REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**
En : Biologie
Spécialité : Microbiologie appliquée
Par :

SIMOUSSA Meriem
BOULESNAM Imene

Thème :

Etude physico-chimique, biochimique et microbiologique des urines de chamelle

Soutenue le : 20/06 /2018 devant les jury:

Mr MOUMEN .R	MAA	Président
Mr OTHMANIN .K	MAA	Examinateur
Mm BOUMADIENNE .F	MAB	Examinatrice
Mr HAMMOUDI Mounir	MAB	Encadreur
Mr DJELLEL Marouen		Co-encadreur

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Avant tout, on remercie DIEU le tout puissant et Miséricordieux de nous avoir accordées la force et le courage pour réaliser ce modeste travail, atteindre notre but et réaliser ainsi un réve.

On s'exprime toute nos gratitude et nos sincères remerciements à notre promoteur Monsieur HAMOUDI Mounir d'avoir nous encadrer durant ce travail, et qui a dirigé ce travail et veillé à ce qu'il soit mené à terme, pour ses conseils et orientations qui ont été de grande utilité, ainsi que pour l'encouragement qu'il nous a donné tout au long de réalisation de ce travail.

On adresse de chaleureux remerciements à notre co-promoteur de thèse monsieur DJELLAL Merouane pour son aide, pour sa patience et sa gentillesse .

On dédie ce modeste travail À nos très chers parents qui nous ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, à touts nos frères et nos sœurs qui n'ont jamais cessé de nous soutenir et de nous encourager.

Nous voudrions présenter nos précieux remerciements et notre gratitude au chef service de laboratoire d'EPSP de MEDEA Mr HAMIDA Khaled pour nous avoir accueillies dans son laboratoire, il n'a jamais hésité de nous venir humblement en aide, et de ne nous avoir jamais privé de son savoir et matériels.

On n'oublie pas de remercier vivement les membres de l'équipe laborantine de l'EPSP de MEDEA.

Au terme de ce travail, il m'est à la fois un plaisir et un devoir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail .

Dédicaces

Je dédie ce mémoire aux :

A la source de ma tendresse, ma perle, qui a consacré sa vie et m'a tenu de mes mains dans l'obscurité jusqu'à la lumière …à ma chère Maman

A la source de ma fierté, mon appui, qui a consacré sa vie pour faire de moi ce que je suis …à mon cher Papa

A la mémoire de mon père :

Ce travail est dédié à mon père, décédé depuis 16 ans. J'aurais bien aimé ta présence le jour de ma soutenance de mémoire de Master, mais hélas, Dieu a voulu autrement. Que Dieu préserve ton âme.

A ma très chère mère :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le tout puissant, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A Mes sœurs :

Fatima Zohra, Amina ,leurs maris et leurs enfants : Hadil, Haithem, Mohammed et Takhwa Djinene ; Tasnim Amani. Qui tiennent une place immense dans mon cœur. Il m'est impossible de trouver des mots pour dire à quel point je les aime. Que Dieu vous bénisse !

A mon intime et binôme : BOULESNAM Imene et à tout que j'aime dans ma vie .

S.I.MOUSSA Meriem

A l'issu de cette recherche ,

Je dédie ce modeste travail aux :

Deux personnes que j'aime le plus dans la vie qui méritent tout le respect du monde qu'ils trouvent ici le témoignage de mon profond amour et dévouement infini : A mon très cher père, l'homme le plus parfait dans le monde , mon grand exemple et mon directeur et mon éducateur : Ma mère, source du compassion et de tendresse, l'exemple de patience et sacrifice, la raison de mon existence et le support de ma vie : Que dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé .

A moi-même, ma très chère sœur Ibtissem, son mari Yahia et sa fille Farah Tasnim pour l'amour qui nous unis , mes très chers frères chacun à son nom Mouhamed et Faycal : Pour la femme de mon frère : Fatima. Pour mes petites chères nièces: Assile, Djinene et Razan .

A mes très chères amies : kenza, Ihsene, Hadjer, Asma. A tous mes amies et à ceux qui sont toujours à ma coté dans les bons et les mauvais moments .

A mon intime et binôme : SIMOUSSA Meriem et à tout que j'aime dans ma vie.

BOULESNAM Imene

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Liste d'abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

RESUME

INTRODUCTION…… 1.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.

I .1/ Phylogénèse du dromadaire……3.

I .2/ répartition géographique mondiale ……...4.

I .2.1/ L'importance des dromadaires dans les régions arides…….5.

I .2.2/ Performance adaptative…….5.

I .3/ dromadaire en Algérie……..5.

I .3.1/ L'aire de distribution des effectifs camelins en Algérie……6.

I .3.2/ Les races algériennes…….6.

I .4/ comportement alimentaire du dromadaire……8.

I .4.1/Alimentation……...8.

I .4.2/ Abreuvement……9.

I .5/ Morphologie externe……...9.

I .5.1/ Particularité anatomique……...10.

I .6/ Anatomie du système urinaire…….11.

I .6.1/ Les reins……....11.

I .6.2/ Les urtéres…….12.

I .6.3/ La vessie……12.

I .6.4/ L'urètre……...13.

I .7/ L'urine de dromadaire……...13.

I .7.1/ Description……..13.

I .7.2/ Composition……14.

I .8/ Urinothérapie…….15.

I .8.1/Historique…….15.

I .8.2/ Définition…….15.

I .8.3/ Avantage de l'urino-thérapie……...15.

I .8.4/ L'urino-thérapie cameline……16.

I .9/ Partie pharmacologique……...16.

I .9.1/ Les antibiotiques……...17.

I .9.1.1/ Définition……...17.

I .9.1.2/ Classification des antibiotiques…….17.

I .9.1.3/ Béta-lactamines……...18.

I .9.1.3.1/ structure chimique des béta-lactamines……18.

I .9.1.3.2/ Mode d'action des béta-lactamines……...18.

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE.

II.1/ Supports biologiques……..19.

II.1.1/ Urines de chamelle…….19.

II.1.2/ Souches bactériennes……...19.

II.2/ Méthodes……19.

II.2.1/ Prélèvement…….19.

II.2.2 / Etude physico-chimique…….19.

II.2.2.1/ Mesure du potentiel d'hydrogéne (PH)……...19.

II.2.2.2/ FTIR…….20.

II.2.3 / Etude biochimique……..20.

II.2.3.1/ Bilan urinaire……20.

II.2.3.2/ Dosage des flavonoïdes…….22.

II.2.3.3/ Dosage des polyphénols……22.

II.2.3.4/ Activité antioxydante……23.

II.2.3.4.1/ Test de DPPH……23.

II.2.3.4.2/ Test d'ABTs……25.

II.2.4/ Activité antibactérienne…….25.

II.2.4.1/ Préparation de l'échantillon……...25.

II.2.4.2/ Antibiogramme……...26.

II.2.5/ Activité hémolytique……..26.

II.2.6/ Analyse statistique. ……27.

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISSCUSSION.

III .1/ Etude physico-chimique. ……..28.

III .1.1/ Mesure du potentiel d'hydrogène (PH). ……...28.

III .1.2/ FTIR. …….28.

III .2/ Etude biochimique. ……...32.

III .2.1/ Bilan urinaire……...32.

III .2.2/ Dosage des flavonoïdes. ……....34.

III .2.3/ Dosage des polyphénols. ……...35.

III .2.4/ Activité antioxydante. ……...36.

III .2.4.A/ Test de DPPH. ……..36.

III .2.4.B/ Test d'ABTs……....37.

III .3/ Activité antibactérienne. ……...38.

III .4/ Activité hémolytique. ……...47.

DISSCUSSION GENERALE……...48.

CONCLUSION……..53.

Références bibliographiques.

Annexes.

Liste des abréviations :

ABTS : 2-2’-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic.

ATCC : American Type Culture Collection.

D : *S. aureus.*

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

FTIR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy .

IC_{50} / EC_{50} : Concentration équivalente à 50 % de DPPH perdu.

IR : Infrarouge.

KBr : Bromure de Potassium .

pH : Potentiel d’hydrogene

rpm : rotation par minute .

S : Stérilisée

UC : Urine de chameau /chamelle.

UV-v : Ultraviolet visible.

Liste des tableaux :

Tableau N°1 : Constitution inorganique de l'urine de chameau et de bovin (séchés et congelées) par ICP-MS…….14.

Tableau N°2: Noms et références des souche bactérienne……19.

Tableau N°3 : Principe des 11 paramètres étudiés dans le bilan urinaire……..21.

Tableau N°4: Fonctions d'UC (à 4c°,20c°,37c°,60c° et stérile) détecté par FTIR……..…..31.

Tableau N°5: Résultat du bilan urinaire d'UC par rapport à l'Homme……...32.

Tableau N°6 : Variation de l'activité antibactérienne d'UC durant 45 jours de conservation à 4c°…….47
.

Liste des figures :

Figure N°1 : Camel profile……..2.

Figure N°2 : Classification dromadaire dans le règne animal……3.

Figure N°3 : Aire de distribution des effectifs camelins dans le monde……...4.

Figure N°4 : Les cinq pays possédant les plus grandes populations camelines…….5.

Figure N°5 : Aire de distribution des dromadaires en Algérie……...6.

Figure N°6 : Aire de distribution des races camelines en Algérie……...8.

Figure N°7 : Rapport de la structure squelettique et corporelle d'un dromadaire adulte..10.

Figure N°8 : Structure d'un rein de dromadaire…….12.

Figure N°9 : Vessie de dromadaire…….13.

Figure N°10 : structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazole)

……..……23.

Figure N°11 : Reduction du radical libre de DPPH ……24.

Figure N°12 : Spectre d'UC à 4c°par l'FTIR……...28.

Figure N°13 : Spectre d'UC à 20c°par l'FTIR…….29.

Figure N°14 : Spectre d'UC à 37c°par l'FTIR…….29.

Figure N°15 : Spectre d'UC à 60c°par l'FTIR……..30.

Figure N°16 : Spectre d'UC stérile par l'FTIR……..30.

Figure N°17 : Spectre comparatif d'UC (à 4c°, 20c°, 37c°,60c° et stérile) par l'FTIR……31.

Figure N°18 : Variation de couleur d'une bandelette imbibée par l'UC (à gauche) par rapport à un témoin négatif (à droite)……33.

Figure N°19 : Dosage des flavonoïdes……..34.

Figure N°20 : Dosage des polyphénols……...35.

Figure N°21 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique…….35.

Figure N°22 : Réduction du DPPH par l'UC…….36.

Figure N°23 : Courbe d'étalonnage de DPPH…….36.

Figure N°24 : Réduction d'ABTs par l'UC…….37.

Figure N°25:Activité d'UC sur *S.auréus* dans différent température et durée de chauffage pendant 3 jours d'incubation……...38.

Figure N°26 : Activité d'UC sur *Bacillus sp* dans différent température et durée de chauffage pendant 3 jours d'incubation……...39.

Figure N°27 : Activité d'UC sur *E. coli* dans différents températures et durées de chauffage pendant 3 jours d'incubation…….40.

Figure N°28 : Activité d'UC sur *P. mirabilis* dans différent température et durée de chauffage pendant 3 jours d'incubation…….40.

Figure N°29 : Activité d'UC à 4c° sur (*S.auréus, Bacillus sp, E.coli et P. mirabilis*) pendant 72h d'incubation…….41.

Figure N°30 : Activité d'UC à 20c° sur (*S.auréus, Bacillus sp, E.coli* et *P. mirabilis*) pendant 72h d'incubation……..41.

Figure N°31 : Activité d'UC à 37c° (10, 15, 30,60 min) sur (*S.auréus, Bacillus sp, E. coli* et *P.mirabilis*) pendant 72h d'incubation…….42.

Figure N°32 : Activité d'UC à 60c° (10, 15, 30,60 min) sur (*S.auréus, Bacillus sp, E. coli* et *P.mirabilis*) pendant 72h d'incubation……..43.

Figure N°33 : Activité d'UC stérilisée sur (*S.auréus, Bacillus sp, E.coli* et *P. mirabilis*) pendant 72h d'incubation…….43.

Figure N°34 : Activité d'UC à différentes températures et durées de chauffage sur (*S.auréus*, *Bacillus sp, E.coli* et *P. mirabilis*) pendant 24h d'incubation……44.

Figure N°35 : Activité d'UC à différentes températures et durées de chauffage sur (*S.auréus*, *Bacillus sp, E.coli* et *P. mirabilis*) pendant 48h d'incubation…….45.

Figure N°36 : Activité d'UC à différentes températures et durées de chauffage sur (*S.auréus*, *Bacillus sp, E.coli* et *P. mirabilis*) pendant 72h d'incubation…….46.

Figure N°37 : Variation du taux d'hémolyse en fonction de différentes concentrations d'UC ……..47.

Résumé :

Le but de cette étude est d'évaluer les activités biologiques des urines de chamelle utilisées en médecine prophétique (urinothérapie).

Les résultats d'antibiogramme sont significatifs d'après une analyse statistique effectuée qui a révélé une valeur ($p < 0.05$).

La mesure du potentiel d'hydrogène a révélé un pH alcalin de 8.5.

L'analyse biochimique de ces urines a montré des particularité: un taux élevé de protéine (20 g/mol) et l'absence de l'ammoniac qui est considéré comme l'élément de toxicité dans les urines humaines.

Les polyphénols et les flavonoïdes ont aussi marqué leur présence dans l'urine de chamelle (0.083 g/l et 3.16 g/l respectivement) proviennent essentiellement de son alimentation.

La mise en évidence de l'activité antioxydante de l'urine de chamelle par les tests d'ABTS et DPPH ont révélé que ces urines possèdent un pouvoir antioxydant plus puissant 18 fois on le comparant avec un témoin positif qui est l'acide ascorbique, ce pouvoir vient majoritairement des composés phénoliques qu'elles contiennent.

De plus, une activité antibactérienne a été démontrée par des urines à déférentes conditions (conservées à 4 C° , 20 C°, chauffées à 37 C°, 60 C° et stérilisées) pendant 3 jours d'incubation contre (*E. coli – P. mirabilis – S. aureus – Bacillus sp*), l'UC crue et stérile ont montré un meilleur effet pour toutes les souches avec des zones d'inhibition maximales proches à celles des antibiotiques témoins marquées pour E. coli (17mm, amoxicilline 17 mm) et S. aureus (24mm, Vancomycine 16mm).

Cette activité est due aux composés phénoliques et probablement aux quelques fonctions chimiques détectés par l'analyse FTIR (pharmacophores).

L'urine de chamelle présente une activité hémolytique presque négligeable (15 %) cela signifie l'absence de risque en cas d'utilisation.

Mots clés : urinotherapie**,** urine de chamelle, polyphénols, pouvoir antioxydant, potentiel antimicrobien, activité hémolytique.

Abstract :

The purpose of this study is to evaluate the biological activities of Camel's urine used in prophetic medicine (urinotherapy) .

The results of the antibiogram are significant from a statistical analysis performed wich revealed a value ($p < 0.05$).

The measurement of hydrogen potentiel has revealed an alkaline PH of 8.5.

The biochemical analysis of these urines showed particularities: a high level of proteins (20 g/mol), and the absence of ammonia which is considered the element of toxicity in human urine.

The polyphenols and flavonoids also mareked their presence in the urine of camel (0.083g/l, 3.16g/l respectively) come mainly from its diet.

The demonstration of the antioxydant activity of camel urine by the tests of ABTS and DPPH have revealed that these urines have a stronger antiaxydant power 18 times compared with a positif control that is ascorbic acid, this power comes mainly from the phenolic compounds that they contain.

In addition, antibacterial activity was demonstrated by urines to deferent conditions (stored 4 C°, 20 C°, heated 37 C°, 60 C° and sterilised) for 3 days of incubation against (E. coli – P. mirabilis – S.aureus – Bacillus sp), raw and sterile CU showed a better effect for all strains with maximal inhibition zones close to those of control antibiotics labeled for E. coli (17 mm, Amoxicillin 17mm) and S.aureus (24 mm, Vancomycine 16mm).

This activity is due to the phenolic componds and probably to some chemical functions detected by FTIR analysis (pharmacophor).

Camel urine almost negligible haemolytic activity (15%) means no risk when used.

Key words : urinotherapy, camel urine, polyphenols, antioxudant potency, antimicrobial potantiel, haemolytic activity.

الملخص:

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم الأنشطة البيولوجية لبول الإبل المستخدم في الطب النبوي (التداوي بالبول).

نتائج اختبار فعالية البول كمضاد حيوي مهمة من خلال التحليل الاحصائي الذي تم اجراؤه حيث كشف عن قيمة $P<0.05$.

قياس نسبة الحموضة في بول الإبل كشف عن قيمة قلوية تصل الى 8.5.

التحليل البيو كيميائي لبول الإبل اظهر عدة خصائص من بينها المعدل العالي للبروتين 20غ/ل وغياب الامونيا الذي يعتبر عنصر السمية في البول البشري كما كشف التحليل أيضا عن وجود البوليفينولات والفلافونويدات (0.03غ/ل و3.16غ/ل بالترتيب) التي تأتي أساسا من نظامها الغذائي.

معاينة النشاط المضاد للأكسدة لبول الإبل عن طريق ABTS وDPPH اوضح انه اقوى 18مرة من حمض الاسكوربيك وهذه الخاصية تأتي أساسا من المركبات الفينولية التي يحتويها.

