flacon R4) : traverser la quantité nécessaire, bien reboucher le flacon et stocker à 2-8°C.

## STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien rebouché et à l'abri de la lumière.

- Avant ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées.

- Après reconstitution, le réactif de travail (R1+R2) est stable 1 mois en l'absence de contamination.

- Après ouverture et en l'absence de contamination, le réactif alcalin (flacon R3) dilué 1/3 est stable 3 mois.

- Après ouverture, le contenu du flacon R4 est stable au moins 3 mois en l'absence de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si l'absorbance du blanc à 600 nm est > 0,100 contre de l'eau déminéralisée.

Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)

Sérum non hémolysé ou plasma hépariné. Éviter les anticoagulants contenant des ions fluorure ou ammonium qui interfèrent avec le dosage.

L'urée est stable dans le sérum ou le plasma :

- 24 h à température ambiante.
- plusieurs jours à 2-8°C.
- au moins 2 à 3 mois congelé.

Urines de 24 h : diluer (1+19) avec de l'eau déminéralisée avant dosage.

L'urée est stable dans les urines :

- 4 jours à 2-8°C.
- Pour une meilleure conservation, ajouter un antibactérien (Thymol).

## INTERFERENCES (3)

Pas d'interférence des substances testées (acide ascorbique, bilirubine, triglycérides et hémoglobine) avec le dosage.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

## REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

- Équipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
- Sérums de contrôle normaux et pathologiques.

## CALIBRATION

- Étalon du coffret (flacon R4) ou BIOLABO Multicalibrator REF 95015 térapables sur SRM 9090.

- Où tout calibrant raccordé sur une méthode ou un matériel de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opérations de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle obtenues sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

## CONTRÔLE DE QUALITE

CODE CNQ : EV

- BIOLABO EXATROL-N Taux I REF 95010.

- BIOLABO EXATROL-P Taux II REF 95011.

- Tout autre sérum de contrôle titré pour cette méthode.

- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter l'opération en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

## INTERVALLES DE REFERENCE (2)

Dans le sérum ou le plasma	g/L	[mmol/L]
Cordon	0,45-0,86	[7,5-14,3]
Prématuré	0,06-0,54	[1,1-8,9]
< 1 an	0,09-0,41	[1,4-6,8]
Enfant	0,11-0,39	[1,8-6,4]
18-60 ans	0,13-0,43	[2,1-7,1]
60-90 ans	0,17-0,49	[2,9-8,2]
> 90 ans	0,21-0,66	[3,6-11,1]

Dans les urines	26-43 g/24 h	[0,43-0,71 mol/24 h]
-----------------	--------------	----------------------

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

## PERFORMANCES (Procédure n°1)

Intra-série N = 20	Taux moyen	Taux élevé	Inter-série N = 20	Taux moyen	Taux élevé
Moyenne g/L	0,40	1,416	Moyenne g/L	0,35	1,11
S.D. g/L	0,008	0,017	S.D. g/L	0,016	0,034
C.V. %	1,99	1,17	C.V. %	4,5	3,1

Limite de détection : environ 0,1 g/L.

Comparaison avec réactif de la concurrence :

$$y = 0,9816x + 0,0087$$

$$r = 0,9961$$

Sensibilité pour 1 g/L à 600 nm

Procédure n°1	Environ 0.400 abs
Procédure n°2	Environ 0.800 abs
Procédure n°3	Environ 0.700 abs

Note : la sensibilité est plus grande pour des longueurs d'onde

## LIMITE DE LINEARITE

Procédure n°1 et n°3 : linéaire jusqu'à 2,5 g/L (41,7 mmol/L).

Procédure n°2 : linéaire jusqu'à 1,25 g/L (20,9 mmol/L).

Au-delà, diluer le spécimen avec une solution NaCl à 9 g/L et relaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat. La limite de linéarité dépend du rapport de dilution spécimen/réactif.

## MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

## Procédure n°1 (alcalin dilué)

Mesurer dans des tubes à essai	Blanc	Étalon	Dosage
Réactif de travail (R1 + R2)	1 mL	1 mL	1 mL
Eau déminéralisée	5 µL		
Étalon		5 µL	
Spécimens (Remarque 1)			5 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin (flacon R3) dilué 1/3	1 mL	1 mL	1 mL
Mélanger. Laisser 3 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

## Procédure n°2 (alcalin dilué)

Mesurer dans des tubes à essai	Blanc	Étalon	Dosage
Réactif de travail (R1 + R2)	1 mL	1 mL	1 mL
Eau déminéralisée	10 µL		
Étalon		10 µL	
Spécimens (Remarque 1)			10 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin (flacon R3) dilué 1/3	1 mL	1 mL	1 mL
Mélanger. Laisser 3 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

## Procédure n°3 (alcalin PUR)

Mesurer dans des tubes à essai	Blanc	Étalon	Dosage
Réactif de travail (R1 + R2)	1 mL	1 mL	1 mL
Eau déminéralisée	5 µL		
Étalon		5 µL	
Spécimens (Remarque 1)			5 µL
Mélanger et laisser 4 minutes à température ambiante ou 2 minutes à 37°C			
Réactif alcalin PUR (flacon R3)	250 µL	250 µL	250 µL
Mélanger. Laisser 8 minutes à température ambiante ou 5 minutes à 37°C. Lire les absorbances à 600 nm (590-610) contre le blanc. La coloration due à la réaction est stable 2 heures.			

## Remarques :

1. Sérum, plasma ou urines diluées (1+19) dans l'eau déminéralisée.
2. Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.
3. Le test peut être aussi réalisé à 878 nm. Dans ce cas, la linéarité avec la Procédure n°2 est portée à 3 g/L.

## CALCUL

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

Sérum et plasma :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Étalon)}} \times \text{concentration de l'Étalon}$$

Urines diluées (1+19) : Multiplier le résultat par 20 (facteur de dilution).

## REFERENCES

- (1) TIEZT N.W. Text book of clinical chemistry, 3<sup>e</sup> Ed. C.A. Bartle, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1238-1241.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIEZT (2008) p. 1096-1098.
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4<sup>e</sup> Ed. (1990) p. 3-599 à 3-609
- (4) SEARCY R.L., REARDON J.E., FOREMAN J.A., Amer. J. Med. Techn. 1967, 33 : 15-20
- (5) Bernard S. Biocl. Clin. Diagnostics médicaux chirurgicaux 2<sup>e</sup> éd. p.143-144. Ed. Maloine PARIS (1969)

Fabricant : Date de péremption : Usage "in vitro" : Température de conservation : Référence Produit : Consulter le notice : Numéro de lot : Conservez à l'abri de la lumière : Suffisant pour : diluer avec :

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

Version : 28/07/2011

## 8- Fiche technique d'acide urique du kit Biolabo

**ACIDE URIQUE Méthode Uricase**

Réactif pour le dosage quantitatif de l'acide urique dans le sérum et le plasma humains ou les urines.

REF 80351	R1 6 x 30 mL R2 6 x 30 mL R3 1 x 5 mL
REF 80001	R1 2 x 100 mL R2 2 x 100 mL R3 1 x 5 mL
REF 87801	R1 6 x 200 mL R2 6 x 200 mL R3 1 x 10 mL



Made In France

I : correspond aux modifications significatives

**SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES**

Tel : (33) 03 23 28 16 00

Fax : (33) 03 23 286 256

support@biolabo.fr

Dernière révision : www.biolabo.fr

**USAGE PREVU**

I Ce réactif est réservé pour un usage professionnel en laboratoire (méthode manuelle ou automatisée).

Il permet de mesurer la quantité d'acide urique présente dans le sérum et le plasma humains ou les urines.

**GENERALITES (1) (2)**

Chez l'humain, l'acide urique est le produit principal du catabolisme des nucléosides puriques, adénosine et guanosine.

**PRINCIPE (1) (3)**

L'uricase agit sur l'acide urique pour produire de l'alloxanthine, du dioxyde de carbone et du peroxyde d'hydrogène. En présence de peroxydase, le peroxyde d'hydrogène réagit avec un chromogène (dichloro-hydroxybenzène sulfonate et amino-antipyrine) pour former une quinolémine, complexe de couleur rouge. L'absorbance mesurée à 505 nm (495-505), est proportionnelle à la quantité d'acide urique dans le spécimen.

**REACTIFS****R1 ACIDE URIQUE**

	Enzymes
Hexacyanoferrate (II) de potassium	42 µmol/L
Peroxydase	> 450 UI/L
Amino-antipyrine	0,150 mmol/L
Uricase	≥ 120 UI/L

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE.

**R2 ACIDE URIQUE**

	Tampon
Dichlorohydroxybenzène sulfonate	2 mmol/L
Tris pH 8,0 à 25°C	50 mmol/L

**Conservateur**

Ce réactif n'est pas classé comme dangereux selon le règlement 1272/2008/CE.

**R3 ACIDE URIQUE**

	Etalon
Acide Urique 100 mg/L (595 µmol/L)	

**ATTENTION :** Flam. Liq. 1 ; H228 - Liquides et vapeurs inflammables P210 : Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer,

P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche, P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P403+235 : Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais,

P501 : Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation des déchets dangereux. Substance à l'origine de la classification : Ethanol 10 - < 25%. Pour plus de détail, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

**PRECAUTIONS**

• Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr

• Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.

• Élimination des déchets : respecter la législation en vigueur.

• Traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

• Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

**PREPARATION DES REACTIFS**

Utiliser un objet non coupant pour enlever la capsule.

Verser sans délai le contenu du flacon R1 dans le flacon R2.

Mélanger doucement jusqu'à dissolution.

Flacon R3 : Prêt à l'emploi

**STABILITE ET CONSERVATION**

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 2-8°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

• Jusqu'à la date de péremption indiquée.

Après ouverture :

• Reconstituer le réactif R1 immédiatement après ouverture

Après reconstitution :

• Transférer la quantité utile et stocker le flacon d'origine à 2-8°C.

• Le réactif de travail est stable 1 mois.

• Rejeter tout réactif trouble ou si le blanc réactif à 505 nm > 0,100.

• Ne pas utiliser le réactif de travail après la date de péremption.

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (4)**

Sérum non hémolysé, plasma prélevé sur héparine ou EDTA.

Urines diluées (1+9) dans l'eau distillée avant dosage.

L'acide urique est stable dans le spécimen :

• 3 jours à température ambiante.

• une semaine à 2-8°C.

• jusqu'à 6 mois congelé à -20°C.

Ajouter NaOH pour maintenir les urines alcalines et prévenir la précipitation de l'acide urique.

**LIMITES (5) (6)**

Patient traité à la vitamine C : l'interférence due à l'acide ascorbique peut être réduite en laissant le spécimen 2 heures à température ambiante avant d'effectuer le dosage.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

**REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES**

1. Équipement de base du laboratoire d'analyses médicales.

2. Spectrophotomètre ou Automate de biochimie

**CONTRÔLE DE QUALITE**

• REF 95010 EXATROL-N Taux I

• REF 95011 EXATROL-P Taux II

• Programme externe de contrôle de la qualité

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

• Au moins un contrôle par série

• Au moins un contrôle par 24 heures

• Changement de flacon de réactif

• Après opérations de maintenance sur l'analyseur

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance, appliquer les actions suivantes :

1. Préparer un sérum de contrôle frais et répéter le test.

2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un flacon de calibrant frais.

3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, répéter le test en utilisant un autre flacon de réactif.

Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

**INTERVALLES DE REFERENCE (4)**

Sérum ou plasma	mg/L	µmol/L
Enfant(*)	20-55	[119-327]
Homme	35-72	[208-428]
Femme (**)	26-60	[155-357]
Urines	250-750 mg/24h	[1,48-4,43 mmol/24 h]

(\*) Taux plus élevé chez l'enfant nouveau né.

(\*\*) Taux plus faible durant la grossesse.

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

**PERFORMANCES**

Sur Kenza 240TX, 37°C, 505 nm

Limite de détection : environ 0,3 mg/L

**Précision :**

Intra-série N = 20	Taux		Inter-série N = 20	Taux	
	bas	élevé		normal	élevé
Moyenne (mg/L)	32,4	90,5	Moyenne (mg/L)	68,4	94,0
S.D. mg/L	0,03	0,07	S.D. mg/L	0,76	1,72
C.V. %	1,0%	0,8%	C.V. %	1,1%	1,8%

Sur Cobas Mira, 37°C, 505 nm

Domaine de mesure : 3,0 à 200 mg/L

Comparaison avec réactif du commerce : avec spécimens (n=98)

entre 20 et 120 mg/L

$y = 0,9953 x - 0,25$

$r = 0,9923$

**Interférences :**

Turbidité	Interférence positive à partir de 0,060 abs.
Bilirubine totale	Interférence positive à partir de 500 µmol/L
Acide ascorbique	Interférence négative à partir de 5 mg/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 115 µmol/L
Glucose	Pas d'interférence jusqu'à 10,1 g/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

**CALIBRATION (6)**

• REF 95015 Multicalibrant trapable sur SRM 913

ou

• Etalon (flacon R3)

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance.

**PROCEDURE****Méthode manuelle.**

Ramener les réactifs et échantillons à température ambiante.

Réactif	1000 µL
Blanc, Etalon, Contrôle ou spécimen (1)	25 µL

Mélanger. Laisser reposer 5 minutes à 25°C.  
Lire les absorbances à 505 nm (495-505) contre le blanc réactif.  
La coloration est stable 30 minutes.

**Remarques :**

1. Sérum, plasma, ou urines diluées (1 + 9) dans l'eau déminéralisée.

2. Les performances en technique manuelle devront être établies par l'utilisateur.

3. Les applications Kenza et d'autres propositions d'applications sont disponibles sur demande

**CALCUL****Sérum ou plasma**

Résultat =  $\frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$

Urines diluées (1 + 9) : Multiplier le résultat ci dessus par 10

**REFERENCES**

(1) TIEZT N.W. Text book of clinical chemistry, 3<sup>e</sup> Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 1245-1250.

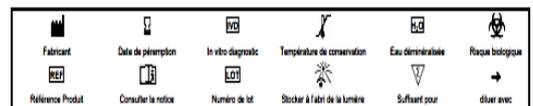
(2) BERNARD S. Biochimie clinique-Instruments et techniques de laboratoire-Diagnostic médical chirurgical. 2<sup>e</sup> Ed 1989 p153-156 Ed MALDINE PARIS.

(3) POSSATI P., PRENCIPE L., and BERTI G. Use of 3,5-dichloro-2-Hydroxybenzene sulfonic acid / 4-Amino phenazine chromogenic system in direct enzymatic assays of uric acid in serum and urine. Clin. Chem. : 26(27-231) 1980

(4) Clinical Guide to Laboratory Test, 4<sup>e</sup> Ed, N.W. TIEZT (2006) p. 1098-1099

(5) YOUNG D.S. Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4<sup>e</sup> Ed. (1995) p. 3-609 à 3-622

(6) SRM: Standard Reference Material ®



UA\_DT\_200a\_IFU\_80351-80001-87801\_FR\_V01\_20201128

UA\_DT\_200a\_IFU\_80351-80001-87801\_FR\_V01\_20201128

## 9- Fiche technique des protéine totale du kit Biolabo



**BIOLABO**  
www.biolabo.fr

FABRICANT :  
BIOLABO SAS,  
Les Hautes Rives  
02160, Maizy, France

## PROTEINES TOTALES Méthode Biuret

### Liquide Prêt à l'emploi

Réactif pour le dosage quantitatif des protéines totales dans le sérum et le plasma humains.

REFLP87016 R1 1x200 mL R2 1x5 mL

**USAGE IN VITRO**

---

**SUPPORT TECHNIQUE ET COMMANDES**  
Tel : (33) 03 23 26 16 80  
Fax : (33) 03 23 26 26 86  
support@biolabo.fr



**USAGE IN VITRO**

---

**INTERET CLINIQUE (1)**

La composition globale en protéines d'un sérum ou d'un plasma de patient doit être étudiée par détermination du contenu en protéines totales et ensuite en examinant sa composition par électrophorèse. La diminution du volume d'eau plasmatique (hémococoncentration), fréquente en cas de déshydratation (vomissements aigus, diarrhées, maladie d'Addison, ou acidose diabétique), se traduit par une hypoprotéinémie relative. L'hémolodulation (augmentation du volume d'eau plasmatique) apparaissant dans les cas d'intoxication par l'eau ou les syndromes de rétention de sel, pendant une perfusion intraveineuse, et physiologiquement en cas d'allègement prolongé, se traduit par une hypoprotéinémie relative. Souvent et pour différentes raisons, l'hypoprotéinémie peut aussi être due à une diminution de la concentration en albumine. L'augmentation de protéines spécifiques peut également conduire à une hypoprotéinémie moyenne (infection). Une hypoprotéinémie marquée peut être due à une augmentation importante des immunoglobulines monoclonales produites lors de myélomes multiples ou autres hyperprotéinémies malignes.

**PRINCIPE (4) (5)**

Méthode colorimétrique décrite par Gornall et al. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu<sup>2+</sup> en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance, proportionnelle à la concentration en protéines dans le spécimen, est mesurée à 550 nm. Le réactif Biuret contient du sodium potassium tartrate qui complexe les ions cuivreux et maintient leur solubilité en solution alcaline.

