

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE N°...../SNV/

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par Mme HAMMOU Khadidja Naoual et

KACEM Nour el Houda

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Pharmacoto-toxicologie

THÈME

**Evaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait
aqueux de *Terfezia claveryi* « étude expérimentale chez la
souris »**

Soutenu publiquement le

DEVANT LE JURY

Président :	Mme MISSOUN F	MCA	U. Mostaganem
Encadreur :	Prof DJEBLI N	Prof	U. Mostaganem
Examinatrice :	Mme AMARI N	MCA	U. Mostaganem

Année universitaire : 2017/2018

Résumé

L'objectif de notre travail c'était d'étudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des truffes marron du Sahara Algérien *Terfezia claveryi* afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle.

L'activité anti-inflammatoire de *T. claveryi* par voie orale et par voie intra-péritonéale à titre préventif a été évaluée par la mesure du pourcentage de l'inhibition de l'œdème des pattes de souris enflammées provoquées par la carraginine ,ces mesures sont suivis pendant six heures Ensuite elle a été mise en évidence aussi par une étude histologique .Nos résultats ont révélé que la dose de 100mg /kg et 150mg/kg de l'extrait aqueux de ces truffes administrées par voie orale aux souris ainsi que les doses 50mg/kg et 100mg/kg par voie intra-péritonéales réduisent significativement l'œdème de la patte de la souris induit par la carraginine par une diminution de l'inflammation par rapport au diclofénac, de (78,11% et 36,14%) respectivement.

De ceci, on peut conclure que l'extrait aqueux des truffes marron peut être utilisé comme une nouvelle molécule bioactive permettant de lutter contre l'inflammation pour pouvoir vaincre le problème capital de la résistance immunitaire.

Mots clés: *Terfezia claveryi* , anti-inflammatoire, œdème, extrait aqueux.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the anti-inflammatory of the aqueous extract of brown Tefez of Algerian's Sahara of *Terfezia claveryi* in order to enhance its use in traditional medicine.

The- anti-inflammatory effect of *Terfezia claveryi* with oral and intra-peritoneal pathways, what was evaluated by the measure of inhibition percentage edema's mouse induced by carraginine.

The doses of 100mg / kg and 150mg/kg of the aqueous extract of *Terfezia claveryi* administrated with oral pathway to the mouse and the doses of 50mg/kg and 100mg/kg with intra-peritoneal pathway are significantly reduced the paw edema of mouse induced by carraginine in a reduction of inflammation relative to diclofenac, of (78,11% and 36,14%) respectively.

From this research we concluded that the nature of the solvents has a significant effect on the antibacterial activity and that the aqueous extract of the truffles can be used as a new bioactive molecule making it possible to fight against the pathogenic microorganisms in order to be able to overcome the essential problem of immunity resistance.

Key words: *Terfezia claveryi* , anti-inflammatory, edema, aqueous extract

ملخص

الهدف من هذا البحث هو دراسة لفعالية مضاد الالتهاب للمستخلص المائي للترفاس البني المأخوذ من الصحراء الجزائرية من أجل برهنة مفعوله في الطب الشعبي التقليدي ، تم تحديد هذا المفعول بحساب النسبة المئوية خلال ستة ساعات لحجم الالتهاب عند الفئران الناتج عن الكراجينين ثم دراسة نسيجية لتأكيد هذه النتائج.

وجدت أن الجرعة 100 مغ \ كغ و 150مغ\كغ لهذا المستخلص عن طريق الفم وكذلك بالنسبة للجرعة 50 مغ\كغ و 100 مغ\كغ عن طريق البر يتوان تقلل بنسبة معتبرة من حجم الالتهاب ب 78,11 % و بالدكلوفيناك بنسبة 36,14% و مما سبق نستنتج أن المستخلص المائي *Terfezia claveryi* يمكن استخدامه كجزيئة جديدة نشطة بيولوجيا بغية التغلب على مشكلة المقاومة المناعية ضد للالتهاب.

الكلمات المفتاحية : *Terfezia claveryi* , مستخلص مائي , نشاط مضاد للالتهاب , وذمة .

Introduction

INTRODUCTION

Plus de 65% de personnes souffrent des inflammations d'origine héréditaires dont près de 45% des cas sont mortelles ces inflammations se déclenchent après une exposition direct ou indirect à des agents pathogènes (OMS, 2016).

L'inflammation est une réaction localisée d'un tissu, consécutive à une agression (blessure, infection, irradiation, etc.) (Naudin et al., 1995) peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse (Gaziano et Gibson, 2006); pour combattre l'inflammation, on utilise souvent des corticostéroïdes ou des anti inflammatoires non stéroïdiens. (Naudin et al., 1995).

Face à cette situation, et diminuer les effets secondaires de synthétique; l'idée de plusieurs communautés scientifiques était de se retourner vers la médecine traditionnelle, les substances naturelles d'origine végétale ou fongique et chercher de nouvelles molécules bioactives permettant de lutter contre le non-soi qui provoque ces inflammations (Gutmann, 2013; Türkoğlu et al., 2007), ces espèces sont encore peu ou pas étudiées mais dotées de réelles propriétés pharmacologiques (Carillon, 2000; Graham et al., Bnouham et al., 2002; Gonzalez-Tejero et al., 2008; Fouché et al., 2000).

Dans le cadre de la recherche scientifique, plusieurs nouvelles molécules bioactive extraites des plantes sont identifiées mais peu de recherches avancées dans le règne des fungi et malgré que les champignons représentent un groupe distinct d'organismes plus étroitement liés aux animaux qu'aux végétaux, ils ont souvent été classifié comme étant un genre de plantes, les champignons sont divisés en trois règnes séparés et distincts basés sur une connaissance étendue de leur biochimie et leur forme génétique établie particulièrement pendant les 30 dernières années (FAO, 2006).

De nombreux scientifiques se sont intéressés aux activités biologiques des champignons et différentes études sur les truffes de sable ont fait preuve que ces macro champignons sont parmi les organismes qui ont un pouvoir médicinal antibactérien et anti viral ceci explique la raison de l'utilisation antique des truffes par les bédouins pour remédier différentes maladies comme les nécroses des extrémités (Janakat et al., 2005; Neggaz et Fortas, 2013).

Ces truffes de sable ou encore nommées truffes du désert sont actuellement représentées par treize genres et trente-huit espèces réparties dans les régions arides et semi-arides, principalement dans les pays du bassin méditerranéen (Saltarelli et al., 2008). En Algérie on

cite trois genres dont *Terfezia*, *Tirmania* et *Picoa* qui sont communément appelées : « Terfess, Eterfes, Al Kamae, Al faga'a » (Chatin, 1891 ; Bokhary, 1987).

Notre objectif c'est d'explorer les activités anti-inflammatoires des extraits aqueux des truffes. Parmi les espèces de cette famille, notre intérêt s'est porté sur l'espèce : *Terfezia claveryi* qui caractérise les truffes marron du Sud Algérien.

En premier lieu une étude bibliographique est réalisés, ensuite , pour évaluer l'efficacité des extraits aqueux de ces truffes contre l'inflammation, nous avons élaboré une étude expérimentation en mesurant l'augmentation du volume des pattes de souris et l'inhibition de l'œdème de celles-ci après traitement préventif par *Terfezia claveryi* puis provoquées par l'inflammation .Après une étude histologique a été réalisé pour confirmer l'activité anti-inflammatoire de *Terfezia claveryi* .

Ce travail nous a mené à organiser notre mémoire en deux partie, une première est constituée de trois chapitre : l'inflammation ; traitement de l'inflammation et la plante utilisé dans ce travail , et une deuxième partie comprend un chapitre pour matériels et méthodes et un second concerne des résultats et discussions en fin une conclusion.

Première partie
Revue
bibliographique

Chapitre I:

L'inflammation

I. Inflammation

I.1.Définition

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme et de ses tissus contre des stimuli nocifs. Le but est de supprimer la lésion ou au moins de la limiter au niveau local, et par ailleurs d'éliminer la cause du dommage, ainsi éventuellement que les bactéries ou les corps étrangers (Silbernagl et Lang, 1998 ; Majno et Joris, 2004). Elle est aussi la réaction normale de l'organisme aux blessures et aux infections. Les mots « infection » et « inflammation » sont souvent employés ensemble, mais leur sens est très différent. L'infection est l'invasion de l'organisme par un agent pathogène qui s'y multiplie, tandis que l'inflammation est la réponse de l'organisme pour se protéger de l'infection. L'inflammation est un processus complexe qui fait intervenir plusieurs types de cellules immunitaires, des protéines de coagulation et des molécules de signalisation qui, toutes, évoluent avec le temps.

I.2.Les causes de l'inflammation

La réaction inflammatoire peut être déclenchée par

- *des micro-organismes comme des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites.
- *des corps étrangers (des protéines étrangères, par ex ., les pollens ; des cristaux de silice ou d'amiante) ou ;
- *des lésions tissulaires avec formation de débris de tissus comme après une atteinte mécanique (coupure, piqure, frottement, ou corps étranger), chimique (acides et bases) ou physique (chaleur, froid ou rayonnement [UV, X, radioactifs]), ou encore sous l'influence d'inducteurs endogènes comme les cellules tumorales tuées, hémorragies, réactions auto-immunes, ou cristaux formés dans l'organisme (urée, oxalate ou phosphate de calcium, cholestérol) (Charles et *al.*, 2003).

I.3.Les types de l'inflammation

I.3.1.L'inflammation aigue

Se manifeste localement par des symptômes, connus depuis les temps anciens, douleur (dolor), gonflement (tumor), rougeur (rubor) et échauffement (calor). Des réactions inflammatoires généralisées peuvent également de produire (réponse de phase aigue) (Silbernagl et Lang, 1998).

L'activation brutale des mastocytes (dans les tissus) ou de leurs homologues circulants, les granulocytes basophiles est un exemple du déclenchement d'une réaction inflammatoire aigue très puissante. Cette réaction est en particulier au centre des réactions d'hypersensibilité de type 1. Si l'organisme a déjà été en contact auparavant avec un antigène (allergène dans le cas d'une réaction d'hypersensibilité), avec les protéines d'un venin d'abeille, les lymphocytes B ont été sensibilisés selon les réactions décrites ci-dessus (coopération avec les cellules T_{H2}).

Les plasmocytes provenant de ces réactions produisent des IgE qui se lient aux récepteurs $F_{c\epsilon}$ des mastocytes. Lors d'un contact nouveau avec l'antigène, celui-ci est maintenant lié aux extrémités Fab des IgE, spécifiques de l'antigène. Il semble important pour la réaction ultérieure du mastocyte que l'allergène soit fixé à plusieurs molécules d'IgE (formation d'un réseau d'anticorps) ; les antigènes de grande taille, dont les différentes parties peuvent agir comme autant de déterminants antigéniques (polyvalents) sont particulièrement actifs (par ex., parasites, protéines avec plusieurs haptènes associés) (Coussens, 2002 ; Calvano, 2005 ; Gurtner, 2008). Les anticorps associés déclenchent le mastocyte la libération de seconds messagers (GMPc inositol triphosphate Ca^{++}) qui provoque une dégranulation rapide des mastocytes. C'est-à-dire une exocytose de médiateurs de l'inflammation stockés dans les granules (Charles et *al.*, 2010 ; Medzhitov, 2008).



Figure 1 : une inflammation au niveau du bras (Rousselet et *al.*, 2005).

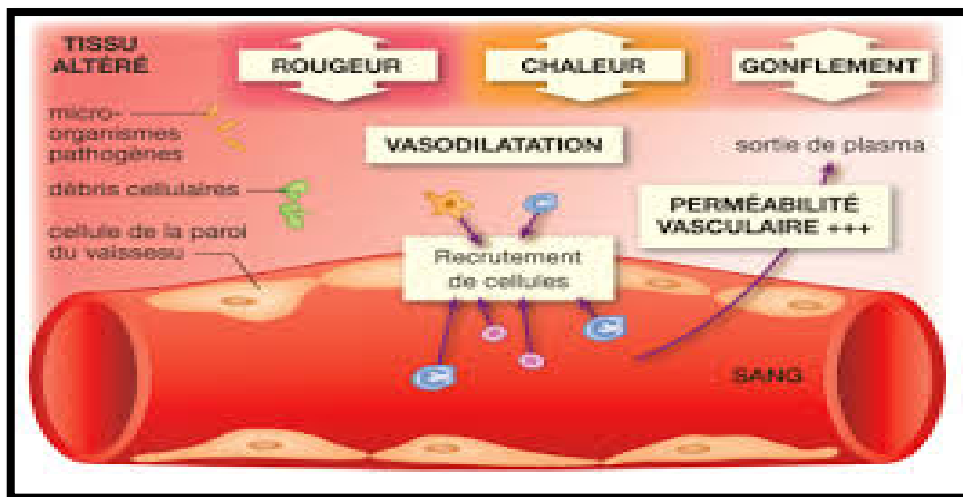


Figure 2 : Les différents symptômes de l'inflammation (Charles et *al.*, 2010).

I.3.1.1. La vasodilatation

Est à l'origine de la rougeur et de la chaleur qui touchent le site de l'inflammation et fait décroître la vitesse du flux sanguin ce qui permet aux leucocytes attirés par chimiotactisme de nager jusqu'à proximité de l'endothélium de la région enflammée activé, entre autres, par l'IL-4 (provenant des lymphocytes T_{H2}) exprime la sélectine sur sa face liminale.

- ✓ Cette molécule d'adhésion permet aux leucocytes de rouler le long de l'endothélium et d'activer ainsi de nouvelles molécules d'adhésion (intégrines : ICAM1, VCAM).Celles-ci facilitent :
- ✓ L'adhésion des leucocytes à la paroi des vaisseaux (margination). Les leucocytes vont pouvoir s'infiltrer dans l'espace extravasculaire grâce à une augmentation des possibilités de passage à travers l'endothélium (relâchement des interactions entre les cellules endothéliales) *diapédèse* (Rousselet et *al.*, 2005).
- ✓ Un fluide riche en protéines s'accumule maintenant en quantité importantes dans l'espace extracellulaire (exsudat inflammatoire) provoquant un gonflement œdémateux (Bianchi, 2007; Barton, 2008).Dans des cas extrêmes, les érythrocytes peuvent également quitter le lit vasculaire : inflammation hémorragique (Nourshargh et *al.*, 2006).
- ✓ Finalement, surviennent des sensations douloureuses qui vont révéler la lésion (modification du comportement) et vont inciter la personne à ménager par réflexe la zone enflammée (par ex, une extrémité) (Silbernagl et Lang, 1998).

I.3.1.2.La phase leucocytaire

Les granulocytes neutrophiles ayant migré jusqu'au site de la lésion et les macrophages. Provenant de la différenciation des monocytes circulants, vont maintenant chercher à phagocyter les responsables de l'inflammation et à les « diriger » dans leurs lysosomes. Une opsonisation par des IgG ou C3b va « ouvrir leur appétit » (Nathan, 2002).

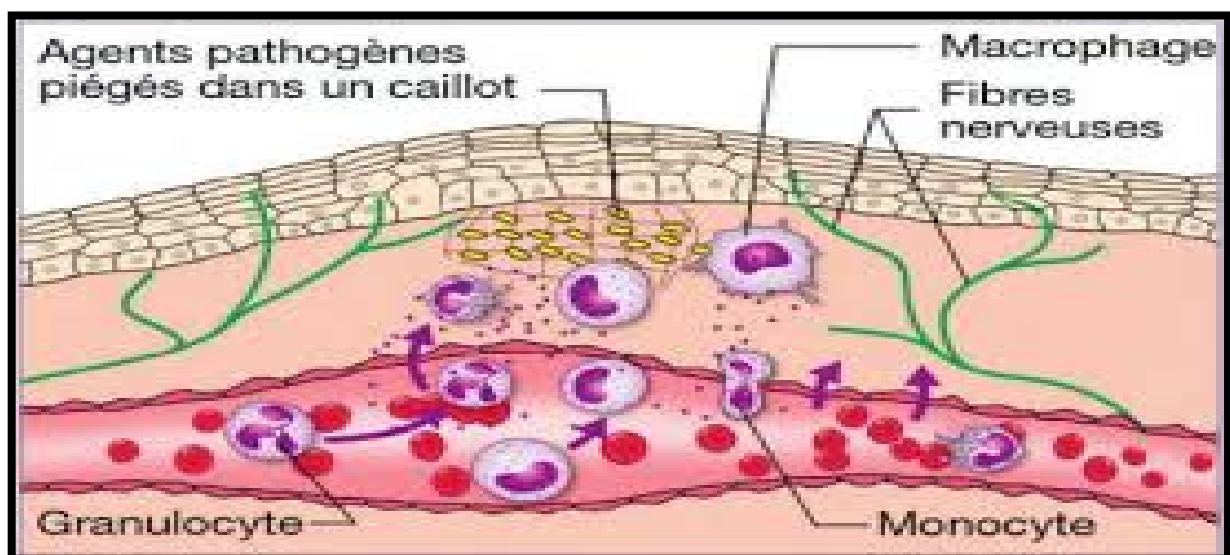


Figure 3: Les cellules impliquées dans l'inflammation (Nathan, 2002).

Lors de l'inflammation .le système du complément va également être activé aussi bien par la voie « classique », rapide, en présence de complexes antigènes-anticorps que par la voie alterne,

plus lente via la liaison peu spécifique à des bactéries ou des cellules infectées par des virus. Dans les deux cas, il y aura formation du composant C3b .Il sert non seulement à l'opsonisation des antigènes, mais suscite également la polymérisation d'autres composantes (C5 à C9) sur la membrane de l'agent pathogène attaqué, forant ainsi le complexe d'attaque membranaire et provoquant la lyse de l'agresseur. Le système du complément peut en plus mettre en pièce des particules virales et des complexes antigènes anticorps .Des produits secondaires provenant de l'activation du complément (C3a, C4a et C5a encore appelés anaphylatoxines) ont une action chimiotactique et activent les macrophages (Ruslan, 2008).

Les macrophages sont activés par les exo-et les endotoxines des agent pathogènes, ainsi que par les complexes antigènes-anticorps, le C5a des cristaux ou le phénomène de phagocytose cette activation va alors libérer des oxydants tels que O_2^- , OH, O_2 et H_2O_2 destinés à éliminer les agent pathogènes .De plus les macrophages secrètent des médiateurs de l'inflammation a coté du PAF des leucotrines et des prostaglandines , ce sont l'IL-1 l'IL-6 et le TNF a qui n'agissent pas uniquement sur le plan local par chimiotactisme mais font également participer l'ensemble de l'organisme à la réaction inflammatoire de l'organisme à la réaction inflammatoire :réponse de phase aigue (Eming et *al.*, 2007).

Via des récepteurs spécifiques. Ces cytokines vont entre autres, déclencher :

- ✓ Dans le cerveau, des réactions d'assoupissent (fatigue, abattent) ;
- ✓ Dans l'hypothalamus une modification de la valeur de référence de la température (fièvre)
- ✓ Dans la moelle osseuse une augmentation de la libération de leucocytes ;
- ✓ Dans le foie, une stimulation de la capture de pour en priver les présentes dans le sérum ainsi qu'une augmentation de la synthèse des C réactive =CRP et SAA sérum amyloïde .

- ✓ Une stimulation du système immunitaire (formation d'anticorps etc.)

- ✓ Une activation de la lipolyse et du catabolisme (perte de poids) (Patrice, 2014).

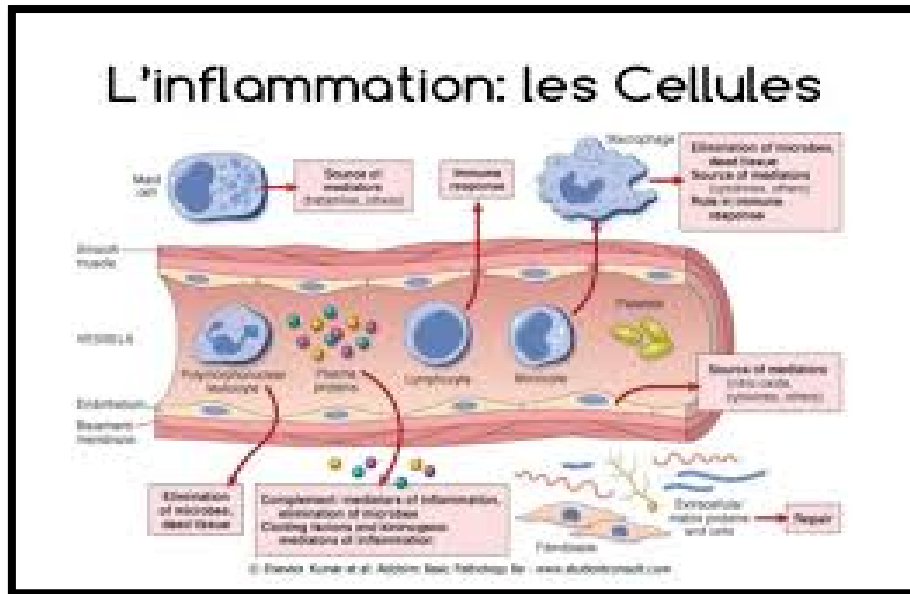


Figure 4: les grandes étapes de l'inflammation aiguë (Patrice, 2014).