بالإضافة الى ذلك تم اثبات النشاط المضاد للبكتيريا لهذا البول تحت مجموعة من العوامل المؤثرة (تخزينها في 4م°20 م°, تسخينها الى 37م°60م°و تعقيمها) على السلالات(*E.coli, P.mirabilis, S.aureus, Bacillus sp*)لمدة ثلاث أيام من الحضانة حيث تبين ان بول الابل الخام و المعقم له افضل تأثير في تثبيط جميع السلالات مقارنة مع المضادات الحيوية حيث تم تسجيل مناطق الحد الأقصى التالية(ايشيريشيا كولي 17مم مع الاموكسسلين 17مم)و(المكورات العنقودية الذهبية 24مم مع الفونكومسين 16مم)وهذا النشاط يرجع الى المركبات الفينولية و ربما الى بعض الوظائف الكيميائية التي كشفها تحليل الاشعة ما تحت الحمراء(الخصائص الدوائية).

لدى بول الإبل نشاط دموي لا يكاد يذكر (15%)يعني عدم وجود خطر عند استخدامها.

الكلمات المفتاحية: التداوي بالبول – بول الإبل – البوليفينولات -النشاط المضاد للأكسدة –النشاط المضاد للبكتيريا-نشاط الانحلال الدموي .

INTRODUCTION :

Le chameau est mentionné dans le Saint Coran comme un animal particulièrement important, et est désigné par d'autres noms tels qu'al-ibil, al-nagah, al-Jamal, al-ishar et al-him **[1].**

قال الله تعالى:"افلا ينظرون الى الابل كيف خلقت"الغاشية الاية 17 .

L'urinothérapie est reconnue par plusieurs civilisations (exemple de la civilisation indienne) depuis des millénaires comme l'un des thérapies majeures pour faire face aux maladies soit pour prévenir ou guérir **[1]**.

L'urine de chameau est considérée comme médicament «miraculeux» utilisé en médecine Prophétique depuis l'ère préislamique selon un Hadith "Si cela vous convient, allez boire du lait et de l'urine de chamelles" Hadith rapporté par **AL-BOUKHARI (590)** où elle a été utilisé en médecine traditionnelle et populaire pour les cheveux des femmes, gencives et dents, blessures de la peau, morsures de serpent, douleur d'estomac, les tumeurs, le rhume, diarrhée et nausée, diabète, jaunisse, gale et les infections des yeux, de la peau, du foie et des ongles **[1]**.

Il a été montré que l'urine de chameau a des activités antiplaquettaires et immuno-modulatrices puissantes. De plus, des propriétés anticancéreuses spécifiques et efficaces **[2].** L'activité des urines de dromadaire peut être directement liée à la richesse des espèces végétales sahariennes broutées en principes actifs **[1].** Ces principes actifs seraient à l'origine d'une bonne activité antibactérienne et antifongique **[3].**

Devant son efficacité, l'intérêt accordé à l'étude scientifique de son pouvoir thérapeutique n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives naturelles aux substances chimiques qui présentent des risques pour la santé humaine suite à l'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques.

Le présent travail s'est intéressé à déterminer sa composition chimique, biochimique et de prouver son potentiel biologique.

Pour cela, le premier chapitre est mené d'une synthèse bibliographique comportant une vue globale sur le dromadaire, l'utilisation de son urine dans le cadre thérapeutique et se termine par une partie pharmacologique.

Le deuxième chapitre élucide les principaux matériels et méthodes mise en œuvre afin de déterminer sa composition chimique et d'évaluer ses activités biologiques (antimicrobienne, Anti-oxydante).

Les résultats obtenus, les interprétations qui les argumentent ainsi qu'une discussion sont représentés dans le troisième chapitre avec une conclusion et des conceptions clôturant ce travail.

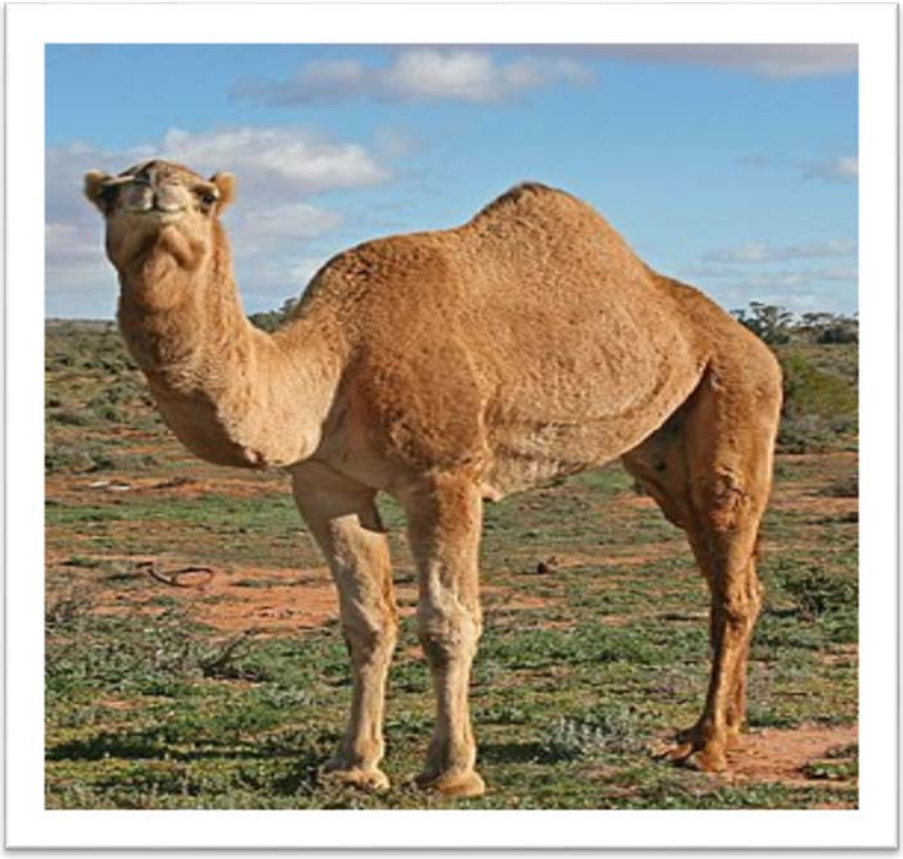


Figure N° 01 : Camel Profile [4].

CHAPITRE I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1/ Phylogenèse du dromadaire :

Le dromadaire ou chameau à une bosse d'où le nom vient du grec ***dromados*** qui signifie coureur (***Camelus dromedarius***) descend de l'espèce bactrienne ou chameau à deux bosses **(*Camelus bactrianus*) [5]** Ce nom leur a été attribué par référence à la région de «BAKTRIAN » située au nord de l'Afghanistan où cette espèce était initialement implantée **[6].** Ces deux espèces constituent le genre ***Camelus*** de la famille des camélidés qui compte un autre genre (le ***lama***). De tous les artiodactyles de notre époque, les camélidés sont les seuls tylopodes **[5]**.

- **Règne *:*** *Animal*
- **Sous - règne *:*** *Métazoaires*
- **Embranchement *:*** *Vertébrés*
- **Superclasse** : *Tétrapodes*
- **Classe** : *Mammifère*
- **Sous classe** : *Theria (placentaires)*
- **Infra classe** : *Eutheria*
- **Super -ordre** : *Praxonia*
- **Ordre**: *Artiodactyles*
- **Sous -ordre**: *Tylopode*
- **Famille:***Camélidés*
- **Sous -famille** : *Camelines*
- **Genre** : *Camelus*
- **Espèce**: *Dromaderius* : Dromadaire (une seule bosse)

Bactrianus : Chameau (deux bosses)

Figure N° 02 : Classification du dromadaire dans le règne animal [7].

La séparation du Genre ***Camelus*** en deux espèces était basée au début sur les différences morphologiques (une ou deux bosses) et sur le fait que le croisement entre les deux espèces n'était pas possible mais, en fait embryologiquement ces différences sont indistinguables et le croisement est possible et de là, on considère que ***Camelus dromedarius*** et ***Camelus bactarianus*** sont deux sous -espèces d'une espèce unique **[6].**

Le dromadaire est quelque fois appelé chameau arabe du nom de la zone considérée comme son lieu de domestication où il a été probablement plus utilisé, le dromadaire aurait été domestiqué dans le sud de l'Arabie vers l'an 3000 avant J.C **[5].**

I. 2/ Répartition géographique mondiale :

L'aire de répartition géographique de dromadaire se situe au niveau des zones tropicales et sub-tropicales et s'étend des régions arides et semi-arides du nord de l'Afrique (Mauritanie) jusqu'au nord-ouest du continent asiatique (la Chine) **[8]**.

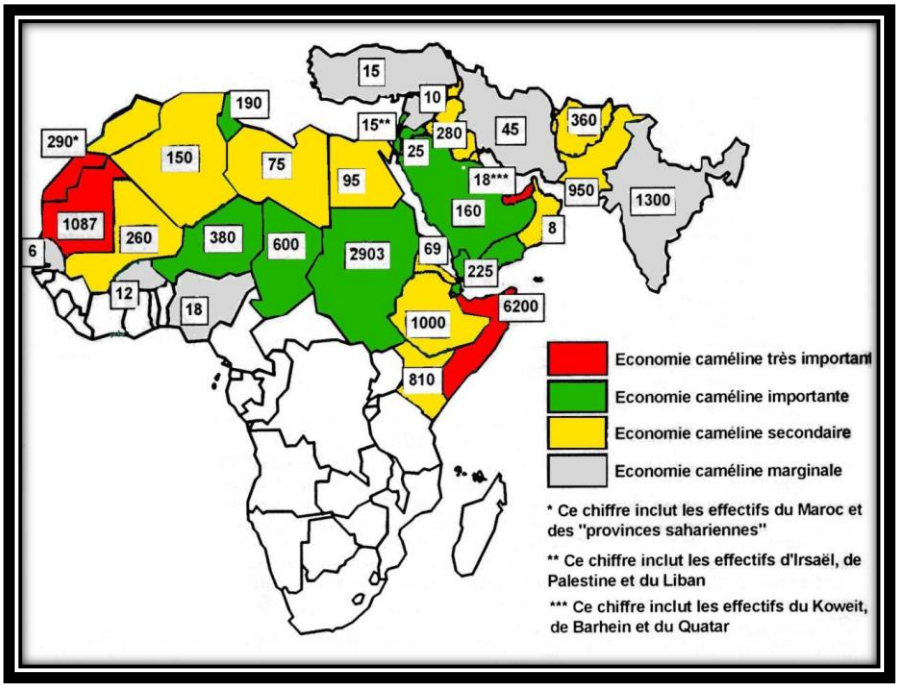


Figure N° 03 : Aire de distribution des effectifs camelins dans le monde [9].

Selon les statistiques de la FAO 2009**[10]**, la population cameline mondiale s'élève à environ 20 millions de têtes dont plus de 15 millions sont recensées en Afrique, les grands cheptels sont réservés à la Somalie, Soudan, Kenya, Niger et la Mauritanie respectivement **[11].**

La grande majorité de cette population 84 % sont des dromadaires qui vivent dans des régions arides du nord et du nord-est de l'Afrique, le reste sont des ***Bactrianus*** peuplant les régions froides de l'Asie **[12]**.

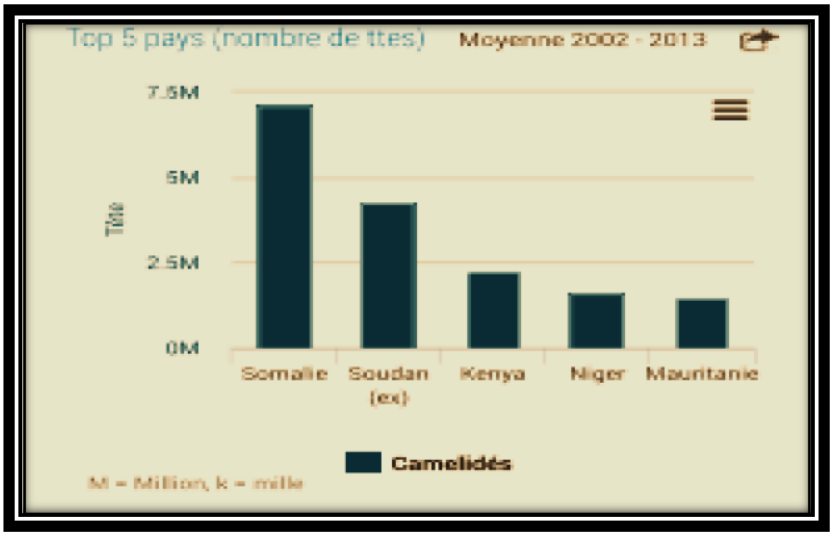


Figure N° 04 : Les cinq pays possédant les plus grandes populations camelines [13].

I. 2.1/ L'importance des dromadaires dans les régions arides :

Le dromadaire est utilisé à des fins multiples d'où son rôle essentiel, il est exploité principalement pour le transport des marchandises, des personnes et pour la fourniture du lait, celui-ci représente souvent la seule ressource alimentaire régulière, sa viande sa laine et son cuir également largement utilisés **[14]**.

I. 2.2/ Performance adaptatives :

Ce rôle majeur de dromadaire découle directement de sa remarquable adaptation aux conditions du milieu très difficiles, elle lui permet de prospérer là où aucun autre animal domestique ne peut simplement survivre **[14].**

Ces performances sont dues d'une part à l'anatomie externe de l'animal, et d'autre Part à la nature et au fonctionnement de son appareil digestif, respiratoire et urinaire **[6].**

I. 3/ Dromadaire en Algérie:

En Algérie, on rencontre deux grandes catégories : le type riverain et le type de désert. Les chameaux tunisiens sont les plus beaux spécimens de la région de l'Atlas, généralement de couleur sombre mais certains d'entre eux ont une robe blanche dont les chameaux algériens se ressemblent sauf que pour la conformation où ils sont désavantagés **[5].**

I. 3.1/ L'aire de distribution des effectifs camelins en Algérie :

Le dromadaire est présent dans 17 Wilayas (8 Sahariennes Et 9 Steppiques). 75 % du cheptel soit 107.000 têtes dans les Wilayas sahariennes (Ouargla, Ghardaïa, El-oued, Tamanrasset, Illizi, Adrar, Tindouf et Bécher).

25% du cheptel soit 34.000 têtes dans les Wilayas steppiques (Beskra, Tbessa, Khenchla, Batna, Djelfa, El-Bayad, Naàma, Laghouat et M'sila) **[14].**

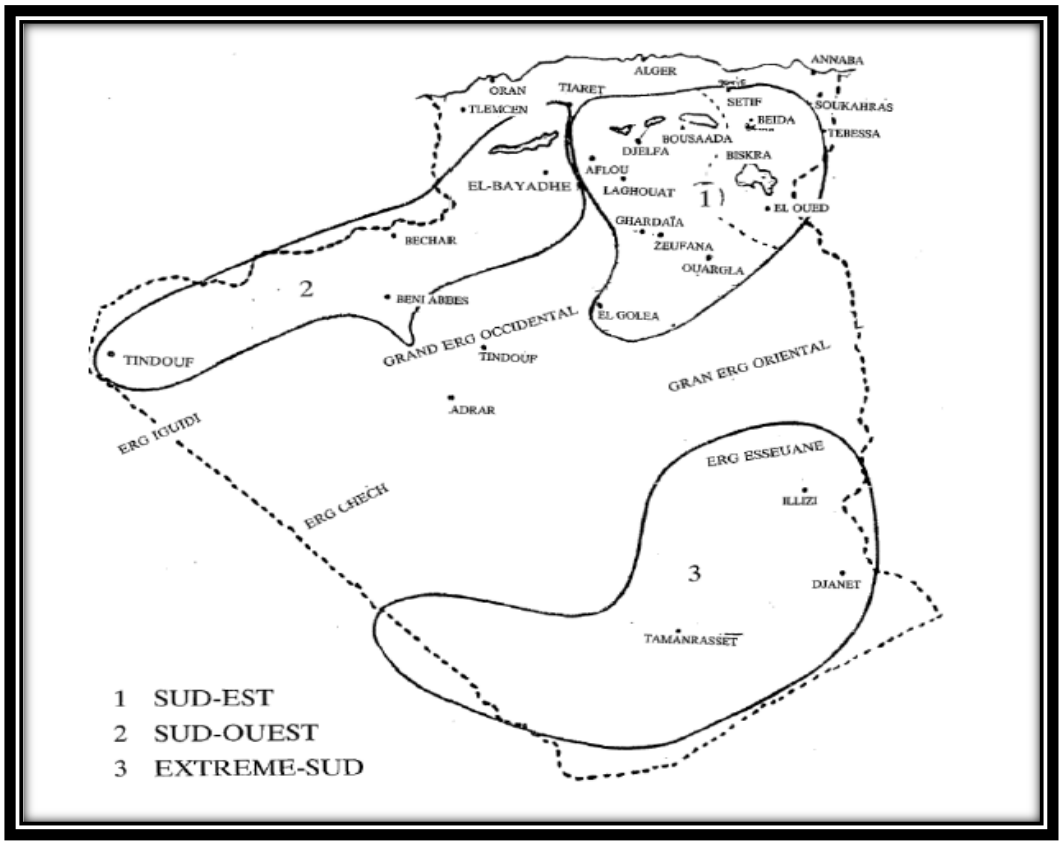


Figure N° 05 : Aire de distribution du dromadaire en Algérie [14].