**REACTIFS**

R1 PROTEINES TOTALES	Réactif
Hydroxyde de sodium	370 mmol/L
Tartrate-Na-K	10 mmol/L
Iodure de potassium	3 mmol/L
Sulfate de cuivre	3 mmol/L

**Danger :**  
Mer Con 1: H260 - Peut être corrosif pour les métaux  
Eye Dam 1: H314 - Provoque des lésions oculaires graves  
Skin Con 1B: H314 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves  
P234 - Conserver soigneusement dans le récipient d'origine, P284 - Se laver les mains soigneusement après manipulation, P280 - Porter des gants de protection/Des vêtements de protection/équipement de protection des yeux/usage, P301+P331 - EN CAS D'INGESTION: Rincer la bouche. Ne PAS faire vomir, P303+P361+P353 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Evénir immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau, P304+P340 - EN CAS D'INHALATION: Transporter le victime à l'extérieur et le maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer, P305+P351+P338 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Evénir les lentilles de contact si elles sont portées et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer, P310 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Substances à l'origine de la classification: Hydroxyde de sodium 2,5-10%. Pour plus de détails, consulter la Fiche de données de Sécurité (FDS)

**R2 PROTEINES TOTALES** Etalon  
Albumine 60 g/L  
Conformément à la réglementation 1272/2008, ce réactif n'est pas classé comme dangereux

**REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES**

1. Equipement de base de laboratoire d'analyses médicales.
2. Spectrophotomètre ou Analyseur de biochimie clinique

**PRECAUTIONS**

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro (ne pas pipeter avec la bouche).

- Consulter la FDS en vigueur disponible sur demande ou sur www.biolabo.fr
- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
- Elimination des déchets: respecter la législation en vigueur.

Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen ou réactif d'origine biologique comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

**PREPARATION DES REACTIFS**

Prêts à l'emploi

**STABILITE ET CONSERVATION**

Stockés à l'abri de la lumière, dans le flacon d'origine bien bouché à 18-25°C, les réactifs sont stables, s'ils sont utilisés et conservés dans les conditions préconisées :

Avant ouverture :

- Conserver le standard (flacon R2) à 2-8°C
- Jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret.

Après ouverture :

Transférer la quantité nécessaire et bien reboucher le flacon :

- Le réactif (flacon R1) est stable au moins 1 an à 18-25°C
- Conserver le standard (flacon R2) à 2-8°C
- Rejeter tout réactif trouble ou dont l'absorbance > 0,150 à 550 nm.

**PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2)**

**Sérum ou plasma.**  
Analyse sur spécimen frais ou stocké à 2-8°C moins de 72 h.  
Les protéines sont stables dans le sérum :  
✓ 6 mois à -20°C.  
✓ indéfiniment à -70°C.

**LIMITES (3)**

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

**CALIBRATION (6)**

- REF 35015 BIOLABO Multicalibrator traçable sur SRM927
- Etalon (flacon R2)

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

---

**CONTRÔLE DE QUALITE**

- REF 95010 BIOLABO EXATROL-N Taux 1
- REF 95011 BIOLABO EXATROL-P Taux 2
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de façon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre façon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

**INTERVALLES DE REFERENCE (2)**

Dans le sérum ou le plasma

Protéines totales	(g/L)
dans le cordon	48-80
Prématuré	36-60
Nouveau-né	46-70
1 semaine	44-76
7 jours-1 an	51-73
1 an-2 ans	56-75
≥ 3 ans	60-80
Adulte, ambulatoire	64-83
Adulte, altéré	60-78
≥ 60 ans	Valeurs de faiblesse diminuées de 2

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

**PERFORMANCES À 37°C SUR KENZA 240TX**

Domaine de mesure : entre 7 g/L et 80 g/L  
Limite de détection : environ 0,1 g/L

**Précision :**

Intra-série N = 20	Taux normal			Taux élevé		
	Taux normal	Taux moyen	Taux élevé	Taux normal	Taux moyen	Taux élevé
Moy (g/L)	35,3	68,9	91,4	35,4	68,7	90,6
S.D. (g/L)	0,3	0,7	0,8	0,6	1,0	1,5
C.V. %	0,85	0,96	0,89	1,68	1,68	1,61

Comparaison avec réactif liquide du commerce :

Etude réalisée sur sérum humains (n=116) entre 27 et 88 g/L  
y = 0,9652 x + 2,395 r = 0,9895

Sensibilité analytique : approx. 0,0057 abs pour 1g/L

**Interférences :**

Turbidité	Interférence positive à partir de 0,114 abs
Bilirubine totale	Pas d'interférences jusqu'à 541 µmol/L
Bilirubine directe	Pas d'interférences jusqu'à 397 µmol/L
Glucose	Pas d'interférences jusqu'à 10,59 g/L
Acide ascorbique	Pas d'interférence jusqu'à 25 g/L
Hémoglobine	Interférence positive à partir de 128 µmol/L

D'autres substances sont susceptibles d'interférer (voir § Limites)

**Stabilité à bords : 2 mois**  
**Stabilité de la calibration : 2 mois**

Effectuer une nouvelle calibration en cas de changement de lot de réactif, si les résultats des contrôles sont hors de l'intervalle établi, et après opération de maintenance

**MODE OPERATOIRE**

L'adaptation détaillée KENZA 240TX est disponible sur demande  
Longueur d'onde : 550 nm  
Température : 37°C

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

	Analyseur automatique	Procédure manuelle
Réactif	250 µL	1000 µL
Spécimen, Etalon, Contrôle	5 µL	20 µL

Mélanger. Laisser reposer 10 minutes.  
Lire les absorbances à 550 nm (530-570) contre le blanc réactif.

**Remarques :**

- 1-Les données de performances et stabilité ont été validées sur analyseur KENZA 240 TX et KENZA 450TX
- 2-En technique manuelle et sur autre analyseur automatique, les données de stabilité et performances devront être établies par l'utilisateur.
- 3-Des propositions d'applications sont disponibles sur demande.
- 4-Sérum troubles ou hémolysés : Réaliser un Blanc spécimen (remplacer le réactif par NaCl 9g/L) ou une analyse bichromatique (2<sup>ème</sup> longueur d'onde 600 ou 700nm).

**CALCUL**

Le résultat est déterminé d'après la formule suivante :

$$\text{Résultat} = \frac{\text{Abs (Dosage)}}{\text{Abs (Etalon)}} \times \text{concentration de l'Etalon}$$

**Avec Blanc Spécimen :**  
Remplacer Abs (Dosage) dans la formule par Abs (Dosage) - Abs (Blanc Spécimen)

**REFERENCES**

- (1) TIZET N.W. Text book of clinical chemistry, 3<sup>e</sup> Ed. C.A. Curtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 477-530.
- (2) Clinical Guide to Laboratory Test, 4<sup>e</sup> Ed., N.W. TIZET (2006) p. 916-921
- (3) YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 4<sup>e</sup> Ed. (1995) p. 3-498 à 3-511
- (4) GORNALL C.A., BARDAWILL C. J., DAVID M. M., J. Biol. Chem. 1949, 177, 751
- (5) TIZET N.W. Text book of clinical chemistry, 3<sup>e</sup> Ed. C.A. Curtis, E.R. Silveken L. M., Christensen R. H. (1995) p. 523-524
- (6) SRM: Standard Reference Material ©

---

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

Version : 19/07/2019

Made in France

Made in France

Dernière version : www.biolabo.fr

Version : 19/07/2019

Made in France

# **PUBLICATIONS**

---

## Comparative Study of Biological Activities of Methanolic Extracts from Two Medicinal Plants *Cinnamomum zeylanicum* (Cinnamon) and *Zingiber officinale* Roscoe (Ginger)

Étude comparative des activités biologiques des extraits méthanoliques issus de deux plantes médicinales *Cinnamomum zeylanicum* (Cannelle) et *Zingiber officinale* Roscoe (Gingembre)

N. Ayad · R. Benaraba · H. Hemida · F. Abdellah

© Lavoisier SAS 2022

**Abstract** This study aimed at extracting and quantifying phenolic compounds from *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe, then subjecting them, in vitro, to screening based on their richness in polyphenols, flavonoids, and their antioxidant potential. The extraction of phenolic compounds was performed by maceration in absolute methanol. The quantification of polyphenols and flavonoids from two extracts was performed using colorimetric techniques; the Folin-Ciocalteu reagent and the aluminum trichloride. The evaluation of the antioxidant activity was performed by three methods: FRAP, DPPH-radical scavenging, and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> neutralization. Lipid peroxidation was evaluated by thiobarbituric acid reactive substances. In addition, the antibacterial activity, using the agar diffusion and incorporation methods, was tested on four bacteria (*Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778, and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862). The results showed that the methanolic extract from *Cinnamomum zeylanicum* (MEC) was richer in polyphenols than the methanolic extract of *Zingiber officinale* Roscoe (MEG). A strong antioxidant capacity was observed and highly significant with MEC compared to MEG for the three techniques used, the FRAP test (EC<sub>50</sub> = 108.56 ± 4.18 µg/ml versus 310.07 ± 6.94 µg/ml respectively). The IC<sub>50</sub> of DPPH-radical (5.27 ± 0.11 µg/ml versus 22.50 ±

0.45 µg/ml). Therefore, a highly significant inhibition potential of lipid peroxidation was obtained with MEC compared to MEG with MDA levels (57.68 ± 1.64 and 63.02 ± 2.95 µmol/g tissue), respectively. EMC has a strong antibacterial effect against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Cinnamon exerts powerful biological activities compared to ginger; this ability could be due to the high content of phenolic compounds in the bark.

**Keywords** *Cinnamomum zeylanicum* · *Zingiber officinale* Roscoe · Antioxidant activity · Polyphenols · Flavonoids · Lipid peroxidation

**Résumé** Cette étude s'intéresse à extraire et quantifier les composés phénoliques de deux plantes médicinales : *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale* Roscoe, afin de cibler entre les deux plantes à base de leur richesse en polyphénols, en flavonoïdes, leur potentiel biologique. L'extraction a été réalisée par macération dans du méthanol absolu. La quantification des polyphénols et des flavonoïdes a été réalisée par des techniques colorimétriques Folin-Ciocalteu et trichlorure d'aluminium. L'évaluation de l'activité antioxydante a été estimée par trois méthodes : FRAP, DPPH et de neutralisation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La peroxydation lipidique a été évaluée par les substances réactives de l'acide thiobarbiturique. Cependant, l'activité antibactérienne, en utilisant les méthodes diffusion sur gélose et d'incorporation, a été réalisée vis-à-vis de quatre souches *Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Bacillus cereus* ATCC 11778. Les résultats de la quantification des polyphénols indiquent que l'extrait de *Cinnamomum zeylanicum* (EMC) est l'extrait le plus riche en composés phénoliques en comparaison avec l'extrait de *Zingiber officinale* (EMG). De même, une forte capacité antioxydante a été constatée et hautement significative avec des CE<sub>50</sub> déterminées par le test FRAP sont 108,56

N. Ayad (✉) · R. Benaraba · F. Abdellah  
Laboratory of Research on Local Animal Products,  
University of Tiaret, 14000 Algeria  
e-mail : noura.ayad@univ-tiaret.dz

N. Ayad · R. Benaraba  
Faculty of Natural and Life Sciences,  
University of Tiaret, 14000 Algeria

H. Hemida · F. Abdellah  
Institute of Veterinary Sciences,  
University of Tiaret, 14000 Algeria

$\pm 4,18 \mu\text{g/ml}$  versus  $310,07 \pm 6,94 \mu\text{g/ml}$  respectivement. Une  $C_{150}$  du radical DPPH• d'EMC inférieure à celle d'EMG ( $5,27 \pm 0,11 \mu\text{g/ml}$  versus  $22,50 \pm 0,45 \mu\text{g/ml}$ ). Par conséquent, un potentiel d'inhibition de la peroxydation lipidique ( $p < 0,001$ ) a été obtenu avec EMC par rapport à EMG avec ( $\text{MDA} = 57,68 \pm 1,64$  et  $63,02 \pm 2,95 \mu\text{mol/g}$  de tissu). On a enregistré un effet antibactérien fort avec la cannelle contre les bactéries à Gram-positive et à Gram-négative. La cannelle exerce des activités biologiques puissantes par rapport au gingembre, cette capacité pourrait être due à la forte teneur en composés phénoliques de cette écorce.

**Mots clés** *Cinnamomum zeylanicum* · *Zingiber officinale* Roscoe · Activité antioxydante · Polyphénols · Flavonoïdes · Peroxydation lipidique

## Introduction

Currently, the development of oxidative stress pathologies, antibiotic resistance, and the undesirable effects of certain synthetic pharmaceutical molecules are leading researchers to look to the plant world for an alternative solution. Nearly half of the medicines we use have a natural composition, and a quarter contains extracts or active molecules directly from plants. Thus, through synthetic or hemisynthetic drugs through herbal medicine, plants are the most popular mode of treatment in the world, including in Western countries [1]. The therapeutic properties of these natural matrices are most often attributed to the different chemical groups contained in the plant organs as a result of secondary metabolism. Among all secondary metabolites, phenolic compounds represented mainly by flavonoids, are of increasing interest, as they are considered very powerful antioxidants [2]. In the arsenal of medicinal plants characterized by their richness in these compounds, we find cinnamon and ginger, both essential elements of Ayurvedic medicine, have been widely used in traditional pharmacopeia since ancient times [3]. *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon), a member of the Lauraceae family, is used in the treatment of many ailments, including those of the respiratory, digestive and gynecological systems. It has sedative, analgesic antispasmodic, vermifuge; anti-inflammatory properties [4]. In 1990, Khan and his collaborators reported that the water-soluble compound of cinnamon potentiates insulin activity and can improve the signs and symptoms characteristic of diabetes and cardiovascular diseases associated with insulin resistance, this spice is very rich in volatile phenolic compounds with antioxidant power, with an amount that can exceed 17,000 mg per 100 g of dry matter, the most discussed are cinnamic aldehyde and procyanidin polymers [5]. *Zingiber officinale* Roscoe (ginger) species of the family Zingiberaceae is one of the most con-

sumed spices and is widely used to treat a variety of infections [6]. *Zingiber officinale* Roscoe contains various phytochemicals and biologically active compounds. Among the identified components, gingerols and shogaols have been found to be the main bioactive compounds, they have shown numerous pharmacological benefits, including improving blood glucose tolerance [7], improving lipid profile [8], and modulating inflammatory factors [9]. It has been established that both spices have phytotherapeutic and pharmaceutical benefits [10,11]. However, the efficacy of a medicinal plant is essentially based on the qualitative and quantitative aspects of the extract from this plant [12]. The objective of the present study is to evaluate the antioxidant and antibacterial activities of two medicinal plants *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe, to be used as an alternative treatment against oxidative stress and infectious diseases.

## Material and methods

### Plant material

The plant material consists of two spices: cinnamon and ginger were obtained commercially. The samples were carefully cleaned and airdried ground into a fine powder using a mechanical grinder (FRITSCH, GERMANY) and carefully stored in glass jars for analysis. The two plants were identified by Mrs. SWALMI Nadia, a botanist at the level of the faculty of sciences of nature and life at the University of Ibn Khaldoun in Tiaret (Algeria).

### Animals

Six healthy male Wistar rats ( $252 \pm 6.71 \text{ g}$ ), obtained from the Pasteur Institute of Algiers (Algeria) were used to evaluate the protective effect of extracts against lipid peroxidation. The animals were kept in individual polystyrene cages under animal house conditions (temperature  $22 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ , 12/12 h light-dark cycle, and relative humidity  $60 \pm 10\%$ ) for a two weeks' period at the Veterinary Sciences Institute, Tiaret University. A standard pellet and clean drinking water were provided ad libitum. Animals were then sacrificed, subjected to a full gross examination and specific organs (liver) were obtained for further analysis.

### Bacterial strains

The bacterial strains, *Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778, and *Staphylococcus aureus* ATCC33862 were kindly provided by the university hospital Mustapha Pasha of Algiers (Algeria).

### Extraction of polyphenols

The extraction of phenolic compounds was performed using the maceration method [13]. A five (5) g sample of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* powder was macerated in 50 ml of absolute methanol at room temperature under stirring for 24 h. After filtration of the obtained mixture, the solvent was evaporated at 50 °C to obtain a dry extract which was stored at -20 °C for further analysis. The yield of extraction is expressed as a percentage and it is calculated using the following formula:

$$\text{Yield (\%)} = [\text{P extract} / \text{P powder}] \times 100$$

### Phytochemical analysis

#### Determination of total polyphenols

The total phenol content of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method [14]. A quantity of 250  $\mu\text{l}$  of the extracts was mixed with 2 ml of distilled water and 250  $\mu\text{l}$  of freshly prepared Folin-Ciocalteu reagent (0.2N). After 2 min of incubation, 500  $\mu\text{l}$  of 7.5% w/v sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) was added to the previous mixture. The resulting mixture was incubated for 30 min at room temperature in the dark. The absorbance was measured with a UV-V spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Japan) at 760 nm wavelength. Results are expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of dry matter (mg GAE/g DM).

#### Determination of total flavonoids

The total flavonoid content of the extracts was determined by the colorimetric method described by Bahorun et al. A 1 ml volume of the extracts was mixed with 1 ml of a 2% w/v aluminum chloride ( $\text{AlCl}_3$ ) solution, incubated for 10 min, then the absorbance was measured at 430 nm [15]. The results are expressed in mg quercetin equivalent per g dry matter (mg QE/g DM).