I.3.1.3. Réparation des tissus

Après formation transitoire d'un tissu granuleux riche en cellules (macrophage entre autre) caractérisé par le bourgeonnement de vaisseaux le PDGF (platelet derived growth factor) et d'autres médiateurs stimulent la multiplication et la migration de fibroblastes ils produisent des glycosaminoglycanes qui gonflent et s'associent aux faisceaux de collagène. Du nouveau collagène est formé qui en se reterasant va refermer les lèvres de la plaie. Les fibres de collagène (cicatrice) vont finalement être remplacées par le tissu habituel à cet endroit (restitution à l'identique) Ce dernier point ne s'applique sans doute qu'à des lésions de petite taille et non infectées si l'origine et l'inflammation ne peut être éliminée de cette façon (par ex à cause d'un corps étranger ou d'une infection de la plaie) ,la cicatrisation se ralentit et le combat des phagocytes s'intensifie ceci nécessite beaucoup d'énergie (échauffement accru) le système de coagulation activé simultanément obture les vaisseaux au voisinage ,de sorte que l'ATP devient insuffisant à cause du manque d'oxygène et que la valeur du PH diminue (formation anaérobie de lactate) les oxydants libéré vont également léser les cellules de l'organisme dont la dégradation libère à son tour des enzymes lysosomiaux si bien que les leucocytes et les cellules du tissu inflammatoire subissent eux aussi une lyse .Cette dégradation des tissus (nécrose) qui peut aller jusqu'à la formation d'une cavité (abcès) est le prix à payer pour empêcher l'extension de l'inflammation et laisse derrière elle en général une cicatrice durable celle-ci se forme également lorsque la lésion est trop importante (par exemple une plaie béante) (Silbernagl et Lang, 1998 ; Eming et al., 2007 ; Carl et Carol, 2010).

I.3.2. Inflammation chronique

On aboutit également à une altération de la cicatrisation lorsque les processus d'inflammation et de cicatrisation se maintiennent en équilibre, (par exemple lors d'une bronchite chronique ou d'une lésion hépatique due à l'alcool). Si ce phénomène s'accompagne d'une formation importante de collagène, on aura une inflammation fibrosante (par exemple cirrhose du foie) tandis que la formation excessive de tissu granulaire est caractéristique d'une inflammation granulomateuse (par exemple lors d'une tuberculose ou en présence d'un corps étranger) (Weill et *al.*, 2003).

Si le tissu cicatriciel est médiocre par exemple à la suite d'une inhibition de la synthèse de collagène par les corticoïdes ou d'une altération des interactions entre les fibres de collagène liée à une carence en vitamine C, une forte tension peut conduire à la réouverture de la blessure comme par exemple une « éventration » après une opération de l'abdomen. Des cicatrices plus importantes en particulier sur le visage peuvent provoquer des problèmes cosmétiques, entre autres lors de la formation d'une cicatrice hypertrophiée (kéloïde). Les cicatrices peuvent aussi avoir pour conséquence des troubles fonctionnels importants par exemple au niveau de la cornée (troubles de vision) au niveau des valvules cardiaques (stérose insuffisance) ou dans la paroi abdominale (adhésion ; obstruction intestinales) (Charles et *al.*, 2010).

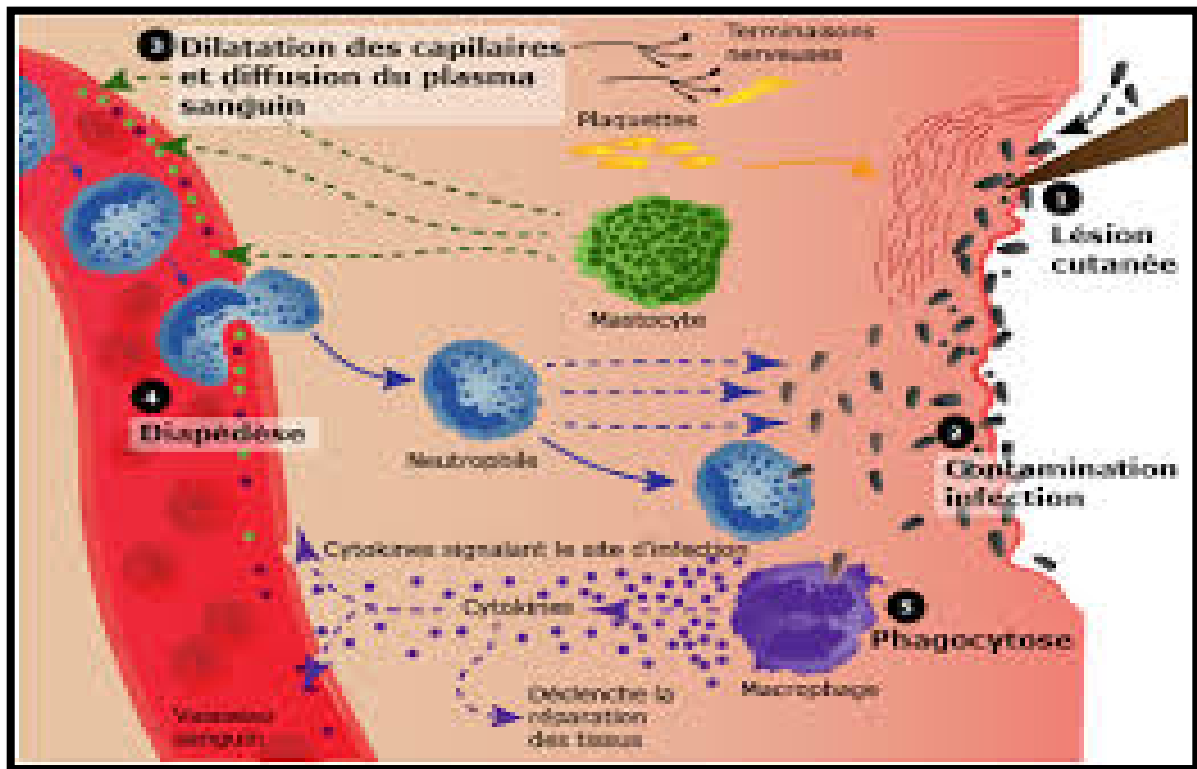


Figure 5 : Les phases de la réaction inflammatoire aiguë (Charles et *al.*, 2010).

Si l'inflammation provoqué par un agent pathogène ne peut être limitée au niveau local elle se répand à tout l'organisme essentiellement via le système lymphatique septicémie elle peut également se produit lorsque le péritoine dont la surface est importante est submergé de façon aigue par des importante est submergé de façon aigue par des microbes (rupture de l'intestin ouverture d'un abcès) (Silbernagl et Lang, 1998 ; Weill et *al.*,2003 ; Nourshargh et *al.*, 2006 ; Charles et *al.*, 2010).

I.3.3.Les médiateurs chimiques impliqués dans l'inflammation

Histamine *IL-8*(interleukine 8), éotaxine, *NCF* (neutrophil chemotactic factor), entre autres. Le calcium active par ailleurs une phospholipase A_2 qui libère l'acide arachidonique présent dans les phospholipides membranaires. Cet acide est le précurseur d'autres médiateurs importants de l'inflammation et en particulier des prostaglandines (notamment E_2) et des *leucotriènes* (C4, D4 et E4, qui constituent ensemble ce que l'on appelle le SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis), ainsi que le leucotriène B4).Un autre médiateur important de l'inflammation de la coagulation sanguine, le PAF (platelet activating factor), est également libéré de la membrane des mastocytes (Silbernagl et Lang, 1998 ; Nathan, 2002 ; Kumar et *al.*, 2007).

Les leucotriènes et le PAF seront également libérés dans la suite de la réaction inflammatoire par les granulocytes éosinophiles et les neutrophiles par les macrophages ainsi que par les thrombocytes (PAF), phénomène qui participe au renforcement de la réaction ainsi qu'au démarrage de la coagulation sanguine.

Ces cellules sont attirées par des chémokine le PAF et les leucotriènes exercent une action chimiotactique sur les granulocytes éosinophiles (et les cellules T_{H2}) comme le PAF réactive également les mastocytes, il existe une coopération entre les deux types cellulaires. Les granulocytes neutrophiles et les monocytes sont attirés par le leucotriène B4, le C5a, le NCF, l'*IL-8*, le $TNF\alpha$ (tumor necrosis factor α) ainsi que l'*IL-1* et l'*IL-8* (Fonteneau, 2004).

L'histamine, le PAF et les leucotriènes C4, D4 et E4 agissent avec d'autres médiateurs (prostaglandine E_2 , bradykinine) pour provoquer une vasodilatation) une élévation de la perméabilité des endothéliums qu'une stimulation des nocicepteurs (Silbernagl et Lang, 1998 ; Kumar et *al.*, 2007 ; Charles et *al.*, 2010).

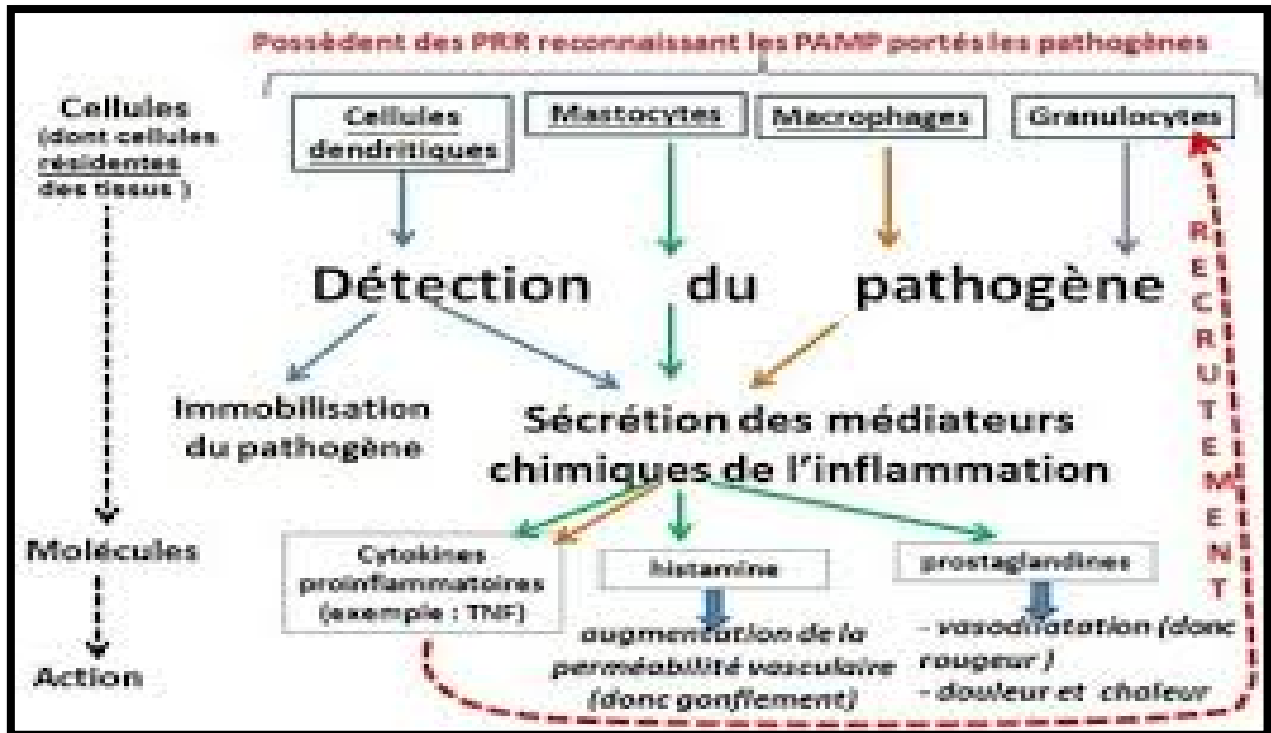


Figure 6 : Le mode d'action des médiateurs chimiques (Kumar et al., 2007).

I.3.4. Les organes de l'immunité

L'immunologie correspond à l'étude du système immunitaire (organes et cellules). Le système immunitaire correspond -entre autre- à un ensemble de cellules qui sont produites au niveau d'organes dits lymphoïdes. Les organes lymphoïdes primaires sont un lieu de production des cellules de l'immunité (thymus, moelle osseuse) et les secondaires sont un lieu de stockage (ganglion, amygdales, végétation, rate...).

I.3.5. Les défenses de l'organisme contre toute intrusion de pathogènes

Nous possédons des défenses physiques, comme l'imperméabilité de notre épiderme et de nos muqueuses. Ces défenses sont complétées par des défenses chimiques (larmes, sueur, mucus) et biologiques (flore bactérienne présente naturellement sur et dans notre corps). Malgré tout, à la faveur d'une blessure, d'une morsure ou d'une piqûre, des pathogènes peuvent pénétrer dans notre organisme. Une seconde ligne de défense est alors opérationnelle pour les neutraliser. Cette défense, la réaction inflammatoire aiguë, est stéréotypée : elle se déroule de la même façon quel que soit l'agresseur détecté, se met en place dès son entrée, qu'il soit connu ou inconnu de notre organisme, et ne nécessite pas d'apprentissage : c'est une réponse innée (Charles et al., 2010).

- Innée sans apprentissage et universelle
- Acquise en fonction des pathogènes rencontrés.

L'anti-immunité désigne des éléments qui entrent en jeu dans la défense de l'organisme avant la mise en place des mécanismes d'immunité innée ou adaptative ; Ce sont des barrières qui évitent simplement l'entrée de pathogènes dans l'organisme : la barrière physique, chimique et la barrière microbiologique pour défendre le soi.

Tableau 1 : les différents types de barrières pour défendre l'organisme (Charles et *al.*, 2010).

<u>Type de barrières</u>	<u>Exemples</u>
Barrières physiques	La peau empêche l'entrée des pathogènes. Les battements de paupières nettoient l'œil de façon régulière.
Barrières chimiques	La peau est recouverte d'un mélange composé entre autres d'acides gras, de sébum et de peptides antibactériens. Le pH à la surface de la peau est maintenu acide (entre 4 et 5). Toutes ces conditions sont néfastes à la survie de nombreuses bactéries. Acidité estomac détruit certains pathogènes.
Barrières microbiologiques	La flore normale présente sur la peau et les muqueuses occupe la place et empêche les pathogènes de s'installés. Elle peut même parfois sécréter des substances anti-pathogènes.

Tableau des barrières naturelles du corps humain.

I.4. Les caractéristiques de la réaction inflammatoire (RI)

I.4.1 L'immunité innée

I.4.1.1. Les différents leucocytes et leurs spécificités

A. *Elimination des agents infectieux*

Macrophages et granulocytes sont les cellules immunitaires réalisant la phagocytose. La cellule entoure l'agent infectieux grâce à des extensions de la membrane appelées pseudopodes, puis le digère. Elles seront ensuite capable de présenter l'antigène du pathogène à la surface de leur membrane. On parle alors de cellule présentatrice de l'antigène. Ceci permettra d'initier la deuxième phase de la réponse immunitaire : la réponse adaptative, impliquant la production d'anticorps et de lymphocytes T spécifiques de l'agent infectieux.

B. Déclenchement de l'immunité adaptative

Après digestion du pathogène, une partie des molécules restantes est exposée sous forme de peptides sur des récepteurs membranaires des phagocytes (molécules du CMH ou Complexe Majeur de Compatibilité). Ces phagocytes, notamment les cellules dendritiques, quittent le site inflammatoire et migrent jusqu'aux ganglions lymphatiques. Les fragments protéiques provenant du pathogène détruit, associés aux molécules du CMH du phagocyte sont alors présentés à d'autres cellules immunitaires, déclenchant ainsi la réponse immunitaire adaptative, spécifique de l'agent infectieux.

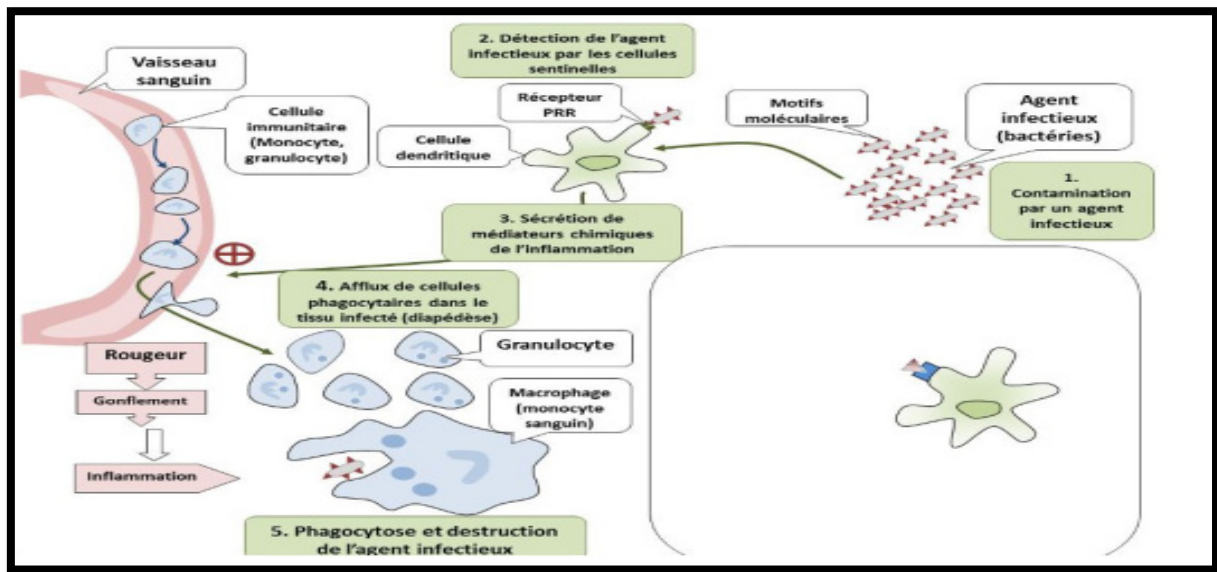


Figure 7: la réaction adaptative (Kumar et al., 2007).

Au sein des tissus, certaines cellules se déplacent en permanence afin de détecter les pathogènes. Ce sont les cellules sentinelles (ex : les cellules dendritiques, les monocytes). Lors de l'entrée d'un pathogène, ces cellules se fixent à lui grâce à des récepteurs présents sur leur membrane. Ces récepteurs reconnaissent la plupart des pathogènes. Cette reconnaissance déclenche la sécrétion de médiateurs de l'inflammation qui vont activer un ensemble de réactions (Kumar et al., 2007).

I.5. Caractères morphologiques communs aux inflammations chroniques

- Peu ou pas de phénomènes exsudatifs, sauf en cas de poussée inflammatoire aiguë émaillant une évolution chronique (ex : la synovite de la polyarthrite rhumatoïde présente, lors des poussées actives de la maladie, un abondant exsudat fibrineux intra-articulaire, des ulcérations du revêtement synovial et un afflux de polynucléaires).

Le granulome inflammatoire contient peu ou pas de polynucléaires neutrophiles et est constitué principalement de cellules mononucléées : lymphocytes, plasmocytes, monocytes

macrophages, fibroblastes, parfois avec des polynucléaires éosinophiles ou basophiles et des mastocytes. La proportion de ces différentes cellules est variable selon l'étiologie de l'inflammation : prédominance de lymphocytes et plasmocytes dans certaines maladies auto-immunes (ex : thyroïdite lymphocytaire) ou dans des pathologies virales (ex : hépatite chronique liée au virus C) ; prédominance de monocytes-macrophages dans certaines infections chroniques et dans les réactions à corps étrangers. Les monocytes-macrophages peuvent prendre des aspects morphologiques particuliers : granulomes épithélioïdes et gigantocellulaires ; nappes extensives de macrophages surchargés de phagolysosomes et bactéries mal dégradées dans les infections s'accompagnant de troubles de la bactéricidie (telles qu'une malacoplakie ou une maladie de Whipple) ; inflammation xanthogranulomateuse : variété d'inflammation chronique où le foyer inflammatoire est macroscopiquement jaunâtre et en microscopie riche en lipophages (macrophages ayant phagocyté des lipides, présentant un large cytoplasme clair « spumeux ») ; elle se rencontre en particulier dans le rein, la vésicule biliaire et le sein ; développement constant d'une fibrose, systématisée ou mutilante (Kumar et *al.*, 2007).

I.6. Variétés pathologiques de la réparation/cicatrisation

- Plaie atone : le tissu de granulation inflammatoire est déficient, entraînant un bourgeon charnu atrophique pauvre en capillaires sanguins. La cicatrisation est alors impossible. Exemple fréquent : diabète avec neuropathie et troubles de la micro-circulation locale.
- Bourgeon charnu hyperplasique (synonyme : pseudo botryomycome) : développement excessif d'un bourgeon charnu hypervascularisé, lié à des facteurs locaux irritatifs ou infectieux.
- Hyperplasie épithéliale au pourtour d'un foyer inflammatoire : cette hyperplasie de l'épiderme ou d'un revêtement muqueux peut parfois simuler une tumeur, cliniquement et microscopiquement (hyperplasie pseudo-épithéliomateuse).
- Cicatrice hypertrophique : excès de tissu conjonctif collagène par excès d'activité des myofibroblastes.

Cette cicatrice hypertrophique a tendance à s'atténuer au cours du temps, à la différence de la chéloïde qui persiste ou augmente de volume au cours du temps.