I. 3.2/ Les races algériennes :

Les différentes races retrouvées dans le territoire algérien sont des races de bat, de selle et de traite il s'agit de :

***La race Chaambi :** c'est une race médialingne, musclée, fortement croisée avec du sang de dromadaire arabe, très bon pour le transport, moyen pour la selle.

***La race L'ouled sidi-cheick :** animal assez grand, utilisé pour la selle ou le bat, mieux adapté à la pierre qu'au sable.

***La race Sahraoui :** c'est un excellent Méhari de troupe, descend du croisement du Chaambi et Ouled sidi-chiekh.

***La race Ait-khebbach :** c'est un animal puissant de bat bréviligne de moyenne taille.

***La race de steppe :** dromadaire petit, bréviligne, utilisé dans le nomadisme rapproché.

***Le Tergui ou de Touaregues du nord :** moins adapté au sable excellent Méhari, animal de selle par excellence souvent recherché au Sahara comme reproducteur.

***Le Berberi :** animal de forme fine, avec une arrière main bien musclée très proche de Chaambi et de Ouled sidi-chiekh.

***L'Ajjer :** dromadaire bréviligne de petite taille, bon marcheur et porteur.

***Le Reguibi :** animal d'assez grande taille bien adapté à la course avec un bon potentiel laitier.

***Le chameau de L'Aftouh :** animal de traite et de bat. Le terme Aftouh est un terme générique qui regroupe plusieurs types de dromadaire de la région du Sahara occidental et se caractérise par une grande variété de couleurs de robe allant de jaune clair à presque noir **[15].**

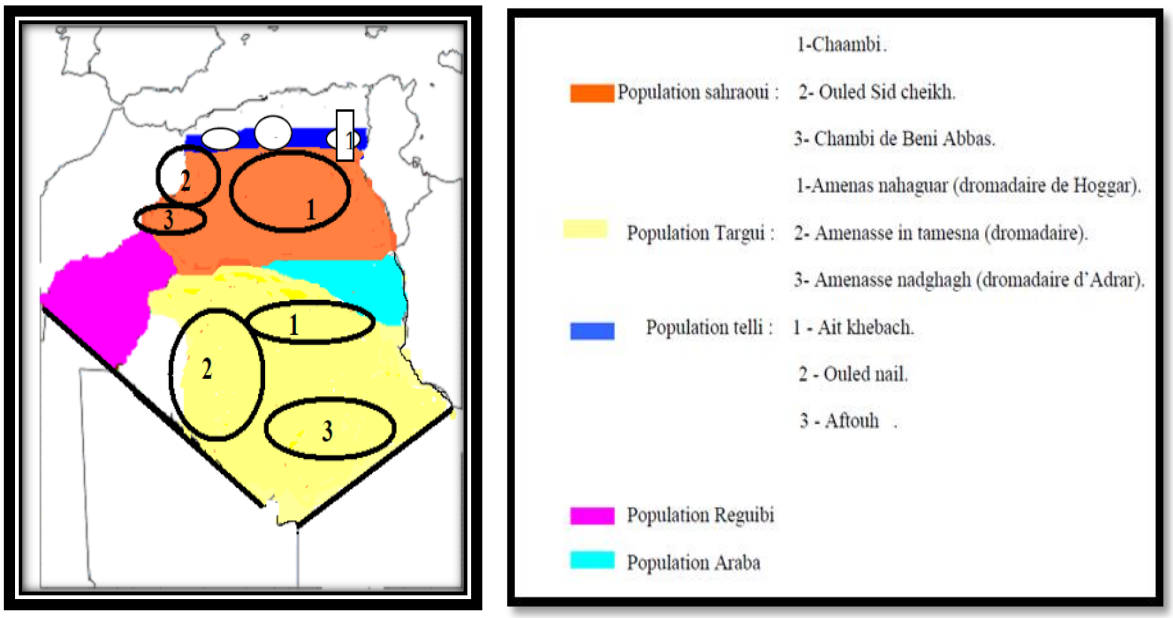


Figure N° 06 : Aire de distribution des races camelines en Algérie [16].

I. 4/ Comportement alimentaire du dromadaire :

I. 4.1/ Alimentation :

Le dromadaire est un animal herbivore ruminant, l'essentiel de son alimentation est représenté par le pâturage naturel libre et quotidien dont le potentiel calorique varie d'une zone à l'autre. Le dromadaire broute lentement en parcourant de longues distances. En effet il a été démontré que pour consommer sa ration journalière qui est de 40 à 50 kg de fourrage **[17],** le dromadaire est appelé à marcher pendant dix heures sur 25 km **[18].** Grâce à ses caractéristiques anatomiques **[17],** le dromadaire est capable, le long de son voyage, de brosser les rameaux des épineux en se procurant ainsi de leurs feuilles sans se faire aucun préjudice. Il délaisse souvent les peuplements denses de plantes succulentes au profit d'espèces desséchées que négligent généralement les autres animaux **[19]**.

Or, pour pallier le manque des aliments dans un environnement hostile comme le désert, le chameau possède un système digestif si résistant qu'il peut consommer une vaste gamme de végétaux : plantes épineuses et ligneuses, roseaux, broussailles, espèces rampantes, graminées, fourrages succulents **[20]**.

En effet, les chameaux locaux peuvent fuir les plantes toxiques se trouvant dans leurs aires de pâturage, alors que les nouveaux venus risquent de les consommer et de s'empoisonner **[21]**.

D'autres études ont montré que les dromadaires comparés aux petits ruminants ont une meilleure aptitude à digérer les aliments **[22]** celle-ci est d'autant plus importante que le fourrage est riche en lignine et en cellulose **[23]** de plus, les chameaux peuvent être nourris à base de sous-produits de faible valeur nutritive tels que les pulpes d'olive et les noyaux de dattes **[24]**.

Une autre caractéristique des dromadaires, c'est leur avidité pour le sel, ils doivent en absorber régulièrement une quantité suffisante pour assurer le bon déroulement des Processus métaboliques **[25]**.

En cas de régime alimentaire pauvre en sel, les animaux sélectionnent les feuilles des plantes riches en azote **[26]**.

I. 4.2/ Abreuvement :

Il est légendaire que le dromadaire est apte à résister à la sécheresse et supporter la disette d'eau pendant des durées assez longues **[27]**. Ceci est dû d'une part à son pelage qui représente une excellente barrière contre l'échauffement de l'organisme, et d'autre part à son rythme respiratoire qui varie peu avec l'augmentation de la température ambiante. Ces deux facteurs affaiblissent l'évaporation globale chez le dromadaire et limitent par conséquence ses pertes d'eau. De même, les pertes urinaires et fécales sont réduites au maximum, grâce à la grande concentration urinaire et à la dureté des fèces même avec un abreuvement important **[6]**.

Une autre étude a confirmé que les chameaux se caractérisent par leur pouvoir à emmagasiner et à conserver l'eau grâce au système de refroidissement dont ils sont dotés **[28]**. la durée de la période de la privation en eau varie selon la race et le type de fourrage. Elle est aussi en fonction des facteurs climatiques, de la nature et de la quantité du fourrage, de l'âge des animaux et du travail auquel ils sont soumis **[29]**.

I. 5/ Morphologie externe :

La morphologie générale du dromadaire est suffisamment particulière pour avoir depuis longtemps intrigué les anatomistes. Ces particularités anatomiques en font le plus grand animal adapté à la vie désertique.

Le dromadaire est plus grand, plus élancé et plus longiligne que le chameau de bactriane, il a le poil plus court et moins abondant que son cousin à deux bosses. La taille au garrot est comprise entre 1,8 et 2,2 m et il peut mesurer plus de 2,4 m au sommet de la bosse, il a de longues jambes qui isolent son corps du sol chauffé par le soleil et qui lui permettent de parcourir de longues distances à la recherche de nourriture et de l'eau. Son long cou lui permet de s'alimenter d'une végétation peu consommée par les autres ruminants (feuilles des arbres…). Sa tête maintenue à l'horizontale lui donne l'air hautain d'un être étrange monté sur un piédestal. Sa bosse, localisée sur son dos, est constituée uniquement de matière grasse et constitue une réserve d'énergie importante.

Le dromadaire peut vivre plus de 30 ans mais l'usure de ses dents conditionne sa longévité réelle **[30].**

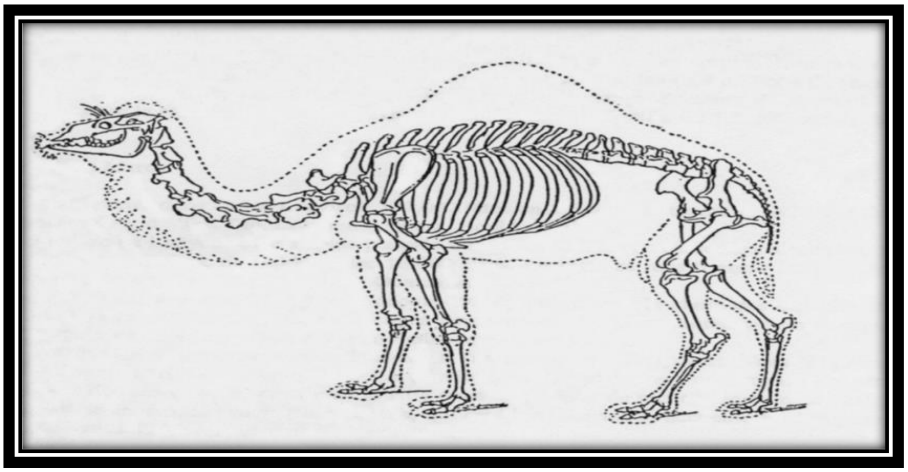


Figure N° 07 : Rapport de la structure squelettique et corporelle d'un dromadaire adulte [31].

I. 5.1/ Particularités anatomiques :

Les camélidés se distinguent des ruminants domestiques par un certain nombre de spécificités:

♦ La dentition présente une paire d'incisives à la mâchoire supérieure, une paire de canine à chaque mâchoire, 3 prémolaires à la mâchoire supérieure et 2 seulement à la mâchoire inférieure.

♦ La bosse n'est qu'un tissu adipeux blanc, dont le volume est susceptible de varier en fonction de l'état nutritionnel de l'animal.

♦ La nature du pied est l'un des éléments qui distingue nettement le dromadaire des ruminants classiques. Il est dépourvu de sabot, ce qui le range dans la catégorie des digitigrades et non des onguligrades. Le dromadaire a un pied large et élastique, bien adapté à la marche sur des sols sableux. Cependant sa composition rend la progression dans les zones caillouteuses difficile et traumatisante.

♦ Les pré-estomacs présentent des différences dans leur morphologie et leur fonctionnement les camélidés possèdent des sacs glandulaires accolés au rumen qui participent à la digestion du contenu ruminal. De plus l'omasum et l'abomasum sont difficilement discernables l'un de l'autre.

♦ Le foie est abondement lobé et, à l'instar du cheval, il est dépourvu de glande biliaire **[30].**

I. 6 / Anatomie de système urinaire:

Le système urinaire ou système excrétoire est l'ensemble d'organes qui produit, stocke et élimine l'urine. Cela inclue les reins mais aussi les uretères, la vessie, et l'urètre.

I. 6.1 / Les riens:

Le volume du rein du dromadaire est d'environ 850 cm^3 et son poids d'environ 1000g, le rein gauche est légèrement plus lourd que le droit, les dimensions sont environ de 19 cm de long, 12 cm de largeur et 9 cm d'épaisseur (rein gauche) et 18×11×8cm chez le rein droit. Le rein de dromadaire est très différent de celui des bovins, ils sont brins en forme de haricot et surtout dépourvues de lobes. L'un des côtés présente une courbe convexe et l'autre côté une courbe concave comme pour le rein de l'homme **[32].**

La cavité liée à la partie concave interne s'appelle le bassinet rénal (9 % du volume du rein). Chaque rein est enveloppé d'une membrane transparente, la capsule rénale qui a une fonction protectrice. Le rein est divisé en deux grandes parties : une zone externe de couleur brune appelé cortex rénal qui représente 51 % du volume total de l'organe, et une zone interne de couleur rouge appelé médulla 39% **[32].**

L'artère rénale procure le sang aux reins et lors de l'entrée dans l'organe, le sang est filtré et revient au cœur par la veine rénale. Les reins sont très irrigués et sont donc pleins de vaisseaux sanguins, parties intégrantes de la fonction rénale dont ils sont un élément de l'efficacité fonctionnelle du rein, la structure de base du rein est appelé néphron.

A l'intérieure du rein, existent des millions de structures microscopiques, responsables de la filtration du sang et de l'enlèvement des déchets.

L'épaisseur importante de la médulla rénale (7.89 cm chez le dromadaire) est un indicateur de la quantité de néphron avec de longues anses de henlé, caractéristiques de l'espèce est qui expliquent la capacité du dromadaire à produire une urine hypertonique **[33].**

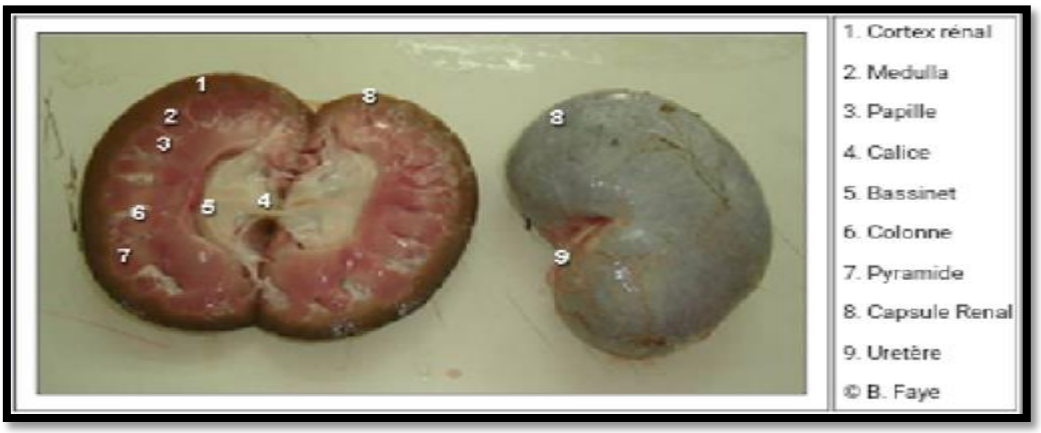


Figure N° 08 : structure d'un rein de dromadaire [34].

Le rein est l'un des organes chez le dromadaire qui joue un rôle central dans **[29] :**

-La régulation hydrique et la réabsorption de nombreux métabolites et électrolytes notamment en cas de déshydratation et réhydratation rapide.

-Le recyclage de l'azote alimentaire remarquable chez le dromadaire ce qui explique la capacité de cet animal à survivre avec des rations faiblement nutritives.

-L'activité enzymatique est généralement dans le rein de dromadaire que dans le foie contrairement aux autres herbivores.

-Le rein a un rôle dans la conservation d'eau et la production des urines hypertoniques**[33]**.

I. 6.2/ Les urètres :

Permettent le transfert de l'urine depuis les reins jusqu'à la vessie, Le canal gauche chez le dromadaire est plus court que le droit du fait de la position des reins. Chez l'animal adulte l'urètre droit mesure 50 à 55 cm alors que le gauche varie entre 35 à 40cm le diamètre est d'environ 4 mm, les urètres percent la base de la vessie **[32].**

I. 6.3/ La vessie :

La vessie stocke l'urine jusqu'à son excrétion par l'urètre. Chez les deux sexes, la vessie est petite comparée à la taille de l'animal. A l'état contracté la vessie a une forme ovale avec une partie craniale plus pointure.

Elle semble à un gros œuf vide, la vessie mesure 5 à 7 cm de long et 4 à 5 de large, l'épaisseur de la paroi est de 1 à 1.3 cm **[32].**

La position de la vessie est totalement pelvienne, sa capacité est de 600 -700 cm^3, contrairement aux autres espèces domestiques, la vessie du dromadaire est située dorsalement

par rapport au rectum. La muqueuse interne est rose un peu plus pale vers le col de l'urètre **[32]**.

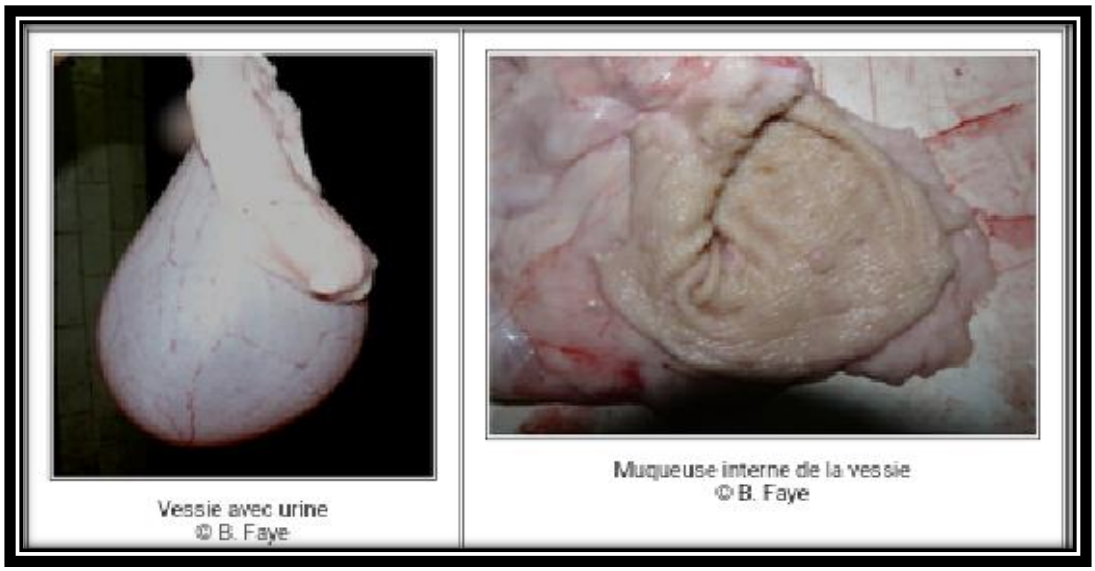


Figure N° 09 : Vessie de dromadaire [34].