### Determination of antioxidant activity

#### Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Test

The ferric reducing antioxidant power of the extracts was determined according to the method described by Yen and Duh. A 500  $\mu\text{l}$  volume of each extract at different concentrations was mixed with 500  $\mu\text{l}$  of a phosphate buffer solution (0.2 M, pH 6.6) and 500  $\mu\text{l}$  of a 1% w/v potassium ferricyanide  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  solution. The total mixture was incubated at 50 °C for 20 min, then 500  $\mu\text{l}$  of 10% w/v trichloroacetic acid was added to stop the reaction. From the previous reaction mixture, an aliquot of 1 ml was combined with 1 ml of distilled water and 500  $\mu\text{l}$  of 0.1% w/v  $\text{FeCl}_3$  aqueous solu-

tion. The colorimetric measurement was performed at 700 nm [13]. Three standard antioxidant solutions were used as a positive control, gallic acid, quercetin, and ascorbic acid. The reducing power of extracts and standards is represented by the values of the median effective concentrations ( $\text{EC}_{50}$ ).

#### DPPH• radical trapping test

This method is based on measuring the ability of antioxidants to trap the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•). The effect of each extract on DPPH• is measured by the procedure described by Que et al. A volume of 750  $\mu\text{l}$  of different concentrations of each extract and antioxidant standards (gallic acid, quercetin, and ascorbic acid expressed in  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was added to 750  $\mu\text{l}$  of the freshly prepared 4 mg/mL DPPH• solution. The reaction mixture was incubated at room temperature and in the dark for 50 min, the absorbance was read at 517 nm [16]. The median inhibition concentration ( $\text{IC}_{50}$ ) values were determined graphically by exponential regression of extracts and solutions, and the antiradical activity % was calculated according to the following formula:

$$\text{AA (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

Where AA (%): Antiradical activity;  $A_0$ : The absorbance of DPPH• radical;  $A_1$ : The absorbance of the sample.

#### Neutralization of hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

The hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) scavenging capacity of extracts was determined by using the method of Ruch et al. Two ml of each extract at different concentrations were added to 1.2 ml of a  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution (4 mM in phosphate buffer 0.1 M at pH 7.4). The blank is prepared in the same way by replacing the  $\text{H}_2\text{O}_2$  solution with a phosphate buffer. After a 15 min incubation period, the absorbance was measured at 230 nm. Gallic acid and ascorbic acid (expressed in  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) were used as standards [17]. The  $\text{IC}_{50}$  values were calculated from the linear regression curves. The  $\text{H}_2\text{O}_2$  inhibition percentage was calculated according to the following formula:

$$\text{H}_2\text{O}_2 (\%) = [(A_0 - A_1)/A_0] \times 100$$

Where  $A_0$ : The absorbance of  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;  $A_1$ : The absorbance of the sample.

### Protective property of polyphenolic extracts against tissue lipid peroxidation

#### Liver homogenate preparation

At the necropsy, the liver of six Wistar rats was carefully removed and rinsed with 9% NaCl. A 10 g liver pooled sample was added to 100 ml (0.1 M, pH 7.4 having

0.15 M KCl) phosphate buffer, ground by ultraturax T25 (Janke & Kunkel GmbH & Co KG; IKA Labortechnik Staufen Germany) and centrifugated at 4000 rpm for 20 min at 4 °C [18], the resulting supernatant was recovered and incubated for 1 h in ice and then stored at -20 °C.

#### *Lipid peroxidation and thiobarbituric acid reactions*

Lipid peroxidation assay was performed by a formerly described protocol [19]. Phosphate buffer 580 µl (0.1 M; pH 7.4), 200 µL of extract or standard, 200 µL liver homogenate, and 20 µL ferric chloride (100 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.50% prepared in phosphate buffer 0.1 M, pH 7.4 [20], were combined to form a mixture that was placed in a shaking water bath for 1 h at 37 °C. The assessment of malonic dialdehyde (MDA) content was performed according to the protocol described by [21], a volume of 800 µL of a 0.375% (w/v) TBA, TCA (20%), BHT (0.01%), and HCL (1N) mixture was added to 200 µL of the previously prepared solution. After shaking for 2 min, the mixture was incubated in a water bath at 100 °C for 10 min. During this step, the aldehyde functions of MDA were released by acid hydrolysis at 100 °C. They react with TBA, forming a pink-colored complex (MDA-TBA). To stop the reaction, the tubes were placed in ice, and the complex thus formed is extracted with 2 ml of 1-butanol for 2 min. After centrifugation at 4000 rpm for 10 min at 4 °C (Sigma, 3K10, Laborzentrifugen, Germany), the supernatant was collected and the absorbance of the pink chromogen was obtained and measured at 532 nm using a spectrophotometer (Shimadzu 1240, Japan). The tissue concentration of malondialdehyde (MDA) was calculated using a linear PET curve. The percentage of MDA inhibition was determined according to the following formula:

$$\text{MDA (\%)} = [(C_0 - C_1)/C_0] \times 100$$

Where C<sub>0</sub>: MDA concentration without protection; C<sub>1</sub>: MDA concentration with protection

#### **Evaluation of Antibacterial Activity**

##### *Agar diffusion method*

A bacterial suspension was prepared in sterile physiological water (0.9%) for each strain. The turbidity of this suspension was adjusted to 0.5 Mac Farland. This inoculum was spread on the surface of the Mueller–Hinton agar plate. Sterile filter discs (6 mm diameter) were impregnated with 20 µL of each extract solution and then deposited on the surface of the inoculated agar. The plates were incubated at 37 °C for 24 h [22]. Antibiotic discs of tetracycline, amikacin, and erythromycin (Merck, Germany) served as positive controls, and discs impregnated with dimethyl sulfoxide (DMSO) served as negative controls. Antibacterial activity was deter-

mined by measuring the diameter of the inhibition zone around each disc.

#### *Determination of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC)*

The MIC and MBC of the extracts were determined using an agar incorporation technique [23]. The different extracts were added in increasing amounts (v/v) to the Mueller–Hinton media for a final volume of 5 ml. The mixture was poured into plates, then each inoculum standardized to 10<sup>6</sup> cells/mL was deposited on the agar plate and incubated at 37 °C for 24 h. MIC is determined as the lowest concentration of the extract that inhibits visible bacterial growth. However, MBC is the lowest concentration of the extract that killed 99% of the bacteria in the initial inocula within 24 h.

#### **Statistical analysis**

Results were expressed as mean ± standard error (M ± SE). The data analysis was performed using the Statistica StatSoft software, (version 6.1, Statsoft, Tulsa, OK). The one-factor ANOVA was used to compare the means, followed by Duncan's post-hoc test. Differences were considered statistically significant at a *p*-value of less than 0.05 across all statistical analyses.

## **Results**

#### **Extraction yield, quantification of phenolic and flavonoid compounds**

Results of extraction yield and phenolic compound content are shown in table 1. The total polyphenol (TP) and flavonoid (TF) content of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe are determined from the linear regression equation of the calibration curve using different concentrations of gallic acid and quercetin. The results are expressed in mg gallic acid equivalent (GAE) and mg quercetin equivalent (QE)/g dry matter. The methanolic extract of cinnamon (EMC) has yielded the highest yield, evaluated at 11.68 ± 0.012% in comparison with the methanolic extract of ginger (EMG) with 7.65 ± 0.003%. The difference found is highly significant, *P* = 0.0009.

The extraction by the maceration technique using absolute methanol results in very different contents of phenolic compounds and flavonoids. These contents vary considerably between the two plants. A highly significant (*P* < 0.001) amount of total polyphenols was obtained with the methanolic extract of cinnamon (MEC) compared to methanolic extract of ginger (MEG) with 825.30 ± 36.02 mg EAG/

**Table 1** Extraction yield and content of phenolic and flavonoid compounds

Extra-cts	Yield (%)	Total polyphenols (mg GAE/g DM)	Total flavonoids (mg QE/g DM)
MEC	11.68 ± 0.012	825.30 ± 36.02	13.40 ± 1.44
MEG	7.65 ± 0.003 <sup>c</sup>	274.19 ± 10.96 <sup>c</sup>	57.26 ± 1.55 <sup>c</sup>

The values represent the means ± SE (N = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEC. (c: P < 0.001)

g DM and 274.19 ± 10.96 mg EAG/g DM, respectively. However, the highest flavonoid content was obtained with the methanolic extract of ginger 57.26 ± 1.55 mg EQ/g vs 13.40 ± 1.44 mg EQ/g DM. This difference is highly significant (P = 0.0001) (Table 1).

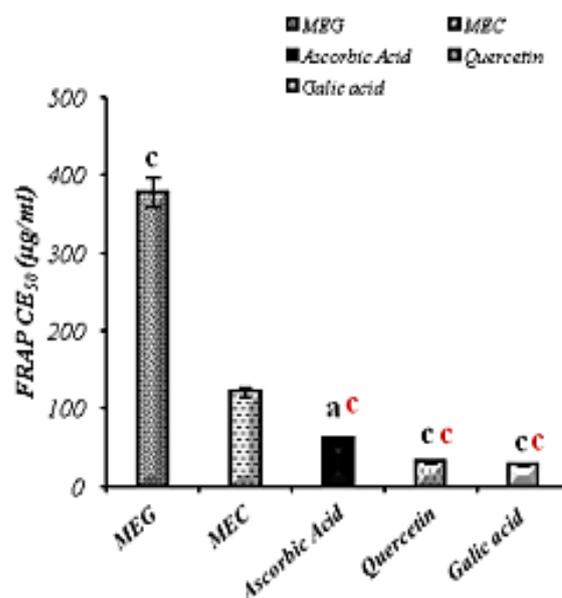
#### Antioxidant activities

##### • Reducing power (Ferric Reducing Antioxidant Power)

The reducing power of methanolic extracts of *Cinnamomum zeylanicum* (MEC), *Zingiber officinale* Roscoe (MEG), gallic acid, quercetin, and ascorbic acid (used as standard antioxidants), are represented in Fig. 1 indicates that MEC is the most active extract and presents a higher and highly significant (P < 0.001) antioxidant activity, reflected by the iron-reducing capacity, in comparison with MEG and this with EC<sub>50</sub> of 108.56 ± 4.16 µg/ml and 310.07 ± 6.94 µg/ml respectively; this ability is probably due to the abundance of hydroxyl groups in the phenolic compounds of cinnamon that can serve as electron donors. Nevertheless, the antioxidant activity of our extracts is largely low compared to the antioxidant activity of the standard substances (Fig. 1). This is recorded through the iron-reducing power (FRAP) EC<sub>50</sub> classified as follows: gallic acid: 26.36 ± 1.09 µg/ml, quercetin: 31.06 ± 1.45 µg/ml, and ascorbic acid: 59.89 ± 1.27 µg/ml. These results indicate a positive correlation between the total content of phenolic compounds in our extracts and the antioxidant activity reflected by the reducing power of iron. In fact, the correlation coefficient established between the content of polyphenols of the methanolic extract of cinnamon (EMC) is 0.9515 and 0.9966 for the EMG. This indicates that 95–99% of the antioxidant capacity of the extracts is due to the contribution of phenolic compounds which are the dominant antioxidants in these extracts [24].

##### • DPPH—radical scavenging activity

DPPH free radical scavenging activity (%) of the various extracts is shown in table 2. Both extracts and standards



**Fig. 1** Reducing power of methanolic extracts of *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* Roscoe extracts and antioxidant standards expressed in an effective concentration of 50 µg/ml, (Mean ± standard error), (N = 6) Values with a superscript are significantly different from those in the MEC and MEG. (a: P < 0.05; c: P < 0.001)

recorded a concentration-dependent scavenging effect. The highest activity was recorded with MEC (95.65 ± 0.96%) compared to MEG (93.94 ± 0.44%) at high concentrations. However, the extracts show low free radical scavenging activity compared to the standards (gallic acid, quercetin, and ascorbic acid) which record almost similar inhibition rates at low concentrations is 96.04 ± 0.28%, 94.53 ± 0.76%, and 93.62 ± 0.46%, respectively. The concentrations required (in µg/ml) for the trapping of 50% of the DPPH radical are 11.31 ± 1.07 µg/ml for cinnamon, while they are 29.60 ± 1.60 µg/ml for ginger with a highly significant difference (P = 0.0001). However, the antiradical activity of the standards is very powerful compared to our extracts, we note very low IC<sub>50</sub> of order 2.07 ± 0.23 µg/ml, 5.03 ± 0.65 µg/ml, and 5.26 ± 0.23 µg/ml for gallic acid, quercetin, and ascorbic acid, respectively (Fig. 2).

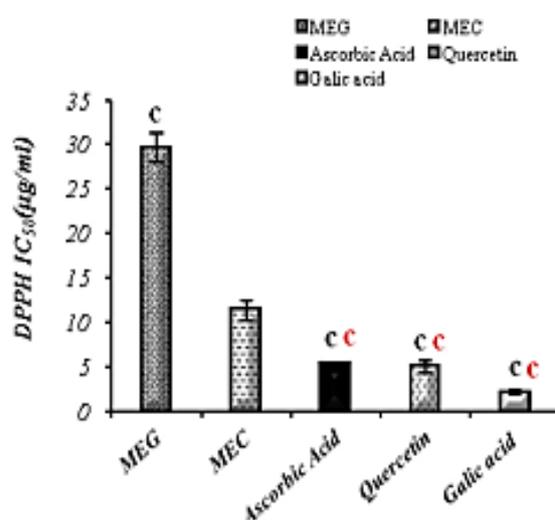
##### Neutralization of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging ability of extracts and standards (gallic and ascorbic acids) is summarized in table 2. Both extracts and standards showed a dose-dependent ability to scavenge the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The scavenger effect of methanolic extracts of cinnamon was superior to that of ginger with a percentage of inhibition of 91.76 ± 0.57% and 82.47 ±

**Table 2** Reducing power (OD), scavenging activity of the free radical DPPH<sup>•</sup> (%) and Hydrogen peroxide scavenging activity (%) of *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* Roscoe extracts, gallic acid, quercetin, and ascorbic acid (Mean ± standard error), (N = 6)

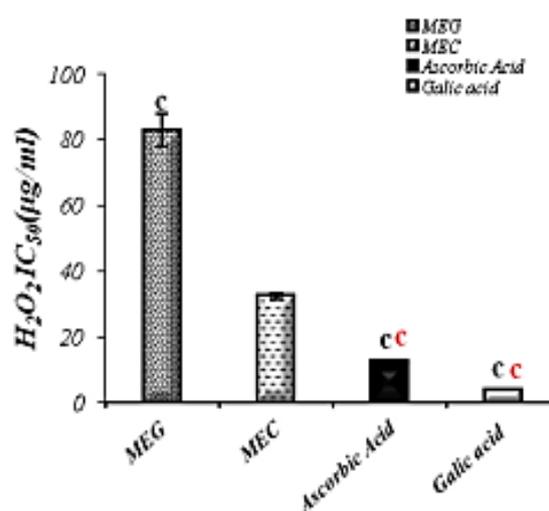
	FRAP(OD)	DPPH <sup>•</sup> (%)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	C (mg/ml)
MEC	1.25 ± 0.06 to 0.07 ± 0.009	95.65 ± 0.97 to 11.88 ± 0.98	91.76 ± 0.57 to 17.8 ± 4.73	0.172
MEG	0.62 ± 0.05 to 0.01 ± 0.004	93.94 ± 0.44 to 26.89 ± 2.82	82.47 ± 3.10 to 10.2 ± 4.72	0.274
Gallic Acid	1.23 ± 0.02 to 0.08 ± 0.02	96.04 ± 0.28 to 25.72 ± 2.81	99.84 ± 0.04 to 31.72 ± 0.4	0.05
Quercetin	0.81 ± 0.05 to 0.02 ± 0.003	94.53 ± 0.76 to 22.67 ± 3.47	–	0.05
Ascorbic Acid	0.50 ± 0.11 to 0.02 ± 0.002	93.62 ± 0.46 to 21.92 ± 2.71	97.36 ± 0.79 to 34.75 ± 0.35	0.05

The values represent the means ± SE (N = 6)



**Fig. 2** Scavenging activity of the free radical DPPH<sup>•</sup> of *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* Roscoe extracts and antioxidant standards expressed in an inhibitory concentration of 50 µg/ml, (Mean ± standard error), (N = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEC and MEG. (c: P < 0.001)

3.10%, respectively. On the other hand, the two standards showed a very high H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibition percent with 99.87 ± 0.034% for gallic acid and 99.69 ± 0.09% for ascorbic acid. The necessary concentrations (in µg/ml) for the neutralization of 50% of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> are 32.40 ± 0.93 µg/ml for MEC, which is highly significantly lower (P of 0.0001) than the IC<sub>50</sub> of MEG that is 82.87 ± 4.93 µg/ml. Nevertheless, the antioxidant activity of our extracts was largely lower compared to the antioxidant activity of the standard antioxidant substances (Fig. 3). This is confirmed by the IC<sub>50</sub> of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> neutralization: gallic acid at 3.7 ± 0.036 µg/ml and ascorbic acid at 11.31 ± 0.80 µg/ml. The classification based on the scavenging capacity in decreasing order according to the potency is as follows: gallic acid > ascorbic acid > cinnamon > ginger. It appears that gallic acid has strong reducing



**Fig. 3** Hydrogen peroxide scavenging activity of *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* Roscoe extracts and antioxidant standards expressed in an inhibitory concentration of 50 µg/ml, (Mean ± standard error), (N = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEC and MEG. (c: P < 0.001)

power, powerful antiradical activity, and a better H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging effect compared to our extracts and reference antioxidants because of its low EC<sub>50</sub> and IC<sub>50</sub>.