- Chéloïde : il s'agit d'une lésion hypertrophique du tissu conjonctif du derme survenant après une plaie ou spontanément. Elle est constituée de gros trousseaux anormaux de collagène (collagène dit « hyalin » très dense aux colorants) et résulte d'une dérégulation de la

synthèse de la matrice extra-cellulaire sur un terrain génétiquement prédisposé (prédominance dans la race noire). Une chéloïde peut récidiver après une exérèse chirurgicale.

- Cicatrice rétractile : exagération du processus normal de contraction du tissu fibreux cicatriciel. Elle survient le plus souvent après des traumatismes sévères (brûlures profondes) au niveau des plantes et des paumes ou du thorax, et peut gêner la mobilité articulaire (Silbernagl et Lang, 1998).

Chapitre II:

Le traitement de l'inflammation

I.7. Le traitement de l'inflammation

Les anti-inflammatoires sont des médicaments symptomatiques, qui n'agissent pas sur la cause. Ils sont indiqués quand l'inflammation, processus normal de défense contre les agressions, devient gênante, notamment à cause de la douleur.

D'une façon générale, l'inflammation correspond à un ensemble de phénomènes survenant à un point d'irritation.

À la suite d'une agression constituée par une blessure, une infection, ou un traumatisme, consécutif à un acte chirurgical, il se crée dans l'organisme une inflammation.

Une inflammation se manifeste par 4 signes principaux :

- La rougeur
- La chaleur
- La tuméfaction (gonflement)
- La douleur

Les anti-inflammatoires se répartissent en 2 grandes classes : les anti-inflammatoires stéroïdiens (ou corticoïdes) ces médiateurs chimiques de l'inflammation sont produits par des voies du métabolisme dépendant d'enzymes clés. Par exemple, la cyclo-oxygénase (COX) est une enzyme qui transforme l'acide arachidonique (substrat) en prostaglandines H et G (produits). Cette transformation a lieu dans une poche réactive, le site actif.) anti-inflammatoires non stéroïdiens (ou AINS) (Valats, 1999) Les médicaments anti-inflammatoires agissent en bloquant la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation.

Les anti-inflammatoires sont des molécules chimiques qui permettent de diminuer fortement la production des MCI et qui réduisent ainsi les symptômes de la RI. L'issue de l'étude concernant les symptômes liés à la réaction inflammatoire et/ou après celle concernant le mode d'action d'un anti-inflammatoire (aspirine par exemple), l'étude de la séquence vidéographique permet de comprendre comment, par leur rôle régulateur, certaines cellules immunitaires induisent, naturellement, la cessation de cette réaction inflammatoire aiguë. Le rôle anti-inflammatoire du Super MApo mis en évidence par Sylvain Perruche permet de souligner l'importance des médiateurs chimiques dans la régulation de la réaction immunitaire, de rechercher, identifier des molécules à effet anti-inflammatoire et expliciter leur mode d'action.

Dans certaines situations, il peut être utile de combattre la réaction inflammatoire. On utilise alors les anti-inflammatoires qui vont bloquer la production de certains médiateurs chimiques comme les prostaglandines et donc diminuer la sensation de douleur mais aussi l'inflammation.

Les anti-inflammatoires ne doivent pas être pris sur une longue durée sans être associés à un antibiotique. En effet, en diminuant l'inflammation, on diminue l'efficacité de la RI et on permet alors à l'agent infectieux de s'installer.

1.7.1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (ou AINS)

Les AINS sont composés de molécules appartenant aux pyrazolés et divers comme l'aspirine, les oxycams, les dérivés carboxyliques, les indoliques, l'acide propionique. Les AINS sont des analgésiques de palier I, selon la classification de l'OMS qui comporte 3 paliers de I à 3 ; Ils sont des médicaments qui ont un effet anti-inflammatoire, antalgique, antipyrétique et antiagrégant plaquettaire et utilisés de façon très large, dans un grand nombre de maladies, et plus spécifiquement en présence d'inflammation comme en rhumatologie.

Les AINS sont particulièrement efficaces au moment de la phase aiguë, du processus inflammatoire ; c'est la raison pour laquelle ils sont utilisés en rhumatologie, en cas de poussées inflammatoires, survenant au cours d'une arthrose, d'une arthrite, d'une tendinite, ou en traumatologie, en gynécologie (dans les dysménorrhées), en urologie dans les coliques néphrétiques (Fialip, 2002).

- Les AINS s'administrent par voie orale, injectable et locale. Ils ont des effets indésirables communs : agressivité pour la muqueuse gastrique avec un risque de gastrite, voire d'ulcère.
- Les AINS (Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens) comme l'aspirine et l'ibuprofène.

L'ibuprofène est une molécule qui peut prendre la place de l'acide arachidonique au niveau du site actif de la COX. Plus l'ibuprofène est présent, plus l'activité de la COX est faible et devient nulle à 10^{-4} $\mu\text{mol/L}$ d'ibuprofène. L'ibuprofène est un inhibiteur de l'enzyme COX.

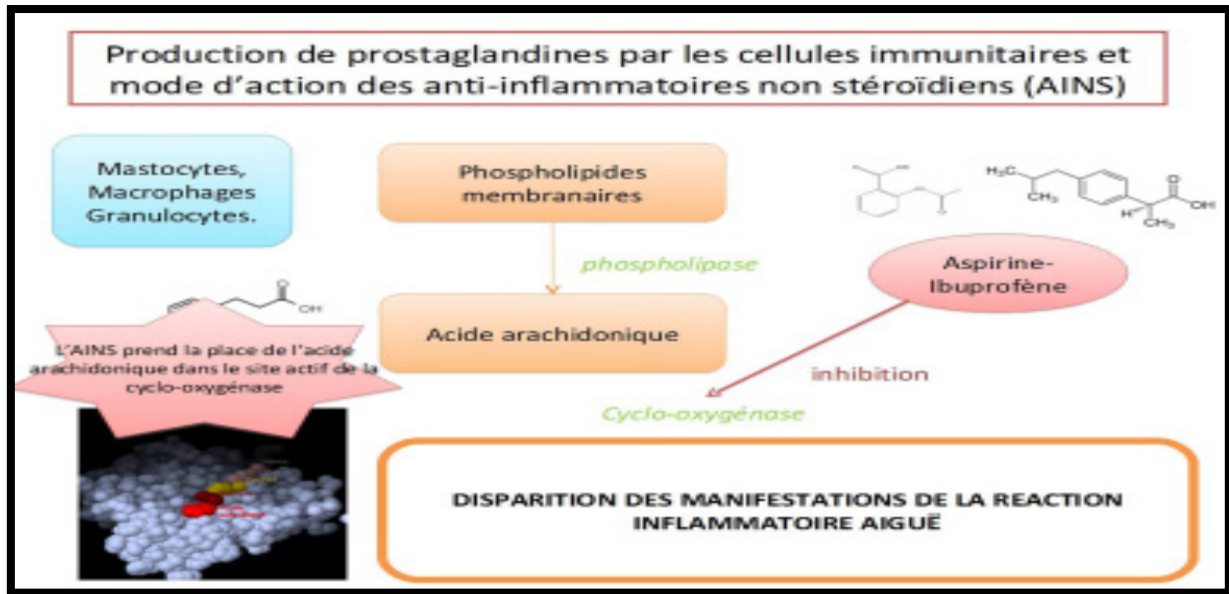


Figure 8 : Le mécanisme anti-inflammatoire non stéroïdien (Fialip, 2002).

1.7.1.1. Les glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nyctéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. Le cortisol, glucocorticoïde endogène de référence, est produit par les cellules de la zone fasciculaire de la corticosurrénale. Sa synthèse est résumée dans le schéma suivant : Cholestérol Prégnénolone 17-hydroxyprégnénolone Progestérone 17-hydroxyprogestérone 11-désoxycortisol CORTISOL (Netter, 1987).

1.7.1.2. L'ACTH

Est une hormone peptidique, composée de 39 acides aminés, libérée par le lobe antérieur de l'hypophyse. Elle provient d'un grand peptide précurseur, la pro-opiomélanocortine (POMC) suite à des clivages protéolytiques. Cette POMC est, comme son nom l'indique, aussi à l'origine d'autres peptides importants : des opiacés (β -endorphine), des lipotrophines et de l'hormone stimulante des mélanocytes (γ -MSH). La surproduction de POMC, comme cela est observé dans l'insuffisance surrénalienne, conduit au tableau clinique typique de la « maladie bronzée d'Addison ». L'activité biologique complète de l'ACTH est portée par les 24 premiers acides aminés de sa partie N-terminale. Cette portion isolée est appelée tétracosactide. Les acides aminés 25 à 39 ne confèrent à l'ACTH que sa spécificité d'espèce. De part sa structure, l'ACTH ne peut pas être administrée par voie orale car elle est complètement protéolysée. Il n'existe donc que des formes parentérales IM ou IV. Sa demi-

vie est courte (20 à 25 minutes) et elle est dégradée conjointement par le foie et les reins (Poubelle, 2000).

1.7.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (Les corticoïdes)

Hormones naturelles, les corticoïdes remplissent de nombreuses fonctions. Synthétisées par les glandes surrénales situées au pôle supérieur de chaque rein, ces hormones constituent les anti-inflammatoires les plus puissants connus.

Les corticoïdes sont des hormones naturelles synthétisées dans la zone corticale (externe) des glandes surrénales à partir du cholestérol. Ils sont également appelés corticostéroïdes. On en distingue plusieurs types ayant chacun des fonctions variées (Adnet et *al.*, 2000).

Le terme corticoïde désigne communément les glucocorticoïdes, un certain type de corticostéroïdes. Ces derniers tirent leur nom du fait qu'ils exercent un effet prépondérant sur le métabolisme du glucose au niveau du foie. Mais c'est leur propriété anti-inflammatoire plus ou moins marquée, qui est la principale utilisée en médecine. Les autres actions participent aux effets secondaires. Aujourd'hui, "corticoïde" signifie donc anti-inflammatoire stéroïdien dans le langage courant, par opposition aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'aspirine ou l'ibuprofène (Poubelle, 2000 ; Fiallip, 2002).

Tableau 2 : les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens (Adnet et *al.*, 2000).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens	Les anti-inflammatoire stéroïdiens
9-alpha-fludrocortisone	Bétaméthazone Betnéval
Triamcinolone	17-butyate d'hydrocortisone Locoid
Désonide	Difluprednate Epitopic
Fluocinonide(0.01%)	Désonide Locarpred

1.7.3. Les effets indésirables des anti-inflammatoires

Leurs effets indésirables sont assez fréquents et mieux vaut les connaître. Les plus connus de ces effets sont les accidents digestifs. Les anti-inflammatoires augmentent en effet le risque d'hémorragies et d'ulcères digestifs notamment chez les personnes de plus de 65 ans. C'est pourquoi, avec ces anti-inflammatoires, les médecins prescrivent systématiquement, des protecteurs gastriques de la famille des inhibiteurs de la pompe à proton chez les personnes à risque. Prendre en même temps deux anti-inflammatoires augmente également sérieusement le risque d'accidents digestifs. L'automédication est donc à pratiquer avec prudence. Le deuxième grand type d'accidents dus aux AINS concerne le système cardiovasculaire. Depuis quelques années les études ont démontré que les médicaments de cette classe augmentent le risque d'infarctus du myocarde, d'hospitalisation pour insuffisance cardiaque ou d'accident vasculaire cérébral. Même l'ibuprofène à la dose 2 400 mg par jour (soit la dose maximale autorisée qui est double de la dose habituellement utilisée) augmente le risque cardiovasculaire (Adnet *et al.*, 2000).

I.8.La phytothérapie et les anti-inflammatoires naturelles

Malgré le développement spectaculaire de l'industrie pharmaceutique, la phytothérapie garde toute son importance, surtout dans les pays du tiers monde où plus de 70 % de la population s'y adonnent presque exclusivement. «La médecine traditionnelle qui est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques reposant rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture, est utilisée pour maintenir les êtres humains en santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales » (OMS, 2003).

La survie de l'Homme allait dépendre des plantes surtout parce que trois de ces acides gras vitaux ne sont présent que chez les plantes (Flemming, 1997). Aujourd'hui alors qu'on commence à prendre conscience de son corps et qu'on rejette les effets secondaires de certains médicaments modernes puissants, les plantes retrouvent leur place dans notre vie quotidienne (Flemming, 1997).

La pratique au long des siècles de la Médecine Traditionnelle et l'expérience transmise de génération en génération semblent être preuve de l'innocuité et de l'efficacité de cette médecine (OMS, 2003).

En Algérie la phytothérapie est utilisée depuis toujours dans le secteur de la médecine traditionnelle. Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions thérapeutiques et la vie des habitants, mais les règles de leur utilisation manquent parfois de rigueur et ne tiennent pas compte des nouvelles exigences de la thérapeutique moderne. Ces dernières années, beaucoup de recherches se sont orientés vers la valorisation de la médecine traditionnelle en vue de vérifier la sûreté et l'efficacité des plantes utilisées et d'établir des règles scientifiques pour l'usage de ces plantes (Poucheret et *al.*, 2006).

Toutes les plantes médicinales contiennent des principes actifs, lesquels interviennent dans le traitement des maladies. Il existe différentes manières d'administrer des plantes, dont les plus courantes sont :

- l'infusion, pour laquelle on arrose les plantes émietées avec de l'eau bouillante. On laisse ensuite le mélange reposer 10 à 15 minutes, puis on le boit. Avec l'infusion, certains principes actifs sont dissous ;
- la décoction. On fait bouillir les plantes émietées dans de l'eau. On laisse ensuite refroidir le mélange jusqu'à ce qu'il puisse être bu. On le filtre, puis on l'ingère. Là aussi, certains principes actifs peuvent être altérés.

la macération. On laisse macérer les plantes dans de l'eau tiède pendant une durée pouvant aller de quelques heures à plusieurs semaines. Cette technique ne permet pas l'extraction intégrale du principe actif.

Dans tous les cas, il est nécessaire d'être très prudent dans l'utilisation des plantes. En effet, ce n'est pas parce qu'une chose est naturelle, qu'elle est forcément bonne. Ainsi, certains principes sont très puissants et peuvent donc être toxiques, voire mortels (Poucheret et *al.*, 2006).

Les principes actifs des plantes sont concentrés dans une ou plusieurs partie(s) de celles-ci : racines, feuilles, fleurs. Compte tenu de leur action sur l'organisme et leurs effets potentiellement indésirables, les plantes médicinales doivent être consommées sous la supervision/le conseil de votre médecin/pharmacien. En effet, certaines pathologies contre-indiquent à la prise de certaines plantes. Il est recommandé de se tourner vers un professionnel de santé en cas de doute sur les indications thérapeutiques, la forme d'administration, le dosage, la fréquence et la durée d'utilisation d'une plante médicinale. Les plantes médicinales utilisées en phytothérapie sont consommés sous différentes formes, fraîches ou séchées (ex : infusion, décoction), ou sous la forme de plantes fraîches

standardisées (EPS) en gélules, en extrait fluide. L'efficacité des plantes et leurs indications thérapeutiques diffèrent selon leur forme d'utilisation (Hartmann, 2007).

1.8.1. Les précautions d'emploi des plantes médicinales

De nombreuses personnes imaginent que la prise de médicaments à base de plantes est anodine et ne représente aucun danger. Certaines plantes contiennent des composants très actifs qui peuvent être extrêmement puissants et d'autres sont toxiques à faible dose. Utiliser des plantes ne signifie pas que cela ne représente aucun risque. Les modes d'extraction peuvent modifier un principe actif anodin et le rendre dangereux. D'autre part, certaines substances ajoutées aux produits actifs pour les stabiliser ou les conserver peuvent provoquer des effets secondaires dangereux.

Les principes actifs des plantes sont concentrés dans une ou plusieurs partie(s) de celles-ci : racines, feuilles, fleurs. Compte tenu de leur action sur l'organisme et leurs effets potentiellement indésirables, les plantes médicinales doivent être consommées sous la supervision/le conseil de votre médecin/pharmacien. En effet, certaines pathologies contre-indiquent à la prise de certaines plantes. Il est recommandé de se tourner vers un professionnel de santé en cas de doute sur les indications thérapeutiques, la forme d'administration, le dosage, la fréquence et la durée d'utilisation d'une plante médicinale.

1.8.1.1. Diverses indications

Les plantes possèdent plusieurs propriétés thérapeutiques, elles peuvent être : Calmantes, sédatives, stimulantes, adaptogènes, fortifiantes, diurétiques, digestives, régulatrices de l'intestin, reminéralisantes, anti-inflammatoires, drainantes, etc. Les indications de la phytothérapie sont donc nombreuses et variées (Neggaz et al., 2015).

1.8.1.2. Quelques plantes anti-inflammatoires

Cassis, pin, basilic, laurier, propolis, omégas 3... Et si vous remplaciez votre aspirine ou votre cortisone par un remède naturel ? Certains ont de puissants effets anti-inflammatoires sans avoir les effets secondaires des médicaments classiques. Ils peuvent soigner les affections respiratoires, urinaires, digestives et articulaires(Poucheret et al., 2006).

A .Pin sylvestre (*Pinus sylvestris*).

Les jeunes aiguilles du pin sylvestre sont récoltées pour leurs vertus thérapeutiques. Comme le fait remarquer le naturopathe Christopher Vasey, elles sont parfois vendues sous

l'appellation incorrecte de "bourgeons de sapin". Le pin sylvestre entraîne la sécrétion d'hormones anti-inflammatoires, comme la cortisone. "La cortisone produite par le corps à la suite de la prise de plantes est présente en quantité physiologique. Elle a des effets bienfaisants sans effets secondaires" souligne le naturopathe (OMS, 2003 ; Poucheret et al., 2006).

B. Le curcumine (*Curcuma langa*)

Le curcuma possède les mêmes propriétés anti-inflammatoires et analgésiques que l'ibuprofène, c'est pourquoi il constitue une option saine pour soulager les douleurs articulaires si nous ne souhaitons pas prendre de médicament (Flemming, 1997).

C. Le romarin (*Rosmarinus officinalis*)

Le romarin est une herbe aromatique et médicinale très fréquente dans le régime alimentaire méditerranéen, qui apporte un goût caractéristique aux plats et qui est utilisée dans de nombreux remèdes maison. Mais sachez qu'il a également la capacité d'agir comme un calmant, ce qui le rend formidable pour réduire tous les types de douleurs articulaires (Bradai et al., 2014).

Dans de nombreux cas, l'utilisation des plantes anti-inflammatoires peut s'avérer très utile, en traitement mixte, phytothérapie/médicament de synthèse, pendant la phase aiguë, et permet de diminuer la dose de médicaments de synthèse, afin d'éviter les effets secondaires (ulcère à l'estomac...). Dans certains cas, l'utilisation des plantes permet de se substituer aux anti-inflammatoires de synthèse.

- Certaines plantes sont anti-inflammatoires, elles combattent l'inflammation liée à une infection, à des rhumatismes, à de l'arthrose, à de l'arthrite....
- D'autres plantes sont analgésiques, elles suppriment ou atténuent la douleur en agissant sur les symptômes et non sur les causes.
- Et d'autres plantes possèdent les deux activités ci-dessus.

D'autres peuvent aussi améliorer la mobilité et prévenir la récidence, grâce à leur richesse en minéraux, en particulier la silice (la prêle, le bambou, l'ortie...) (Poucheret et al., 2006).

I.9. La plante choisie

I.9.1. Présentation des truffes

Les truffes de déserts sont des macrochampignons comestibles, très appréciées représentant une famille complexe de champignons hypogés appartenant aux Ascomycètes. Il existe plusieurs genres dont : *Carbomyces*, *Elderia*, *Eremiomyces*, *Kalaharituber*, *Mattirolomyces*, *Mycoclelandia*, *Picoa*, *Stouffera*, *Terfezia*, *Tirmania* et *Ulurua* (Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Kovacs et Trappe, 2014 ; Bradai et al., 2014).

Elles ont une distribution géographique spécifique qui se limite en particulier aux régions semi-arides et arides (Navaroo- Ródenas et al., 2011).

Elles forment des mycorhizes avec leurs plantes hôtes naturelles, le plus souvent des *Cistaceae* annuelles et pérennes particulièrement les hélianthèmes : vivaces, annuelles, herbacées ou héli cryptophytes (Neggaz et al., 2015).

Les truffes du désert font l'objet d'un commerce local important et très actif. Elles ne sont pas si fortement aromatisées lorsqu'elles sont comparées avec les truffes européennes; Néanmoins, c'est un type de champignon très prisé pour son saveur musquée unique (Stojkovic et al., 2013).

En Algérie, ces diverses espèces sont communément appelées « Terfass », « Terfez », « Torfez », « bannat », « Kam'a » et « Kama » en Kabylie (Chatin, 1891).

D'autres noms sont également attribués aux truffes des sables dans le moyen orient comme : « Nabat Al-Radh », « Asqal », « Bidat El-Ardh », « Afateeh », et « Banat Ober » (Mandeel et Al-Laith, 2007).

Le terme classique des truffes du désert «Al-Kamah» signifie «couvert» ou «caché», alors que le nom «Al-Faga'a» correspond à un craquellement du sol au-dessus du corps fructifère suite à son gonflement (Bokhary et al., 1987 ; Mandeel et Al-Laith, 2007).