I. 6.4/ L'urètre :

Chez la femelle, l'urètre a un diamètre d'environ 2 cm, sa longueur est à 10 à 11 cm d'environ. L'orifice urétrale externe s'ouvre sur le plancher de vulve et mesure d'environ1cm de diamètre **[32]**.

I. 7/ L'urine de dromadaire :

I. 7.1/ Description :

L'urine de chameau est marquée par une forte odeur et une couleur jaune foncée, elle a une densité de 1.045 à 1.06 et est deux fois plus salée que l'eau de mer **[35].**

De plus, l'urine humaine est acide, l'urine de chameau est alcaline avec des valeurs de PH >7.8 **[36].**

Lorsque l'alimentation de l'animal est dépendante de la bosse, une baisse de pH est remarquée. De même, la quantité d'urine émise dépend de la température externe, de l'alimentation, du travail ou du repos et de l'état de santé de l'animal.

Lors d'un abreuvement régulier, ce volume atteint sept litres, tandis qu'il ne dépasse pas un litre en cas de disette **[37].**

I. 7.2/ Composition :

Différemment à d'autres animaux y compris l'homme, l'urine de chameau a une unique et inusuelle composition biochimique. Le chameau n'excrète pas d'ammoniac et seulement des traces d'urée qui sont responsables de la mauvaise odeur et la toxicité de l'urine. Cependant, une quantité importante de créatine et de créatinine a été détectée.

Elles contiennent environ 10 fois plus de sels minéraux que l'urine humaine **[38].**

D'autre molécules toxiques sont présent en faible quantité tel que, le mercure, l'arsenic et le cadmium **[3].**

Tableau N°01 : constitution inorganique de l'urine de chameau et de bovin (séchée et congelée) par ICP-MS **[3].**

molécule	Valeur en ppm chez le dromadaire	Valeur en ppm chez le bovin
-Lithium (Li)	0.006807	0.008723
-Sodium (Na)	647.344755	12.615121
-magnesium (Mg)	15.105697	1.456404
-Aliminium (Al)	0.159909	0.294056
-Phpsphore (P)	0.471004	5.967582
-Chlore (Cl)	0.0002358	0.0001456
-Potassium (K)	280.7982	33.654251
-Calcium (Ca)	0.023656	0.002356
-Argent (Ag)	0.000300	0.000446
-Chrome (Cr)	1.963761	2.663761
-Manganése (Mn)	0.017308	0.0016310
-Fer (Fr)	1.705473	1.14256
-Cobalt (Co)	0.001637	0.001631
-Nickel (Ni)	0.086647	0.0087564
-Cuivre (Cu)	0.0038132	0.025632
-Zinc (Zn)	0.005477	0.008650
-Arsenic (As)	0.000359	0.000376
-silinium (Se)	0.002612	0.000796
-Strontium (Sr)	0.103021	0.005005
-Platinium (Pt)	0.000239	0.000579
-Or (Au)	0.001787	0.005673
-Mercure (Hg)	0.000258	0.00236
- Etain (Sn)	0.000461	0.000489
-Antimoine (Sb)	0.001004	0.000224
-Iode (I)	0.000256	0.000213
-Barium (Ba)	0.0013403	0.032678
-Cadmium (Cd)	0.000086	0.000128

I. 8/ Urino-thérapie:

I. 8.1/ Historique :

L'urinothérapie faisait partie des thérapies connues et abondamment utilisées jusqu' à ce que la deuxième guerre mondiale donne à l'industrie pharmaceutique un essor sans précèdent **[36]**.

Elle est reconnue sous différentes dénominations telle que Shivambo et Amorali **[38]** et documentée dans les scripts de Damar Tantra en Inde avant 5000années **[39].**

Dans la civilisation islamique, l'urinothérapie est mentionnée dans **le SAHIH** d'**AL BOUKHARI** et **MOUSLIM** depuis que le prophète **MOHAMED صلى الله عليه وسلم** a conseillé les musulmans de boire le lait de chamelle pour se nourrir et l'urine pour guérir.

I. 8.2/ Définition :

L'urinothérapie est une méthode utilisant l'urine comme médicament qui ne contient que des substances naturelles et vivantes donc dépourvues des effets indésirables des structures chimiques produites par les laboratoires **[40].**

Cette méthode est utilisée à titre préventive, en cas des maladies aigues ou chroniques **[41]** via différentes voies : usage externe, voie orale, injection sous cutanée ou en remède homéopathique (isopathie) [**36]**.

Donc l'urine contrairement à ce que croit beaucoup de gens, n'est pas un déchet toxique mais du sang filtré, elle constitue le médicament le plus extraordinaire qui soit car **[36] :**

-Contient une gamme très large de molécules (hormones, enzymes, neurotransmetteurs, vitamines, anticorps, antibiotiques et autres médicaments naturelles).

-Effet nettoyant et régénérateur des sels minéraux urinaires.

-Processus d'auto vaccination (effets immunologiques).

-Energie vitale.

I. 8.3/ Avantage de l'urino-thérapie :

- L'expérience a montré que presque toutes les maladies soient améliorées ou guéries par cette thérapie si elle est appliquée de façon correcte, elle ne présente des risques d'intoxication des méthodes allopathiques.
- Elle est simple et peut être prise sans dépens en un centime.

-Aucun examen médical n'est nécessaire pour poser le diagnostic de la maladie avant d'entreprendre le traitement même si l'urine est chargée du sang, de pus, de sucre et d'autre substance.

-L'application de l'urine sur une blessure ou brulure apporte un soulagement

Immédiat et une guérison rapide dans certain cas même sans aucune cicatrice.

-L'urine est très efficace en cas d'empoisonnement par des venins de serpents ou de scorpions, de morsures d'animaux ou d'insectes, d'absorption de substances intoxicantes comme l'opium, le sucre blanc et d'autres drogues **[41].**

- L'urothérapie n'a qu'un défaut, si l'on peut dire : elle ne coute rien, c'est une technique d'une efficacité et d'une rapidité d'action surprenante **[36].**

I. 8.4 / L'urinotherapie cameline :

-l'efficience de l'agent anticancéreux a été prévu de provoquer la mortalité et / ou inhiber la prolifération des cellules cancéreuses en évitant les cellules normales et d'activer le système immunitaire **[41].**

-Il a été démontré que l'urine de chameau est cytotoxique vis-à-vis déférentes lignées cancéreuses avec un effet marginal sur les fibroblastes normaux et les cellules épithéliales non tumorégeniques, cet effet anticancéreux spécifique n'a pas été observé chez les cellules éxposées à l'urine de rat qui tue les cellules cancéreuses ainsi que les cellules normales par le même effet **[41]**.

-Une quantité de 216mg/ml d'urine lyophilise est suffisante pour arrêter la prolifération cellulaire et déclencher plus de 80 % des apoptoses dans déférents cellules cancéreuses en influençant la mitochondrie via la diminution de BCL2, de plus l'UC améliore la production des Th1 cytokines (IFN y) et aussi l'inhibition la production des Th2 cytokines (IL-4/IL-6/IL-10) qui sont des immunosuppresseurs et stimulateurs des fonctions de la croissance tumorale [**41].**

-L'UC a une activité sur l'acide arachidonique (AA) et l'adénosine di-phosphate (ADP) qui sont la cause de l'agrégation plaquettaire humaine **[42].**

-L'urine humaine et bovine sont dépourvues de cette activité anti plaquettaire **[42].**

-L'urine de chameau s'est révélée être un agent antimicrobien naturel et satisfaisant pour l'utilisation comme traitement médicamenteux dans le domaine médical, elle peut être utilisée pour traiter plusieurs infections mycologiques, telles que les maladies humaines provoquées par *Candida albicans* et *aspergillus niger*, ou les maladies bactériennes induites par *S. aureus, Streptocoque, E. coli, Klebsiella* et *P. aeroginosa* **[43].**

I. 9 / Partie pharmacologique:

I. 9.1 / Les antibiotiques:

I. 9.1.1 / Définition :

Le mot antibiotique fut créé en 1889 par Paul Vuillemin. Les antibiotiques sont définis comme toute substance antibactérienne d'origine biologique, synthétique et/ou semi-synthétique obtenue par modification chimique d'une molécule de base naturelle.

Un antibiotique est un dérivé produit par le métabolisme de microorganismes possédant une activité antibactérienne à faible concentration et n'ayant pas de toxicité pour l'hôte. On distingue les activités bactériostatiques, qui inhibent la croissance microbienne, et les activités bactéricides, qui les tuent **[44].**

I. 9.1.2 /Classification des antibiotiques :

Les antibiotiques peuvent être classés en se basant sur différents critères tels que **[44] :**

- **Origine** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique.

- **Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléique.

- **Spectre d'activité**: liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).

- **Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles

Il existe plusieurs familles d'antibiotiques. Les principales sont :

- Les béta-lactamines.
- Les macrolides.
- Les glycopeptides.

I. 9.1.3 / Béta-lactamines :

Les β-lactamines constituent la famille la plus diversifiée et la plus importante parmi les antibiotiques. Ces antibiotiques sont caractérisés par une activité bactéricide avec un spectre d'activité variable centré sur les cocci Gram Positif et les bacilles Gram négatif. Ils ont une très faible toxicité, mais un pouvoir allergène assez marqué **[45].**

I. 9.1.3.1 / Structure chimique et composition des β-lactamines :

Sur le plan structural, les β-lactamines sont caractérisées par la présence d'une fonction amide cyclisée (cycle β-lactame), qui est responsable de l'activité antibactérienne, selon la nature de l'hétérocycle associé au cycle β-lactame, on distingue :

-Le groupe des pénicillines (noyaux péname, clavame, carbapénème).

-Le groupe des céphalosporines (noyaux céphème, céphamycine, oxacéphème).

- Le groupe des monobactames (noyau azétidine) **[45].**

I. 9.1.3.2 / Mode d'action des β-lactamines :

Les β-lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane (polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et positif). Les cibles des β-lactamines sont des enzymes situées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne et appelées PLP. Ces enzymes correspondent aux transpeptidases impliquées Dans la synthèse du peptidoglycane. La fixation des β-lactamines sur ces PLP est responsable de l'arrêt de la synthèse du peptidoglycane **[44].**

CHAPITRE II :

MATERIELS

&

METHODES.

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1/ Support biologique :

Deux sortes de matériels biologiques ont été utilisées pour réaliser ce travail : Les urines de chamelle et les souches microbiennes.

II.1.1/ Les urines :

Les urines sont prélevées à partir d'une chamelle âgée de 3 ans de Ain ouassara, à Djelfa, Algérie, de la race algérienne, cette chamelle poursuit une alimentation mixte.

II.1.2/ Souches bactériennes :

Deux souches bactériennes sont référenciées selon l'American type culture collection (ATCC), et deux autres sont isolées.

Tableau N° 02 : noms et références des souches bactériennes.

Souches	Références	Gram
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	+
Bacillus Sp	Isolée	+
Escherichia coli	ATCC 25922	-
Proteus mirabilis	Isolée	-

II.2/ Méthodes :

II.2.1/ Prélèvement :

Les urines ont été prélevées le matin, remplit dans des flacons stériles, conservées à 4c° dans une glacière transférée directement au laboratoire centrale de l'Etablissement Publique de la Santé de Proximité de MEDEA.

II.2.2/ Etude physico-chimique :

II.2.2.1/ Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) :

Pour mesurer le potentiel d'hydrogène des urines de chamelle, un pH mètre et des bandelettes urinaires réactives (DIAG -SANTE) sont utilisées.

La lecture de la valeur de pH se fait après 60 secondes de l'imprégnation de cette bandelette dans l'urine selon la variation de couleur indiquée dans l'étiquette du flacon.

II.2.2.2/ FTIR :

Le domaine infrarouge (IR) du spectre électromagnétique peut être divisé en trois régions selon les longueurs d'onde : le lointain IR entre 25 et 1000 μm (4000 – 13000 cm^{-1}), le moyen IR entre 2,5 et 25 μm (400 – 4000 cm^{-1}) et le proche IR entre 0,75 et 2,5 μm (10 –400 cm^{-1}). Suivant ces régions, des phénomènes différents sont observés en spectroscopie IR.

En lointain IR, ce sont les rotations moléculaires qui sont étudiées, dans le moyen IR, les vibrations (et les rotations-vibrations), et dans le proche IR des vibrations plus complexes comme des harmoniques ou des combinaisons.

Cette technique nous a permis d'identifier et de caractériser les différents pics correspondants aux groupements constitutionnels d'urine de chamelle.

Deux gouttes d'extrait d'urine ont été mélangées au KBr de grade spectroscopique. le mélange est ensuite broyé jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine, puis pressé en une pastille, avec une pression de 10 tonnes pendant 5min sous vide. L'analyse a été réalisée sur un appareil de type SHIMADZU 8400 (400-4000 cm^{-1}).

II.2.3/ Etude biochimique :

II.2.3.1/ Bilan urinaire :

Pour réaliser l'analyse biochimique des urines de chamelle, les bandelettes urinaires réactives (DIAG -SANTE) à 11 paramètres sont utilisées.

En principe, ces bandelettes sont destinées vers le diagnostic in-vitro où les urines fraiches sont collectées dans un récipient sec et stérile, le test doit être effectué sur des urines homogènes non centrifugées au maximum après deux heures du prélèvement avec des précautions conforment avec les bonnes pratiques des laboratoires.

Prudence d'utiliser l'eau comme contrôle négatif à cause de dégradation des conservateurs des tests de cétone, bilirubine et urobilinogène. Ainsi, la croissance bactérienne peut affecter les résultats du glucose, pH, nitrite et du sang.

Méthode :

-Retirer une bandelette et refermer immédiatement.

-Tremper la bandelette dans l'urine et retirer instantanément.

-Eliminer l'excès d'urine sur le rebord du récipient.

-Maintenir la bandelette horizontale pour éviter le mélange des réactifs.

-Lire chaque paramètre selon le temps et la gamme colorimétrique indiqués sur l'étiquette du Flacon.

Tableau N° 03 : le principe des 11 paramètres étudie dans le bilan urinaire.

PARAMETRES/ TEMPS DE LECTURE.	**PRINCIPE DES TESTS**
GLUCOSE/30 s	Le glucose oxydase catalyse la formation d'acide glucuronique et deperoxyde d'hydrogène par l'oxydation de glucose. Le peroxyde d'hydrogène libère un néo écotype oxyde sous la fonction de peroxydase, l'oxyde de l'iodure de potassium d'où le changement de couleur. Aucune substance autre que le glucose ne peut produire un résultat positif.
BILIRUBINE/30S	La bilirubine direct et le diazonium di-chlorobenzène produisent des colorants azoïques dans un milieu fortement acide, normalement aucune bilirubine n'est détectable dans l'urine.
CETONE/40S	Le réactif nitroprussiate de sodium agit avec l'acide acéto-acétique dans le milieu alcalin donnant la couleur violette, les urines normale donnent des résultats négatifs à ce réactif.
DENSITE/45S	L'électrolyte sous forme de sel dans les urines réagit avec le groupement –COOH du polyméthyl –vényléther anhydride maléique qui est un échangeur ionique acide faible, le déplacement des ions hydrogénes est à l'origine de changement de couleur.
SANG/60S	Ce test est basé sur l'activité peroxydase de l'hémoglobine et celle de la myoglobine sur le réactif d'où le changement de couleur.
UROBILINOGENE /60s	Ce test est basé sur le couplage de l'urobilinogène aux sels de diazonium stabilisé donnant une couleur azoïque rouge.
NITRITE/60S	Les nitrites sont présent dans les urines réagissent avec la Sulfamil amide aminè aromatique pour former un diazonium responsable de la couleur rose de la plage réactive, ce test dépend de la transformation des nitrates en nitrite sous l'action des bactéries gram négatif dans l'urine.
ACIDE ASCORBIQUE /60S	Ce test permet la détection de l'acide ascorbique dans les urines, en raison de son intervention avec les tests du glucose, bilirubine, sang et nitrite.
	Les leucocytes granulocytaires dans les urines contient les enzymes *estérases* qui catalyse l'hydrolyse du pyrrole aminoacide ester

LEUCOCYTES /120S	pour libérer le 3hydroxy-5-phényle pyrrole, ce pyrrole réagit ensuite avec le sel de diazonium pour former une couleur pourpre.

II.2.3.2/ Dosage des flavonoïdes :

Ce sont des composés polyphénoliques responsables de la coloration des fleurs, de certains fruits et sont prescrit aussi dans le traitement de troubles en rapport avec une insuffisance veineuse, traitement de la crise hémorroïdaire, en ophtalmologie lors de troubles liées à la circulation rétinienne, les métrorragies liées à la présence d'un dispositif intra-utérin et le traitement de la fragilité capillaire au niveau de la peau et des muqueuses.