#### Protective effect of extracts against *in vitro* lipid peroxidation

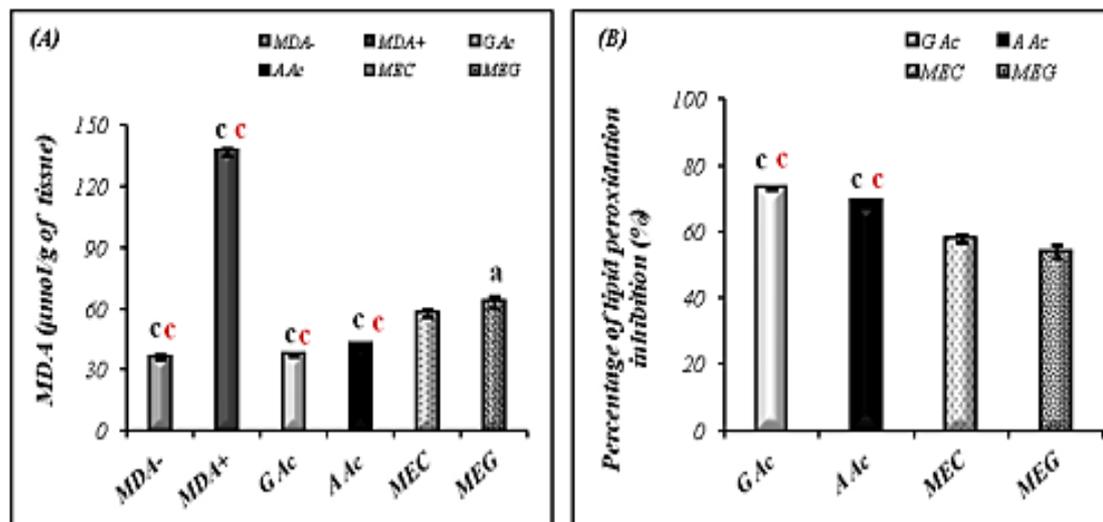
The results of the inhibitory effect of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe extracts and reference antioxidants against lipid peroxidation are illustrated in figure 4. The findings show a highly significant increase (P = 0.00002) of MDA<sup>+</sup> level (with stress) 137.12 ± 1.94 µmol/g of tissue, compared to the MDA<sup>-</sup> level (without stress) 35.96 ± 1.07 µmol/g of tissues. Better protection against lipid peroxidation was observed with the reference

antioxidants: gallic acid and ascorbic acid, with  $37.66 \pm 0.51$  and  $43.28 \pm 0.75$   $\mu\text{mol/g}$  of tissue, respectively. These contents are close to that of negative control (without stress); this is equivalent to  $72.46 \pm 0.37\%$  and  $68.35 \pm 0.55\%$  inhibition of MDA for gallic and ascorbic acid, respectively. Also, our investigation was revealed the inhibitory potential of MDA by the methanolic extracts of *Cinnamomum zeylanicum* (MEC) and *Zingiber officinale* Roscoe (MEG), which induced a highly significant decrease ( $P < 0.001$ ) in lipid peroxidation compared to a positive control (with stress) with MDA contents of  $57.68 \pm 1.64$   $\mu\text{mol/g}$  of tissue for MEC and  $63.02 \pm 2.95$   $\mu\text{mol/g}$  of tissue for MEG. No significant difference was found between these two extracts. However, a reduction in lipid peroxidation of  $57.82 \pm 1.20\%$  and  $53.91 \pm 2.15\%$  for MEC and MEG, respectively was found in comparison with the MDA<sup>+</sup> content.

#### Evaluation of antibacterial activity

The results obtained by the agar diffusion technique indicate an inhibitory effect of the extracts which react positively and distinctly on the growth of all the bacterial strains tested (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*), as shown in table 3. We observed that the rate of inhibition increased with increasing concentrations of the methanolic extracts of cinnamon and ginger (dose-dependent effect). Moreover, we found a strong and positive correlation between the concen-

tration of the extracts and the diameters of the inhibition zones; the respective correlation coefficients were recorded for MEC ( $r = 0.9297$ ,  $r = 0.9772$ ,  $r = 0.9899$ , and  $r = 0.9877$  for *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*, respectively), and for MEG ( $r = 0.9949$ ,  $r = 0.9787$ ,  $r = 0.9868$ , and  $r = 0.999$  were recorded for *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*, respectively). The result obtained has shown that the methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* (EMC) has a strong inhibitory effect compared to the methanolic extract of *Zingiber officinale* Roscoe (EMG) against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* (see Table 3). However, MEG exerts a greater inhibitory effect than MEC against *Bacillus cereus* with diameters of  $17.14 \pm 1.003$  mm versus  $15.14 \pm 0.78$  mm. It is suggested that the antibacterial activity is mainly due to the richness of phenolic compounds and their chemical composition. The incorporation of MEC showed a strong antibacterial effect with MIC values of 5 mg/mL against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and 6 mg/mL against *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*, and MBC values of 16, 16, 18, and 20 mg/mL against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively (Table 4). Nearly similar MIC values were recorded for the tested strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Bacillus cereus* when the plates were incorporated with MEG. However,



**Fig. 4** Protective properties of *Cinnamomum zeylanicum* extract, *Zingiber officinale* Roscoe extract, gallic acid, and ascorbic acid against lipid peroxidation expressed in MDA  $\mu\text{mol/g}$  of tissue (A), and the percentage of inhibition of peroxidation (%) (B), (Mean  $\pm$  standard error), ( $N = 6$ ). Values with a superscript are significantly different from those in the MEC and MEG. (a:  $P < 0.05$ ; c:  $P < 0.001$ ); Abbreviations: MDA<sup>-</sup>: negative control; MDA<sup>+</sup>: positive control; GAc: gallic acid; AAc: ascorbic acid; MEC: methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum*; MEG: methanolic extract of *Zingiber officinale* Roscoe

**Table 3** Diameters of inhibition zones (mm) of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe extracts and antibiotic discs against the tested bacteria

Extracts	Bacteria			
<b>MEC (mg/ml)</b>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
250	12.95 ± 0.33	13.18 ± 0.56	15.14 ± 0.78	14.75 ± 0.14
125	11.18 ± 0.18	10.82 ± 0.52	11.67 ± 0.54	11.55 ± 0.33
62.5	9.82 ± 0.28	9.34 ± 0.22	8.40 ± 0.23	9.22 ± 0.26
31.25	7.30 ± 0.33	7.56 ± 0.31	7.38 ± 0.15	7.44 ± 0.33
<b>MEG (mg/ml)</b>				
250	11.04 ± 0.28 <sup>c</sup>	12.65 ± 0.29	17.14 ± 1.003	12.65 ± 0.41 <sup>c</sup>
125	9.14 ± 0.24 <sup>c</sup>	10.72 ± 0.19	13.23 ± 0.40 <sup>a</sup>	10.03 ± 0.23 <sup>b</sup>
62.5	8.01 ± 0.28 <sup>b</sup>	8.45 ± 0.24 <sup>a</sup>	9.98 ± 0.29 <sup>b</sup>	8.53 ± 0.41
31.25	7.17 ± 0.26	7.53 ± 0.33	7.91 ± 0.38	7.73 ± 0.46
<b>Antibiotics (µg/disc)</b>				
Tetracycline (30 µg/disc)	15.30 ± 0.45	11.08 ± 0.47	10.91 ± 0.47	16.45 ± 0.31
Amikacin (30 µg/disc)	24.07 ± 0.45	21.27 ± 0.21	21.10 ± 0.41	26.95 ± 0.20
Erythromycin (15 µg/disc)	15.07 ± 0.61	–	–	21.11 ± 0.49

The values represent the means ± SE (N = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEC. (a: P < 0.05; b: P < 0.01; c: P < 0.001)

**Table 4** Minimum inhibitory (MIC) and bactericidal (MBC) concentrations (mg/ml) of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe against the bacteria tested

Bacteria	Methanolic extract of <i>Cinnamomum zeylanicum</i>		Methanolic extract of <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	
	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Escherichia coli</i>	5	18	12	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	20	12	22
<i>Bacillus cereus</i>	6	16	11	18
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	16	8	16

*Staphylococcus aureus* was the most sensitive to MEG with a MIC of 8 mg/ml, but the MBC values were slightly higher than those obtained with MEC (Table 4).

## Discussion

### Yield, phenolic and flavonoid compounds

These results are similar to those reported by Jayaprakasha et al. The extraction of phenolic compounds, using methanol reveals a significantly higher yield, compared to the extraction yields obtained using ethyl acetate and acetone (4.99 ± 1.31% versus 1.87 ± 0.18% and 1.74 ± 0.78% respectively) [25]. This difference could be explained by the fact that the extraction technique used is the Soxhlet technique and not maceration. The yield of methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* obtained in our study differs from that

reported by Kamath et al., the latter reported a yield of 15.30% after maceration using ethanol as extraction solvent, however, the extraction time used by these authors is 72 h instead of 24 h [26]. Ervina and his co-workers report that the extraction of phenolic compounds from *Cinnamomum zeylanicum* by infusion at 90 °C for 20 min without stirring, gives a yield of 18.83% [27]. But Santiago-Adame et al., using the same technique as Ervina and his team, an infusion of *Cinnamomum* at 80 °C and under continuous stirring for 10 min obtained a much lower yield of 4.75% [28].

The yield of the methanolic extract from *Zingiber officinale* Roscoe is higher than that obtained by Oke et al. (7.65% vs. 2%). Even though the latter used the same technique and the same solvent for extraction as those used during our study. However, the rhizome of ginger used was peeled and fresh [29]. This result agrees with that of Kejing et al., the extraction yield of *Zingiber officinale* Roscoe obtained

by these authors is  $2.96 \pm 0.32\%$  [30]. However, Thiraphatthanavong and co-workers reported a yield of 25.26% [31]. It is well documented that the variations in extraction yield and polyphenol content depend on the experimental conditions, essentially the method, the solvents used, and the extraction temperature. It is also widely accepted that variations in extraction yields could be attributed not only to the difference in the polarity of the solvent used, which plays a key role in increasing the solubility of phenolic compounds but also to the polarity of the phenolic compounds that make up the extract [32–34].

The results of the quantification of polyphenols obtained during this study corroborate those presented by Przygodzka et al., the latter reported that the ethanolic extract of cinnamon is among the extracts richest in phenolic compounds in comparison with extracts from other spices, mainly the ethanolic extract of ginger (140.8–170.4 mg EAG/g of DM vs. 2.2–10.8 mg EAG/g DM) [35]. Also, Lu et al. reported the same finding in their study; the polyphenol content of the ethanolic extract of cinnamon and ginger obtained by this team is  $45.24 \pm 2.41$  versus  $9.20 \pm 0.50$ . However, these contents remain lower than the contents obtained during our study, this divergence is related to the extraction conditions used by Lu and his collaborators, who performed an extraction by maceration in 60° ethanol, for 24 h and at a temperature of 35 °C [36]. On the other hand, in a comparative study of antioxidant properties and total phenolic content carried out on 30 extracts from plants of industrial interest, the amounts of polyphenols in the aqueous extract of cinnamon and ginger are  $309.23 \pm 0.05$  and  $26.18 \pm 0.23$  mg EAG/g DM, respectively [37]. The results concerning the phenolic compound contents of the methanolic extract of cinnamon obtained during our study are largely superior to those reported by Mathew and Abraham, we noted  $825.30 \pm 36.02$  vs  $289.0 \pm 2.2$  mg EAG/g DM [38]. These investigators used the same extraction solvent (methanol). The polarity of the solvent can considerably influence the phenolic compound content of the extract. This is confirmed by Tohma et al., who reported that the ethanolic extract of ginger is the richest in phenolic compounds and flavonoids with a content of 137.5 µg/mg of GAE for polyphenols and 25.1 µg/mg of QE for flavonoids, compared to the aqueous extract. These presents values of the order of 52.8 µg/mg of GAE for the polyphenols contents and 3.9 µg/mg of QE for the flavonoids [39].

The quantitative variation in polyphenol and flavonoid content can be attributed to several factors such as climatic conditions, geographical location, harvesting period, storage conditions, and genetic factors. But also, the degree of ripening of the plant has a strong influence on the polyphenol content [40]. Therefore, comparing our results with those in the literature, it is clear that there are divergences between the polyphenol and flavonoid contents obtained and those

mentioned in the literature; this can be explained by the fact that the methods, the types, and the percentage of solvents, the temperature and the duration of the extractions, can significantly influence the estimation of the content and type of total phenolic compounds and flavonoids in the different extracts [41,42]. In addition, Mohsen and Ammar demonstrated that the higher polarity of the solvent tends to yield higher amounts of polyphenols [43]. The drying process can significantly influence the contents of polyphenols and flavonoids, it has often been found that the content of phenolic compounds in various plants and spices changes irregularly with different drying processes [30,44,45].

### Antioxidant activities

Generally, polyphenol and flavonoid content has been correlated with biological activities, and the efficacy of these activities depends on the experimental method, nature, and concentration of the extracts [46–48]. Our findings corroborate those reported by the team of Mathew and Abraham, who described an increase in reducing power with increasing concentrations of ascorbic acid and methanolic extract of cinnamon bark, showing that the cinnamon extract can act as an electron donor and can react with free radicals to convert them into more stable products and thus inhibit free radical chain reactions [49]. A study performed by Adel and Prakash on the chemical composition and antioxidant properties of ginger root reported the highest reducing power of 80% methanolic extract followed by 80% ethanolic extract, with an absorbance of methanolic extract from 0.208 to 0.681 for the concentration of 2.0 to 8.0 mg/ml [50]. Research conducted by Maizura et al., on the total phenolic content and antioxidant activity of extracts of some plants used fresh, indicates that the reducing activity of ginger, evaluated by the FRAP test is higher than that of Curcuma extract [51]. On the other hand, a recent study comparing the antioxidant capacity of fresh and dried ginger *in vitro*, Mao et al., reveals that dried ginger has the highest antioxidant capacity because the number of phenolic compounds is 2.4 to 5.2 times higher than that of fresh ginger [52]. This has been mostly associated with their content of polyphenols that carry hydroxyl groups responsible for antioxidant properties [53–55].

Our results are largely lower than those reported by Maizura and his collaborators, who performed a study on the different parts of the cinnamon. They found the  $IC_{50}$  of DPPH radical of the methanolic extract of bark was 76.5 µg/ml; it was more powerful than methanolic leaf extract and ethyl acetate extracts from the stem and leaves of cinnamon [56]. Varalakshmi et al. tested cinnamon extracts (methanol, water, and chloroform) for their scavenging abilities towards several radicals (DPPH,  $H_2O_2$ , ABTS, Superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), nitric oxide (NO), hydroxyl radical

(HO<sup>-</sup>), and Ferric reduction capacity). Among the three extracts used, the methanolic extract showed the highest free radical scavenging activity, followed by chloroform and aqueous extract [57]. The results indicate that *Zingiber officinale* Roscoe has a significant free radical scavenging capacity but remains lower than that observed with *Cinnamomum zeylanicum*. These results are superior to that reported by Ali Ghasemzadeh et al., who presented a rate of 58% inhibition of the DPPH<sup>•</sup> radical by the methanolic extract of ginger when we found an inhibition rate of 93% [58]. Several studies have shown that ginger is a good source of antioxidants and has a high antioxidant activity after extraction using alcohol. It has been shown that extracts prepared with the solvents methanol and ethanol have higher free radical scavenging activity and reducing power than extracts prepared with water [48].

Sharma et al. reported that cinnamaldehyde and eugenol showed an ability to scavenge free radicals in the DPPH radical scavenging test. This scavenging effect would be due to their ability to give hydrogen [59]. According to Gülçin, eugenol has a powerful antioxidant activity in comparison with cinnamaldehyde, since it easily promotes the donation of a hydrogen atom from the hydroxyl part (OH) linked to the benzene ring [60]. The scavenging activity of free radicals depends mainly on the number and position of hydroxyl groups on the aromatic ring of phenolic compounds, therefore, inducing a reduction in the levels of free radicals [61]. A study performed by Si et al. revealed that 10-gingerol and 6-shogaol possess higher antioxidant activity than 6-gingerol and 8-gingerol at 60 °C. These antioxidant properties were indicated by the presence of hydroxyl groups and soluble side chains in the chemical structure of the active compound [62].

#### **Inhibition of lipid peroxidation**

A better protective response was observed with the alcoholic extract of *Cinnamomum tejpata* against lipid peroxidation, this anti-peroxidation property could be due to a chelating or redox activity [19]. Another study was performed by Bekkouch et al. on the protective effect of the aqueous extract and the methanolic fraction of ginger against copper sulfate (CuSO<sub>4</sub>) induced lipid peroxidation in rat plasma. They found a significant increase in TBARS levels in plasma compared to the untreated group. In addition to the significant antioxidant effect of the two ginger extracts against the action of CuSO<sub>4</sub>, they detected a significant decrease in MDA concentration after treatment with the methanolic fraction and the aqueous extract of *Zingiber officinale* (ZOA) (-300% and -233.32%, respectively) at a concentration of 25 µg/ml [63]. Antioxidants can protect against lipid peroxidation through different mechanisms of action: they can act directly by neutralizing lipid radicals (the first product of

lipid-oxidative damage), thus stopping the propagation reactions of lipid peroxidation, or indirectly, by neutralizing one of the initiators of lipid-oxidative damage. Therefore, complex natural extracts will present a combined effect against lipid peroxidation [64].