Le nom scientifique du genre *Terfezia* dériverait de «Terfez» ou «Terfâs» qui est une appellation maghrébine, mais Offner (1950) suggère qu'il peut être dérivé de Latin «Terraefex» signifiant «production de la terre». Les espèces d'Afrique ou d'Asie sont souvent nommées selon les fonctionnaires coloniaux ou des scientifiques (Alsheikh, 1994).

Chapitre III:
La plante choisie
Terfezia claveryi

I.9.2. Historique

Les Truffe du désert ou Truffe de sable ont été consommés par l'homme depuis des millénaires, et leurs origines étaient un mystère qui tourmentait plusieurs auteurs. L'auteur le plus ancien qui a parlé des truffes, serait le philosophe grec Théophraste (372-287 av. J.-C.) qui expliquait ainsi leur origine par: " les truffes sont des végétaux engendrés par les pluies d'automne accompagnées de coups de tonnerre" (Rebière, 1981 ; Fortas, 1990).

Aussi, les arabes qui ramassaient leur Kamah au printemps avaient fait des observations analogues sur leur évolution. Ils estimaient qu'il suffisait qu'un automne soit humide, avec des pluies orageuses, pour que les Terfèze poussent au printemps suivant. Par ailleurs, ils signalaient la liaison étroite qui existait entre les Terfèze et certaines plantes herbacées (Zitouni, 2016).

Cependant, la civilisation islamique témoigne l'utilisation des truffes où notre prophète Mohammed avait dit que la truffe est une « manne » qu'Allah l'a envoyé au peuple israélien et que son jus était un remède oculaire, puis il souligne le rôle thérapeutique de la truffe dans son Hadit- Ennabaoui cité précédemment.

Puis, Tulasne et Tulasne en 1851 ont créé le genre *Terfezia* qui réunissait toutes les "truffes du désert" sous le nom de *Terfezia leonis* Tul (Tulasne et Tulasne, 1851).

Plus tard, Chatin (1891) a décrit plusieurs variétés de *Terfezia* et il a également baptisé le genre *Tirmania*.

Ensuite, en 1906 Maire a découvert et décrit dans la littérature plusieurs nouvelles espèces trouvées en Algérie dont *Tirmania pinoyi* et *Terfezia claveryi* (Zitouni, 2016).

Enfin, une nouvelle espèce de truffes de désert *Terfezia allsheikhii* a été érigée par Kovacs et al. (2011) basée sur des analyses morphologiques et phylogénétiques provenant de spécimens de terfez d'Espagne.

I.9.3. Utilisation thérapeutique traditionnelle

Le jus de truffe du désert, principalement de *Tirmania nivea*, *Terfezia claveryi* et *Terfezia boudieri*, a été utilisé depuis des décennies au Moyen-Orient et en Afrique du Nord pour traiter les maladies oculaires et les lésions cutanées (Hussain et Al-Ruqaie, 1999 ; Janakat et al., 2005; Shavit, 2008).

Aussi, leurs utilisations étaient recommandées par le Prophète Mohammed en Arabie Saoudite depuis plus de deux millénaires sans être nocifs ou toxique, un extrait d'eau à la truffe bouillie était vivement recommandé par les bédouins pour le traitement des maladies oculaires les plus courantes (Bokhary, 1987).

Enfin, au 11^{ème} siècle, le grand physicien perse Ibn Sina (Avicenne) recommandait les truffes comme un remède contre la faiblesse, les vomissements et pour guérir les blessures (Shavit, 2008).

I.9.4. Paramètres bioécologiques des Terfez

Trois paramètres sont importants pour la production de ces champignons : le sol, le climat et la plante hôte (Fortas, 2009).

I.9.a. Nature du sol

Le sol exerce une influence primordiale sur le développement et la fructification des terfez. Son étude est importante pour connaître certaines exigences édaphiques des Terfez (nature du sol, pH, sels minéraux...) qui sont variables selon leur genre (Fortas et Chevalier, 1992 ; Navarro-Ródenas et *al.*, 2012).

D'un point de vue physique, les sols où les Terfez poussent sont relativement homogènes. Les espèces de Terfez se développent sur des terrains plats sablonneux d'où leurs non «truffes du sable», soient gypseux, soient graveleux-gypseux, sablo-limoneux, certaines espèces affectionnent des sols limoneux ou argileux (Awameh et Alsheikh, 1979 ; Taylor et *al.*, 1995 ; Diez et *al.*, 2002 ; Slama et *al.*, 2010 ; Bawadekji et *al.*, 2012 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Bradai et *al.*, 2013 ; Chevalier, 2014 ; Bordallo et *al.*, 2015).

D'un point de vue chimique, la majorité des truffes de désert colonisent des terres bien aérées, relativement riches en calcaire, pauvre en phosphore à pH basique, acide ou neutre (Fortas et Chevalier, 1992; Taylor et *al.*, 1995 ; Diez et *al.*, 2002 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008 ; Morte et *al.*, 2008,2009).

Du point de vue fertilité, les sols à terfez sont le plus souvent pauvres en matière organique et en éléments minéraux (Fortas et Chevalier, 1992 ; Bawadekji et *al.*, 2012 ; Jamali et Banihashemi, 2012 ; Bradai et *al.*, 2013).

En Algérie, les terfez se développent sur un sol sablonneux, calcaire, riche en magnésium, pauvre en matière organique et en phosphore, bien pourvu en potassium (Fortas, 2009).

1.9. b. Le climat

Le climat c'est un facteur principal pour le développement des Terfez, qui agit dans deux façons : le développement et la fructification du champignon et sur la répartition des espèces symbiotiques (Kagan-zur et *al.*, 2014).

Le développement et la production des terfez sont étroitement liés à la quantité des pluies et leur répartitions au cours de l'année ainsi que les orages, la présence et la forte densité des plantes hôtes (Awameh et Alsheikh, 1980 ; Alsheikh et Trappe, 1983).

La température intervient dans le développement des Terfez, les températures de 24 à 30 °C sont convenables (Bokhary, 1987 ; Hussain et Al-Ruqaie, 1999). Cependant, les fortes chaleurs ou les froids prolongés leur sont néfastes (Abourouh, 2011).

Les terfez se développent sous des climats tropicaux et tempérés humides à été chaud ou sous des climats méditerranéens semi-arides et arides (Morte et *al.*, 2000 ; Morte et *al.*, 2008 ; Morte et *al.*, 2009 ; Morte et *al.*, 2010 ; Slama et *al.*, 2010).

En règle générale, la pluviométrie annuelle est de 50 à 380 mm dans les régions productrices de truffes du désert et la production est bonne si la pluviométrie est de 70 à 120 mm au Maghreb et de 100 à 350 mm au Sud de d'Europe (Morte et *al.*, 2008 ; 2009)

Au Nord du Sahara algerien la production des terfez est très affectée par les pluies automnales d'Octobre – Décembre : une pluviométrie annuelle de 124.14 mm accompagnée de pluies automnales de 49.2 mm donne une meilleure production (Bradai et *al.*, 2014). Les bédouins et les récolteurs des terfez dans de nombreuses régions, affirment que les coups de tonnerre sont capitaux pour la production des truffes du désert (Mandeel et Al-Laith, 2007 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008).



Figure 9 : Craquellement du sol sableux indiquant la présence des ascocarpes de terfez (Loizides et *al.*, 2011)

1.9.5. Répartition géographique

Les truffes du désert vivent dans plusieurs continents où ils jouent un rôle de partenaires mycorhiziens des plantes, La spécificité vis-à-vis de l'hôte symbiotique et le pH (acide ou basique) du sol sont deux facteurs qui jouent un rôle clé dans la répartition géographique et la différenciation des espèces des terfez (Diez et *al.*, 2002).

A. Distribution géographique en Algérie

En Algérie, Les truffes se développent dans trois régions (Alsheikh et Trappe, 1983 ; Alsheikh, 1994 ; Fortas, 1990) :

- ✓ **Dans les régions semi –arides du littoral** : Mostaganem, Annaba ,Taref.
- ✓ **Dans les régions semi- arides steppiques** : Batna, Msila, Biskra, Djelfa, El- Aricha, Saida, Naama, El-Bayadh.
- ✓ **Dans les régions sahariennes** : Bechar, Tindouf, Ouargla, Tamanrasset, Timimoun, Touggourt.

B. Composition biochimiques des truffes

D'après Wang et Marcone (2011), la composition nutritionnelle spécifique des truffes du genre *Terfezia Claveryi* contenait 16% de protéines, 28,7% de glucides, 4% de fibre, 2% de matières grasses et 28% d'hydrate de carbone (Wang et Marcone, 2011).

Aussi, Bradai et *al.* (2014) affirment que les glucides sont l'un des composants majoritaires des truffes désertiques dont *T. claveryi*, et ajoutent que ces derniers sont d'une grande importance dans le secteur biomédical, en raison de leurs propriétés thérapeutiques, de leur abondance, de leurs sources renouvelables, non-toxiques et biodégradables (Bradai et *al.*, 2014).

Dans les 20 % de protéines, 85 % serait très digestible par l'homme (Kagan-Zur, 2001 ; Kagan-Zur et Roth-Bejerano, 2008), cette teneur est significativement plus élevée par rapport à celle des autres champignons comestibles et la plupart des légumes (Dib-Bellahouel et Fortas, 2011)

Les terfez contiennent des teneurs en protéines et en acides aminés supérieures à celle de la plupart des légumes, et leur composition en acides aminés est comparable à celle des

protéines animal ce qui expliquerait leur consommation par les Bédouins comme substituant de la viande dans leur régime (Janakat et Nassar, 2010)

250 g de terfez représentent pour l'homme 23-27 % de sa prise quotidienne de protéines et 16-22 % de fibre (Morte et al., 2008 ; Murcia et al., 2003).

Terfezia claveryi et *Picoa juniperi* sont riches en lipides et contiennent des teneurs élevées d'acide linoléique (Murcia et al., 2003).

Les ascocarps de *Terfezia claveryi* Chatin récolté en Arabie Saoudite entre les années 1983 et 1987 et analysés par Bokhary et Parvez (1993), contiennent 16% de protéines totales (% poids sec); 28% d'hydrates de carbone, 4% de fibres brutes totales et 2% de matières grasses brutes totales et ils sont riches en minéraux. *T. claveryi* contient aussi neuf acide gras saturés et quatre insaturés et vingt-neuf acides aminés ont également été détectés.

les diverses études ont prouvé que les caractéristiques alimentaires des ascocarps de Terfez changent d'une espèce à une autre selon l'âge (stade de maturation), la région de récolte, le temps, le type du sol et les facteurs climatiques (Dahham et al., 2016 ; Hussain et Al-Ruqaie, 1999).

Tableau 3 : Composition chimique et minérale de *Terfezia claveryi*, *Tirmania nivea* et *Tirmania pinoyi* (Hussaine et Al-Ruqait, 1999 ;Chellal , 1995).

Composition chimique %	GENRE ET ESPESES		
	<i>Terfezia claveryi</i> d'Arabie Saoudite (Hussaine et Al-Ruqait, 1999)	<i>Tirmania nivea</i> d'Arabie Saoudite (Hussaine et Al-Ruqait, 1999)	<i>Tirmania pinoyi</i> d'Algerie (Chellal , 1995)
Protéines	24.96	27.18	20.30
Lipides	4.20	7.42	3
Fibres brutes	7.02	13.02	11.2
cendres	6.39	5.40	3.8
Eléments minéraux (mg par 100g de matières sèches)			
Calcium	129	62	104.5
Magnésium	104	101	64.3

Phosphore	756	644	753.8
Sodium	199	110	13.3
Potassium	1730	734	1524.7
Fer	10.68	4.35	6.3
Manganèse	0.48	0.49	0.5
Cuivre	1.69	11.54	0.7
Zinc	5.10	5.04	3

1.9.6. Propriétés biologiques des truffes

Les truffes sont considérées comme une source énorme et inexploitée de nouveaux produits pharmaceutiques puissants (Wasser, 2011) et en plus de l'importance nutritionnelle bien connue des truffes, leurs arômes et leurs saveurs uniques une activité biologique importante est signalée. Les activités biologiques des truffes comprennent les activités antivirales d'où Hussan et Al-Ruqaie (1999) ont rapporté que les truffes du genre *Terfezia* possédaient une activité antivirale dont ils peuvent avoir un potentiel pour le traitement des maladies oculaires et cutanées (Hussan & Al-Ruqaie, 1999), et une activité antimicrobiennes dont une seconde étude à rapporter que les extraits aqueux de *T. claveryi* ont une activité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (Janakat et al., 2004, 2005; Gouzi et al., 2011).

Les extraits de *Terfezia claveryi* ont montré aussi une importante activité antibactérienne contre une large gamme de bactéries testées, y compris, celles qui causent le trachome *Chlamydia Trachomatis* (Mandeel et Al-Laith 2007).

Aussi Dogan et Ayden (2013) ont démontré que les extraits acétoniques des truffes du désert ont également des propriétés antimicrobiennes contre : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, et *Candida albicans*.

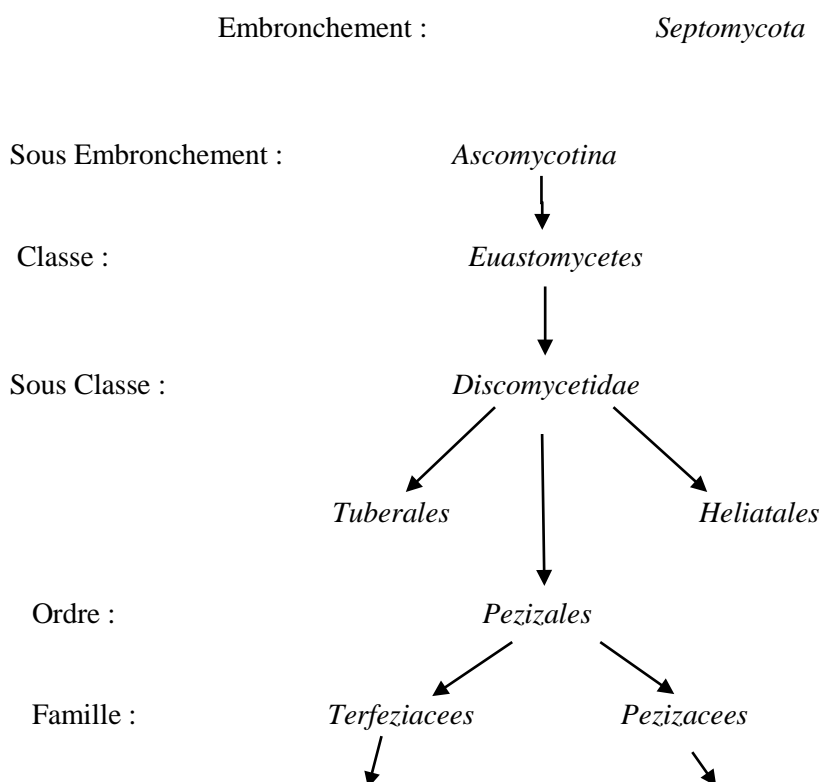
En 2004, un antibiotique a été isolé à partir d'un échantillon d'une truffe de désert *Terfezia claveryi* (Shavit, 2008).

Les extraits des truffes du désert n'ont aucun effet antibactérien sur certaines bactéries lactiques à effet probiotique (Saddiq et al., 2015).

Outre leur activité antimicrobienne, les truffes du désert contiennent des antioxydants, ces derniers protègent le corps humain des dommages du stress oxydatif induit par la formation des radicaux libres (Al-Laith, 2010 ; Neggaz et al., 2015 ; Dahham et al., 2016), des propriétés hépatoprotectrices (Janakat et Nassar, 2010), anticancéreuses (Mekawey, 2015 ; Al-Dahham et al., 2016), aphrodisiaques (Al-Damegh, 2014), neurotrophiques, antitumorales et immunostimulantes (Gao et al., 2004), les terfez seraient aussi une source illimitée de composés thérapeutiques anti-inflammatoires (Al-Laith, 2010) et renferment également des composés antimutagènes (Hannan et al., 1989)

1.9.7. Classification de *Terfezia claveryi*

La taxonomie des Terfez est essentiellement basée sur les caractéristiques du péridium (aspect ; couleur), sur celles des spores (nombre, forme ; ornementation), et sur des caractères complémentaires : forme ou taille des corps fructifères, coloration de la Gléba, habitat, disposition des veines, odeur) (Tulasne et Tulasne, 1851 ; Trappe, 1979 ; Bradai et al., 2014).



Genre : *Terfezia* *Tirmania*

Figure 10 : Position des Terfèzes dans la classification des Ascomycètes (Trappe, 1979 et Delmas, 1989).

Plus tard, avec la découverte de la biologie moléculaire (PCR-RAPD, PCR-RFLP) et l'étude phylogénétique (Figure 2), les terfez ont été transféré de la famille des *Terfeziacees* à celle des *Pezizacees* tels que les genres : *Terfezia* (Diez et al., 2002).

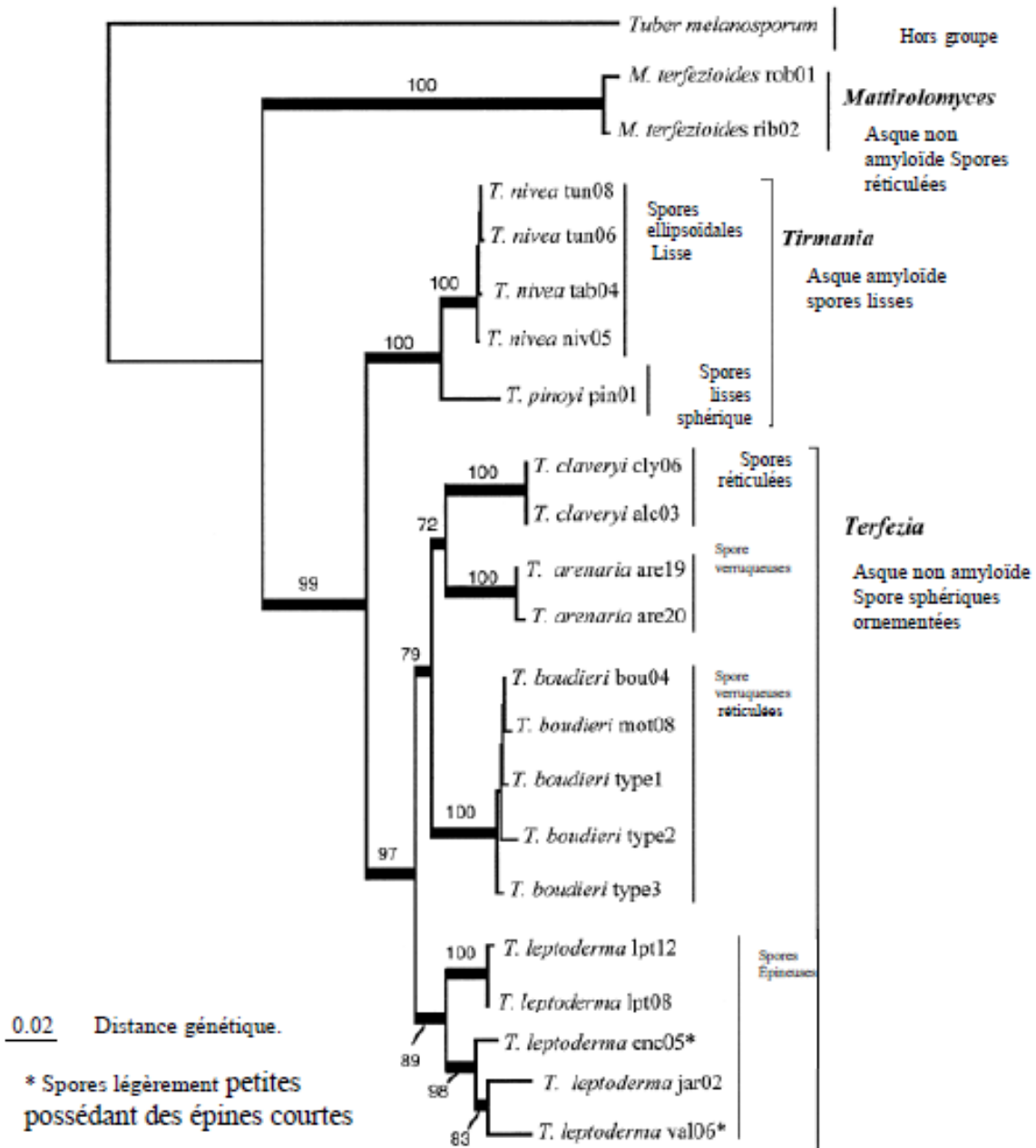


Figure 11 : Arbre phylogénétique des terfez (Diez et al., 2002)

Deuxième partie
Matériels et méthodes

Résultats et discussion

I. Matériel

I.1. Matériel fongique

Cette évaluation anti-inflammatoire était portée sur les truffes de désert fraîches du genre : *Terfezia claveryi*. La collecte a été effectuée le 26 Février 2017 dans la région d'oued El-Namous wilaya de Béchar (Algérie).

Les spécimens ont subi un pré lavage à l'eau simple pour éliminer le sable et les particules du sol, ensuite elles ont été séchées et coupées en petits morceaux, broyées et conservées au congélateur pour des analyses ultérieures.