En plus des propriétés pharmacologiques : Antiplasmodiales (licocalcone A) cytotoxiques, anticancéreuses, antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires **[45].**

D'après le protocole de (**DJERIDANE et al 2006)** de dosage des flavonoïdes, la solution témoin (l'étalon) est constituée de 1.5 ml méthanol + 1.5 ml Quercitine à 1% (Annexe 3).

L'étude quantitative au moyen spectrométrique, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des flavonoïdes dans l'urine de chamelle, une courbe d'étalonnage a été tracée pour cet objectif.

Pour obtenir la concentration des flavonoïdes dans l'urine de chamelle, on réalise le mode opératoire suivant :

-Deux volumes égaux d'urine et de méthanol ont été mélangés.

-Aprés 30 minutes, le mélange a été centrifugé 6000 rpm pendant 10 min.

-1.5 ml de Quercitine est additionnée à 1.5 ml de l'extrait méthanolique.

-Aprés 10 min, la lecture se fait à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 426 nm.

II.2.3.3/ Dosage des polyphénols :

Ce sont des composés polyphénoliques hydrosolubles capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines ; en précipitant les protéines, on les qualifie de facteur antinutritionnel. Ils possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, cicatrisantes, antihypertensives, anti-diarrhéiques, veinotoniques et décongestionnantes ophtalmiques **[45].**

L'estimation de la teneur en composés phénoliques totaux est réalisée selon la méthode de (**FAVATI et al 1994)** qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixtire phosphotyngstique phosphomolybdique du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produit de réduction de couleur bleu.

Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm, et dans l'intensité est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans l'échantillon **(GEORGIE et al ,2005).**

Dans un flacon de 20 ml, un volume de 0.5 ml de réactif Folin-Ciocalteu est ajouté à 2 ml de l'extrait méthanolique. Après 3 min, un volume de 4 ml d'une solution de carbonate de sodium (10%) est ajouté. Puis ajusté avec de l'eau distillée. Après 90 min à l'obscurité la solution est centrifugée et l'absorbance est réalisée à 765 nm. Les concentrations en polyphénols exprimées en équivalent d'acide gallique sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage représentée dans la figure **N°21**(page 35).

II.2.3.4/ Activité antioxydante :

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant deux méthodes différentes : la méthode du test de DPPH et le test d'ABTs.

II.2.3.4.A/ Test de DPPH :

Le composé chimique 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle est un radical libre de couleur violacée qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517 nm, il fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (figure **N° 10**).

Du fait de cette délocalisation les molécules du radical ne forment pas des dimères, le radical DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire **[46].**

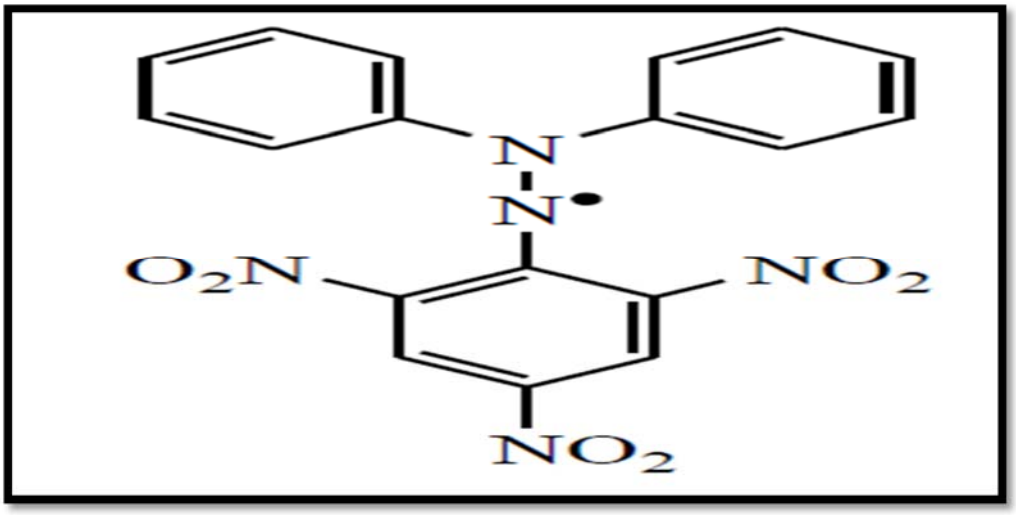


Figure N°10 : Structure chimique du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle).

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence des extraits. Le DPPH est initialement violé, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques **[46].**

Dans ce test, le substrat est un radical stable qui, en réagissant avec une molécule antioxydante, se transforme en DPPH-H (2,2-diphényle-1-picrylhydrazine) avec perte de son absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu éthanolique, qui permet une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Ce test est très utilisé car il est rapide, facile et non couteux (**figure N° 11) [46].**

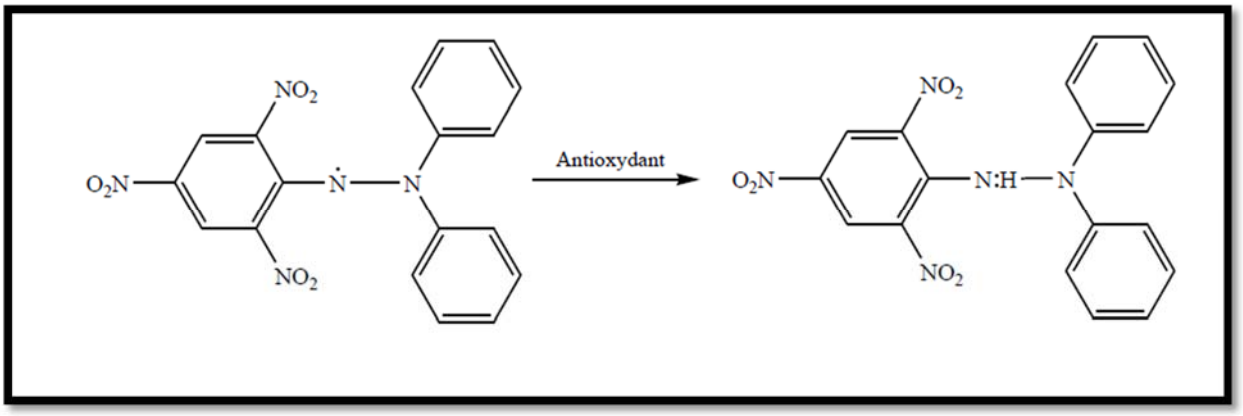


Figure N° 11 : Réduction du radical DPPH•.

C'est la méthode décrite par (**ŞENAY AKKUS CENTUS)**, une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml d'éthanol incubé à l'obscurité pendant 30 min, 0.1 ml de différentes concentrations de solutions échantillons sont ajoutées à 3.9 ml de la solution de DPPH. Après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant.

Le paramètre EC_{50} (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de l'extrait d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical **[46].**

La valeur EC_{50} est calculée à partir de la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de l'UC. Il faut rappeler que plus la valeur de l'EC_{50} est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait est grande **[46].**

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en % et déterminé en appliquant la formule suivante :

% d'activité antioxydante = [Abs contrôle – Abs échantillon / Abs contrôle] x 100.

***II.2.3.4.B/* Test d'ABTS :**

Le radical cation ABTS (2-2'-azino-bis 3-ethyl benzothiazoline-6-sulphonic acide) est généré en mélangeant un volume d'une solution de 2.45 mM de persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ et deux volumes d'une solution stock d'ABTS à 7 mM, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 12-16 heure avant l'utilisation. La solution obtenue est diluée avec du tampon phosphate (pH 7,4) contenant (100 µl d'ABTS + 1500 µl de tampon phosphate) pour obtenir une absorbance de 0.7 à 734 nm. 1 ml de cette solution fraichement préparée est ajouté à 10 µl d'extrait et la lecture est faite à 734 nm après 6 min, le pourcentage d'inhibition est exprimé en équivalent millimolaire de tampon phosphate et calculé selon la formule suivante :

% d'inhibition = = [Abs témoin – Abs blanc / Abs témoin] x 100

Avec :

- **Abs témoin :** l'absorbance du radical ABTS.
- **Abs blanc :** l'absorbance de l'échantillon ABTS radical + Extrait.

II.2.4/ Activité antibactérienne :

II.2.4.1/ Préparation de l'échantillon :

Pour arriver à démontrer l'effet antibactérien de l'urine de chamelle, l'échantillon reçu au laboratoire est divisé en six sous échantillons :

- **Sous échantillon 1 :** conservé à 4c° dans une glacière.

- **Sous échantillon 2 :** gardé à température ambiante 20 c°.
- **Les sous échantillons 3 et 4 :** ont été chauffés à 37 c° et 60 c° respectivement avec déférents durés de chauffage (10-15-30-60 min).
- **Sous échantillon 5 :** devisé en deux et subit deux sortes de stérilisation :

*par autoclave 120 c° pendant 20 min.

*par filtration à travers un filtre de 0.22 µm.

- **Sous échantillon 6 :** Conservé pendant 45 jours à 4 C°.

II.2.4.2/ L'antibiogramme :

La réalisation de l'antibiogramme dans le cas des urines de chamelle ne diffère pas techniquement des méthodes traditionnelles de mesure in vitro de sensibilité aux antibiotiques en suivant la méthode de diffusion sur gélose (méthode des disques).

L'activité antibactérienne de l'urine de chamelle est évaluée par la technique de diffusion sur gélose (méthode des disques) selon la méthode décrite par (**FALLEH et al 2008)** vis-à-vis quatre souches bactériennes (à Gram**-** : *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*) et (à Gram+: *Bacillus sp et Staphylococcus aureus*).

Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique à une turbidité équivalente à 0,5 McFarland. Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemencer de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre, stériles, sont chargés de 15 µl de différents types d'urine de chamelle et placés à la surface de ces boites.

Les boites de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h/48 h/ 72h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibitions produites autour des disques, cette expérience a été répétée trois fois. Les souches sont aussi testées par une gamme d'antibiotiques (control positif).

II.2.5/ Activité hémolytique :

L'hémolyse est la destruction ou l'enlèvement des globules rouges dans la circulation avant leur durée de vie normale (120 jours), il existe deux mécanismes d'hémolyse : Hémolyse extravasculaire est l'élimination et la destruction des globules rouges avec des altérations de la membrane par les macrophages, de la rate et du foie.

L'hémolyse intravasculaire, qui est la destruction des globules rouges dans la circulation avec la libération du contenu des cellules dans le plasma, des agents infectieux peuvent provoquer une dégradation de la membrane et la destruction directe des cellules **(DHALIWAL et al, 2004),** parmi ces agents c'est les radicaux libres **(LIU et al, 2002).**

L'activité hémolytique est réalisée *in vitro* par la méthode de spectrophotométrie **(YANG et al, 2005)**. Un volume de 0.5 ml de la suspension cellulaire sanguine est mélangé avec 0.5 ml des urines à différentes concentration (10, 25, 50, 75, 100 mg/ml). Une centrifugation est effectuée à 1500 rpm pendant 10min. le surnageant est récupéré et mesurée dans le spectrophotomètre à 540nm. Une solution saline de tampon phosphate et de l'eau distillée ont été utilisés comme témoins hémolytiques négatifs et positifs. Le pourcentage d'hémolyse induit par les urines est calculé selon la formule suivante :

Inhibition %= (Abs test - Abs contrôle négatif) /Abs contrôle positive x 100.

Abs contrôle négatif : Absorbance du tampon phosphate + le sang.
Abs test : Absorbance de l'échantillon.
Abs contrôle positive : Absorbance de l'eau distillé + sang.

II.2.6 /Analyse statistique :

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne ± erreur standard à la moyenne.

l'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Stastica, les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$ dans l'ensemble des analyses statistiques en utilisant l'analyse de la covariance « One way » et le test de Tukey.

CHAPITRE III :

RESULTATS

&

DISCUSSION.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSSION

III .1/ Etudes physico-chimiques :

Pour l'étude physico-chimique deux analyses ont été réalisées la mesure de potentiel d'hydrogène et l'analyse FTIR.

III .1.1/ Mesure du potentiel d'hydrogène (pH) :

L'urine étudiée dans ce travail mesurée à l'aide d'un pH mètre et des bandelettes urinaires a révélé une valeur légèrement alcaline de 8.5.

III .1.2/ Analyse FTIR :

L'analyse de l'UC à (4 C° , 20 C°, 37 C°,60 C° et stérile) par FTIR a donné les spectres suivants :

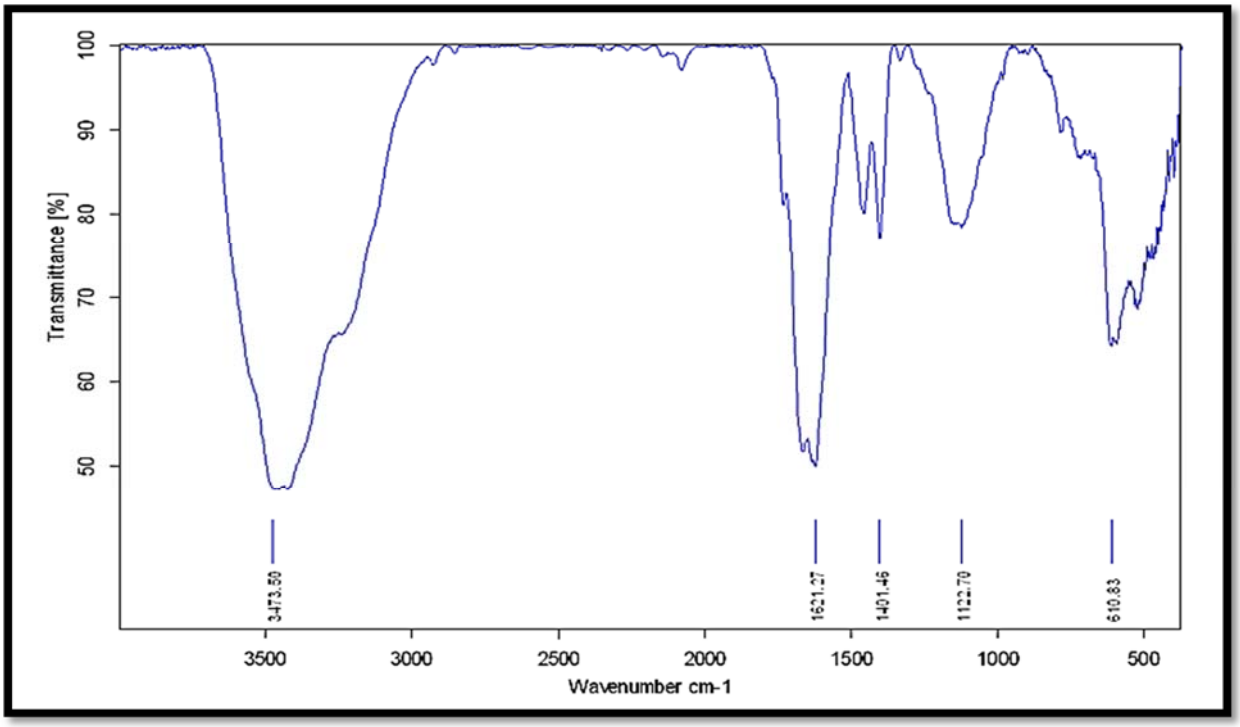


Figure N° 12 : Spectre FTIR de l'UC à 4 C°.

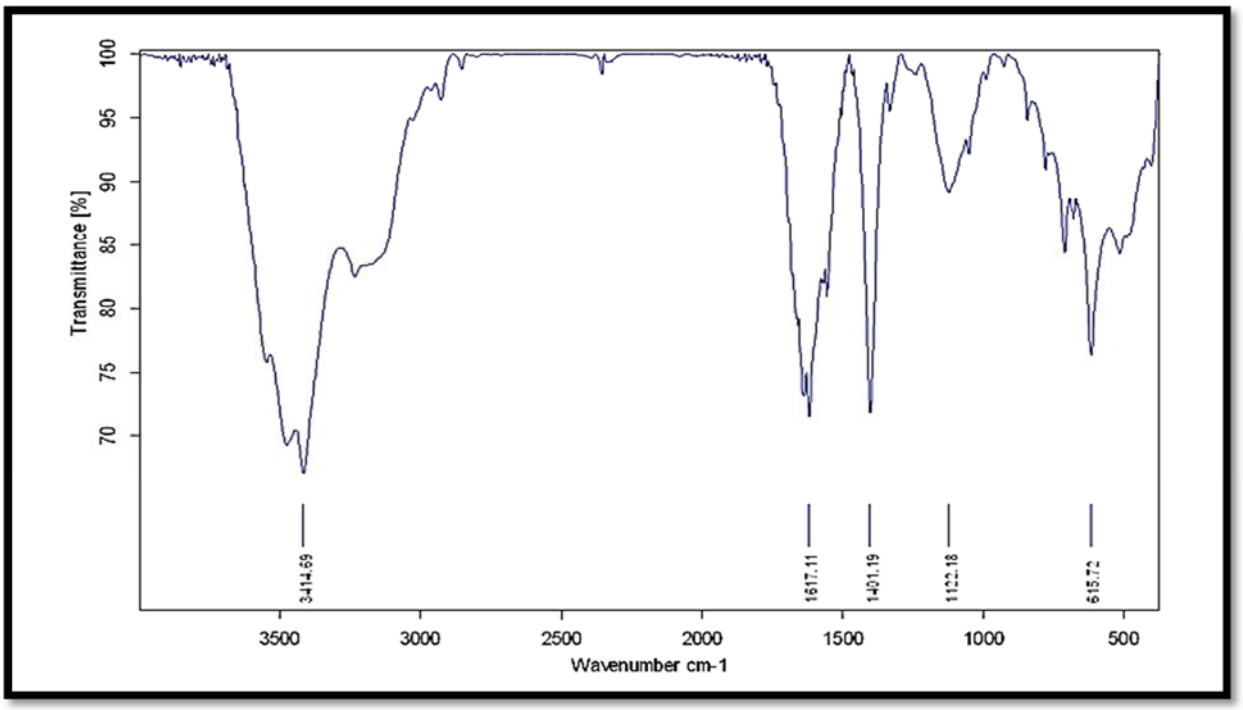


Figure N° 13 : Spectre FTIR de l'UC à 20 C°.