#### **Antibacterial activity**

Both extracts reacted positively and distinctly on the growth of all tested bacterial strains (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*) (Table 3). The gram-positive bacteria are the most sensitive compared to gram-negative bacteria. It could be related to the difference in wall structure [65]. Previous studies indicate that the antibacterial activity of medicinal plants may be an indication of the presence of metabolic toxins or broad-spectrum antimicrobial compounds that act against gram-positive and gram-negative bacteria [66,67]. Our results are in agreement with those of Rath and Padhy, who indicate the methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* among the most effective extracts studied with zones of inhibition evaluated at 27, 25, and 21 mm for *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*, respectively. This corresponds to the same MIC and BMC of 1.51 and 3.41 mg/ml for *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and 3.41 and 4.27 mg/ml for *Escherichia coli*. However, they indicate that the methanolic extract of *Zingiber officinale* is less effective compared to *Cinnamomum zeylanicum* with diameters of 18, 19, and 21 mm for *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*, respectively, and MICs and BMCs of 9.63 and 21.67 mg/ml for *Staphylococcus aureus*, 3.41 and 4.27 mg/ml for *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli* [66]. However, the results of Yusuf et al. confirm our results. The zones of inhibition increase as the concentrations of the extract increase, the concentrations of methanolic extract of ginger used by these authors are 25, 50, and 100 µg/ml [67]. The antibacterial activity of *Cinnamomum zeylanicum* is achieved through many complex mechanisms by bioactive compounds such as cinnamaldehyde and eugenol, which prevent the production of the β-lactamase enzyme responsible for bacterial resistance and thus destroy the cell wall [68]. Thus, terpene compounds such as carvacrol cause cell-wall degradation by modifying and increasing the permeability of the bacterial wall that favors the penetration of antimicrobial agents [69,70]. The mechanisms that underlie the antimicrobial activity of *Zingiber officinale* cited by Mao et al., ginger has been shown to inhibit the growth of various bacteria, fungi, and viruses. These effects could be mainly related to the suppression of bacterial biofilm formation by affecting membrane integrity [71]. On the other hand, Rampogu et al. proved that gingerenone-A and 6-shogaol suppress

the activity of 6-hydroxymethyl-7,8-dihydropterin pyrophosphokinase responsible for the pathogenicity of *Staphylococcus aureus* by inhibiting the growth of this bacterium [72].

## Conclusion

In conclusion, the methanolic extract of *Cinnamomum zeylanicum* (cinnamon) gives a high yield with a higher content of phenolic compounds compared to *Zingiber officinale* (ginger). At the same time, the evaluation of the antioxidant activity reveals that the methanolic extract of cinnamon is the most powerful in comparison with the methanolic extract of ginger, indeed this strong antioxidant capacity of cinnamon is due essentially to its richness in phenolic compounds which play a role of electron or hydrogen donor. Both extracts have a significant protective effect against lipid peroxidation and an antibacterial effect in a dose-dependent manner. With these findings of our study, the extracts from *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale* Roscoe should find an application as a new nutritional or medicinal combination and can be considered in preventive strategies for many pathologies caused by oxidative stress.

**Acknowledgements** This research was highly supported by the DGRST of the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. The authors would like to acknowledge the Farm Animal Laboratory of Veterinary Sciences Institute, University of Tiaret, for the provision of laboratory space and necessary materials to carry out the antibacterial study.

## References

- Adida H, Benariba N, Bechiri A, et al (2016) Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie* 14:207–12
- Sami-Manchado P, Cheyner V (2006) Les polyphénols en agroalimentaire. Tec & Doc Lavoisier, Paris, France, 398 p
- Dias TR (2013) White Tea (*Camellia sinensis* (L.): antioxidant properties and beneficial health effects. *Int J Food Sci Nutr* 2:19–26
- Soliman MM, Attia HF, El-Shazly SA, et al (2012) Biomedical effects of cinnamon extract on obesity and diabetes relevance in wistar rats. *Am J Biochem Mol Biol* 2:133–35
- Khan A, Bryden NA, Polansky MM, et al (1990) Insulin potentiating factor and chromium content of selected foods and spices. *Biol Trace Elem Res* 24:183–88
- White B (2007) Ginger: an overview. *Am Fam Physician* 75:1689–91
- Lee JO, Kim N, Lee HJ, et al (2015) [6]-Gingerol affects glucose metabolism by dual regulation via the AMPK $\alpha$ 2-mediated AS160-Rab5 pathway and AMPK-mediated insulin sensitizing effects. *J Cell Biochem* 116:1401–10
- Saravanan G, Ponnuragan P, Deepa MA, et al (2014) Anti-obesity action of gingerol: effect on lipid profile, insulin, leptin, amylase and lipase in male obese rats induced by a high-fat diet. *J Sci Food Agric* 94:2972–77
- Li X, McGrath KC, Nammi S, et al (2012) Attenuation of liver pro-inflammatory responses by *Zingiber officinale* via inhibition of NF-kappa B activation in high-fat diet-fed rats. *BCPT* 110:238–44
- Han YA, Song CW, Koh WS, et al (2013) Anti-inflammatory effects of the *Zingiber officinale* Roscoe constituent 12-dehydrogingerdione in lipopolysaccharide-stimulated Raw 264.7 cells. *Phytother Res* 27:1200–5
- Beejmohun V, Peytavy-Ezard M, Mignon C, et al (2014) Acute effect of Ceylon cinnamon extract on postprandial glycemia: alpha-amylase inhibition, starch tolerance test in rats, and randomized crossover clinical trial in healthy volunteers. *BMC Complement Med Ther* 14:1–11
- Yan SW, Asmah R (2010) Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. *Int Food Res J* 17:417–23
- Yen G, Duh P (1993) Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *J Am Oil Chem Soc* 70:383–86
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM (1999) Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol* 299:152–78
- Bahoran T, Gressier B, Trotin F, et al (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung* 46:1086–89
- Que F, Mao L, Pan X (2006) Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int* 39:581–87
- Ruch RJ, Cheng SJ, Klauig JE (1989) Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis* 10:1003–8
- Kumar S, Mishra A, Pandey AK (2013) Antioxidant mediated protective effect of *Parthenium hysterophorus* against oxidative damage using in vitro models. *BMC Complement Altern Med* 13:1–9
- Gupta V, Sharma M (2010) Protective effect of *Cinnamomum tejpata* on lipid peroxide formation in isolated rat liver homogenate. *Curr Res J Biol Sci* 2:246–49
- Moukette BM, Pieme CA, Njimou JR, et al (2015) In vitro antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*. *Biol Res* 48:1–17
- Yagi K (1976) A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med* 15:212–26
- Adesokan AA, Akanji MA, Yakubu MT (2007) Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *Afr J Biotechnol* 6:1–4
- Alzahrani HA, Alsabehi R, Boukraâ L, et al (2012) Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules* 17:10540–49
- Bellik Y, Benabdesselam F, Ayad A, et al (2013) Antioxidant activity of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe as affected by chemical environment. *Int J Food Prop* 16:1304–13
- Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS, et al (2007) Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *J Food Compos Anal* 20:330–36
- Kamath JV, Rana AC, Roy Chowdhury A (2003) Pro-healing effect of *Cinnamomum zeylanicum* bark. *Phytother Res* 17:970–72
- Ervina M, Nawu YE, Esar SY (2016) Comparison of in vitro antioxidant activity of infusion, extract and fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark. *Int Food Res J* 23:1346

28. Santiago-Adame R, Medina-Torres L, Gallegos-Infante JA, et al (2015) Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. *LWT Food Sci Technol* 64:571–77
29. Oke GO, Abiodun AA, Imafidon CE, et al (2019) *Zingiber officinale* (Roscoe) mitigates CCl<sub>4</sub>-induced liver histopathology and biochemical derangements through antioxidant, membrane-stabilizing and tissue-regenerating potentials. *Toxicol Rep* 6:416–25
30. Kejing An, Zhao D, Wang Z, et al (2016) Comparison of different drying methods on Chinese ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): changes in volatiles, chemical profile, antioxidant properties, and microstructure. *Food Chem* 197:1292–300
31. Thiraphatthanavong P, Wattanathorn J, Muchimapura S, et al (2014) The combined extract of purple waxy corn and ginger prevents cataractogenesis and retinopathy in streptozotocin-diabetic rats. *Oxid Med Cell Longev* 2014:1–11
32. Ryan MT, Müller H, Pfanner N (1999) Functional staging of ADP/ATP carrier translocation across the outer mitochondrial membrane. *J Biol Chem* 274:20619–27
33. Nacz M, Shahidi F (2004) Extraction and analysis of phenolics in food. *J Chromatogr A* 1054:95–111
34. Conde E, Cara C, Moure A, et al (2009) Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive tree pruning. *Food Chem* 114:806–12
35. Przygodzka M, Zielińska D, Ciesarova Z, et al (2014) Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. *LWT Food Sci Technol* 58:321–6
36. Lu M, Yuan B, Zeng M, et al (2011) Antioxidant capacity and major phenolic compounds of spices commonly consumed in China. *Food Res Int* 44:530–36
37. Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, et al (2009) Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plants extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *J Agric Food Chem* 57:1768–74
38. Mathew S, Abraham TE (2006) In vitro antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol* 44:198–206
39. Tohma H, Gülçin I, Bursal E, et al (2017) Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) determined by HPLC-MS/MS. *J Food Meas Charact* 11:556–66
40. El Hazzat N, Iraqi R, Bouseta A (2015) Identification par GC-MS et GC-FID-O des composés volatils des olives vertes de la variété « Picholine marocaine » : effet de l'origine géographique. *Int J Biol Chem Sci (Online)* 9:2219–33
41. Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, et al (2007) The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem* 105:1126–34
42. Gruić N, Lepojević Z, Srdjenović B, et al (2012) Effects of different extraction methods and conditions on the phenolic composition of mate tea extracts. *Molecules* 17: 2518–28
43. Mohsen SM, Ammar ASM (2009) Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem* 112: 595–98
44. Wijayanti II, Budiharjo A, Pangastuti A, et al (2018) Total phenolic content and antioxidant activity of ginger extract and SNEDDS with eel fish bone oil (*Anguilla* spp.). *Nusantara Biosci* 10:164–69
45. Mustafa I, Chin NL, Fakurazi S, et al (2019) Comparison of phytochemicals, antioxidant and anti-inflammatory properties of sun-, oven- and freeze-dried ginger extracts. *Foods* 8:456
46. Sant'Ana LD, Buarque Ferreira AB, Lorenzon MCA, et al (2014) Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity. *Int J Food Prop* 17:65–76
47. Wong JY, Matanjun P, Ooi YBH, et al (2014) Evaluation of antioxidant activities in relation to total phenolics and flavonoids content of selected Malaysian wild edible plants by multivariate analysis. *Int J Food Prop* 17:1763–78
48. Younsi F, Trimech R, Boulila A, et al (2016) Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *Int J Food Prop* 19:1425–38
49. Mathew S, Abraham TE (2006) Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chem* 94:520–28
50. Adel SPR, Prakash J (2010) Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). *J Med Plant Res* 4:2674–79
51. Maizura M, Aminah A, Wan Aida WM (2011) Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Int Food Res J* 18:1–7
52. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, et al (2019) Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods* 8:185
53. Li Y, Hong Y, Han Y, et al (2016) Chemical characterization and antioxidant activities comparison in fresh, dried, stir-frying and carbonized ginger. *J Chromatogr B* 1:223–32
54. Si W, Chen YP, Zhang J, et al (2018) Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chem* 239:1117–25
55. Mohd Sahardi NFN, Makpol S (2019) Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the prevention of ageing and degenerative diseases : Review of Current Evidence. *Evid Based Complement Alternat Med* 2019:5054395
56. Maizura M, Aminah A, Wan Aida WM (2011) Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract. *Int Food Res J* 18:529–34
57. Varalakshmi B, Vijaya A, Vijayakumar K, et al (2012) In vitro antioxidant activity of *Cinnamomum zeylanicum* Linn bark. *Int J Ins Pharm Life Sci* 2:154–66
58. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A (2010) Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 15: 4324–33
59. Sharma UK, Sharma AK, Pandey AK (2016) Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon. *BMC Complement Altern Med* 16:1–11
60. Gülçin I (2011) Antioxidant activity of eugenol: a structure-activity relationship study. *J Med Food* 14:975–85
61. Kumar S, Pandey AK (2013) Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Sci World J* 23:1–17
62. Si W, Chen YP, Zhang J, et al (2018) Antioxidant activities of ginger extract and its constituents toward lipids. *Food Chem* 239:1117–25
63. Bekkouch O, Harmafi M, Touiss I, et al (2019) In vitro antioxidant and in vivo lipid-lowering properties of *Zingiber officinale* crude aqueous extract and methanolic fraction: a follow-up study. *Evid Based Complement Alternat Med* 2019:9734390
64. Félix R, Valentão P, Andrade PB, et al (2020). Evaluating the in vitro potential of natural extracts to protect lipids from oxidative damage. *Antioxidants* 9:231
65. Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RMR, Faidi YR, et al (1998) Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol* 60:265–71
66. Rath S, Padhy RN (2014) Monitoring in vitro antibacterial efficacy of 26 Indian spices against multidrug resistant urinary tract infecting bacteria. *Integr Med Res* 3:133–41

67. Yusuf AA, Lawal B, Abubakar AN, et al (2018) In vitro antioxidants, antimicrobial and toxicological evaluation of Nigerian *Zingiber officinale*. *Clin Phytosci* 4:1-8
68. Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, et al (2007) Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *J Agric Food Chem* 55:4863-70
69. Lambert RJW, Skandamis PN, Coote PJ, et al (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol* 91:453-62
70. Sharifi-Rad J, Dey A, Koirala N, et al (2021) Cinnamomum species: bridging phytochemistry knowledge, pharmacological properties and toxicological safety for health benefits. *Front Pharmacol* 12:882
71. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, et al (2019) Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods* 8:185
72. Rampogu S, Baek A, Gajula RG, et al (2018) Ginger (*Zingiber officinale*) phytochemicals-gingerenone-A and shogaol inhibit SaHPPK: molecular docking, molecular dynamics simulations and in vitro approaches. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 17:1-15

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.6172855>

## Biological activities of phenolic extracts from *Artemisia herba-alba* Asso grown in western Algeria

Noura Ayad <sup>1,2,\*</sup>, Rachida Benaraba <sup>1,2</sup>, Houari Hemida <sup>3</sup>, Fatiha Abdellah <sup>1,3</sup><sup>1</sup> Laboratory of Research on Local Animal Products University of Tiaret, 14000, Algeria<sup>2</sup> Faculty of Natural and Life Sciences - University of Tiaret, 14000, Algeria<sup>3</sup> Institute of Veterinary Sciences, University of Tiaret, 14000, Algeria<sup>4</sup> Farm Animal Laboratory, Institute of Veterinary Sciences - University of Tiaret, 14000, Algeria\* Corresponding author: E-mail: [noura.ayad@univ-tiaret.dz](mailto:noura.ayad@univ-tiaret.dz)

Received: 29 October 2021; Revised submission: 11 January 2022; Accepted: 15 February 2022

<https://jbrodka.com/index.php/ejbr>Copyright: © The Author(s) 2022. Licensee Joanna Bródka, Poland. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

**ABSTRACT:** The aim of this study was to determine the phenolic compounds from *Artemisia herba-alba* Asso, in order to evaluate their antioxidant and antibacterial activities, *in vitro*. The extraction of phenolic compounds was carried out by the maceration technique using absolute ethanol, absolute methanol, and distilled water. The quantification of polyphenols and flavonoids was performed using the Folin-Ciocalteu reagent and the aluminum trichloride method, respectively. The evaluation of the antioxidant activity of the extracts was carried out by the FRAP, the DPPH• radical trapping, and the neutralization of the hydrogen peroxide technique. The lipid peroxidation was assessed by thiobarbituric acid reactive substances. In addition, the antibacterial activity of the three extracts was tested on *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Escherichia coli* ATCC 2592, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bacteria using agar diffusion and agar incorporation methods. The results showed that the methanolic extract was highly rich in polyphenols and flavonoids. Also, the reducing power  $CE_{50} = 249.88 \pm 6.07 \mu\text{g/ml}$  and the inhibition capacity of the DPPH• radical  $CI_{50} = 34.71 \pm 0.96 \mu\text{g/ml}$  were significantly higher ( $p < 0.05$ ) than the ethanolic and aqueous extracts. Also, a highly significant inhibitory potential of lipid peroxidation was obtained with the methanolic extract ( $MDA = 66.97 \pm 3.61 \mu\text{mol/g tissue}$ ). However, a highly significant hydrogen peroxide scavenging effect was obtained from the ethanolic extract. A better antibacterial activity was obtained with the methanolic and ethanolic extracts.

**Keywords:** *Artemisia herba-alba* Asso; Antibacterial activity; Antioxidant activity; Flavonoids; Lipid peroxidation; Polyphenols.