Photo 1: La truffe du désert marron « *Terfezia claveryi* »

II. Animaux d'expérimentation

Afin d'évaluer les propriétés anti-inflammatoire de l'extrait et la toxicité aiguë, des souris de race blanche femelles, âgées de 6 à 8 semaines et pesant entre 25 à 35 g élevées au sein de l'animalerie de l'université de Abd El Hamid Ibn Badis à Mostaganem (Otari k. et *al.*, 2010).

Durant toute l'expérience, les animaux ont été nourris avec de la provende LFL 1420 et ont eu de l'eau à volonté.



Photo 1: la répartition des souris dans les cages.

III. Méthode

III.1. Préparation d'extraits aqueux bruts des truffes

Une macération à froid de 250 g d'ascocarpes de truffes secs coupés en petits morceaux ont été immergées dans 500 ml d'eau distillée (1 :3 p/v) (Janakat et *al.*, 2005).

Le mélange est agité manuellement chaque fois sachant que la macération a durée 24 heures à l'abri de la lumière. Le lendemain le mélange a été homogénéisé dans un mixeur à pleine vitesse pendant 1 minute, puis l'homogénat a été filtré une première fois à l'aide d'une double couche de compresse d gaz puis une seconde avec de papier filtre sans cendre (Wattman n° 6) ensuite il a été mesuré grâce à une éprouvette gradué puis centrifugé à 3000 pendant 10 minutes pour éliminer les particules insoluble (Janakat et *al.*, 2004)



Photo 2 :Macération aqueuse



Photo 3 : filtration de l'extrait aqueux

Enfin l'extrait aqueux a été stérilisé à l'aide d'un micro filtre de 0,22 μ m et maintenu à - 20°C pour la réalisation des tests biologiques (Stojkovic et *al.*, 2013).

La filtration doit se faire dans la zone d'asepsie (entre deux becs bunsen) et dans des tubes stériles (120°C/20 mn), ces tubes doivent être en plastiques à cause de la congélation (Janakat ; Al Fakhiri ; Sallal, 2004).

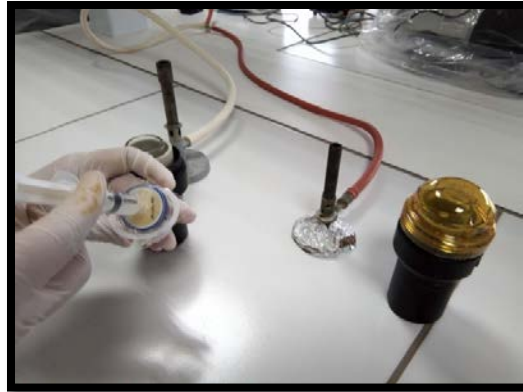


Photo 4 : stérilisation des extraits

III.2. Protocole expérimentale

III.2.1. L'activité anti-œdémateuse de l'extrait des truffes brunes *Terfezia claveryi*

Une heure avant l'induction de l'inflammation par la caraginine les souris sont répartis en 3 groupes :

Groupe A : Test de toxicité aigue

Pour évaluer la toxicité aigüe de l'extrait, cinq lots de trois souris ont été utilisés. Les animaux de trois premiers lots ont reçu chacun, par voie orale, une seule dose de l'extrait : 100mg/kg ; 150mg/kg ; 200mg/kg . Ensuite les deux autres lots ont subit une administration par voie intra-péritonéale de l'extrait des truffes marrons à raison de : 50mg/kg ; 100mg/kg.

Les signes d'intoxication ainsi que le taux de mortalité ont été observés à 5, 15, 20 minutes et à 1, 2, 4, 6 heures après administration de l'extrait. Ensuite, ils ont été observés une fois par jour jusqu'au troisième jour (Malone et *al.*, 1991).

Groupe B : Activité anti-œdémateuse de l'extrait par voie orale

Cinq lots de quatre souris ont été utilisés pour ce test : les trois lots traités ont reçu différentes doses de l'extrait aqueux de truffe marron par gavage (voie orale) à raison de 100, 150 et 200 mg/kg/souris , le lot de référence a reçu de déclofénac, et le lot témoin

Témoin (4 Souris): Les souris de ce lot reçoivent la solution véhicule (NaCl 0.9%) par voie orale (VO), une heure avant l'injection de la carraginine 1% dans la voûte plantaire de la patte droite du souris (Lompo M. et *al.*, 1998).

Standard (4 Souris): Les souris de ce lot ont été traités par voie (VO) avec un anti inflammatoire utilisé en thérapeutique (Déclofénac) une heure avant la provocation de l'inflammation par la carraginine (Rahmani et *al.*,2012).

Dose 1 (4 Souris): L'extrait à tester est administré aux souris par voie (VO) à raison de 100mg/kg.

Dose 2 (4 Souris): une dose de 150mg/kg/souris a été administrée par VO.

Dose 3 (4 Souris): 200mg/kg/souris a été administrée par VO.

Groupe C: Activité anti-œdémateuse de l'extrait par voie intra-péritonéale (IP)

Témoin (3 Souris): Les souris de ce lot reçoivent la solution véhicule (NaCl 0.9%) par voie (IP), une heure avant la provocation de l'inflammation par la carraginine .

Standard (3 Souris): Les souris de ce lot ont été traitées par voie (IP) avec Déclofénac

Dose 1 (3 Souris): L'extrait à tester est administré aux souris par voie (IP) à raison de 50mg/kg.

Dose 2 (3 Souris): une dose de 100mg/kg/souris a été administrée par (IP) (Ould El Hadj et *al.*,2013).



Photo 5 : l'injection intra-péritonéale.

III.2.2.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'œdème peut être provoqué par plusieurs agents phlogogènes : formol, ovalbumines, kaolin, carragénine... Pour cette étude, la carragénine a été utilisée pour induire l'inflammation. L'étude

expérimentale de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode décrite par WINTER selon laquelle l'inflammation est induite par injection de la carragénine dans l'aponévrose de la plante du pied d'une solution de carragénine 1%. Selon laquelle l'inflammation est induite par injection de cette solution au niveau de la voûte plantaire de la patte droite du souris (Winter et *al.*,1962).



Photo 6 : la patte droite de souris enflammée

L'œdème causé par cet agent phlogogène sera traduit en volume et mesuré par le pied de coulisse digitale qui permet de suivre l'évolution du processus inflammatoire. Pour chaque essai de l'activité anti-inflammatoire ce travail se devise en deux parties.



Photo 7 : la mesure de l'inflammation par le pied de coulisse digitale.

Quelques minutes après la provocation de l'inflammation on mesure le volume V_0 des pattes enflammées des souris, puis 1, 2, 3, 4, 5 et 6 heures après cette injection (Winter C et *al.*, 1962) (Winter, 1962 ; Singh et *al.*, 1989 ; Fleurantin et *al.*, 1997) .

L'activité anti-inflammatoire des produits testés et son évolution ont été estimées par la détermination des pourcentages d'augmentation du volume de la patte de souri et des

pourcentages moyens d'inhibition de l'œdème, calculés suivant la formule (Gardenaire, 1960 ; Ndiaye et *al.*, 2006).

❖ **Le calcul du pourcentage d'augmentation du volume de la patte de souris (%AUG).**

$$(\%AUG) = (vt - vo) \times 100 / vo$$

❖ **Calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (%INH).**

Ce pourcentage est calculé pour chaque groupe de souris traité par rapport au témoin .Il est obtenu par la formule suivante (Ndiaye et *al.*, 2006).

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%INH)} = \frac{(vt-vo)témoin - (vt-vo)traité}{(vt-vo)témoin} \times 100$$

- V_0 représente le volume de la patte à $T=0$ (avant injection de la carragénine)
- V_t représente le volume de la patte à un temps T quelconque.

Une diminution du volume de l'œdème a été considérée comme effet anti-inflammatoire de l'extrait

IV. Analyse statistique

Les résultats ont été analysés par le test t de Student. Les valeurs de $p < 0,05$ a été considérées comme significatives.

X .L'étude histologique

Les coupes histologiques ont été réalisées dans laboratoire Phytothérapie et Pharmacognosie de l'université de Abd El Hamid Ibn Badisse de Mostaganem afin de connaître l'activité anti-inflammatoire des truffes marron *Terfezia claveryi* sur les pattes droites enflammées des souris sacrifiés après anesthésie par le chloroforme 10%, les pattes droites ont été sectionnées en suite fixées dans le formol 10% (Lompo M. et *al.*, 1998), la technique utilisée était celle de la procédure classique d'histopathologie (Benirschke et *al.*, 1978). Cette technique ayant pour but de conserver les tissus dans un état plus proche que possible celui d'origine, et d'obtenir à partir de ce tissu des coupes minces et transparentes qui permettent l'examen du microscopique après coloration.

Voici les étapes utilisées pour notre étude :

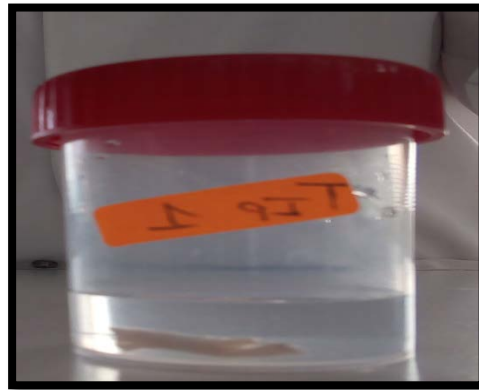


Photo 8 : Une patte de souris fixée dans le formol 10%.

X.1.Imprégnation

A .Déshydratation

Après décalcification par l'acide chloridrique (Hcl 10%) pendant quelques heures, les pattes ont été mises dans des cassettes puis immergées dans différents bains.

- 1 Bac d'éthanol 96% durant 1heure.
- 1 Bac d'éthanol 96% durant 1heure.
- 1 Bac d'acétone durant 2 heures.

B .Substitution

- 1 Bac de toluène/xylène durant 2 heures.

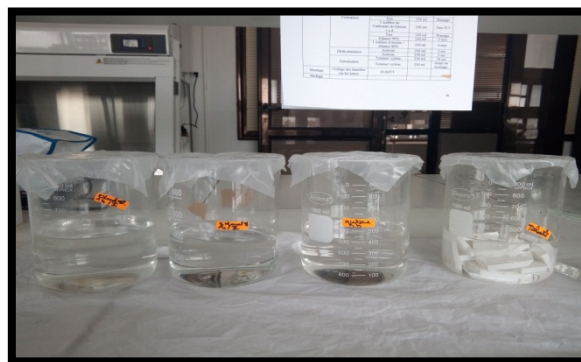


Photo 9 : Les étapes de déshydratation et substitution.

C. Imprégnation

- 1Bac de paraffine à 70°C durant 1heure.



Photo 10 : Les cassettes dans la paraffine.

X.2.Inclusion (Enrobage)

Mise de la pièce prélevée dans un moule en acier et son enrobage avec de la paraffine liquide. Une fois le bloc préparé, il est stocké dans un congélateur (-20°C).



Photo 11 : l'enrobage avec la paraffine.

X.3.Microtomie

Réalisation des coupes sur 1 bloc à l'aide d'un microtome. L'ensemble des tranches obtenues forme un ruban de qualité très fine (2 à 4 μ m).

Etallement et collage des coupes sur des lames verre : il doit être effectué soit sur une plaque chauffante, soit par la flottation à la surface d'un bain-marie à 37°C contenant de l'eau distillée et de la gélatine à 1%, afin d'éviter de plis et de stries.

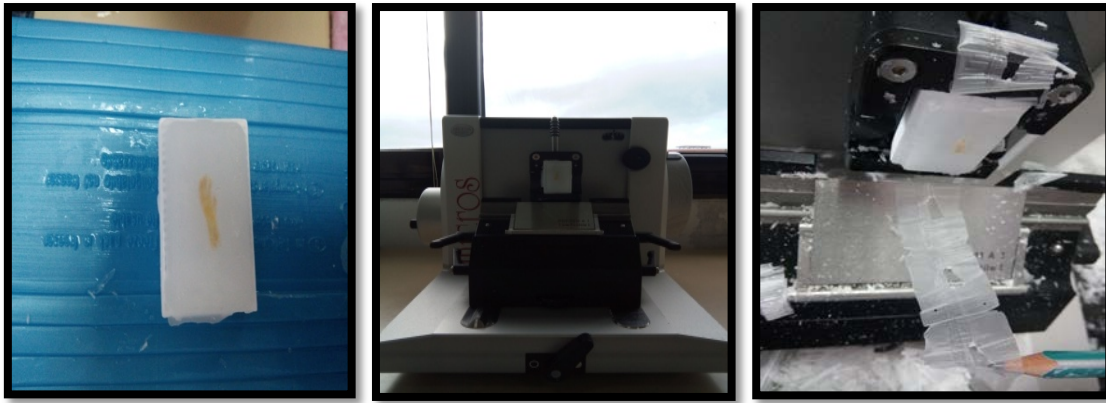


Photo 12 : La patte enrobée dans la paraffine ensuite coupée par le microtome en ruban.

Séchage des lames : pour faciliter l'adhérence des coupes sur la lame de verre avant l'étape de déparaffinage, les lames doivent être « cuites ». Cette cuisson permet d'éliminer (par évaporation) la pellicule d'eau qui se trouve entre la coupe et la lame. Elle est réalisée dans une étuve à 58°C pendant 1 heure.



Photo 13 : Les étapes d'enrobage et le séchage des lames dans l'étuve.

X.4. Déparaffinage

La première étape de toute coloration d'une coupe histologique est d'éliminer la paraffine du tissu pour que les colorants puissent le pénétrer.

- 1 Bac de toluène/xylène durant 10 mn.

X.5. Réhydratation

Consiste à substituer progressivement le solvant du tissu par des bains d'éthanol pour amener à l'eau.

- 1 Bac d'éthanol à 70% durant 5mn.
- 1 Bac d'éthanol à 80% durant 5mn.
- 1 Bac d'éthanol à 96% durant 5mn.

- Rinçage à l'eau durant 10mn.



Photo 14 : Le déparaffinage et les quatre étapes de réhydratation.

X.6.Coloration

- 1 Bac d'hématoxyline de Harris durant 2mn.
- 1 Bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage.
- 1 Bac d'eau acidifié, juste pour un trempage (2 -3 gouttes d'acide chlorhydrique à 33% dans un bac d'eau).
- 1 Bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage
- 1 Bac d'eau mélangé au carbonate de lithium (1 cuillère dans un bac d'eau), juste pour un trempage 2à3 fois.
- 1 Bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage.
- 1 Bac de solution de lavage (eau) pour un simple rinçage
- 1 Bac d'éthanol 96% durant 2mn.
- 1 Bac d'éosine (1 cuillère d'éosine dans un bac d'éthanol à 96%) durant 4mn.
- 1 Bac d'acétone, juste pour un trempage afin de nettoyer les lames.
- 1 Bac d'acétone, juste pour un trempage afin de nettoyer les lames.
- 1 Bac de toluène/xylène, juste pour un trempage.
- 1 Bac de toluène/xylène, en laissant les lames dans le bac pour le montage.



Photo 15 : Les étapes de la coloration.

X.7.Montage

Cette opération consiste à fixer à l'aide d'une résine synthétique (gouttes de solution EUKITT) une lamelle couvre-objet sur la coupe (la lame) afin de la protéger de la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent à l'air et des bris mécaniques.



Photo 16 : Les lames préparées pour la lecture microscopique.

X.8.Préparation des plateaux de lecture

Cette étape post coloration consiste en une vérification rigoureuse de chaque lame avec son bloque d'origine et sa fiche de travail (accompagnée de la fiche de macroscopie) puis identifier avant d'être transmise au pathologiste pour l'interprétation microscopique.

Les lames ainsi montées peuvent être conservées pendant plusieurs dizaines d'années.

X.9.Examen microscopiques

La lecture est réalisée par un photo-microscopique et chaque coupe est photographiée.

La lecture a été réalisée au niveau de laboratoire de recherche « Pharmacognosie et Phytothérapie » à l'université de Mostaganem Abd El Hamid Ibn Badis.

I. Test de toxicité aigue

I.1. Voie orale

L'administration orale de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* aux doses 100, 150 et 200mg/kg de p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigue au cours des 24 heures d'observation (Tab.4).

Tableau 4: Test de toxicité des différentes doses de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* au cours des 24 heures.

	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot 1	Négative	Négative	Négative	Négative
Lot 2	Négative	Négative	Négative	Négative
Lot 3	Négative	Négative	Négative	Négative

I.2. Voie intra-péritonéale

L'administration intra-péritonéale de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* aux doses 50 et 100mg/kg de p.c aux souris n'a induit aucun signe de toxicité aigue au cours des 24 heures d'observation (Tab.5).

Tableau 5: Test de toxicité des différentes doses de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* au cours des 24 heures.

	Augmentation de l'activité	Convulsion	Coma	Mort
Lot 1	Négative	Négative	Négative	Négative
Lot 2	Négative	Négative	Négative	Négative

II. L'activité anti-inflammatoire (voie orale)

II.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG)

II.1.1. Groupe témoin et standard

L'administration de la caragénine entraîne une augmentation du %AUG du volume de la patte des souris témoins dans la 1^{ère} heure de l'expérimentation. À partir de la 2^{ème} heure nous remarquons une diminution légère du volume des pattes des souris jusqu'à la 6^{ème} heure. De plus les résultats obtenus montrent que l'administration de l'anti-inflammatoire du Diclofénac (50mg/kg) provoque une diminution significative du volume de la patte des souris pendant les six heures de l'expérimentation ($p < 0.01$) comparés au groupe témoin. (Fig.12)

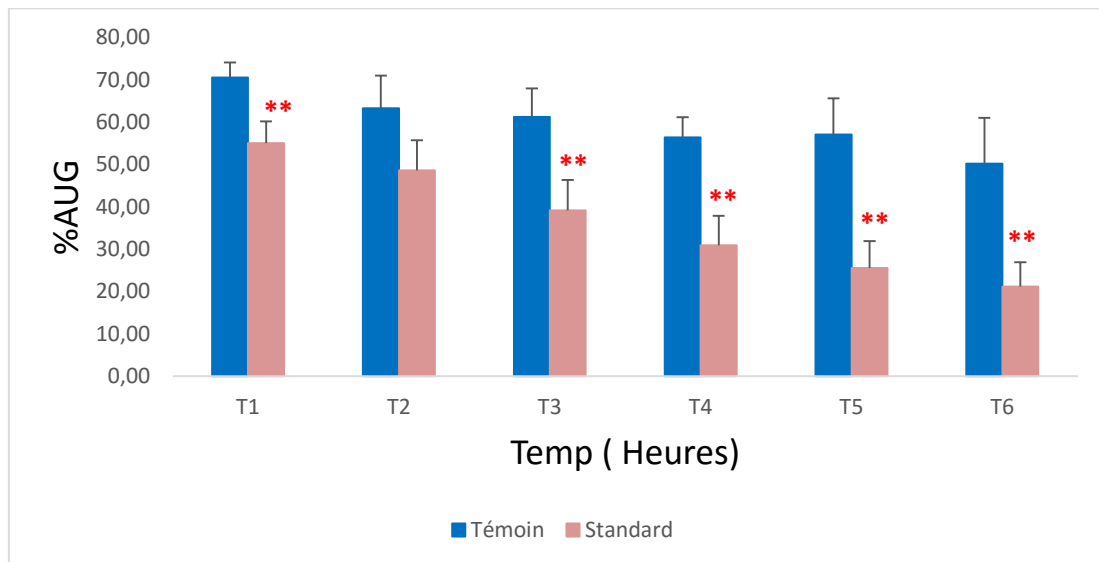


Figure 12: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris témoins et des souris standard. $p < 0,01$ ** très significatif

II.1.2. Groupes traités par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* (100, 150 et 200mg/kg de pc)

Le traitement par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose de 100mg/kg induit une diminution progressive du volume de la patte des souris durant les six heures de l'expérimentation. Alors que le groupe traité par la dose 150mg/kg présente une diminution significatif à partir de la 1^{er} heure jusqu'à la 6^{ème} heure ($p < 0.05$), et le traitement par la dose 200mg/kg provoque une diminution très significatif dans la 1^{er}

heure jusqu'à la 5^{ème} heure ($p < 0.01$) de plus cette baisse et plus importante à la 6^{ème} heure ($p < 0.001$). (Fig.13)

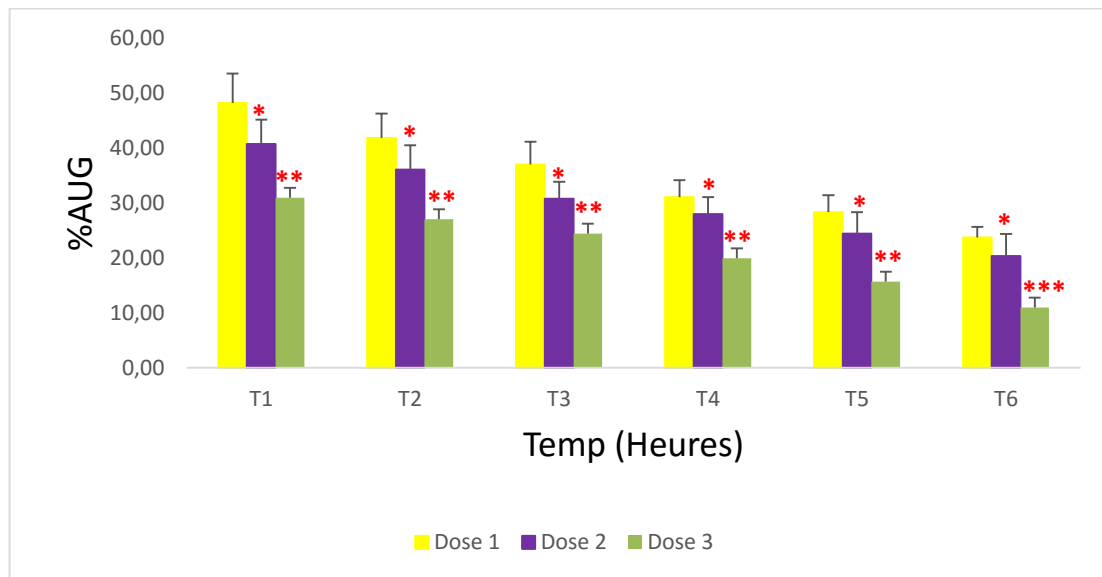


Figure 13: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris traitées par Dose 1 et Dose 2 et Dose 3.