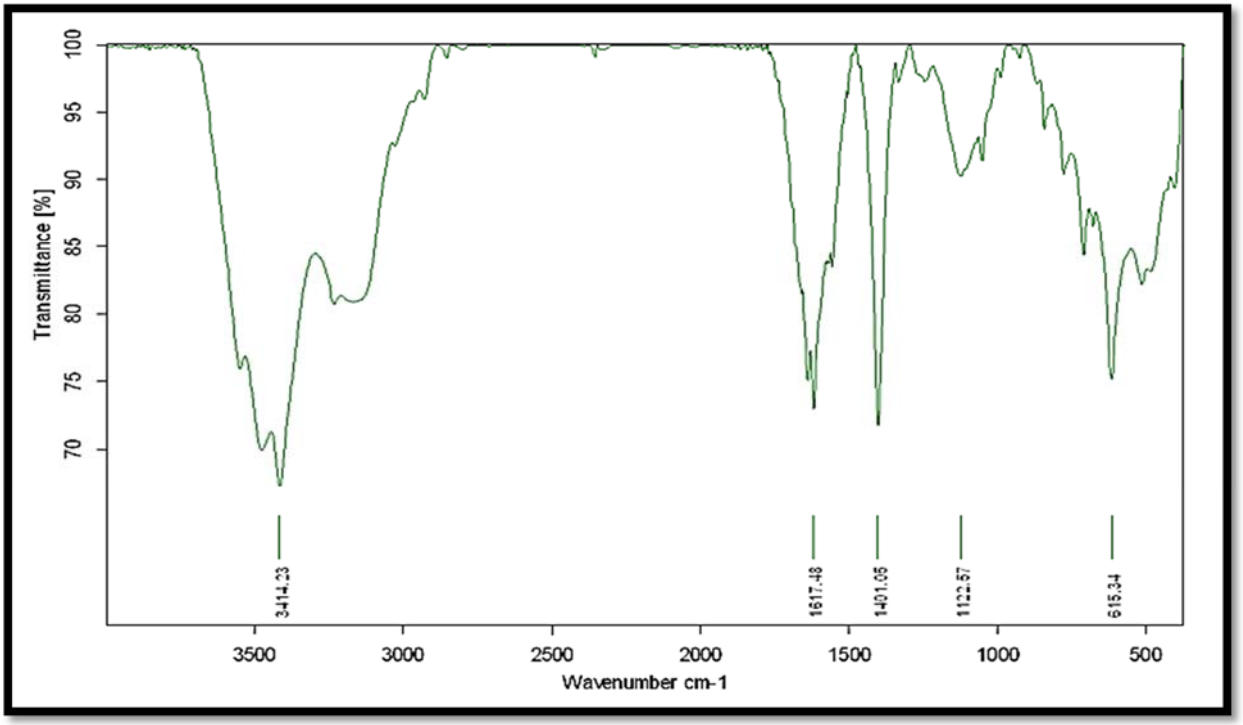


Figure N° 14 : Spectre FTIR de l'UC à 37 C°.

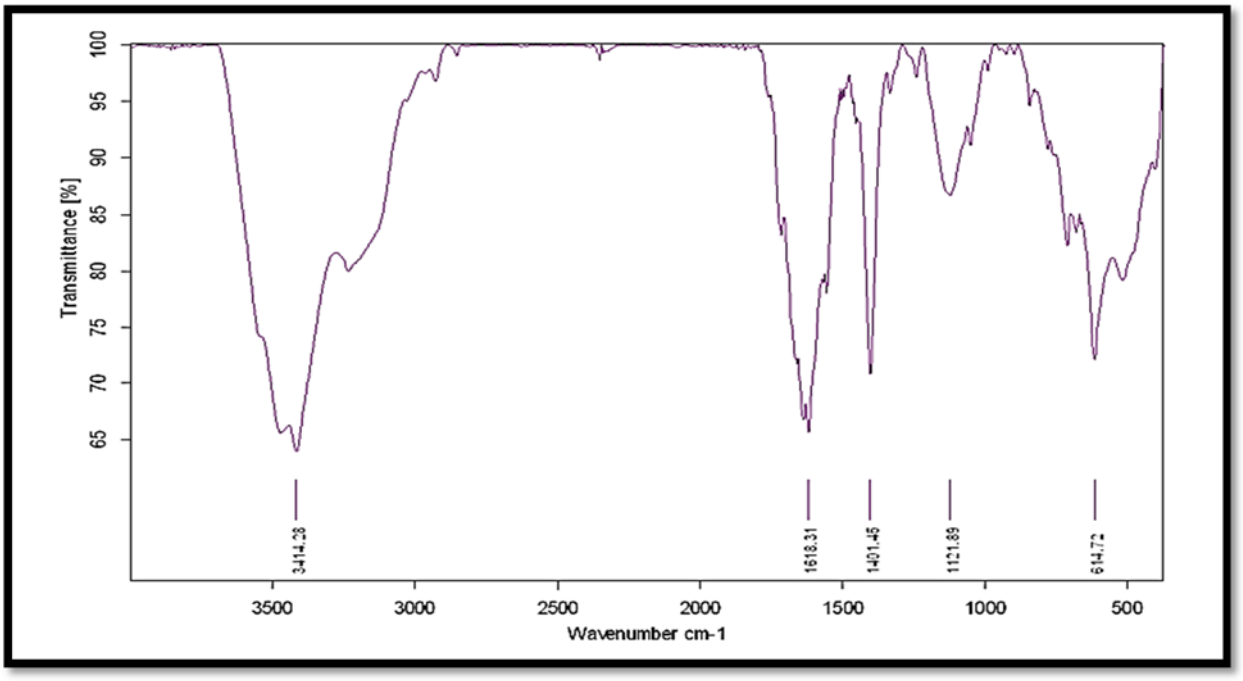


Figure N° 15 : Spectre FTIR de l'UC à 60 C°.

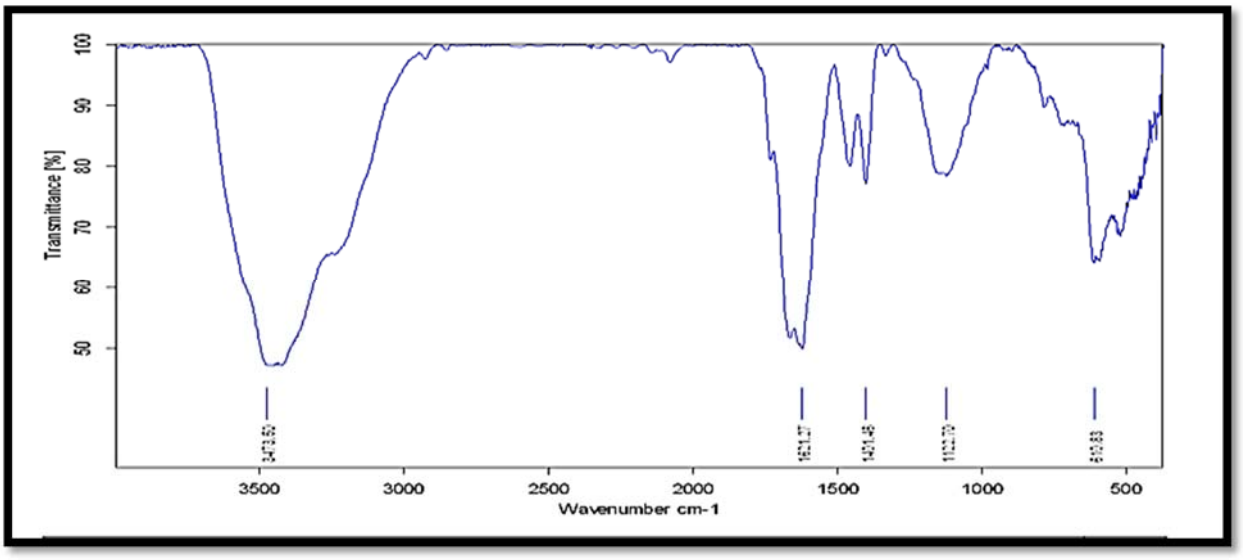


Figure N° 16 : Spectre FTIR de l'UC stérile.

Tableau N° 04 : Attributions des différents pics d'UC (4C°, 20 C° , 37 C°, 60 C° et stérile) détectées par FTIR.

Liaison Chimique	Nombres D'ondes (Cm^{-1})				
	4 C	20 C	37 C	60 C	Stérile
O-H	3473.5	3414.69	3414.23	3414.28	3473.5
C = C	1621.27	1617.11	16.17.48	1618.31	1621.27
$(C\text{-}H)_{CH3}$	1450	-	-	-	1450
$(C\text{-}O)_{Ar\text{-}OH}$	1400.46	1401.19	1401.05	1401.45	1400.46
C-OH	1122.70	1122.18	1122.57	1121.89	1122.70
Cycle aromatique	610.83	615.72	615.34	614.72	610.83

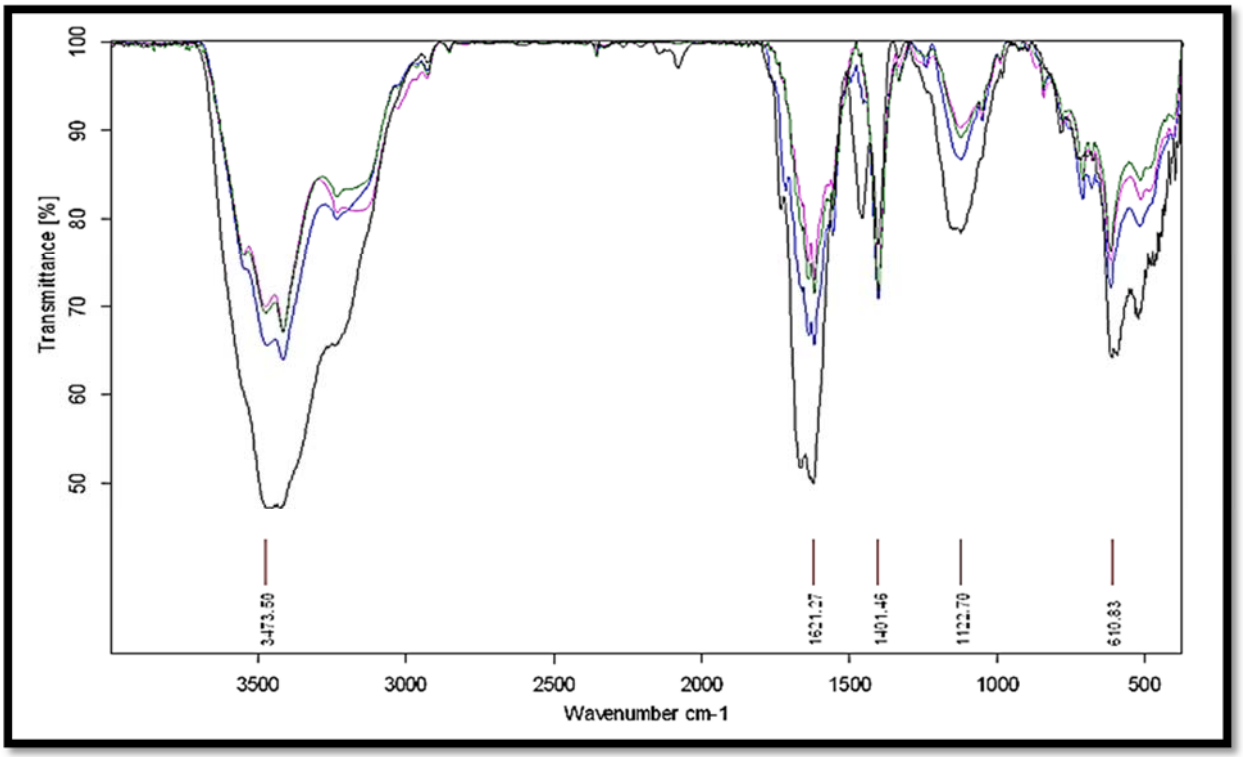


Figure N° 17 : Spectre comparatif de l'UC (4C°, 20 C°, 37 C°, 60 C° et stérile) par FTIR.

A titre d'exemple, nous illustrons en tableau **N°04** et figure **N°17** les fonctions et les spectres FTIR d'UC (4C°, 20 C°, 37 C°, 60 C° et stérile) ce qui nous a permis d'identifier les bandes caractéristiques de chaque type d'UC (20 C°, 37 C°, 60 C° et stérile) et de les comparer avec l'UC crue (4 C°).

Les attributions des différents pics regroupées dans le tableau N°04. Nous constatons que la majorité des bandes caractéristiques d'UC obtenues à partir de chauffage et stérilisation sont pratiquement semblables à celles correspondantes à l'UC à (4 C°) à l'exception d'une absence marquée à 1450 cm^{-1} pour les différents chauffages.

III .2/ Etudes biochimiques :

III .2.1/ Bilan urinaire :

Les 10 paramètres mesurés pour l'étude biochimique des urines ont donné les valeurs représentées dans le tableau **N° 05**.

Tableau N° 05 : résultat du bilan urinaire d'UC par rapport à l'homme.

Paramètre	Valeurs mesurées	Valeur seuil pour l'Homme	Pathologies
Leucocytes	15	10 leucocytes / µL	Infections
Nitrites	0	0,3 mg/L (7 µmol /L)	Infections
pH	8.5	5,0	Calculs rénaux
Protéines	20 g/l	60 mg/L (albumine)	Dysfonctionnement rénal
Glucose	0	0,4 g/L (2,2 mmol/L)	Diabète
Corps cétoniques	0	0,05 g/L (0,5 mmol/L)	Diabète
Urobilinogène	3.2 mol	4 mg/L (7 µmol/L)	Maladies du foie et des voies biliaires
Bilirubine	0	84 mg/L (14 µmol/l)	Maladies du foie et des voies biliaires
Sang (2 échelles : 1 pour érythrocytes, 1 pour hémoglobine)	0	érythrocytes > 5 Ery/µL hémoglobine, > 10 Ery/µL érythrocytes lysés, myoglobine	Calculs rénaux, tumeurs

Poids spécifique	1.005	1,000 kg/L	Dysfonctionnement rénal
Acide ascorbique	0	17-52 mg/L	Dysfonctionnement rénal
Ammoniaque	0	14.7-55.3 µmol /L	Dysfonctionnement rénal
Ammonium	0	14.7-55.3 µmol /L	Dysfonctionnement rénal

Pour les constituants organiques, les analyses ont révélé un taux élevé de protéines jusqu'à 20 g/mol, l'urobilinogène est de 3.2 mol /l alors qu'il y'a absence totale de glucose, bilirubine et la vitamine C ainsi que pour les composés inorganiques (nitrite ammoniaque – ammonium).

Le taux des leucocytes est de 15 cellules /µl, le sang, l'acétone sont absent et la densité de cette urine atteint 1.005.



Figure N° 18 : variation de couleur d'une bandelette imbibée par l'UC (à gauche) par rapport à un témoin négatif (à droite).

D’après la littérature une comparaison a été faite entre l’urine cameline et bovine en ce qui concerne l’étude des paramètres inorganiques où elle a démontré une concentration très forte de sodium et de potassium mesuré en centaines chez le chameau par rapport au bovin.

Le magnésium est aussi présent en dizaine en le comparant avec ceci du bovin **[3]**, une forte concentration en urée et une faible concentration en acide urique et créatine **[1].**

III .2.2/ Dosage des flavonoïdes :

Aprés une incubation de 30 min, nous avons observé une couleur bleutée dans les trois essais réalisés.

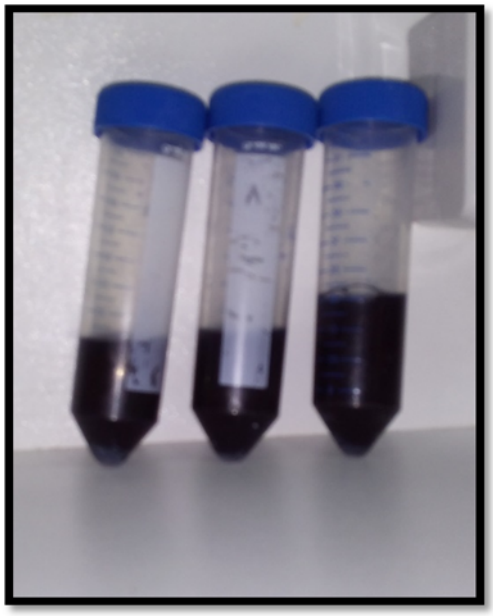


Figure N°19 : Dosage des flavonoides.

La quantification de flavonoïdes a été faite à partir d’une courbe d’étalonnage linéaire (y=ax) réalisé par une solution étalon (Quercitine) à différentes concentrations.