### 1. INTRODUCTION

Currently, the increase of pathological conditions associated with oxidative stress, antibiotic resistance, and adverse effects of some drugs, leads researchers to turn to the plant world seeking for herbal alternatives. The study of secondary metabolism in plants is an important source for the discovery of bioactive compounds with a wide range of applications. Today these bioactive compounds derived from plants are important drugs such as antibiotics and agrochemical substitutes. They also have been economically important as flavors and

fragrances, dyes and pigments, and food preservatives. Many of the drugs sold today are synthetic modifications of naturally obtained substances [1]. Among polyphenols, flavonoids are gaining increasing attention for their powerful antioxidant and antimicrobial properties [2]. However, it has been established that the phytotherapeutic and/or pharmaceutical effectiveness of medicinal plants is mainly based on the qualitative and quantitative profile of their extracts [3]. *Artemisia herba-alba* Asso known as "White desert wormwood" and called "Shih" in the Algerian vernacular, a species of the Asteraceae family, grows spontaneously in the arid and semi-arid zones of the Mediterranean basin, and even extends as far as the north-western Himalayas; this plant has been used in traditional medicine by many cultures since antiquity as a hemostatic, analgesic, antibacterial and antispasmodic [4], anti-inflammatory [5], hypocholesterolemic and hypo-triglyceridemic agents [6-9]. In folk medicine, this herb is used to treat several digestives (diarrhea and stomach ache) and respiratory (bronchitis and cough) problems [10]. Nowadays, the prevention and management of oxidative stress disorders, such as diabetes and cardiovascular diseases, have become a priority and a sanitary and socio-economic issue for public health authorities. *Artemisia herba-alba*, a medicinal plant widely used in Algerian pharmacopeia and traditional medicine, could be proposed as a pharmaceutical or nutraceutical preventive formula against these conditions. During this study, particular attention was given to the process and the type of solvents used for the extraction of these active compounds in order to screen the phenolic extract with an optimal efficiency towards the oxidative stress, particularly the lipidic peroxidation, the free radicals scavenging and the antibacterial activity of Algerian *Artemisia herba alba* extracts.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Plant material

The aerial parts of *Artemisia herba-alba* (White Wormwood) were collected during May 2017 from Rechaïga, Tiaret, Algeria (35°24'29.09"N, 1°58'24.31"E). The samples were carefully cleaned and aired, ground into a fine powder using a mechanical grinder (Fritsch, Germany) and carefully stored in glass jars for analysis.

### 2.2. Animals

Six healthy male Wistar rats ( $252 \pm 6.71$  g), obtained from the Pasteur Institute of Algiers (Algeria) were used to evaluate the protective effect of extracts against lipid peroxidation. The animals were kept in individual polystyrene cages under animal's house conditions (temperature  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12/12 hours light-dark cycle, and relative humidity  $60 \pm 10\%$ ) for a two weeks period at the Veterinary Sciences Institute, Tiaret University. A standard pellet and clean drinking water were provided ad libitum. Animals were then sacrificed, subjected to a full gross examination and specific organs (liver) were obtained for further analysis. All the experiments were carried out according to the guidelines of the Institutional Animal Care Committee of the Algerian Higher Education and Scientific Research (Agreement Number 45/DGLPAG/DVA.SDA.14).

### 2.3. Bacterial strains

The bacterial strains; *Escherichia coli* ATCC 2592, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 were kindly provided by the university hospital Mustapha Pasha of Algiers, Algeria.

#### 2.4. Extraction of phenolic compounds

The extraction of phenolic compounds was performed using the maceration method. Five g samples of *Artemisia herba-alba* powder were macerated in 50 mL of absolute methanol, absolute ethanol and distilled water at room temperature at 600 rpm for 24 h. After filtration of the obtained mixture, the solvent was evaporated at 50 °C to obtain a dry extract which was stored at -20°C for further analysis [11]. The yield of extraction is expressed as a percentage and it is calculated using the following equation 1:

$$\text{Yield (\%)} = [W_1 \text{ extract} / W_0 \text{ powder}] \times 100$$

#### 2.5. Determination of total polyphenols

The total phenol content of the extracts was determined by the Folin-Ciocalteu method [12]. A quantity of 250 µL of the extracts was mixed with 2 mL of distilled water and 250 µL of freshly prepared Folin-Ciocalteu reagent (0.2 N). After 2 min of incubation, 500 µL of 7.5% w/v sodium carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) was added to the previous mixture. The resulting mixture was incubated for 30 min at room temperature in the dark. The absorbance was measured using a UV-V spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Japan) at 760 nm wavelength. The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of dry matter (mg GAE/g DM).

#### 2.6. Determination of total flavonoids

The total flavonoid content of the extracts was determined by the colorimetric method described by Bahorun et al. [13]. One milliliter of the extracts was mixed with 1 mL of a 2% w/v aluminum chloride (AlCl<sub>3</sub>) solution, incubated for 10 min, then the absorbance was measured at 430 nm [13]. The results were expressed in mg quercetin equivalent per g dry matter (mg QE/g DM).

#### 2.7. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Test

The ferric reducing antioxidant power of the extracts was determined according to the method described by Yen et Duh [11]. A 500 µL volume of each extract (different concentrations) was mixed with 500 µL of a phosphate buffer solution (0.2 M, pH 6.6) and 500 µL of a 1% w/v potassium ferricyanide K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> solution. The total mixture was incubated at 50°C for 20 min, then 500 µL of 10% w/v trichloroacetic acid was added to stop the reaction. From the previous reaction mixture, an aliquot of 1 mL was combined with 1 mL of distilled water and 500 µL of 0.1% w/v FeCl<sub>3</sub> aqueous solution. The colorimetric measurement was performed at 700 nm [11]. Three standard antioxidant solutions were used as positive controls; gallic acid, quercetin, and ascorbic acid. The reducing power of extracts and standards was represented by the values of the median effective concentrations (EC<sub>50</sub>).

#### 2.8. DPPH<sup>•</sup> radical trapping test

This method was based on measuring the ability of antioxidants to trap the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH<sup>•</sup>). The effect of each extract on DPPH<sup>•</sup> was measured by the procedure described by Que et al. [14]. A volume of 750 µL of different concentrations of each extract and antioxidant standards (gallic acid, quercetin and ascorbic acid expressed in µg/mL) was added to 750 µL of the freshly prepared 4 mg/mL DPPH<sup>•</sup> solution. The reaction mixture was incubated at room temperature and in the dark for 50 min and the absorbance was read at 517 nm. The median inhibition concentration (IC<sub>50</sub>) values were determined graphically by the exponential regression of extracts and solutions, and the antiradical activity % was calculated according to the following formula 2:

$$AA (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Where: AA %: Antiradical activity;  $A_0$ : The absorbance of DPPH<sup>•</sup> radical;  $A_1$ : The absorbance of the sample.

### 2.9. Neutralization of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

The hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) scavenging capacity of extracts was determined by using the method of Ruch et al. [15]. Two milliliters of each extract at different concentrations were added to 1.2 mL of a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution (4 mM in phosphate buffer 0.1 M at pH 7.4). The blank was prepared in the same way by replacing the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution with phosphate buffer. After 15 min incubation period, and the absorbance was measured at 230 nm. Gallic acid and ascorbic acid (expressed in µg/mL) were used as standards [15]. The IC<sub>50</sub> values were calculated from the linear regression curves. The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibition percentage was calculated according to the following formula 3:

$$H_2O_2 (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Where:  $A_0$ : The absorbance of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>;  $A_1$ : The absorbance of the sample.

### 2.10. Anti-lipid peroxidation activity

#### 2.10.1. Liver homogenate preparation

At necropsy, the liver of six Wistar rats was carefully removed and rinsed with 9% NaCl. A 10 g liver pooled sample was added to 100 mL (0.1 M, pH 7.4 having 0.15 M KCl) phosphate buffer, ground by ultraturax T25 (Janke & Kunkel GmbH & Co kg; Ika Labor Technik Staufen Germany) and centrifuged at 4000 rpm for 20 min at 4°C, the resulting supernatant was recovered and incubated for 1 h in ice and then stored at -20°C [16].

#### 2.10.2. Lipid peroxidation and thiobarbituric acid reactions

Lipid peroxidation assay was performed by a formerly described protocol by Gupta and Sharma [17]. Phosphate buffer 580 µL (0.1 M; pH 7.4), 200 µL of extract or standard, 200 µL liver homogenate and 20 µL ferric chloride (100 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.50% prepared in phosphate buffer 0.1 M, pH 7.4) [18], were combined to form a mixture that was placed in a shaking water bath for 1 h at 37°C. The assessment of malonic dialdehyde (MDA) content was performed according to the protocol described by Yagi [19], a volume of 800 µL of a 0.375% (w/v) TBA, TCA (20%), BHT (0.01%), and HCL (1N) mixture was added to 200 µL of the previously prepared solution. After shaking for 2 min, the mixture was incubated in a water bath at 100 °C for 10 min. During this step, the aldehyde functions of MDA were released by acid hydrolysis at 100 °C. They react with TBA forming a pink-colored complex (MDA-TBA). To stop the reaction, the tubes were placed in ice, the complex thus formed is extracted with 2 mL of 1-butanol for 2 min. After centrifugation at 4000 rpm for 10 min at 4 °C (Sigma, 3K10, Laborzentrifugen, Germany), the supernatant was collected and the absorbance of the pink chromogen obtained was measured at 532 nm using a spectrophotometer (Shimadzu 1240, Japan). The tissue concentration of malondialdehyde (MDA) was calculated using a linear PET curve. The percentage of MDA inhibition was determined according to the following formula 4:

$$MDA (\%) = [(C_0 - C_1) / C_0] \times 100$$

Where:  $C_0$ : MDA concentration without protection;  $C_1$ : MDA concentration with protection.

### 2.11. Antibacterial activity

#### 2.11.1. Agar diffusion method

A bacterial suspension was prepared in sterile physiological water (0.9%) for each strain. The turbidity

of this suspension was adjusted to 0.5 Mac Farland. This inoculum was spread on the surface of the Mueller-Hinton agar plate. Sterile filter discs (6 mm diameter) were impregnated with 20  $\mu$ L of each extract solution and then deposited on the surface of the inoculated agar. The plates were incubated at 37°C for 24 h [20]. Antibiotic discs of tetracycline, amikacin, and erythromycin (Merck, Germany) served as positive controls and discs impregnated with 50% methanol, 50% ethanol and dimethyl sulfoxide (DMSO) served as negative controls. Antibacterial activity was determined by measuring the diameter of the inhibition zone around each disc.

### 2.11.2. Incorporation method

The MIC and MBC of the extracts were determined using an agar incorporation technique [21]. The different extracts were added in increasing amounts (v/v) to the Mueller-Hinton media for a final volume of 5 ml. The mixture was poured into plates, then each inoculum standardized to  $10^6$  cells/mL was deposited on the agar plate and incubated at 37°C for 24 h. MIC is determined as the lowest concentration of the extract that inhibits visible bacterial growth. However, MBC is the lowest concentration of the extract that killed 99% of the bacteria in the initial inocula within 24 h.

### 2.12. Statistical analysis

The results were expressed as mean  $\pm$  standard error (M  $\pm$  SE). The data analysis was performed using the Statistica StatSoft software (version 6.1, Statsoft, Tulsa, UK). The one-factor ANOVA was used to compare the means, followed by Duncan's post-hoc test. Differences were considered statistically significant at a *p*-value of less than 0.05 across all statistical analyses.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. Extraction yield, quantification of phenolic and flavonoid compounds

Results of extraction yield and phenolic compound content are shown in Table 1. The total polyphenol (TP) and flavonoid (TF) content of *Artemisia herba-alba* are determined from the linear regression equation of the calibration curve using different concentrations of gallic acid and quercetin. The results are expressed in mg gallic acid equivalent (GAE) and mg quercetin equivalent (QE)/g dry matter.

**Table 1.** Extraction yield and, content of phenolic and flavonoid compounds.

Extracts	Yield (%)	Total polyphenols (mg GAE/g DM)	Total flavonoides (mg QE/g DM)
MEA	7.89 $\pm$ 0.00	154.06 $\pm$ 1.70	47.97 $\pm$ 0.32
EEA	6.75 $\pm$ 0.004 <sup>b</sup>	118.28 $\pm$ 2.31 <sup>c</sup>	18.22 $\pm$ 0.31 <sup>c</sup>
AEA	12.14 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup>	52.44 $\pm$ 0.99 <sup>c</sup>	31.86 $\pm$ 0.80 <sup>c</sup>

The values represent the means  $\pm$  SE (n = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEA. (a, *P* < 0.05; b, *P* < 0.01; c, *P* < 0.001).

Aqueous extraction of *A. herba alba* has yielded a very important amount of 12.14  $\pm$  0.003% (w/w) compared to the methanolic and ethanolic extraction with 7.89  $\pm$  0.004% (w/w) and 6.75  $\pm$  0.004% respectively. A highly significant (*p*<0.001) amount of total polyphenols was obtained with the methanolic extract of *A. herba-alba* (MEA) compared to both ethanolic (EEA) and aqueous (AEA) extracts (154.06  $\pm$  1.70, 118.28  $\pm$  2.31 and 52.44  $\pm$  0.99 mg GAE/g DM, respectively). However, the quantification of total

flavonoids revealed a high content in the MEA ( $47.97 \pm 0.32$  mg QE/g DM) followed by the AEA ( $31.86 \pm 0.80$  mg QE/g DM) and the EEA ( $18.22 \pm 0.39$  mg QE/g DM) (Table 1).

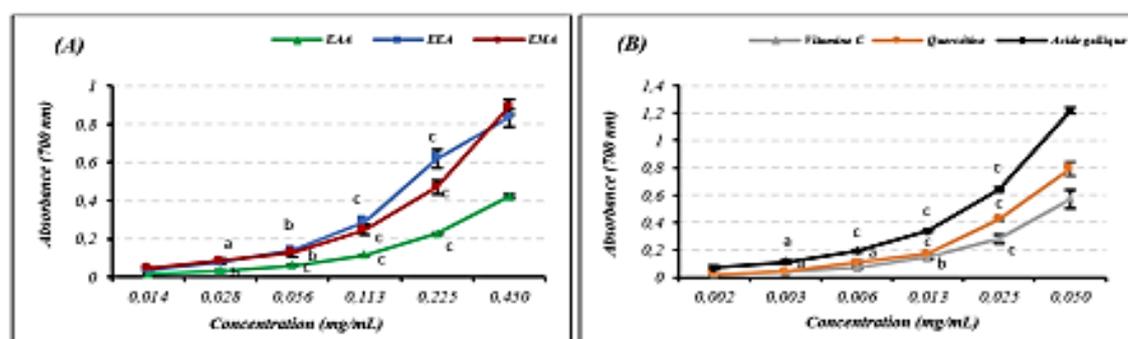
In the present study, the aqueous extract showed the highest extraction yield compared to the alcoholic extracts (methanol and ethanol); these results are similar to those reported by Al-Kharabsheh et al. [22] that the aqueous extract of *A. herba alba* gives the highest yield ( $13.783 \pm 0.210$  g/100 g DW) compared to other extracts. These findings are best illustrated by Lim et al. [23] who showed that best results are obtained using a more polar solvent aqueous ethanol 50% (v/v) with a yield of 15.8% compared to ethanol 100% and 70% (v/v) of 10.4% and 15.2% respectively. It is well documented that the variations in extraction yield and polyphenol content depend on the experimental conditions, essentially the method, the solvents used and the extraction temperature [24]. It is also widely accepted that variations in extraction yields could be attributed not only to the difference in the polarity of the solvent used, which plays a key role in increasing the solubility of phenolic compounds, but also to the polarity of the phenolic compounds that make up the extract [25,26].

The results of total polyphenols and flavonoids quantification in the extracts of *A. herba alba* showed that high amounts were found with the methanolic extract compared to ethanolic and aqueous extracts, these results are highly correlated to those obtained by Megdiche-Ksouri et al. [27] with high contents of total polyphenols and flavonoids of *Artemisia campestris* were found in the crude methanolic extract compared to the ethyl acetate fraction and water fraction and accounting for ( $158.23 \pm 7.2$  mg EAG/g DM versus  $94.17 \pm 12.14$  and  $10.63 \pm 2.16$  mg EAG/g DM) total polyphenol and ( $175.23 \pm 7.2$  mg EC/g DM versus  $67.45 \pm 2.28$  and  $63.81 \pm 0.52$  mg EC/g DM) flavonoids, respectively. Same findings were reported in another study investigating the antioxidant activity of *Artemisia sp.* showing high content of total polyphenols 120 mg GAE/g DW where 111 mg EC/g DW (about 92.5%) are flavonoids recorded in the methanolic extract of *Artemisia capillaires*, in the other extracts of *Artemisia sp.* total polyphenols content accounted for 66-101 mg GAE/g DW from which 77-93% were flavonoids [28]. However, Abdallah et al. [29] have reported that the extraction of *A. herba alba* using 70% ethanol showed a high total polyphenol content ( $248.6 \pm 20.4$ ) mg GAE/g dry extract and flavonoids ( $62.15 \pm 5.8$ ) mg rutin/g dry extract. Studies have shown that polar solvents such as methanol and ethanol allow better extraction of phenolic compounds from plant materials than less polar solvents [30,31] and that phenolic compounds are more soluble in methanol than in water [32], which may explain the low quantity of phenolic compounds obtained from the aqueous extract of *A. herba-alba* in this study.

Touil and collaborators reported that *A. herba-alba* is a rich source of polyphenolic compounds and that the levels of phenolic compounds, including flavonoids, vary in quantity and quality depending on harvest time; with the highest content of phenolic compounds obtained with the July's harvest during the vegetative stage ( $515 \pm 142$  mg/g DMW), and the lowest content obtained in November's harvest ( $265 \pm 48$  mg/g DMW) [33]. The same findings were reported in previous studies with the highest content of phenolic compounds obtained at the flowering stage. Given the variations in the accumulation of secondary metabolites in *A. herba-alba*, it could be concluded that the physiological stage of the plant help choosing the suitable harvesting period [34,35].

### 3.2. Reducing power (Ferric Reducing Antioxidant Power)

The reducing power of *A. herba-alba* extracts, gallic acid, quercetin and ascorbic acid (used as standard antioxidants), are represented in Fig. 1.