$P < 0,05$ * significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif

II.1.3. Groupes traités comparés aux souris standards

Les résultats du pourcentage de l'augmentation de la patte obtenus chez les souris traitées par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose 100mg/kg montrent une diminution progressive dans les 3 premières heures de l'expérimentation par contre dans la 4^{ème} et 5^{ème} et 6^{ème} heure nous observons une augmentation légère. Une diminution significative du pourcentage de la patte a été remarquée chez les souris traitées à la dose 150mg/kg durant la 1^{er} et la 2^{ème} heure par rapport aux souris standards ($p < 0.05$), Le traitement par la dose de 200mg/kg induit une diminution significative dans la 1^{er} heure ($p < 0.001$) et la 2^{ème} heure ($p < 0.01$) de l'expérimentation comparées aux souris standards. (Fig.14)

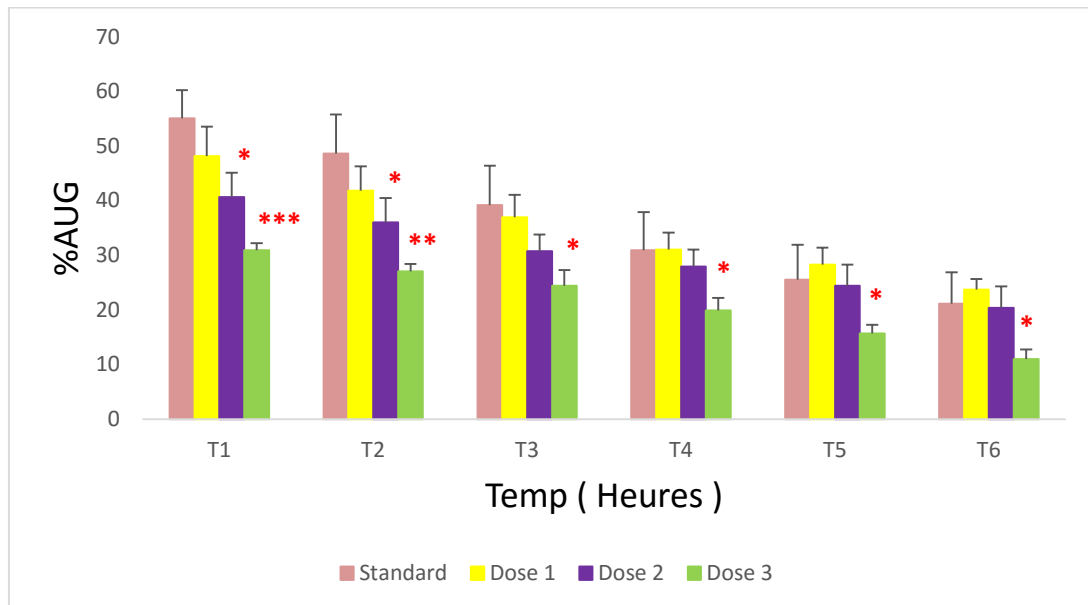


Figure 14: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris traitées à la dose de 100mg/kg et 150mg/kg et 200mg/kg de p.c comparés aux souris standards.

P < 0,05 * significatif, p < 0,01 ** très significatif, p < 0,001 *** hautement significatif

II.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)

II.2.1. Groupe standard

L'administration du Diclofénac à une dose de 50mg/kg de p.c nous montrons une inhibition progressive de l'œdème de la patte des souris et qui atteint 57,89% à la sixième heure comparés à la première heure 21,95%. (Fig.15)

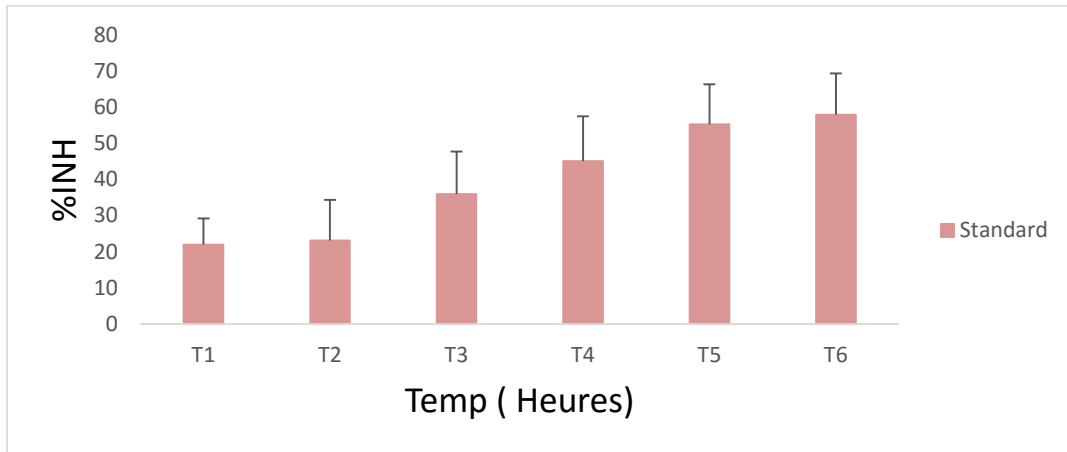


Figure 15: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris standards traitées par Diclofénac (50mg/kg)

II.2.2. Comparaison des doses de traitement

Le traitement par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose 100mg/kg de p.c provoque une inhibition légère comparés groupe traité par la dose 150mg/kg qui montre une inhibition significative du volume de la patte des souris durant les six heures de l'expérimentation ($p < 0.05$) de plus l'activité inhibitrice induit par la dose 200mg/kg est très significative dès la 1^{er} heure jusqu'à la 6^{ème} heure ($p < 0.01$). (Fig.16)

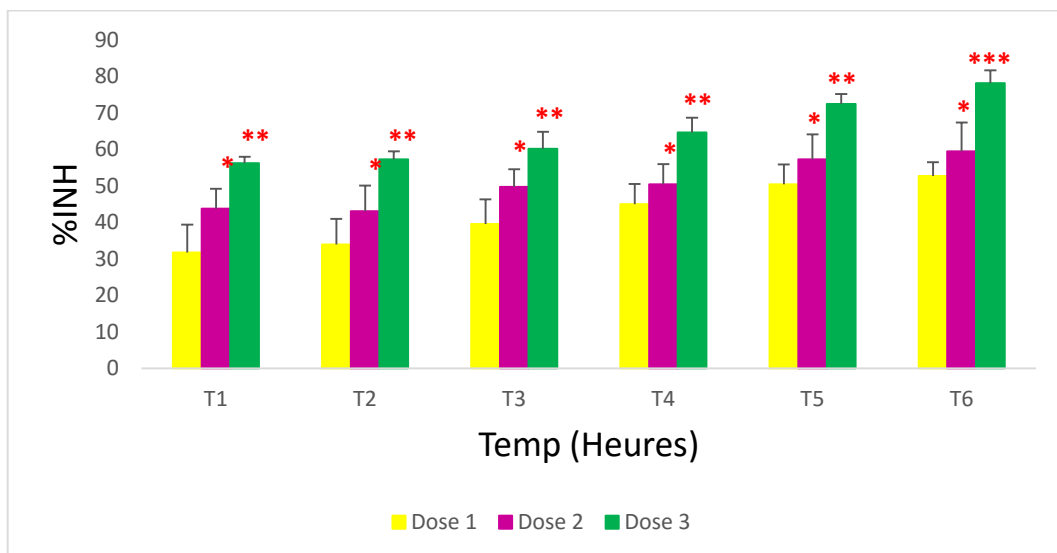


Figure 16: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par les 3 doses comparées entre elles.

$P < 0,05$ * significatif, $p < 0,01$ ** très significatif, $p < 0,001$ *** hautement significatif

II.2.3. Groupes traités par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* (100, 150 et 200mg/kg de p.c) comparés au groupe standard

Nos résultats montre que l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose 100mg/kg a le même effet sur la patte des souris comparés au groupe traité par Diclofénac. Par contre l'activité inhibitrice chez les souris traitées à la dose 150mg/kg et 200mg/kg une inhibition significative plus importante a été signalée par rapport à celle de Diclofénac particulièrement à la 1^{er} et la 2^{ème} heure. (Fig.17)

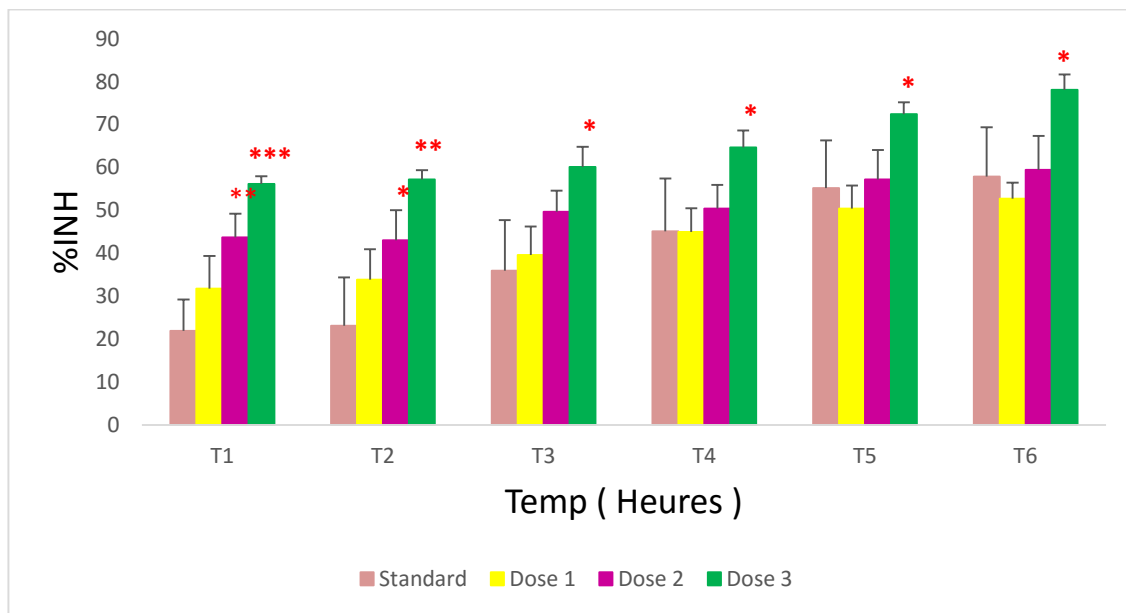


Figure 17: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par les 3 doses comparées aux souris standards

P < 0,05 * significatif, p < 0,01 ** très significatif, p < 0,001 *** hautement significatif

III. L'activité anti-inflammatoire (voie intra-péritonéale)

III.1. Le pourcentage d'augmentation du volume de la patte (% AUG)

III.1.1. Groupe témoin et standard

L'injection de la carragénine par voie intra-péritonéale provoque une augmentation du volume de la patte des souris témoins dans la 1^{er} heure qui diminue légèrement à partir de la 2^{ème} heure jusqu'à la 6^{ème} heure et de même l'injection de Diclofénac à la

dose de 50mg/kg par voie intra-péritonéale induit une diminution du volume de la patte des souris durant le temps de l'expérimentation. (Fig.18)

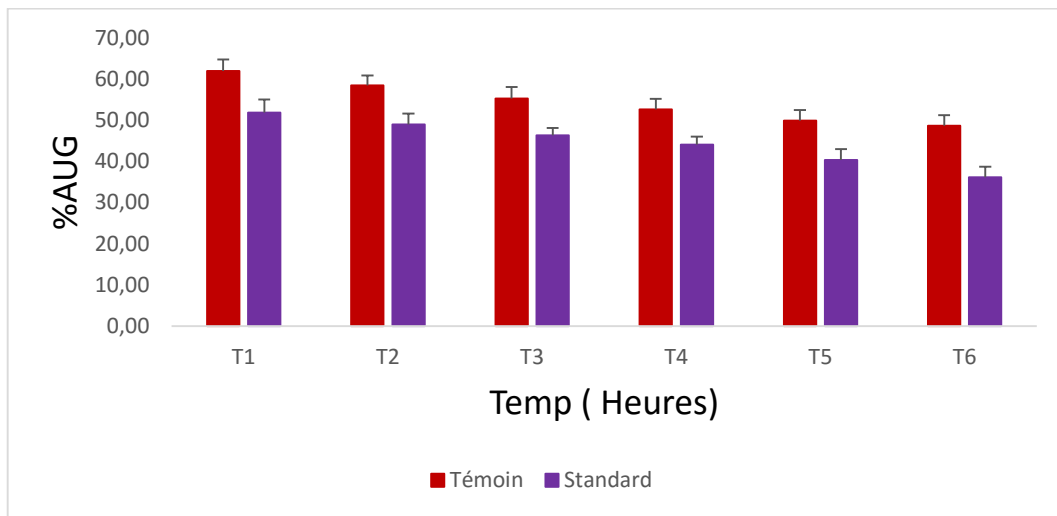


Figure 18: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris Témoin et des souris Standard.

III.1.2. Groupe traité par l'extrait aqueux de *Terfezia calveryi* à la dose 50mg/kg de pc comparé à la dose de 100mg/kg de pc

Les résultats obtenus après le traitement par l'extrait aqueux de *Terfezia calveryi* à la dose 50mg/kg nous montrent le même effet de l'augmentation de la patte des souris comparé au groupe traité par la dose de 100mg/kg avec une différence significative concernant la dose de 100mg/kg à la 4^{ème} et 5^{ème} et 6^{ème} heures ($p < 0.05$). (Fig.19)

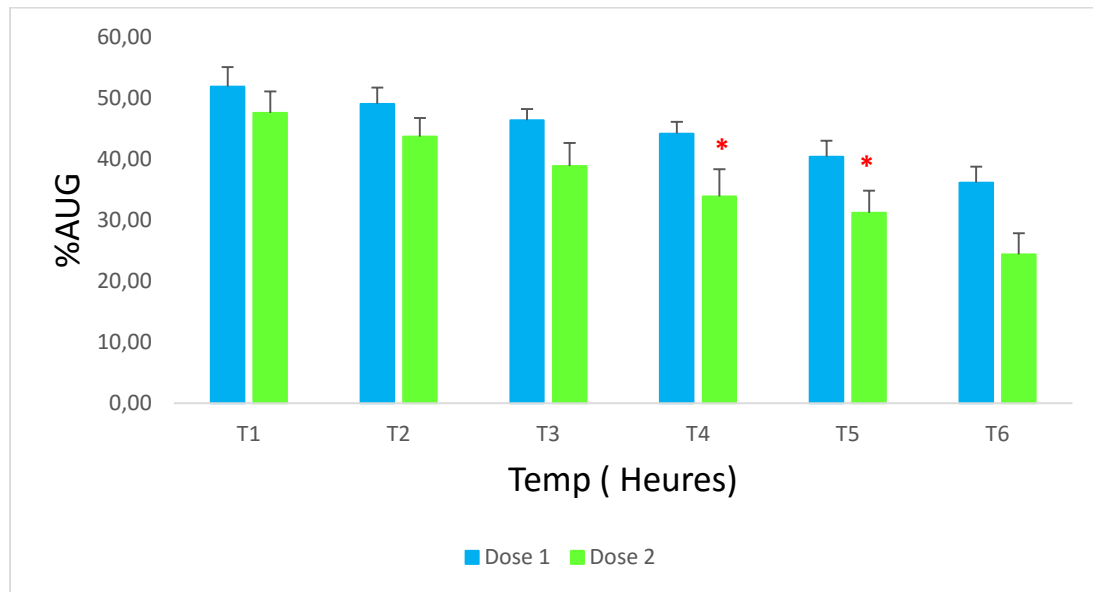


Figure 19: Pourcentage de l'augmentation du volume de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* la dose 50 et 100mg/kg de p.c.

P < 0,05 * significatif

III.1.3. Groupes traités comparés aux souris standards

Nous observons les mêmes résultats concernant le groupe standard et le groupe traité par la dose de 50mg/kg avec une différence significative durant les six heures de l'expérimentation ($p < 0.05$), par contre le groupe traité par la dose de 100mg/kg présente une augmentation significative à la 1^{ère} heure ($p < 0.05$) et une diminution très significative à partir de la 2^{ème} heure jusqu'à la dernière heure de l'expérimentation ($p < 0.01$). (Fig.20)

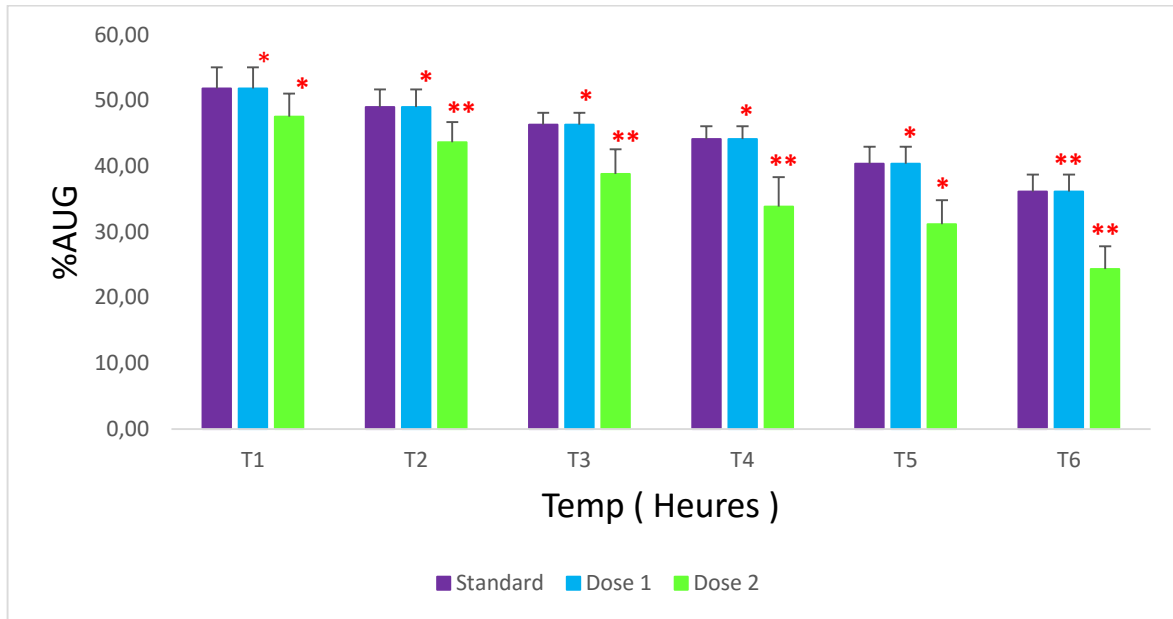


Figure 20: Pourcentage de l’augmentation du volume de la patte des souris traitées par la dose 50mg/kg et 100mg/kg comparés entre elles et aux souris standards.