La teneur en flavonoïdes des urines de chamelle est de **3.16 g/l**.

III .2.3 / Dosage des polyphénols :

Après une incubation de 90 min, nous avons observé le développement d'une coloration bleue dans les huit tubes selon la concentration de l'urine en polyphénols.

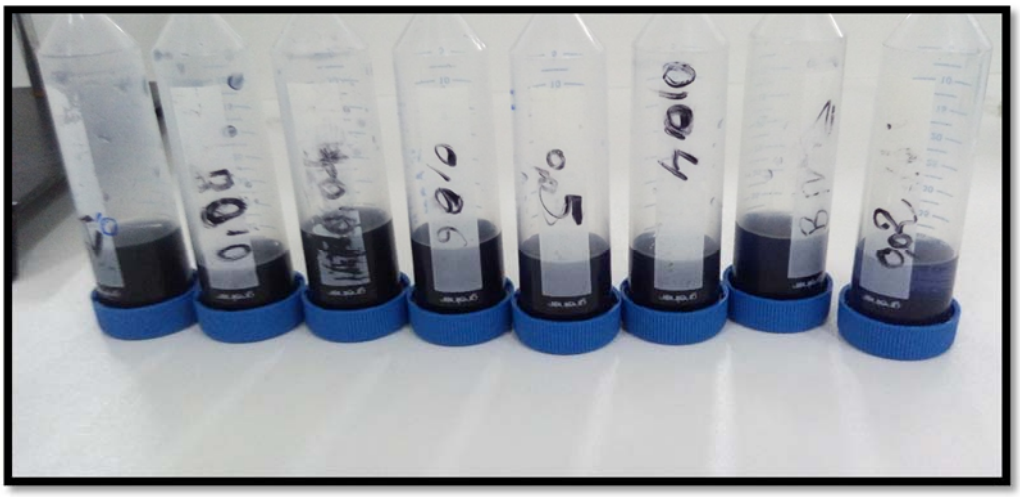


Figure N°20 : Dosage des polyphénols.

Les polyphénols sont déterminés à l'aide d'une courbe d'étalonnage (y =a x) et rapportés en g équivalent d'acide gallique par litre d'urine.

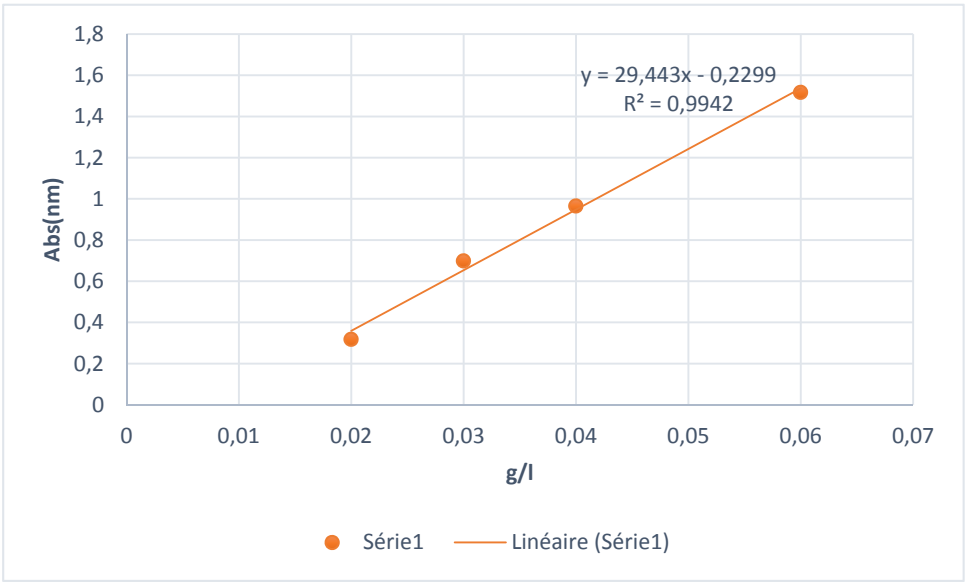


Figure N°21 : Courbe d'étalonnage d'acide galique.

y=29.44x-0.2299 ➡ 2.233= 29.44x-0.2299➡ **x = 0.083 g/l**

le dosage des polyphenols des urines de chamelle a monté une teneur de **0.083 g/l .**

III .2.4/ Activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'urine de chamelle a été évaluée in vitro par deux méthodes différentes, le piégeage du radical libre DPPH et par l'ABTS.

III .2.4.A/ Par la méthode DPPH :



Figure N°22 : Réduction de DPPH par l'UC.

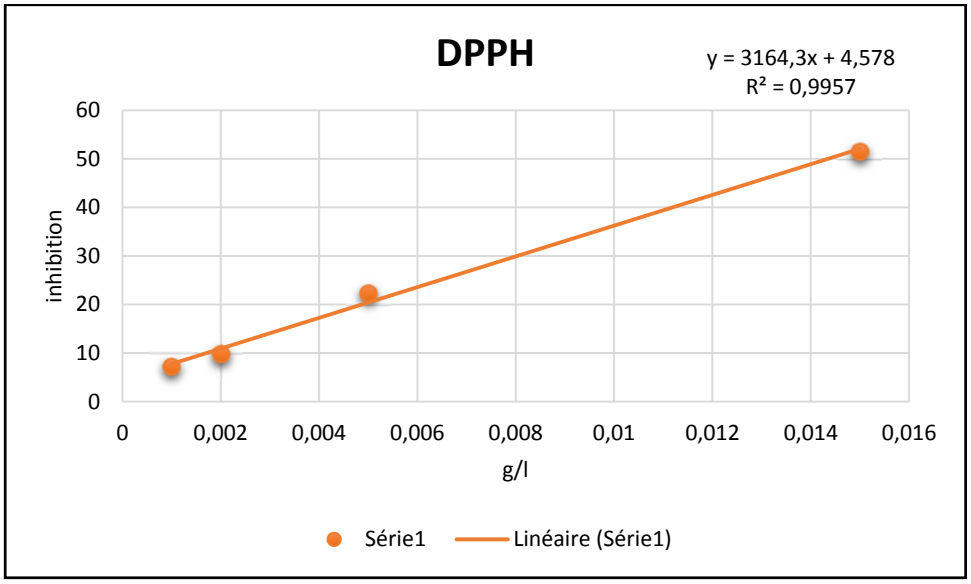


Figure N°23 : Courbe d'étalonnage de DPPH.

Y=3164.3x+4.578 ➡IC_{50}=3164.3x+4.578 ➡ **x =0.014 g/l**

Nous avons tracé la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition (I %) en fonction de la concentration (g/l) d'UC figure 24, à partir de cette courbe nous pouvons déterminer la concentration efficace (IC_{50}) et l'activité anti radicalaire.

D'après la figure 24, on remarque que le pourcentage d'inhibition augmente proportionnellement aux concentrations d'urine.

La concentration efficace pour inhiber 50% des radicaux libres par l'acide ascorbique est de 0.25 g/l et de 0.014g/l par les urines de chamelles. La concentration est 18 fois moins que l'IC_{50} de l'acide ascorbique.

III.2.4.B/ Par la méthode d'ABTS :

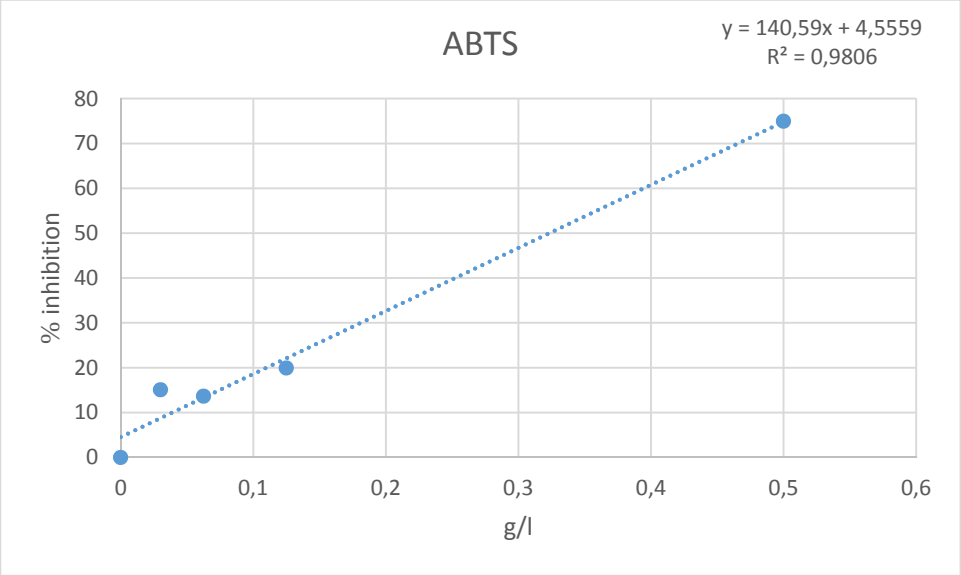


Figure N° 24 : Réduction d'ABTS par l'UC.

Y= 140.59x+4.5559 ➡IC_{50} = 140.59x+4.5559 ➡ IC_{50} = 0.32 g/l.

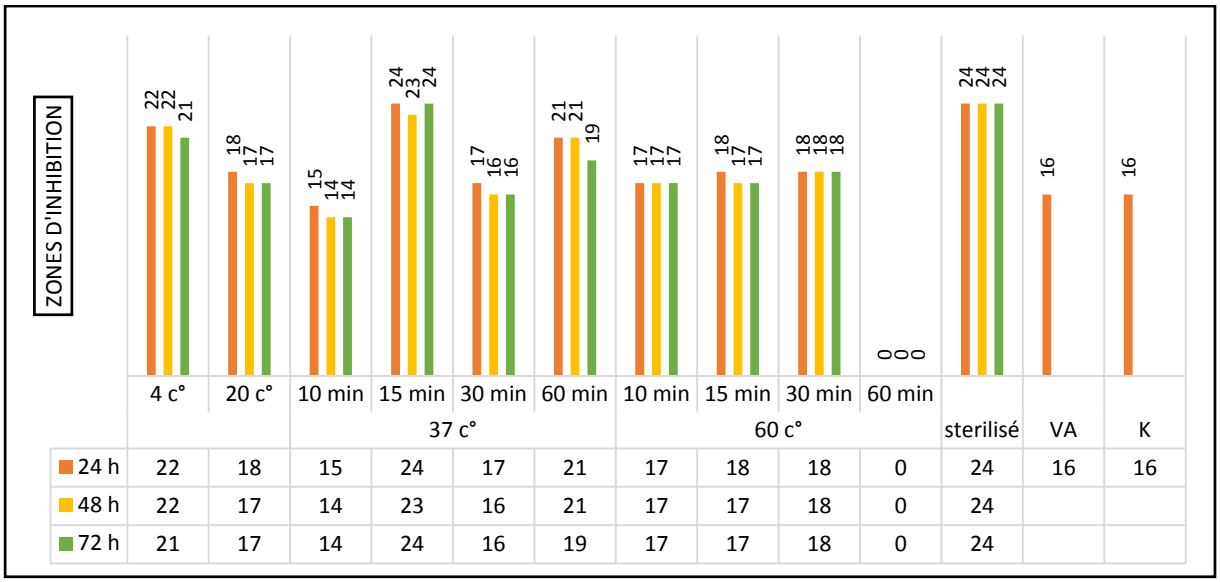
La courbe d'inhibition de l'activité anti-radicalaire est exponentielle pour les échantillons d'urines, le taux d'inhibition est d'autant presque le même par rapport l'acide ascorbique

La concentration efficace pour inhiber 50% des radicaux libres par l'acide ascorbique est de 0.3 g/l et de 0.32g/l par les urines de chamelle.

III .5/ Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'urine de chamelle sur les quatre souches : *S. aureus*, *Bacillus sp*, *E .coli* et *P. mirabilis* comparées à des antibiotiques représentant les témoins positifs à donné les résultats suivants :

- **Pour *S. aureus* :**



	4 c°	20 c°	10 min	15 min	30 min	60 min	10 min	15 min	30 min	60 min	sterilisé	VA	K
			37 c°				60 c°						
24 h	22	18	15	24	17	21	17	18	18	0	24	16	16
48 h	22	17	14	23	16	21	17	17	18	0	24		
72 h	21	17	14	24	16	19	17	17	18	0	24		

Figure N° 25 : Activité de l'UC sur *S. aureus* dans différent T° et duré de chauffage pendant 3 jours d'incubation comparée avec celle de la Vancomycine et la Kanamycine.

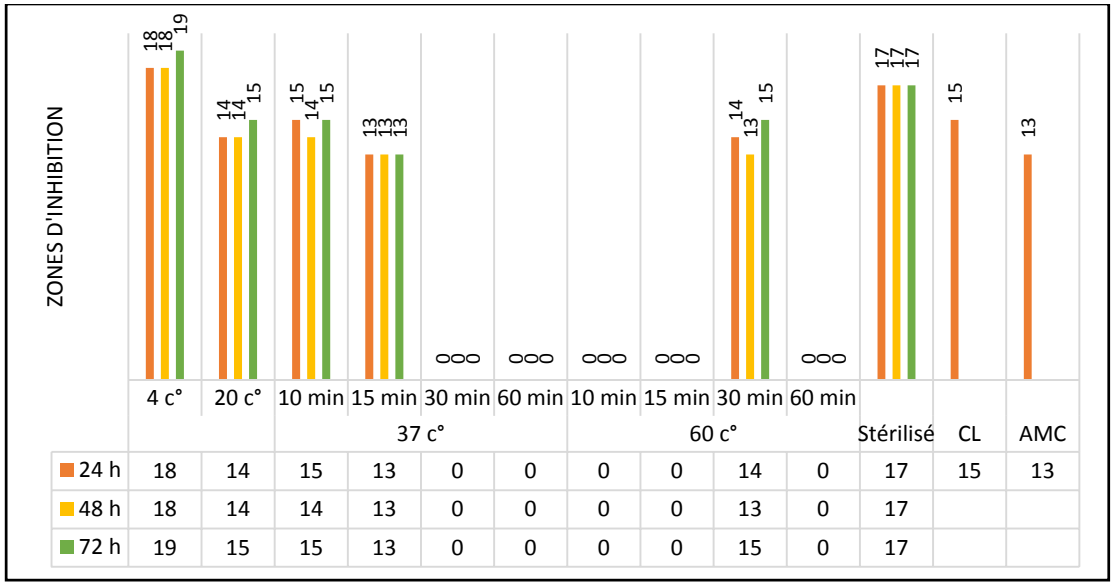
-L'efficacité d'UC sur *S. aureus* est maximale dans le cas d'UC stérilisée et chauffée à 37 c° pendant 15 min (23 mm-24 mm).

-Pour L'UC crue (4 C°), chauffée à 37 c° pendant 60 min les valeurs obtenues sont de 19 mm à 22 mm.

-Les zones d'inhibition mesurées pour l'UC à 20 c° et celle chauffée à 37 c° (10 min -30 min) et à 60 c° (10min -15 min -30 min) sont de (14mm – 18 mm).tandis que aucune zone n'a été signalée pour UC chauffée à 60 c° (60 min).

-Une variation des zones d'inhibition est peu remarquable durant les 3 jours d'incubation

- **Pour *Bacillus sp* :**



	4 c°	20 c°	37 c° 10 min	37 c° 15 min	37 c° 30 min	37 c° 60 min	60 c° 10 min	60 c° 15 min	60 c° 30 min	60 c° 60 min	Stérilisé	CL	AMC
24 h	18	14	15	13	0	0	0	0	14	0	17	15	13
48 h	18	14	14	13	0	0	0	0	13	0	17		
72 h	19	15	15	13	0	0	0	0	15	0	17		

Figure N°26 : Activité de l'UC sur *Bacillus* dans différentes T° et durée de chauffage pendant 3 jours d'incubation comparée avec celle de la Colistine et l' Amoxyclave.

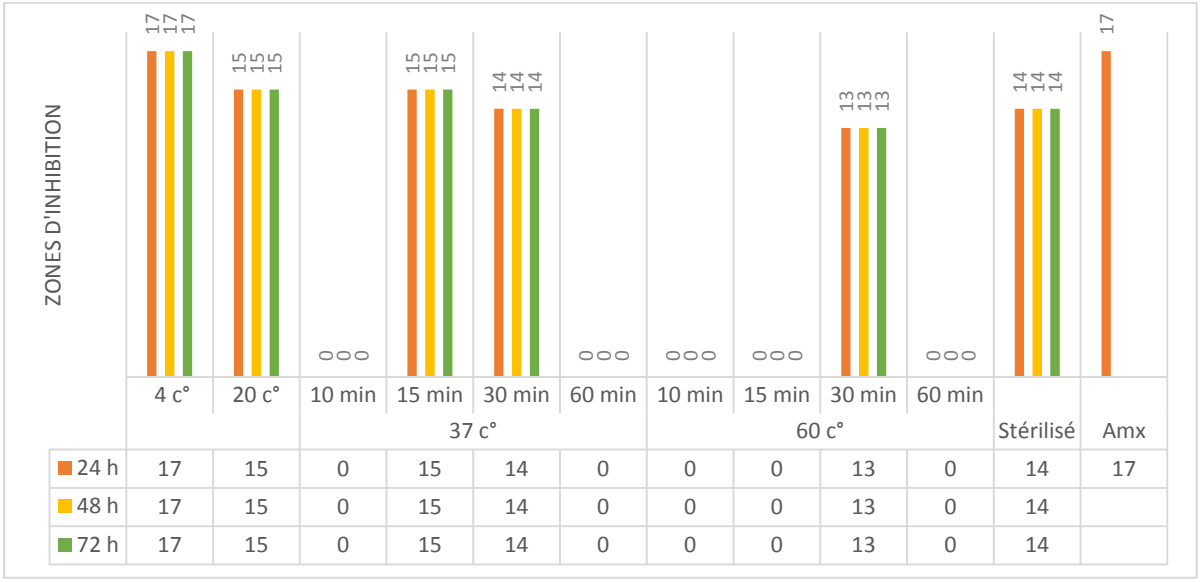
-l'UC à 4 c° et stérilisée ont inhibé la croissance des *Bacillus* en donnant des zones de 17 mm à 19 mm de diamètre.