**Figure 1.** Reducing power of different concentrations of *Artemisia herba-alba* Asso extracts (A), gallic acid, quercetin and ascorbic acid (B) by spectrophotometric detection of  $\text{Fe}^{3+}$  transformation to  $\text{Fe}^{2+}$  (Mean  $\pm$  standard error,  $n=6$ ). Values with an exponent are significantly different from those with different concentrations (a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$ ).

Figure 1 shows the results of the reducing power of iron at different concentrations of the extracts and standards. The results show the highest reducing power of standards were obtained with gallic acid and quercetin with ( $\text{OD} = 1.21 \pm 0.02$  and  $0.79 \pm 0.004$ , respectively) at the highest concentration (0.050 mg/ml), at the same concentration the reducing power of ascorbic acid was showed the lower effect with ( $\text{OD} = 0.57 \pm 0.06$ ). we have registered  $\text{EC}_{50}$  of the following order ( $25.24 \pm 1.19$  for gallic acid;  $32.12 \pm 2.01$  for quercetin and  $56.55 \pm 1.91$  for ascorbic acid  $\mu\text{g/mL}$ ) in Table 2. Both alcoholic extracts recorded highest reducing power with ( $\text{OD} = 0.88 \pm 0.04$  for MEA and  $0.83 \pm 0.03$  for EEA) at the highest concentration (0.450 mg/ml). However, at the same concentration the aqueous extract was recorded a lower reducing power ( $\text{OD} = 0.42 \pm 0.009$ ). Calculated  $\text{EC}_{50}$  values of three extracts were  $249.88 \pm 6.07$ ,  $261.59 \pm 8.55$  and  $532.36 \pm 2.58$   $\mu\text{g/ml}$  for EMA, EEA and EAA, respectively. In addition, we found a strong and positive correlation between the total polyphenols content and the reducing power of iron for all extracts. Recorded respective correlation coefficients were  $r = 0.9866$ ,  $r = 0.9559$  and  $r = 0.9854$  for the methanolic, ethanolic and aqueous extracts. This indicates that 99% of the antioxidant capacity of the extracts, are due to the contribution of phenolic compounds which are the dominant antioxidants in these extracts [36].

**Table 2.**  $\text{EC}_{50}$  and  $\text{IC}_{50}$  values ( $\mu\text{g/mL}$ ) of *Artemisia herba-alba* Asso extracts and standard antioxidants in FRAP, DPPH $^{\cdot}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  tests.

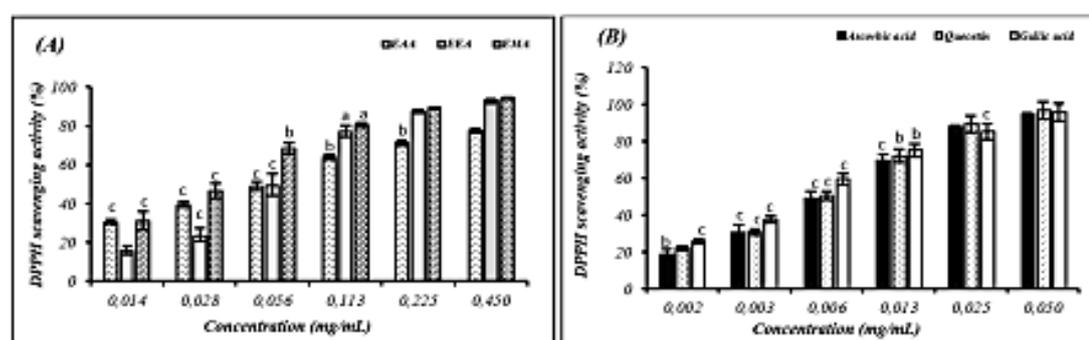
Extracts	FRAP ( $\text{CE}_{50}$ )	DPPH $^{\cdot}$ ( $\text{CI}_{50}$ )	$\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\text{CI}_{50}$ )
MEA	$249.88 \pm 6.07$	$34.71 \pm 0.96$	$128.41 \pm 1.40$
EEA	$261.59 \pm 8.55$	$53.29 \pm 1.89^c$	$96.54 \pm 1.64^c$
AEA	$532.36 \pm 2.52^c$	$97.65 \pm 3.42^c$	$187.08 \pm 7.95^c$
Gallic acid	$25.24 \pm 1.19^c$	$1.82 \pm 0.16^c$	$3.7 \pm 0.036^c$
Quercetin	$32.12 \pm 2.01^c$	$4.47 \pm 0.57^c$	-
Ascorbic acid	$56.55 \pm 1.91^c$	$5.34 \pm 0.18^c$	$11.31 \pm 0.80^c$

The  $\text{EC}_{50}$  values are expressed as mean  $\pm$  SE ( $n = 6$ ). Values with a superscript are significantly different from those in the MEA (a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$ ).

The biological efficacy of extracts depends on the experimental method, nature and concentration of the extracts [37,38]. In this study the antioxidant activity of the different *A. herba-alba* extracts was assessed using three complementary tests. The obtained results are in correlation with those reported by Hodzic et al. using the FRAP assay to evaluate the antioxidant capacity, that is reproducible and correlated to the concentration of antioxidants compounds found in the samples [39]. The phenolic compounds of the extracts of *A. herba-alba* produce a dark blue color complex via the reduction of ferric iron ( $Fe^{3+}$ ) to ferric complex ( $Fe^{2+}$ ) which has a maximum absorption at 700 nm [40], plants work as electron donors because of their content of phenolic compounds [18]. These findings are similar to the research achieved by Abdul Qadir and his collaborators, they reported an increase in reducing power with an increase in the concentration of antioxidant compounds [41]. Another study found that the crude methanolic extract of *A. campestris* had a high reducing power compared to the other two extracts; ethyl acetate fraction and water fraction with  $EC_{50}$  of  $110 \pm 2.01 \mu\text{g/ml}$  vs  $230 \pm 5.22$  and  $340 \pm 7.51 \mu\text{g/ml}$ , respectively [27]. However, Lee found that methanolic extract of *A. japonica* has a reduction capacity 3.83 times higher than that of *A. montana* extract, they thought that the free radical scavenging activity and the reducing power of *Artemisia sp.* extract was not as high as that of *A. montana* extract [28]. Exercise electron donation can react with free radicals to convert them into more stable products and stop free-radical chain reactions that reduce inflammatory symptoms caused by harmful radical compounds. According to Younsi et al. the methanolic extract showed lower antioxidant activity than the essential oil of *A. herba-alba* using the FRAP assay ( $EC_{50}$  of  $372 \pm 6.0$  and  $79 \pm 1.0 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ , respectively) [38].

### 3.3. DPPH<sup>•</sup> radical scavenging activity

DPPH free radical scavenging activity (%) of the various extracts is shown in Fig. 2. The test was performed using six increasing concentrations of standards and extracts. All standards and extracts have recorded a concentration-dependent scavenging effect of DPPH radical with the highest activities obtained at the highest tested concentrations of extracts and standards, respectively. Similar scavenging activities were registered with the MEA ( $94.44 \pm 0.51\%$ ) and EEA ( $92.74 \pm 1.02\%$ ) followed by the AEA ( $77.67 \pm 0.93\%$ ).



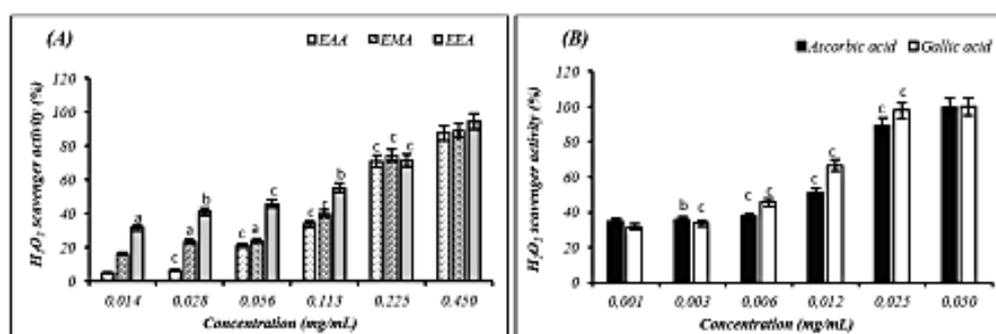
**Figure 2.** Scavenging activity of the free radical DPPH<sup>•</sup> at different concentrations of extracts of *Artemisia herba-alba* Asso (A), gallic acid, quercetin, and ascorbic acid (B) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (Mean  $\pm$  standard error,  $n=6$ ). Values with an exponent are significantly different from those with different concentrations (a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$ ).

To better assess the antioxidant activity,  $IC_{50}$  values for standards and extracts were calculated (Table 2). Results showed a highly significant ( $P < 0.05$ ) antioxidant activity for the MEA ( $34.71 \pm 0.96 \mu\text{g/ml}$ ), compared to the EEA ( $53.29 \pm 1.89 \mu\text{g/ml}$ ) and the AEA ( $97.68 \pm 3.42 \mu\text{g/ml}$ ). Nearly similar scavenging activity values were recorded with all standards; gallic acid ( $96.04 \pm 0.28\%$ ), quercetin and ascorbic acid with an inhibition rate of,  $95.98 \pm 1.28\%$  and  $94.61 \pm 0.56\%$ , respectively), these activities have been confirmed with  $IC_{50}$  of  $1.82 \pm 0.17 \mu\text{g/ml}$  for gallic acid;  $4.47 \pm 0.57 \mu\text{g/ml}$  for quercetin and  $5.34 \pm 0.18 \mu\text{g/ml}$  for ascorbic acid. Thus, this trapping activity is significantly ( $P < 0.05$ ) affected by the concentration of the extracts with a positive correlation coefficient ( $r = 0.7992$  for MEA;  $r = 0.8197$  for EEA;  $r = 0.8691$  for AEA). It was very evident that the antioxidant activity of the standards was remarkably higher than that of the extracts.

Our results are approximately similar to those of Seddik et al., who reported an  $IC_{50}$  of the DPPH<sup>•</sup> radical of  $32.9 \pm 0.036$  and  $154 \pm 0.014 \mu\text{g/ml}$  for ethyl acetate and aqueous extract of *A. herba-alba* respectively [42]. The trapping potential increased with the increasing concentration of the solutions studied. It is well established that the high scavenger capacity of the DPPH<sup>•</sup> radical is significantly related to an increase in the concentration of trapped antioxidant substances [43,44].

### 3.4. Neutralization of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )

The  $H_2O_2$  scavenging ability of extracts and standards (gallic acid and ascorbic acids) is summarized in Fig. 3. Both extracts and standards showed a dose dependent ability to scavenge the  $H_2O_2$ . Almost similar scavenging activity percentages of trapping activity  $84.36 \pm 0.5\%$  and  $82.91 \pm 0.34\%$  were obtained using the EEA and the MEA, respectively, followed by the AEA ( $75.66 \pm 0.60\%$ ). on the other hand, the two standards showed a very high  $H_2O_2$  inhibition percent with  $99.87 \pm 0.034\%$  for gallic acid and  $99.69 \pm 0.09\%$  for ascorbic acid. In terms of  $IC_{50}$ , the highest  $H_2O_2$  scavenging effect ( $P < 0.001$ ) was obtained with EEA ( $96.54 \pm 1.64 \mu\text{g/ml}$ ) compared to MEA ( $128.41 \pm 1.41 \mu\text{g/ml}$ ) and the AEA ( $187.08 \pm 7.95 \mu\text{g/ml}$ ). Comparatively, a very high scavenger effect of hydrogen peroxide was obtained with both standards  $3.7 \pm 0.03 \mu\text{g/ml}$  for gallic acid and  $11.31 \pm 0.80 \mu\text{g/ml}$  for ascorbic acid. However, the  $H_2O_2$  scavenging capacity of an extract may be related to the natural structural properties of their active components, which determine their ability to donate electrons. The  $H_2O_2$  scavenging of various extracts of *A. herba-alba* may be related to their phenolic compounds, which can donate electrons to  $H_2O_2$  and thus neutralize it into water.



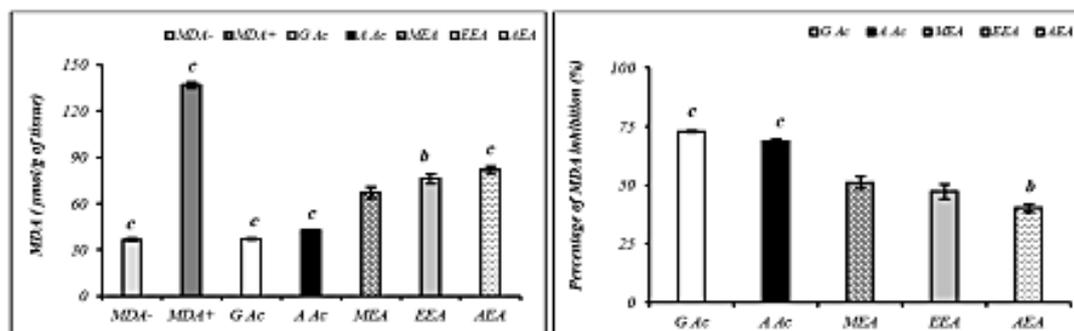
**Figure 3.** Hydrogen peroxide scavenging activity (%) against increasing concentrations of *Artemisia herba-alba* Asso extracts (A), gallic acid and ascorbic acid (B) (Mean  $\pm$  standard error,  $n=6$ ). Values with an exponent are significantly different from those with different concentrations (a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$ ).

Our results are different to those found by Ruwali et al. they indicated that the methanolic extract of *Artemisia indica* showed a maximum activity of 68.3% inhibition comparable to that of quercetin with an activity of 77.7% at the same concentration of 200  $\mu\text{g/ml}$ , while the ethanolic and 50% hydromethanolic extract showed a much lower inhibition of 39.8% and 25%, respectively [45]. However, according to our results, we confirm the above that the scavenger effect of  $\text{H}_2\text{O}_2$ , the uptake effect of the free radical DPPH $^{\cdot}$  or the reducing power of iron, are proportional to the concentration of polyphenols which plays a role of scavenging and antioxidant substances.

### 3.5. Protective effect of *Artemisia herba-alba* extracts against in vitro lipid peroxidation

The results of the protective activity of standards and phenolic extracts of *A. herba-alba* against lipid peroxidation illustrated in Fig. 4 showed a highly significant increase ( $P = 0.00002$ ) of MDA $^+$  level (with stress)  $136.76 \pm 1.85 \mu\text{mol/g}$  compared to MDA $^-$  level (without stress)  $36.53 \pm 0.89 \mu\text{mol/g}$ .

Better protection against lipid peroxidation was obtained with the two standards showing MDA content similar to MDA $^-$  group, accounting for  $37.05 \pm 0.50 \mu\text{mol/g}$  for gallic acid,  $42.48 \pm 0.70$  for ascorbic acid and  $36.53 \pm 0.89 \mu\text{mol/g}$  for negative control; this is equivalent to  $72.90 \pm 0.36\%$  and  $68.93 \pm 0.51\%$  inhibition of MDA for gallic and ascorbic acid, respectively. However, a low protective activity was obtained with all extracts revealed by a highly significant decrease ( $P < 0.001$ ) of MDA content. Among the tested extracts,  $66.97 \pm 3.61$  was obtained with the MEA;  $76.19 \pm 3.02$  with the EEA and  $81.79 \pm 2.30 \mu\text{mol/g}$  with the AEA. This was associated with  $51.02 \pm 2.64\%$ ,  $47.17 \pm 3.2\%$  and  $40.19 \pm 1.68\%$  MDA inhibition for the MEA, EEA and AEA, respectively. It's well known that the protective effect of *A. herba-alba* extracts against lipid peroxidation is achieved via a decrease of the oxidative cell damage caused by  $\text{H}_2\text{O}_2$  and  $\text{HO}^{\cdot}$  and mediated by the Fenton reaction.



**Figure 4.** Protective properties of extracts of *Artemisia herba-alba* Asso, gallic acid and ascorbic acid against lipid peroxidation expressed in MDA  $\mu\text{mol/g}$  of tissue (A), and the percentage of inhibition of peroxidation (%) (Mean  $\pm$  standard error,  $n=6$ ). Values with a superscript are significantly different from those in the MEA (a,  $P < 0.05$ ; b,  $P < 0.01$ ; c,  $P < 0.001$ ). MDA $^-$ : negative control; MDA $^+$ : positive control.

Our results are highly superior to those obtained by Seddik et al. they found a  $45.7 \pm 5.6\%$  inhibition of MDA with the ethyl acetate extract of *A. herba-alba* Asso versus a  $43 \pm 5.12\%$  reduction with the aqueous extract knowing that they tested a concentration of 50  $\text{mg/ml}$  and they used homogenate of rabbit brain [42]. Effective antioxidants can protect against lipid peroxidation by different modes of action; they can act indirectly, by neutralizing one of the initiators of lipid oxidative damage, or directly, by neutralizing lipid

radicals, thus stopping the propagation reactions typical for lipid peroxidation. Thus, complex natural extracts will present a combined lipid peroxidation inhibitory potential (PIPL), depending on their content in antioxidants capable stopping the chain reaction of the propagation of lipid radicals by neutralizing oxidative stress [46].

### 3.6. Evaluation of antibacterial activity

The results of the antibacterial sensitivity test for three phenolic extracts of *A. herba-alba* are summarized in Table 3. Although they have reacted positively to all strains, the obtained results revealed a significant difference in antibacterial activity of *A. herba-alba* extracts against the four tested strains at a dose-dependent way. A significant inhibitory effect of bacterial growth was obtained with the ethanolic and methanolic extracts compared to the aqueous extract against *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* and *S. aureus* that could be related to their richness in bioactive compounds (polyphenols and flavonoids).