P < 0,05 * significatif, p < 0,01 ** très significatif

III.2. Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte (%INH)

III.2.1. Groupe standard

Nous remarquons que l’effet anti-inflammatoire de Diclofénac 50mg/kg est très important à la cinquième heure comparé à la première et sixième heure. (Fig.21)

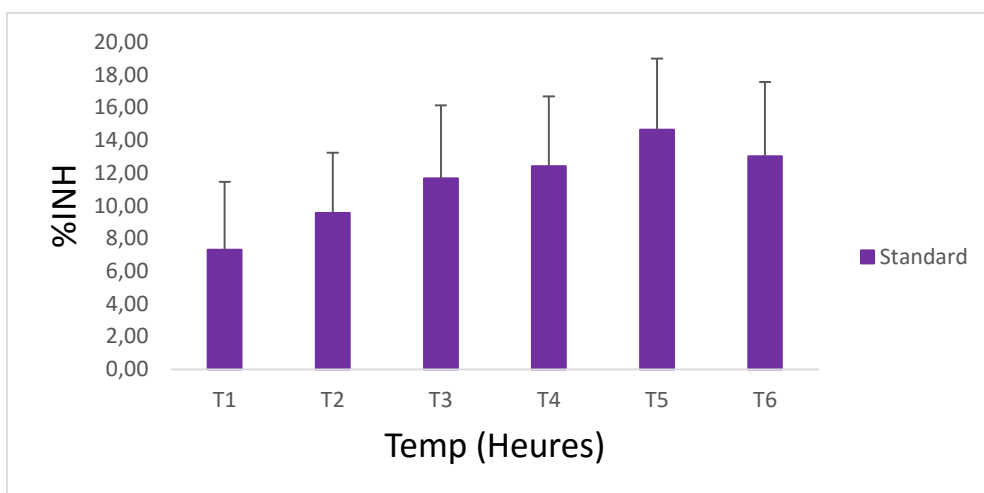


Figure 21: Pourcentage d’inhibition de l’œdème de la patte des souris standards traitées par Diclofénac

III.2.2. Comparaison des doses de traitement

L'activité d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par l'extrait aqueux de *Terfeziaclaveryi* à la dose 50mg/kg se manifeste dans la 3^{ème} et la 6^{ème} heures par rapport à les autres heures comparé au groupe traités par la dose 100mg/kg qui montre une inhibition significative de la patte des souris à partir de la 4^{ème} heure jusqu'à la fin de l'expérimentation ($p < 0,05$). (Fig.22)

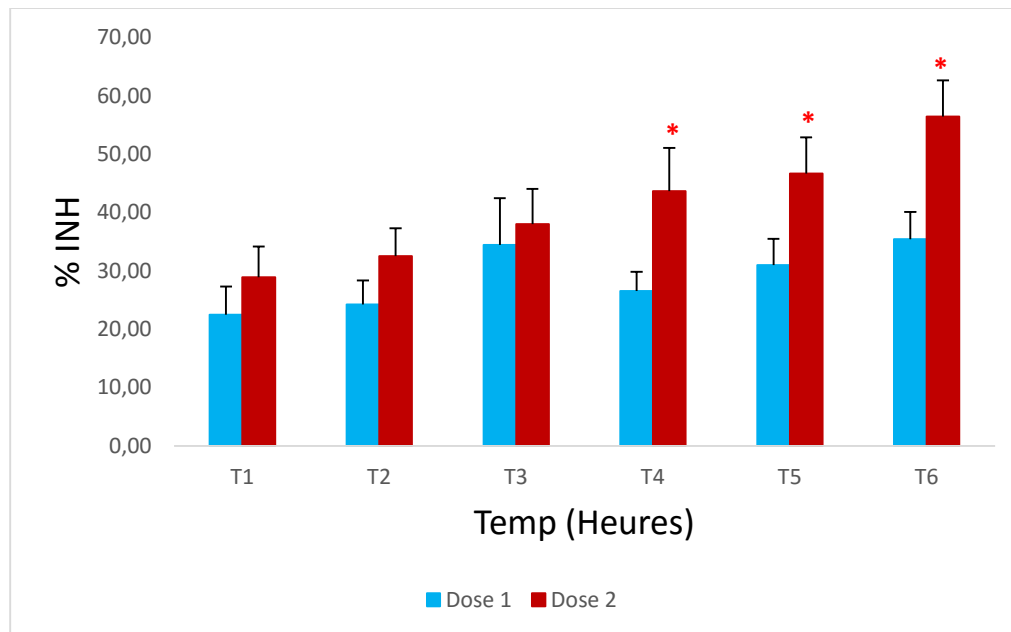


Figure 22: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par les 2 doses comparées entre elles.

$P < 0,05$ * significatif

III.2.3. Groupes traités par l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* (50 et 100mg/kg de pc) comparés au groupe standard

Nous avons observés que l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose 50mg/kg induit une inhibition significative dans la 1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} heure ($p < 0,05$) par rapport au groupe standard. De plus la dose de 100mg/kg de p.c montre une inhibition significative durant toute la durée de l'expérimentation comparé au souris standards ($p < 0,01$). (Fig.23)

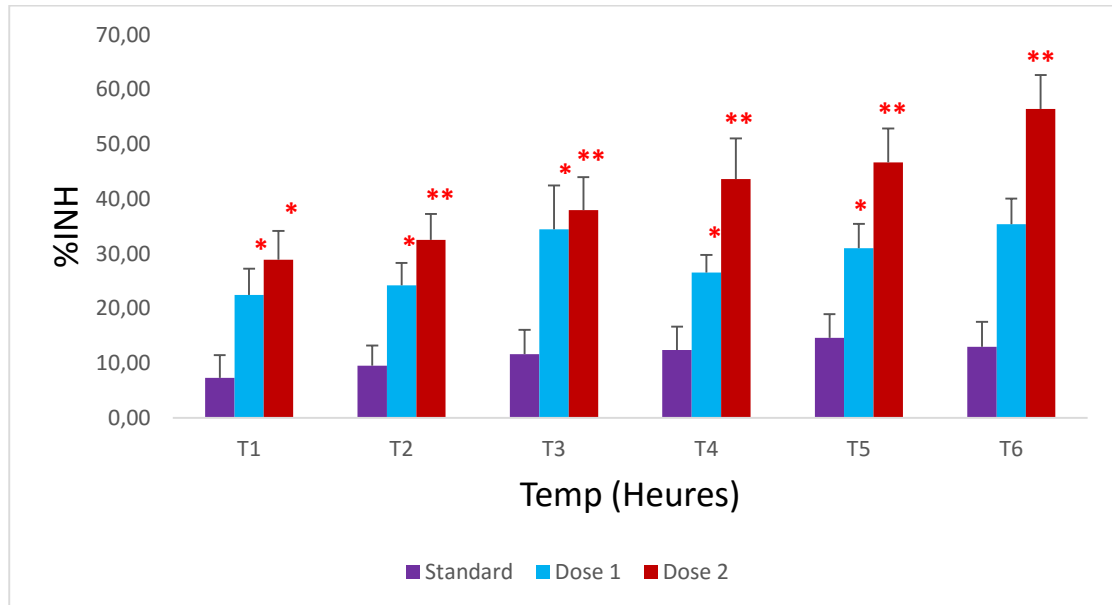


Figure 23: Pourcentage d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traitées par les 2 doses comparées aux souris standards

P < 0,05 * significatif, p < 0,01 ** très significatif

III.4. Etude histologique

Après lecture microscopique des lames, l'étude histologique effectuées sur les pattes de souris a montré que :

III.4.1. Le groupe témoin négatif :

ces souris n'ont subi aucun traitement, on observe 3 couches principales : l'épiderme épithélium qui repose sur un tissu conjonctif, le derme qui est constitué de vaisseaux lymphatique et sanguins entourées par des cellules épithélioïdes (5) qui sont aussi présent dans le derme d'un aspect normale non délatté et notamment des mastocytes , et l'hypoderme .(fig 24)

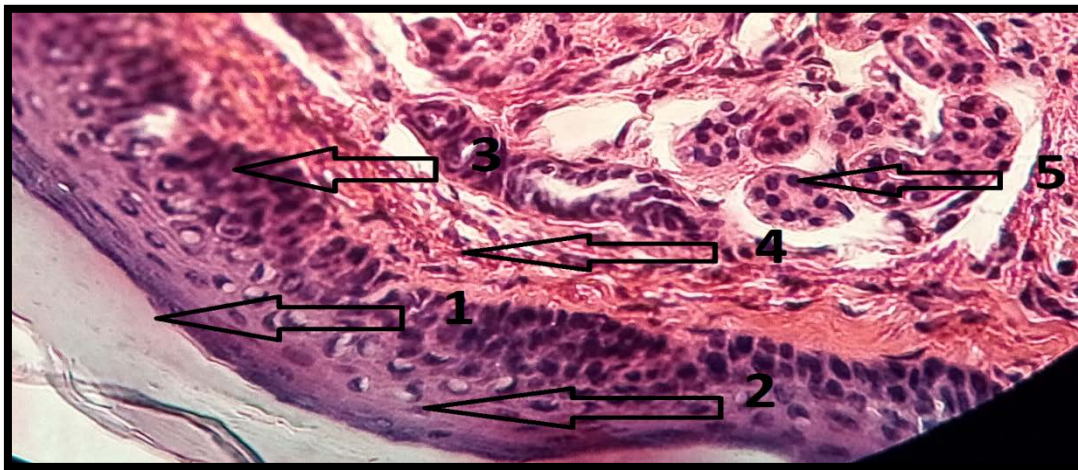


Figure 24 : Description d'un tissu de la patte de souris du groupe témoin négatif (X40).

(1) la couche cornée, (2) la couche granulée, (3) la couche basale, ces trois couches représente l'épiderme ; (4) le derme

III.4.2. Le groupe témoin positif

Les souris de ce groupe sont provoquées par l'inflammation sans aucun traitement préventif par l'extrait de truffe marron.

Il est donc remarquable dès la première vue un infiltrat inflammatoire intense (exsudat) et des fibroblastes, une délitation des vaisseaux lymphatiques, des follicules polymorphes associés à l'œdème (fig25) , une dispersion des lymphocytes associés avec une hémorragie suite à une délitation des vaisseaux sanguins (fig26).

III.4.3. Le groupe standard

Après l'examen microscopique des tissus des pattes des souris traitées par le Diclofénac. Une disparition de l'œdème et de la congestion tissulaire, diminution de l'intensité de l'infiltrat et une réduction de la taille des follicules (fig 27 ;28).

III.4.4. Les groupes traités par l'extrait aqueux de *T. claveryi* par voie orale

A. Dose 1 (100mg/kg)

Une faible diminution de l'infiltrat inflammatoire, présence des follicules (fig 29), dispersion des leucocytes, une hémorragie (fig 30).

B. Dose 2 (150mg/kg)

Un bourgeon constitué de capillaire et d'une matrice extra cellulaire lâche avec quelques leucocytes (fig 31).

C. Dose 3 (200mg/kg)

Une disparition presque totale de l'infiltrat inflammatoire, absence d'une hémorragie (fig 33), discret de l'œdème (fig 34) .

III.4.5. Les groupes traités par l'extrait aqueux de *T. claveryi* par voie intra-péritonéale

A. Dose 1 (50mg/kg)

Une diminution de nombre des follicules avec augmentation de sans volume, absence des hémorragies, présence des leucocytes mais d'un nombre réduit par rapport au témoin (fig 35 ;36).

B. Dose 2 (100mg/kg)

Une disparition presque totale de l'infiltrat inflammatoire tout comme celle de dose 3 traité par voie orale par l'extrait, absence d'une hémorragie, discret de l'œdème, un aspect normale des différentes couches de la peau de la patte de souris (fig 38).

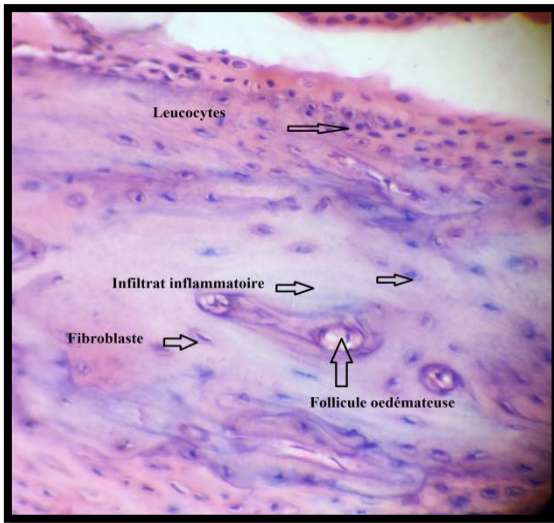


Figure 25: Présentant les tissus enflammés de la patte de souris du groupe témoin par voie orale (X40).

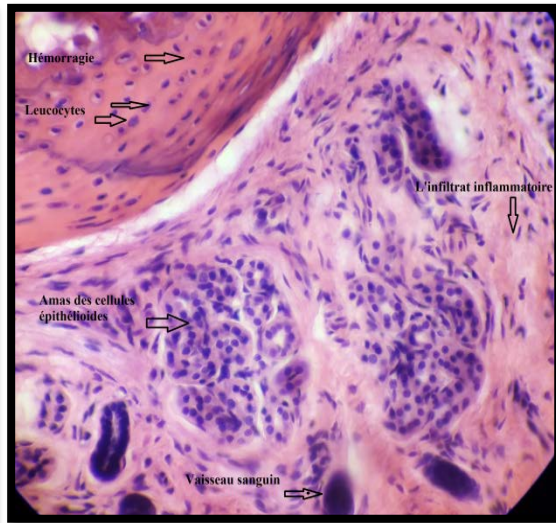


Figure 26 : une hémorragie, dispersion de Leucocytes dans le tissu enflammé par Orale (X40).

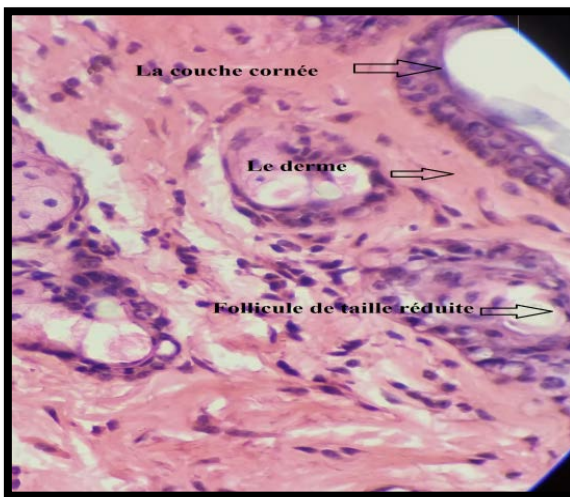


Figure 27 : Disparition de l'œdème pattes de souris standard par voie orale (X40).

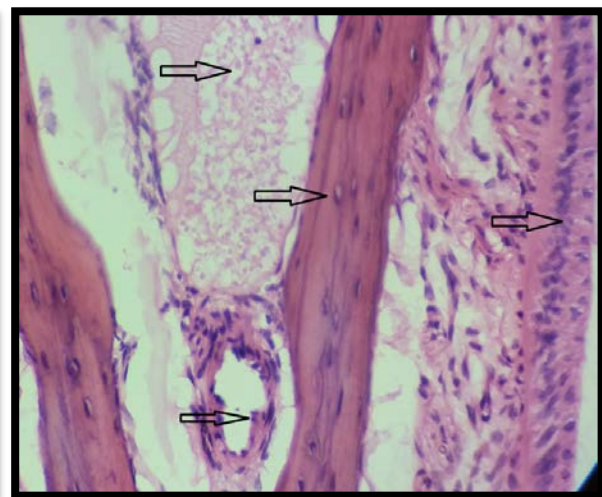


Figure 28 : Diminution de la taille de l'infiltrat les Pour les tissus de souris standard par voie orale (X40).

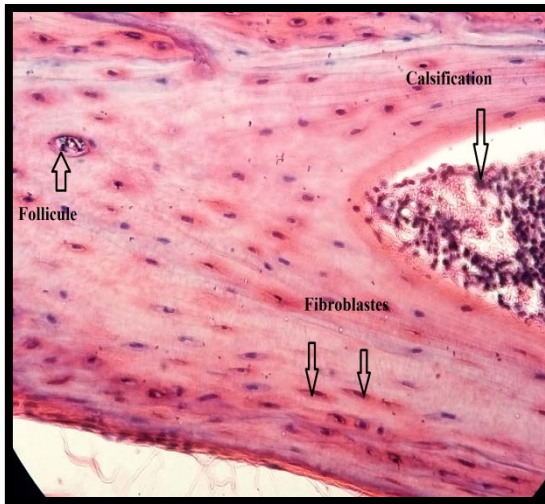


Figure 29 : les tissus enflammés de souris traité par 100mg/kg de l'extrait orale (X40).

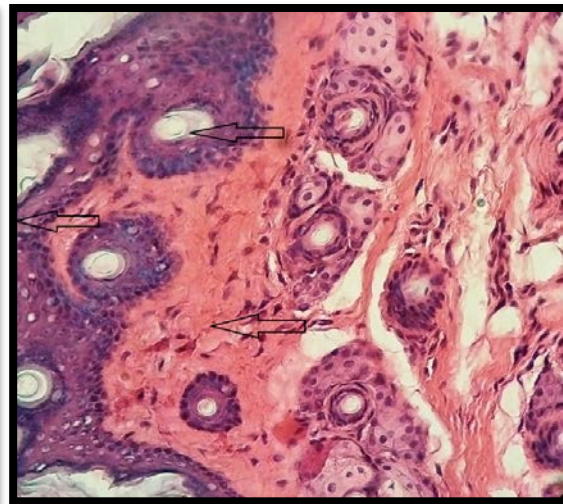


Figure 30 : les follicules inflammatoire dans les tissus traité par 100mg/kg de l'extrait par voie orale (X40).

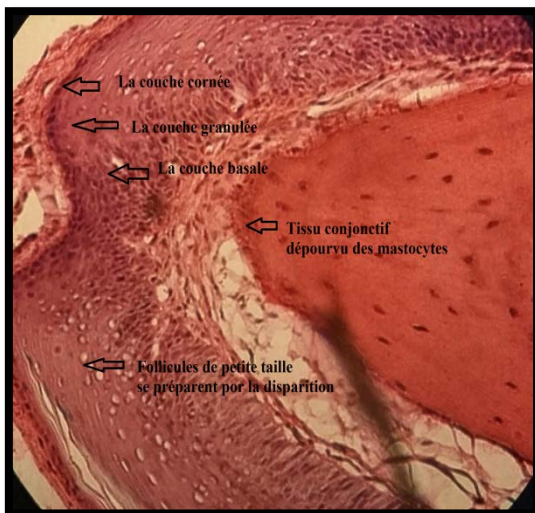


Figure 31 : taille réduite des follicules pour la dose 150mg/kg de l'extrait par voie orale (X10).

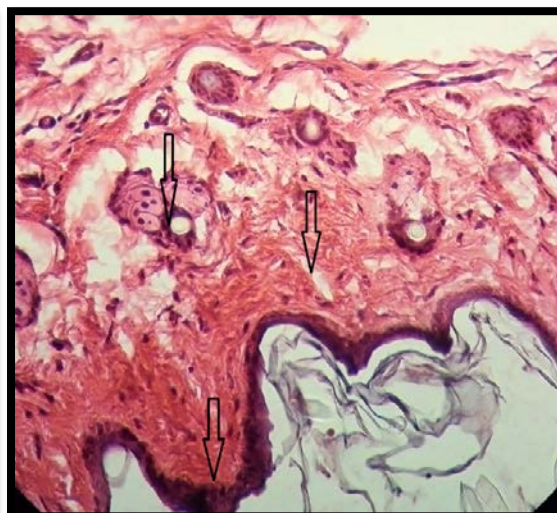


Figure 32: nombre réduit des follicules pour la dose 150mg/kg de l'extrait par voie orale (X40).

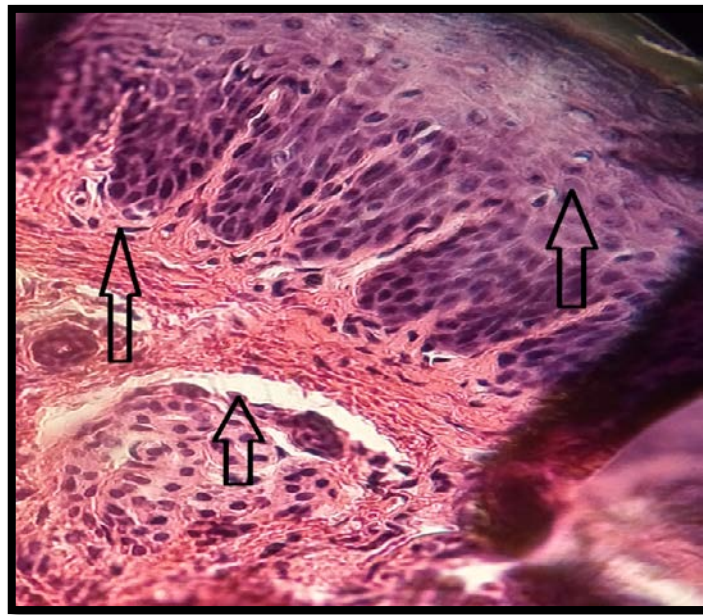


Figure 33 : Représentant l'absence de l'œdème, disparition des follicules, et aspect normal de tissus des pattes de souris traitées par la dose 200mg/kg de l'extrait de *T. claveryi* par (VO) (X40).

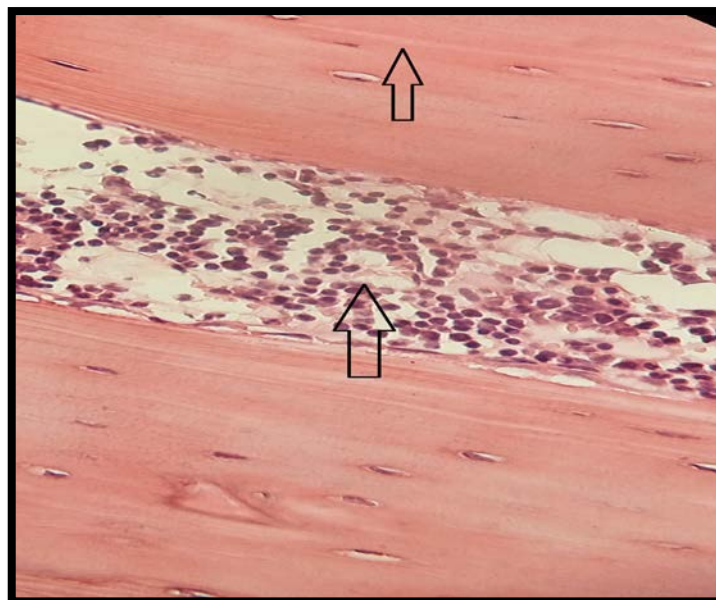


Figure 34 : Représentant l'absence de l'hémorragie et des leucocytes dans les tissus des pattes de souris traitées par la dose 200mg/kg de l'extrait de *T. claveryi* par voie orale (X40).