**Table 3.** Diameters of inhibition zones (mm) of *Artemisia herba-alba* A.sso. extracts and antibiotic discs against the tested bacteria.

Extracts	Bacteria			
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
MEA (mg/mL)				
250	11.25 ± 0.23	11.76 ± 0.32	14.78 ± 0.50	14.01 ± 0.61
125	9.94 ± 0.26	10.21 ± 0.22	11.90 ± 0.32	11.58 ± 0.19
62.5	8.23 ± 0.41	9.01 ± 0.16	9.59 ± 0.23	10.48 ± 0.25
31.25	6.39 ± 0.08	8.15 ± 0.13	7.81 ± 0.24	8.44 ± 0.21
EEA (mg/mL)				
250	13.56 ± 0.56 <sup>c</sup>	13.92 ± 0.40 <sup>c</sup>	16.89 ± 0.77 <sup>a</sup>	15.63 ± 0.40 <sup>b</sup>
125	11.54 ± 0.20 <sup>c</sup>	11.98 ± 0.21 <sup>c</sup>	13.77 ± 0.49 <sup>a</sup>	11.88 ± 0.35
62.5	10.02 ± 0.36 <sup>b</sup>	10.52 ± 0.45 <sup>b</sup>	11.51 ± 0.23 <sup>c</sup>	9.28 ± 0.18 <sup>c</sup>
31.25	7.54 ± 0.18 <sup>c</sup>	8.80 ± 0.53	9.18 ± 0.57 <sup>a</sup>	7.41 ± 0.31 <sup>b</sup>
AEA (mg/mL)				
250	10.53 ± 0.25	10.18 ± 0.32 <sup>b</sup>	11.93 ± 0.44 <sup>b</sup>	11.20 ± 0.28 <sup>c</sup>
125	8.43 ± 0.17 <sup>c</sup>	8.31 ± 0.09 <sup>c</sup>	9.65 ± 0.55 <sup>b</sup>	8.72 ± 0.25 <sup>c</sup>
62.5	6.98 ± 0.19 <sup>b</sup>	7.63 ± 0.19 <sup>b</sup>	7.86 ± 0.24 <sup>c</sup>	7.70 ± 0.16 <sup>c</sup>
31.25	6.17 ± 0.05	6.54 ± 0.14 <sup>b</sup>	7.18 ± 0.32	6.50 ± 0.09 <sup>c</sup>
Antibiotics (µg/discs)				
Tetracycline (30 µg/discs)	15.30 ± 0.45	11.08 ± 0.47	10.91 ± 0.47	16.45 ± 0.31
Amikacin (30 µg/discs)	24.07 ± 0.45	21.27 ± 0.21	21.10 ± 0.41	26.95 ± 0.20
Erythromycin (15 µg/discs)	15.07 ± 0.61	-	-	21.11 ± 0.49

The values shown are the mean ±SD (n = 6). Values with a superscript are significantly different from those in the MEA (a, P < 0.05; b, P < 0.01; c, P < 0.001).

Gram-positive bacteria were more sensitive (*S. aureus* and *B. cereus*) compared to Gram-negative bacteria (*E. coli* and *P. aeruginosa*). The incorporation of EEA showed a strong antibacterial effect with MIC values of 6, 8, 10 and 10 mg/mL against *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*, respectively, and MBC values of 14, 16, 15 and 22 mg/mL against *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* and *P. aeruginosa*. Almost similar MIC values were recorded for all tested strains when the plates were incorporated with MEA, but the MBC values were slightly higher than those obtained with the EEA (Table 4). However, the aqueous extract

(AEA) has shown a very low antibacterial efficacy against all tested strains with MIC values of 75 mg/mL for *S. aureus*, 80 mg/ml for *B. cereus* and *E. coli* and 90 mg/mL for *P. aeruginosa*. Although, Gram-positive bacteria *S. aureus* and *B. cereus* were more sensitive compared to Gram-negative bacteria *E. coli* and *P. aeruginosa*, and this may be related to the difference in wall structure between Gram-positive and Gram-negative bacteria [47-49].

**Table 4.** Minimum inhibitory (MIC) and bactericidal (MBC) concentrations of *Artemisia herba-alba* Asso extracts against the bacteria tested.

Strains	EEA		MEA		AEA	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>E. coli</i>	10	15	16	24	80	Nd
<i>P. aeruginosa</i>	10	22	18	25.5	90	Nd
<i>B. cereus</i>	8	16	15	20	80	Nd
<i>S. aureus</i>	6	14	14	18	75	Nd

Nd: not determined.

In their study of the antimicrobial activity of extracts of the aerial part of 23 medicinal plants including *A. campestris*, Sassi et al. found that the acetone extract exerts an inhibitory effect among the three extracts (hexane and methanol extract) [50]. Our results corroborate those of Naili et al., the results obtained in this study show that the methanolic extract of *A. campestris* leaves has an inhibitory effect on all the studied bacteria, including *S. aureus*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* [51]. Younsi et al., confirmed the substantial antimicrobial activity exhibited by the essential oil and extract of *A. herba-alba*, suggesting that the bioactivity of C-glycosyl flavonoids and caffeoylquinic acids is responsible for antibacterial activity [38].

Previous studies have identified major phenolic compounds such as 1,8-cineole, camphor,  $\alpha$ -thujone and  $\beta$ -thujone, aglycone flavonoids and glycosyl flavonoids to be the main responsible for antibacterial activity [52,53].

#### 4. CONCLUSION

The results of this study showed the aqueous extraction yield was greater than the alcoholic extracts and that the methanolic extract gave better content of polyphenolic compounds and flavonoids compared to both ethanolic and aqueous extracts. The antioxidant activity was the most powerful with the iron reducing power (FRAP) and antiradical activity (DPPH) of methanolic extract ( $P < 0.05$ ) compared to ethanolic and aqueous extract, however the scavenger activity of hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) was more powerful with the ethanolic extract of *Artemisia herba-alba*. All extracts reacted positively in a dose-dependent way to all tested bacteria, confirming that the *Artemisia herba-alba* plant has strong antimicrobial properties against bacteria (*Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) and less inhibiting properties against bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*). The extracts from *Artemisia herba-alba* are good candidates as part of new pharmaceutical or nutraceutical's formulations, and can be considered in preventive strategies for many metabolic disorders induced by oxidative stress.

**Authors' Contributions:** NA, RB and HH designed and carried out the research and analyzed the data and wrote the manuscript. NA and FA carried out the experiments. All authors read and approved the final manuscript.

**Conflict of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments:** This research was highly supported by the DGRST of the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research. The authors would like to acknowledge the Farm Animal Laboratory of Veterinary Sciences Institute, University of Taret, for provision of laboratory space and necessary materials to carry out the antibacterial study.

## REFERENCES

1. Jimenez-Garcia SN, Vazquez-Cruz MA, Guevara-Gonzalez RG, Torres-Pacheco I, Cruz-Hernandez A, Feregrino-Perez AA. Current approaches for enhanced expression of secondary metabolites as bioactive compounds in plants for agronomic and human health purposes-A review. *Polish J Food Nutr Sci.* 2013; 63(2): 67-78.
2. Morand C, Milenkovic D. Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. Carrefours l'Innovation Agron Ciag Phytomicronutriments la plante au Consomm 2014; Carrefours l'Innovation Agron Ciag Phytomicronutriments la plante au Consomm Avignon, FRA, 2014: 11-26.
3. Gülçin I, Topal F, Çakmakçı R, Bilsel M, Gören AC, Erdogan U. Pomological features, nutritional quality, polyphenol content analysis, and antioxidant properties of domesticated and 3 wild ecotype forms of raspberries (*Rubus idaeus* L.). *J Food Sci.* 2011; 76(4): C585-C593.
4. Bertella A, Benlahcen K, Abouamama S, Pinto DCGA, Maamar K, Kihal M, et al. *Artemisia herba-alba* Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity. *Ind Crops Prod.* 2018; 116: 137-143.
5. Yun C, Jung Y, Chun W, Yang B, Ryu J, Lim C, et al. Anti-inflammatory effects of *Artemisia* leaf extract in mice with contact dermatitis in vitro and in vivo. *Mediators Inflamm.* 2016; 2016: 8027537.
6. Ene AC, Atawodi SE, Fatihu MY. Acute toxicity of chloroform extract of *Artemisia macivera* Linn in Swiss albino mice. *J Pharm Res Int.* 2014: 1900-1908.
7. Ghazanfar K, Ganai BA, Akbar S, Mubashir K, Dar SA, Dar MY, et al. Antidiabetic activity of *Artemisia amygdalina* Decne in streptozotocin induced diabetic rats. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 185676.
8. Boudjelal A, Siracusa L, Henchiri C, Sarri M, Abderrahim B, Baali F, et al. Antidiabetic effects of aqueous infusions of *Artemisia herba-alba* and *Ajuga reptans* in alloxan-induced diabetic rats. *Planta Med.* 2015; 81(9): 696-704.
9. Lee J, Narayan VP, Hong EY, Whang WK, Park T. *Artemisia Iwayomogi* extract attenuates high-fat diet-induced hypertriglyceridemia in mice: potential involvement of the adiponectin-AMPK pathway and very low-density lipoprotein assembly in the liver. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(8): 1762.
10. Ait-Kaki A, Diaw MT, Geda F, Moula N. Effects of *Artemisia herba-alba* or olive leaf (*Olea europaea*) powder supplementation on growth performance, carcass yield, and blood biochemical parameters in broilers. *Vet World.* 2018; 11(11): 1624.
11. Yen G, Duh P. Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *J Am Oil Chem Soc.* 1993; 70(4): 383-386.
12. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 1999; 299: 152-178.
13. Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, et al. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung.* 1996; 46(11): 1086-1089.

14. Que F, Mao L, Pan X. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int.* 2006; 39(5): 581-587.
15. Ruch RJ, Cheng S, Klaunig JE. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis.* 1989; 10(6): 1003-1008.
16. Kumar S, Mishra A, Pandey AK. Antioxidant mediated protective effect of *Parthenium hysterophorus* against oxidative damage using *in vitro* models. *BMC Complement Altern Med.* 2013; 13(1): 1-9.
17. Gupta V, Sharma M. Protective effect of *Cinnamomum tejpata* on lipid peroxide formation in isolated rat liver homogenate. *Curr Res J Biol Sci.* 2010; 2: 246-249.
18. Moukette BM, Pieme CA, Njimou JR, Biapa CPN, Marco B, Ngogang JY. *In vitro* antioxidant properties, free radicals scavenging activities of extracts and polyphenol composition of a non-timber forest product used as spice: *Monodora myristica*. *Biol Res.* 2015; 48(1): 1-17.
19. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med.* 1976; 15: 212-216.
20. Adesokan AA, Akanji MA, Yakubu MT. Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *Afr J Biotechnol.* 2007; 6(22): 2502-2505.
21. Alzahrani HA, Alsabehi R, Boukraâ L, Abdellah F, Bellik Y, Bakhotmah BA. Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules.* 2012; 17(9): 10540-10549.
22. Al-Kharabsheh S, Al-Dabbas M, Ghazzawi H, Zatimeh A, Abulaila K. Antioxidant activity and  $\alpha$ -amylase inhibitory effect of selected medicinal plants grown in Jordan: an *in-vitro* study. *J Arab Soc Med Res.* 2017; 12(1): 19.
23. Lim DW, Kim YT, Jang Y-J, Kim Y-E, Han D. Anti-obesity effect of *Artemisia capillaris* extracts in high-fat diet-induced obese rats. *Molecules.* 2013; 18(8): 9241-9252.
24. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extracts. *J Med Plants Res.* 2011; 5(7): 1147-1154.
25. Louli V, Ragoussis N, Magoulas K. Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products. *Bioresour Technol.* 2004; 92(2): 201-208.
26. Felhi S, Daoud A, Hajlaoui H, Mnafigui K, Gharsallah N, Kadri A. Solvent extraction effects on phytochemical constituent's profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Echallium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Sci Technol.* 2017; 37: 483-492.
27. Megdiche-Ksouri W, Trabelsi N, Mkadmini K, Bourgou S, Noumi A, Snoussi M, et al. *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Ind Crops Prod.* 2015; 63: 104-113.
28. Lee JH. Evaluation for antioxidant activity of *Artemisia sp.* plants. *Res J Med Plant.* 2014; 8: 258-268.
29. Abdallah HM, Abdel-Rahman RF, Jaleel GAA, El-Kader H, El-Marasy SA. Pharmacological effects of ethanol extract of *Artemisia herba alba* in streptozotocin-induced type I diabetes mellitus in rats. *Biochem Pharmacol.* 2015; 4(196): 501-2167.
30. Mohsen SM, Ammar ASM. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chem.* 2009; 112(3): 595-598.
31. Zarena AS, Sankar KU. A study of antioxidant properties from *Garcinia mangostana L. pericarp* extract. *Acta Sci Pol Technol Aliment.* 2009; 8(1): 23-34.
32. Marinova EM, Yanishlieva NV. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chem.* 1997; 58(3): 245-248.
33. Souhila T, Fatma Zohra B, Tahar HS. Identification and quantification of phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* at three harvest time by HPLC-ESI-Q-TOF-MS. *Int J Food Prop.* 2019; 22(1): 843-852.

34. Ayan AK, Yanar P, Cirak C, Bilgener M. Morphogenetic and diurnal variation of total phenols in some *Hypericum* species from Turkey during their phenological cycles. *Bangladesh J Bot.* 2007; 36(1): 39-46.
35. Verma V, Kasera PK. Variations in secondary metabolites in some arid zone medicinal plants in relation to season and plant growth. *Indian J Plant Physiol.* 2007; 12(2): 203.
36. Bellik Y, Benabdesselam F, Ayad A, Dahmani Z, Boukraa L, Nemmar A, Iguer-Ouada M. Antioxidant Activity of the Essential Oil and Oleoresin of *Zingiber Officinale Roscoe* as Affected by Chemical Environment. *Int J Food Prop.* 2013; 16(6): 1304-1313.
37. Wong JY, Matanjun P, Ooi YBH, Chia KF. Evaluation of antioxidant activities in relation to total phenolics and flavonoids content of selected Malaysian wild edible plants by multivariate analysis. *Int J Food Prop.* 2014; 17(8): 1763-1778.
38. Younsi F, Trimech R, Boulila A, Ezzine O, Dhahri S, Boussaid M, Messaoud C. Essential oil and phenolic compounds of *Artemisia herba-alba* (Asso.): Composition, antioxidant, antiacetylcholinesterase, and antibacterial activities. *Int J Food Prop.* 2016; 19(7): 1425-1438.
39. Hodzic Z, Pasalic H, Memisevic A, Srabovic M, Saletovic M, Poljakovic M. The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *Eur J Sci Res.* 2009; 28(3): 471-477.
40. Lim YY, Lim TT, Tee JJ. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chem.* 2007; 103(3): 1003-1008.
41. Abdul Qadir M, Shahzadi SK, Bashir A, Munir A, Shahzad S. Evaluation of phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial activities of some common herbs. *Int J Anal Chem.* 2017; 2017: 3475738.
42. Seddik K, Nadjat I, Daoud BAH, Lekhmici A. Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic compounds. *J Med Plants Res.* 2010; 4(13): 1273-1280.
43. Gul MZ, Ahmad F, Kondapi AK, Qureshi IA, Ghazi IA. Antioxidant and antiproliferative activities of *Abrus precatorius* leaf extracts-an *in vitro* study. *BMC Complement Altern Med.* 2013; 13(1): 1-12.
44. Hilmi Y, Abushama MF, Abdalgadir H, Khalid A, Khalid H. A study of antioxidant activity, enzymatic inhibition and *in vitro* toxicity of selected traditional sudanese plants with anti-diabetic potential. *BMC Complement Altern Med.* 2014; 14(1): 1-5.
45. Ruwali P, Ambwani TK, Gautam P. *In vitro* antioxidative potential of *Artemisia indica* willd. *Indian J Anim Sci.* 2017; 87(11): 1326-1331.
46. Félix R, Valentão P, Andrade PB, Félix C, Novaes SC, Lemos MFL. Evaluating the *in vitro* potential of natural extracts to protect lipids from oxidative damage. *Antioxidants.* 2020; 9(3): 231.
47. Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RM-R, Faidi YR, Salem K, Al-Nuri MA. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol.* 1998; 60(3): 265-271.
48. Ramdani M, Lograda T, Silini H. Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *J Appl Pharm Sci.* 2013; 3(11): 22.
49. Malviya S, Jha A, Hettiarachchy N. Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. *J Food Sci Technol.* 2014; 51(12): 4132-4137.
50. Sassi A Ben, Harzallah-Skhiri F, Aouni M. Investigation of some medicinal plants from Tunisia for antimicrobial activities. *Pharm Biol.* 2007; 45(5): 421-428.
51. Naili MB, Alghazeer RO, Saleh NA, Al-Najjar AY. Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae). *Arab J Chem.* 2010; 3(2): 79-84.

52. Pirbalouti AG, Neshat SH, Rahimi E, Hamed B, Malekpoor F. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of Iranian herbs against *Staphylococcus aureus* isolated from milk. *Int J Food Prop.* 2014; 17(9): 2063-2071.
53. Ahmadizadeh C, Monadi A, Rezaie A, Rad MG, Jafari B. Antibacterial activity of methanolic extract and essence of Sagebrush (*Artemisia vulgaris*) against pathogenic bacteria. *Life Sci J.* 2018; 15(5): 69-73.