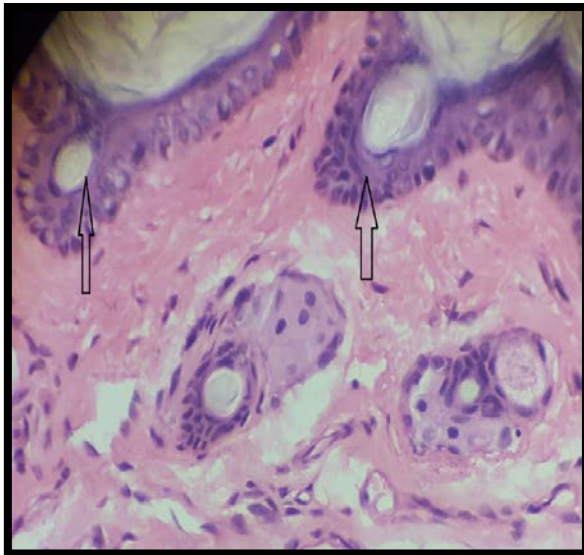


Figure 35 : réduction de follicules pour les tissus traitées par (IP) par 50mg/kg (X40)

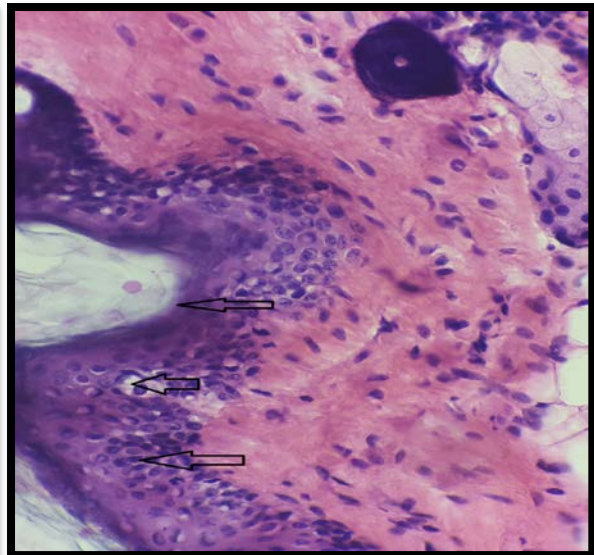


Figure 36: une phase de réparation tissulaire les souris traitées par (IP) par 50mg/kg (X40).

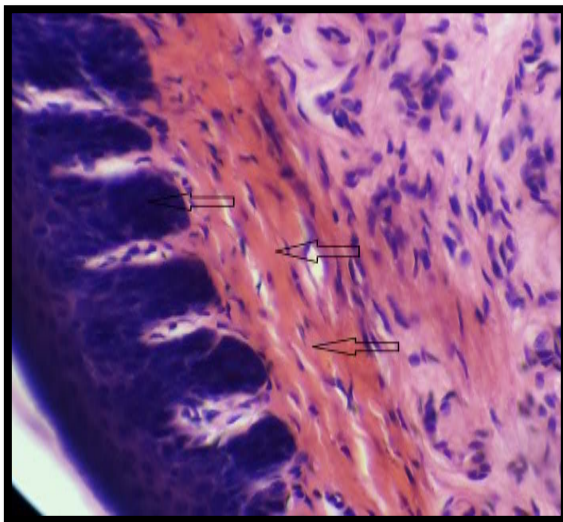


Figure 37 : réduction de follicules pour les tissus traitées par 100mg/kg par voie intra-péritonéale (X40).

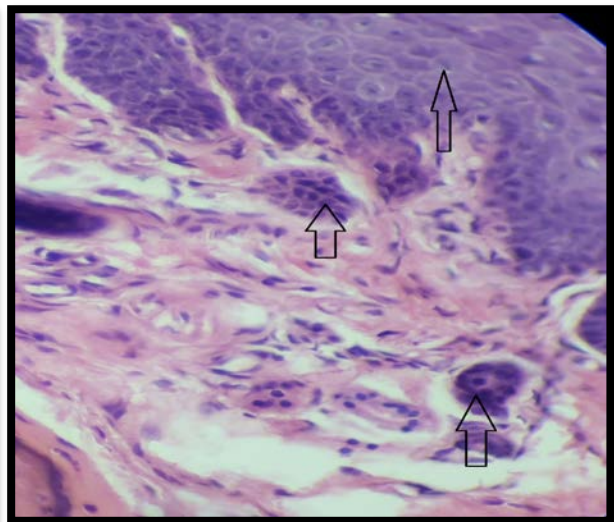


Figure 38 : une phase de réparation tissulaire les souris traitées par 100mg/kg par voie intra-péritonéale (X40).

Au cours des dernières décennies, les chercheurs ont évalué l'importance des champignons (Wu et al., 2013) en raison de leurs richesses en nombreux composants bioactifs qui contribuent à la valeur nutritive, pharmaceutique et industrielle (Cheung et al., 2003 ; Zhang et al., 2014). L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Terfezia calveryi* aux différentes doses sur un modèle de la patte inflammatoire induit par la carragénine (Winter et al., 1962). Cet agent pro-inflammatoire induit au niveau de la patte de souris, un œdème considéré comme un signe caractéristique de l'inflammation et paramètre très important dans l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de plusieurs composés (Morris, 2003). Nos résultats montrent que l'administration orale de l'extrait aqueux de *Terfezia calveryi* aux doses de 100, 150 et 300 mg/Kg de p.c, respectivement, aux souris n'exerce aucun effet toxique pendant les 24 heures d'observation, ceci indique que les trois doses ne sont pas toxiques.

Au cours du suivi des souris témoins et des souris traitées par administration orale pendant les six heures après l'injection de la carragénine nous avons noté une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots. Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez les groupes témoins a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que la carragénine a induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

A cet effet, l'augmentation du volume de l'œdème de la patte postérieure droite en fonction du temps permet de apprécier l'importance de l'effet anti-inflammatoire des extraits testés. En effet, l'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. Cette réponse inflammatoire est biphasique dont la phase initiale, qui dure environ une heure, est due à la libération de l'histamine et de la sérotonine, la bradykinine est libérée au cours de la deuxième phase (1,5–3 heures), et la biosynthèse des prostaglandines intervient au-delà de la troisième heure (Wantana et al., 2009). Ces médiateurs augmentent la perméabilité des capillaires de la région. En conséquence, l'exsudat s'échappe de la circulation sanguine vers l'espace interstitiel. Cet exsudat est la cause de l'œdème localisé, qui, à son tour, comprime les terminaisons nerveuses et détermine ainsi une sensation de douleur (Devulder et al., 2002 ; Rousselet et al., 2005). La carragénine provoque l'inflammation locale lorsqu'il est injecté dans l'aponévrose de la plante du pied (Sen et Nag, 1991; Singh et al., 1997; Suzuki; Kishimoto; Misawa, 1996). Par ailleurs, l'administration des extraits par voie orale prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris après l'administration de la carragénine. Dans cette étude, cet effet sera observable par la faiblesse du pourcentage

d'augmentation de l'œdème. En effet, les extraits ingérés par les souris, une heure avant de provoquer l'œdème, jouent un rôle préventif en limitant la taille de l'œdème pour les sujets traités.

De plus nos résultats montrent que l'administration du Diclofénac à la dose de 50 mg/kg par voie orale prévient de façon significative l'augmentation du volume de la patte des souris. Elle est de 55,09%, de 39,2%, 30,96%, 25,57% et de 12,15 % à la 1^{ère}, 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} heure respectivement après l'administration de la carragénine.

Ces résultats sont significativement différents de ceux du groupe témoin ; Pour l'évaluation du test anti-inflammatoire nous avons utilisé le test d'inhibition de l'œdème de la patte droite postérieure de souris à la carragénine. Par ce principe l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* administré par voie orale s'est révélé plus actif (78,11%) plus précisément à la sixième heure avec la dose de 200 mg/Kg de p.c. Ces résultats concordent avec Bradai et al. (2015), qui montre que les glucides sont l'un des composants majoritaires des truffes désertiques dont *T.claveryi*.

Durant les deux dernières décennies, les chercheurs ont réévalué l'importance des glucides et, envisagent pour eux de nombreuses applications notamment dans le secteur biomédical, en raison de leur abondance, de leurs sources renouvelables, non-toxiques et biodégradable (Boual, 2014). Les terfez seraient aussi une source illimitée de composés thérapeutiques anti-inflammatoires (Al-Laith, 2010). Plusieurs études montrent que les polysaccharides des champignons comestibles forment une classe importante de composés bioactifs avec un large éventail d'activités pharmacologiques. Elles ont une grande capacité de transporter les informations biologiques en raison de leurs grandes variabilités structurales (Zhang et al., 2007). Certains de leurs activités comprennent les activités anti-inflammatoires (Guillamon et al., 2010; Ruthes et al., 2015).

Sur un autre plan, aucune manifestation de toxicité n'a été notée chez les souris après une observation pendant 24 heures au cours de laquelle l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* a été administré par voie intra-péritonéale aux doses 50 mg/kg et 100 mg/kg de poids corporel, ceci indique que l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* est considéré comme pas toxique à ces doses (50 mg/kg et 100 mg/kg de poids corporelle).

De plus, l'étude de l'activité anti-inflammatoire a montré qu'au cours du suivi des souris témoins et des souris traitées par voie intra-péritonéale pendant les six heures après l'injection de la carragénine une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots.

Cependant, l'augmentation du volume de la patte chez le groupe témoin a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que la carragénine a induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

En effet, l'injection de la carragénine provoque la libération de plusieurs médiateurs chimiques qui sont responsables du processus inflammatoire. (Devulder et al., 2002; Rousselet et al., 2005). Par ailleurs, l'administration du Diclofénac à la dose 50mg/kg de p.c par voie intra-péritonéale induit une diminution du volume de la patte des souris durant les six heures de l'expérimentation. Elle est de 51,81% à la première heure et de 36,14% à la sixième heure, ces résultats sont différents de ceux du groupe témoin.

D'autre part, l'extrait aqueux de *Terfezia calveyi* administré par voie intra-péritonéale s'est révéler plus actif plus précisément à la sixième heure avec un pourcentage d'inhibition de la patte des souris de 56,45% avec la dose 100mg/kg de p.c. Relativement à ces résultats, de nombreuses études ont démontré que les champignons désertiques constituent une source d'agents bioactifs y compris les polypeptides, les protéines, les polysaccharides, les polyphénols et les fibres (Li et Shah, 2015 ; Singdevsachan et al., 2016 ; Sanchez, 2006) ayant plusieurs propriétés thérapeutiques telles que des propriétés anti-inflammatoires (Singdevsachan et al., 2016 ; Sanchez, 2006).

Récemment (Singdevsachan et al., 2016), plusieurs polysaccharides fongiques ont un effet la particularité de stimuler les défenses de l'hôte en favorisant la maturation, la différenciation et la prolifération des cellules immunitaires ce qui leur confère plusieurs propriétés thérapeutiques notamment des propriétés anti-cancérigènes, antibactériens, et antivirales (Sanchez, 2006).

Cet effet, différents polysaccharides extraits de champignons, notamment le lentinan, sont utilisés cliniquement dans le traitement de différentes maladies, ainsi que la plupart de ces polysaccharides sont essentiellement des (1-3)- β -D-glucane présentant souvent des ramifications simples β -(1-6) (Sanchez, 2006). Le lentinan se caractérise par son degré de ramification plus élevé de 40% qui est responsable à son activité immun modulatrice. IL augmente l'activité cytotoxique des macrophages ainsi que l'augmentation de production de cytokines (El enshasy et Hattikaul, 2003). Le lentinan a également des effets antibactériens, antifongiques et antiviraux, résultant de son effet immun modulateur. Par ailleurs, il est capable de réduire la croissance des tumeurs ainsi que les oncogènes chimiques, et virales via la stimulation du système immunitaire (Sanchez, 2006)

Les résultats obtenus dans l'étude histologique montrent que l'injection de la carraghénine induit une réaction inflammatoire aiguë très importante chez les souris du groupe témoin positif non traité, ces résultats confirment ceux de (Gonzalez-Callejo et al., 2010) qui montrent que l'inflammation aiguë se traduit par trois phénomènes ; une congestion active par une modification du calibre vasculaire qui apparaît très rapidement et consiste dans une vasodilatation artériolaire/capillaire il en résulte une augmentation de l'apport sanguin (hyperémie) associée avec un ralentissement de la circulation sanguine, les vaisseaux sont dilatés et gorgés d'hématie, bordés d'un endothélium turgescent cette congestion est déclenchée par un mécanisme nerveux (stimulation des nerfs vasomoteurs) et l'action de médiateurs chimiques ; un œdème inflammatoire qui se traduit par le passage du plasma du sang dans le tissu conjonctif interstitiel ou dans les cavités séreuses détermine la formation de l'exsudat inflammatoire, l'œdème inflammatoire résulte d'une augmentation de la pression hydrostatique due à la vasodilatation et surtout à l'augmentation de la perméabilité de la paroi des petits vaisseaux sous l'effet de médiateurs chimiques produits par les mastocytes dont l'histamine, une diapédèse leucocytaire due à la migration des leucocytes en dehors de la microcirculation et leur accumulation dans le foyer lésionnel, elle intéresse d'abord les polynucléaires, puis un peu plus tard les lymphocytes.

La présence des fibroblastes concorde les résultats trouvés par (Waelti et al., 1992 ; Boxman et al., 1993) en montrant la présence des réactions inflammatoires et confirmées par les études faites par Rousselet et al., (2005) qui suggèrent que le dialogue entre les fibroblastes et les KC, via les cytokines joue un rôle crucial dans l'immunité cutanée, ces cellules sont capables de sécréter des cytokines secondaires telle que l'IL-6 en réponse à la libération de cytokines primaires IL-1 α , mis en plus grandes quantités.

Les résultats obtenus pour le groupe standard traité par un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien qui est le diclofénac correspondent à celles de (Rahmani et al., 2012) et montrent que le diclofénac réduit à titre préventif l'œdème et prévient l'apparition de la congestion tissulaire, il diminue l'intensité de l'infiltrat et réduit la taille des follicules.

Une phase de réparation semble apparaître pour les groupes traités par l'extrait aqueux de *Terfezia clavaryi*, un bourgeon constitué de capillaire et d'une matrice extra cellulaire lâche avec quelques leucocytes, une post constitution d'un nouveau tissu conjonctif appelé bourgeon charnu (Kiouni et al., 2015) il est formé par les leucocytes du tissu de granulation et des néo-vaisseaux sanguins dont la croissance est dirigée vers la surface des lésions conduisant à un tissu sain dépourvu des altérations inflammatoires cette efficacité peut être

expliqué par la composition biochimique de l'espèce fongique et par le protocole d'extraction utilisé (Neggaz et Fortas, 2013). Aussi les travaux menés par (Dib- Bellahouel, 2012) ; nous a permis de repérer l'existence des composés phénoliques et protéiques aux seins de notre extrait qui ont un effet anti-inflammatoire très efficace dont l'acide gallique est le plus répondu.

Conclusion

Conclusion

L'inflammation correspond à une réponse de défense de la part des tissus de l'organisme, suite à une blessure locale provoquée par des agents physiques, chimiques ou des germes pathogènes. L'inflammation est un processus immunitaire généralement bénéfique, puisqu'elle permet d'éliminer un agent pathogène. Elles se manifestent classiquement par quatre signes cliniques : une rougeur, une douleur, une tuméfaction et une augmentation de la chaleur à leur niveau.

La phytothérapie est une médecine traditionnelle ancestrale basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules contenues dans les plantes. Selon l'OMS, cette phytothérapie est considérée comme une médecine traditionnelle. Les maladies inflammatoires est l'un des pathologies qui peuvent être traité par la phytothérapie. Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* administré par voie orale n'exerce aucun effet toxique aux doses 100, 150 et 200mg/kg de poids corporel. De plus, l'extrait aqueux de *T.claveryi* administré par voie intra-péritonéale n'exerce aussi aucun effet toxique aux doses 50 et 100mg/kg de poids corporel.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de ces extraits a été réalisée chez les souris modèle de la patte inflammatoire. L'œdème est évalué par la mesure de diamètre (mm) de la patte dans l'axe dorsal-plantaire avant et à des intervalles d'une heure, pendant six heures après l'injection de la carragénine. Nos résultats montrent que l'injection de la carragénine (0,1%) entraîne une augmentation du volume de la patte des souris de tous les lots. Par ailleurs, l'administration orale de Diclofénac (50mg/kg de pc) induit une inhibition de l'œdème de la patte des souris au cours de la première, deuxième, troisième, quatrième, cinquième et sixième heure de l'expérimentation avec de 21,95%, 23,13%, 35,98%, 45,11%, 55,21% et 57,89% respectivement. Par ailleurs les pourcentages d'inhibition de l'œdème inflammatoire après le traitement par voie orale de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose de 100mg/kg de pc présentent une activité inhibitrice de l'œdème de la patte des souris à la première, deuxième et troisième heure qui suite l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de 31,77%, 33,9% et de 39,57% respectivement.

Cependant, l'administration orale de la dose 150mg/kg de pc de l'extrait aqueux de *T.claveryi* présente un effet inhibiteur significative de la première jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation avec un pourcentage de 43,74%, 43,05%, 49,67%, 50,45%, 57,26% et

59,45% respectivement. De plus, le traitement orale par l'extrait aqueux de *T.claveryi* à la dose 200mg/kg de pc montre une activité inhibitrice significative importante de l'œdème de la patte des souris durant les six heures de l'expérimentation avec un pourcentage d'inhibition de 56,18%, 57,26%, 60,14%, 64,65%, 72,49%, 78,11% respectivement. Les résultats de cette études montre que les dose 100mg/kg, 150mg/kg de poids corporel présentent une efficacité sur l'œdème aigue de la patte de souris induit par la carragénine avec une meilleure efficacité vis-à-vis de 200mg/kg de p.c de l'extrait aqueux de *Terfezia claveryi* et de l'anti inflammatoire non stéroïdien (Diclofénac). De plus l'administration du Diclofénac (50mg/kg de p.c) par voie intra-péritonéale montre une activité inhibitrice de l'œdème de la patte des souris à la première, deuxième, troisième et cinquième heure de l'expérimentation avec 07,32%, 9,57%, 11,67%, 14,64% respectivement. L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait aqueux à la dose 50mg/kg de p.c administré par voie intra-péritonéale présente une inhibition significative de l'œdème de la patte des souris à la première, deuxième, troisième, quatrième et cinquième heure après l'injection de la carragénine avec un pourcentage d'inhibition de 22,49%, 24,22%, 34,44%, 26,57%, 31,00% . Par ailleurs les pourcentages d'inhibition de l'œdème de la patte des souris traités par l'extrait aqueux à la dose 100mg/kg de p.c par voie intra-péritonéale se manifeste de la première heure jusqu'à la sixième heure de l'expérimentation avec 28,91%, 32,51%, 38,00%, 43,66%, 46,68% et 56,45% respectivement. Les résultats montrent que l'administration des extraits aqueux de *Terfezia claveryi* à la dose 50mg/kg, 100mg/kg de pc par voie intra-péritonéale a un effet sur l'œdème aigue de la patte des souris induit par la carragénine, et que l'extrait aqueux à la dose 100mg/kg de p.c est plus efficace que l'extrait aqueux à la dose 50mg/kg et l'anti-inflammatoire (Diclofénac).

L'effet anti-inflammatoire d'extraits aqueux de *T.claveryi* a été évalué dans le présent travail. Les résultats de l'étude histologique obtenus montrent que l'extrait aqueux possède une activité anti inflammatoire à la dose 150 et 200mg/kg administrées par voie orale et 100mg/kg par voie intra-péritonéale, car la disparition de l'infiltrat inflammatoire est totale. De ce fait, elle pourrait être utilisée comme composés alternatifs particulièrement dans la prévention contre l'inflammation.

Les truffes marron de Sahara Algérien d'espèce *T. claveryi* possède un pouvoir pharmacologique, ce qui supporte son usage traditionnel pour le soulagement de diverses affections inflammatoires.

Enfin, les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressantes, et comme perspectives, nous souhaitons que cette investigation sera approfondie par:

- Des études complémentaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets portant sur :
- L'analyse biochimique (HPLC) de la composition des truffes spécifiquement le genre *Terfezia claveryi*.
- Isolement, identification et caractérisations des substances bioactives et l'évaluation de leurs effets sur les signalisations impliqués dans le processus inflammatoire.- Evaluation de l'activité anti-inflammatoires des autres genres de truffes Algériennes.