-Des variations de zones de 13-15 mm ont été détectées pour l'UC à 20 c°, chauffée à 37c° (10-15 min) et à 60 c° (30 min).

-des zones nulles sont observées pour les chauffages de 37 c° (30 et 60 min) et de 60c° (10/15/60 min) .

-un faible changement est remarqué durant les 3 jours d'incubation.

- **Pour *E.coli* :**



	4 c°	20 c°	37 c° 10 min	37 c° 15 min	37 c° 30 min	37 c° 60 min	60 c° 10 min	60 c° 15 min	60 c° 30 min	60 c° 60 min	Stérilisé	Amx
24 h	17	15	0	15	14	0	0	0	13	0	14	17
48 h	17	15	0	15	14	0	0	0	13	0	14	
72 h	17	15	0	15	14	0	0	0	13	0	14	

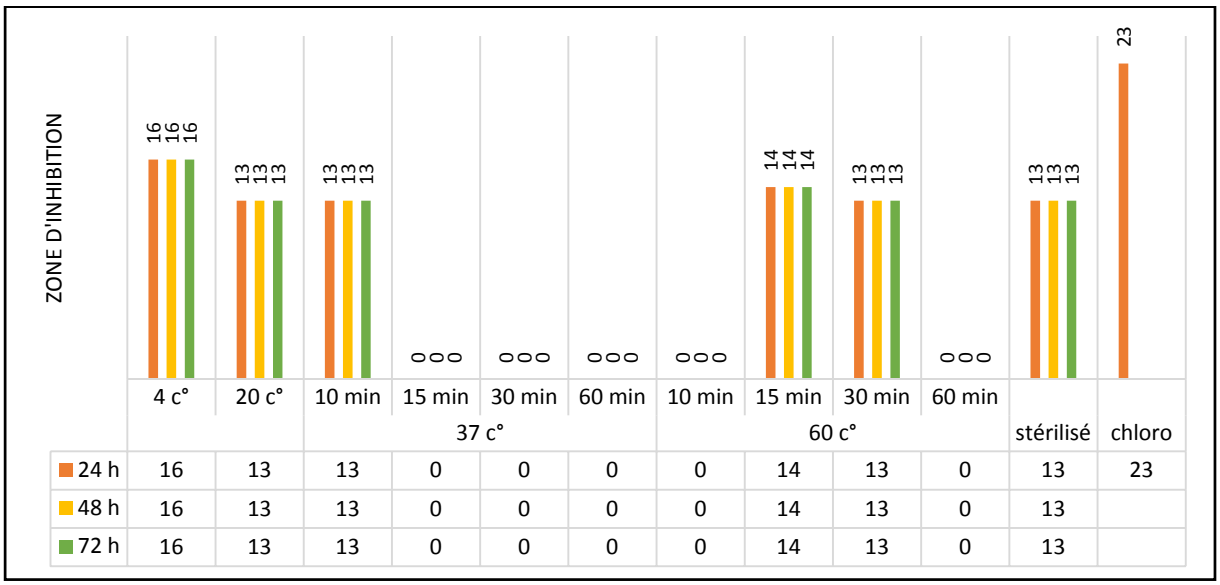
Figure N°27 : Activité de l'UC sur *E .coli* dans différentes T° et durée de chauffage pendant 3 jours d'incubation comparée avec celle de l'Amoxycilline.

-La meilleur zone a été mesurée pour *E. coli* est à 4 c° avec une valeur de 17 mm, suivi par celle à 20 c° (15 mm) et par l'UC chauffée à 37 c° pendant 15 min.

-Des valeurs de 13 à 14 mm sont révélées pour l'UC stérilisée et celle chauffée à 37 c° et 60 c° pendant (30 min).

-Par contre rien à signaler pour 37 c° (10et 60 min) et 60 c° (10 , 15 , 60 min) durant les 3 jours aucun changement n'est constaté.

- **Pour *P.mirabilis* :**



	4 c°	20 c°	37 c° 10 min	37 c° 15 min	37 c° 30 min	37 c° 60 min	60 c° 10 min	60 c° 15 min	60 c° 30 min	60 c° 60 min	stérilisé	chloro
24 h	16	13	13	0	0	0	0	14	13	0	13	23
48 h	16	13	13	0	0	0	0	14	13	0	13	
72 h	16	13	13	0	0	0	0	14	13	0	13	

Figure N°28 : Activité de l'UC sur *P .mirabilis* dans différentes T° et durée de chauffage comparée avec celle du Chloramphénicol pendant 3 jours d'incubation.

-Pour *P. mirabilis* l'UC a donné une activité maximale à 4 c° avec une valeur de 16mm de diamètre.

- Pour l'UC à 20 c°, chauffée à 37 c° (10 min) et 60 c° (15 min et 30 min) et l'UC stérilisée les diamètres se varient de 13 à 14 mm.

-En revanche, les chauffages de 37 c° (15-30-60 min) et de 60 c° (10-60 min) n'ont aucune efficacité .

-Les mêmes valeurs de zones d'inhibition sont remarquées dans les 3 jours d'incubations.

- **Comparaison des 4 souches testées par l'UC à différentes T° durant 3 jours d'incubation.**

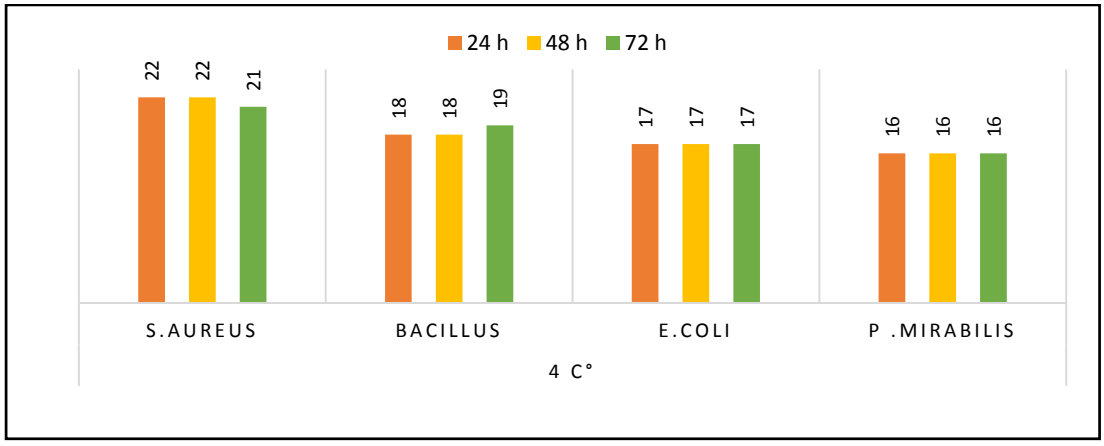


Figure N°29 : Activité de l'UC à 4 C° sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli / P. mirabilis*) pendant 72 h.

Le contact d'UC à 4 c° avec les 4 souches testées a montré une excellente activité sur *S. aureus* suivi par *Bacillus* que sur *E. coli* et *P. mirabilis* durant les 3 jours d'incubation.

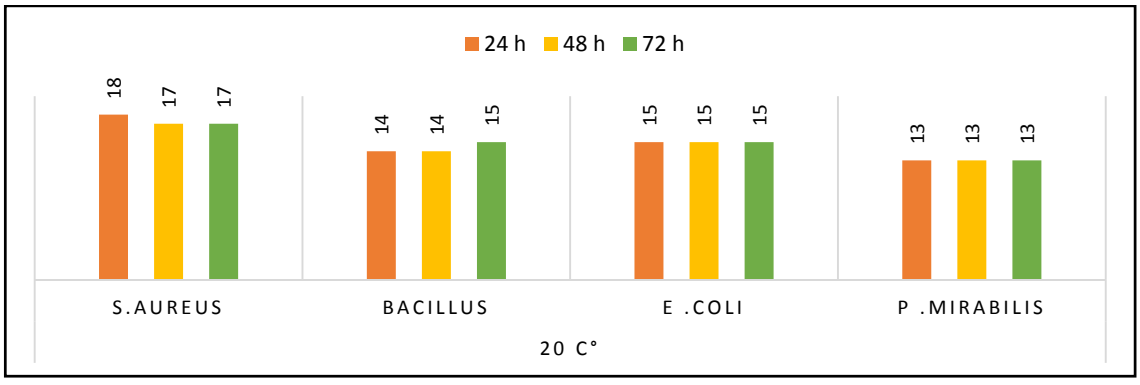


Figure N°30 : Activité de l'UC à 20 C° sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli / P. mirabilis*) pendant 72h.

S. aureus est plus sensible à l'UC à 20c° suivi par *E. coli* puis *Bacillus* par rapport au *P. mirabilis* qui est plus résistante.

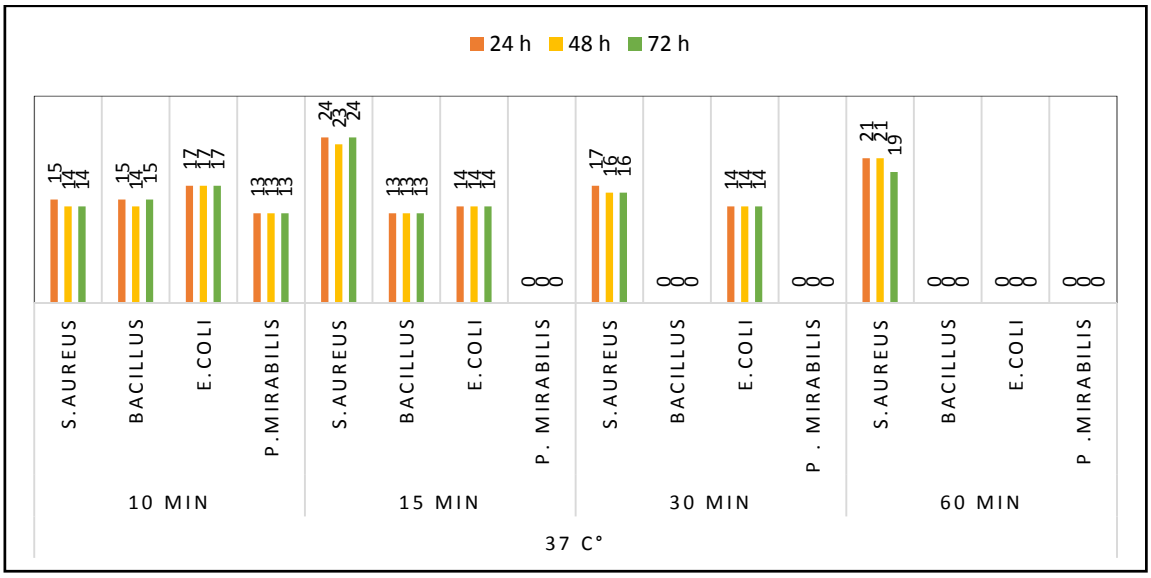


Figure 31 N° : Activité d'UC à 37 c°(10/15/30/60 min) sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli / P. mirabilis*) pendant 72 h.

-L'urine de chamelle chauffée à 37 c° pendant 10 min a donné presque le même effet sur les quatre souches dont les zones se varient de 15 à 17 mm.

-Tandis que un bon effet est remarqué sur *S. aureus* (24 mm) que les *Bacillus* et *E. coli* (13-14 mm) lorsque l'urine est chauffée à 37c °pendant 15 min.

P. mirabilis n'a montré aucune sensibilité.

-L'urine chauffée à 37 c° jusqu'à 30min a donné un effet modéré seulement sur *S. aureus* et *E. coli* par contre, elle ne présente aucun effet sur *Bacillus* et *P. mirabilis*.

-Aucune zone d'inhibition n'est observée pour *Bacillus*, *E. coli* et *P. mirabilis* mise en contact avec l'UC chauffée à 37 c° pendant 60 min sauf que pour *S. aureus* qui a donné une zone d'inhibition d'environ 21 mm. Les valeurs sont peu variables pendant les trois jours.

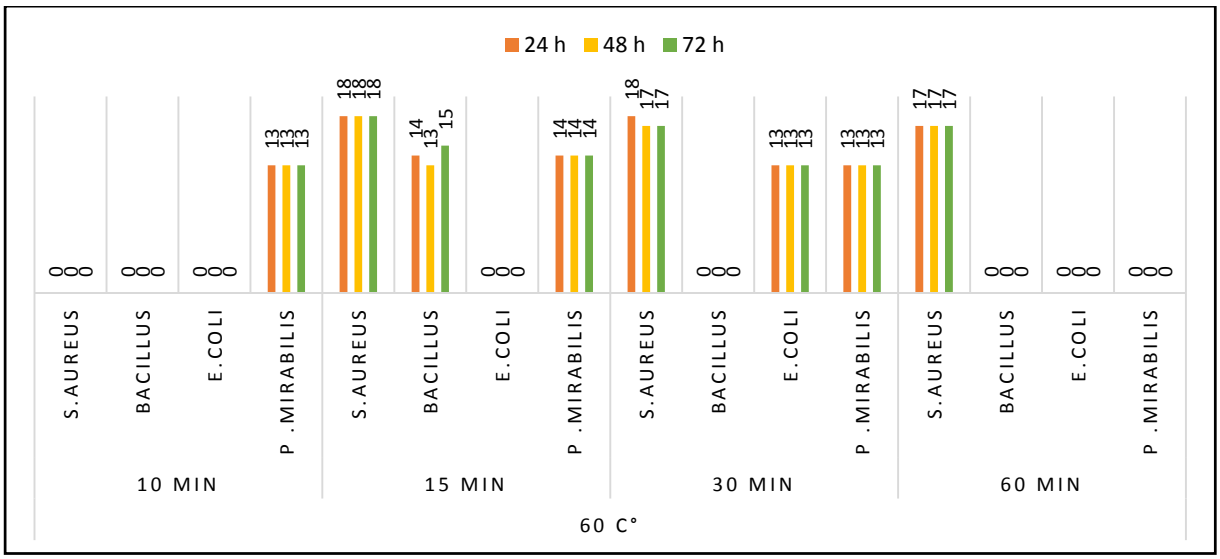


Figure N°32 : Activité d'UC à 60 c°(10/15/30/60 min) sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli/ P. mirabilis*) pendant 72 h.

-Le chauffage de 60c° pendant 10 min n'a donné aucune inhibition de *S. aureus / Bacillus/ E. coli* contrairement au *P. mirabilis* qui a révélé une zone de 13 mm.

-Une zone de 18 mm pour *S. aureus* suivi par *Bacillus* et *P. mirabilis* (15-14mm) et aucune zone pour *E. coli* n'est observée lorsque l'urine est chauffée à la même température pendant 15 min.

-L'UC a gardé son effet sur *S. aureus* et *P. mirabilis* avec un changement de valeurs et non pas sur *Bacillus* mais un effet est apparu sur *E. coli* a ce chauffage de 30 min.

-Lorsque ce chauffage dure 60 min l'UC ne présente aucune activité sur ces souches à l'exception de *S. aureus* qui a révélé une zone de 17 mm.

- Peu de variation durant les 3 jours sont remarquées.

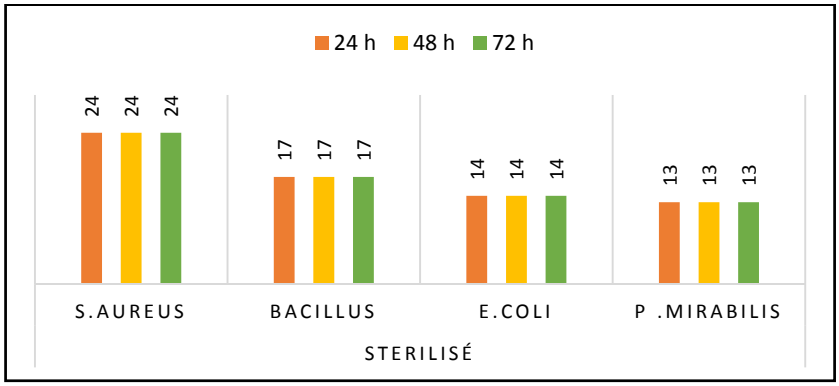


Figure N° 33 : Activité d'UC stérilisée sur (*S. aureus/ Bacillus/ E. coli/ P. mirabilis*) pendant 72 h.

L'UC stérilisée a montré une meilleure activité pour *S. aureus* (24 mm) suivi par *Bacillus* (17 mm) et une moyenne activité sur *E. coli* et *P. mirabilis* dont les valeurs sont de 14 et 13 mm respectivement durant les 72 h.

- **Comparaison des 4 souches testées par l'UC dans les 3 jours d'incubation.**

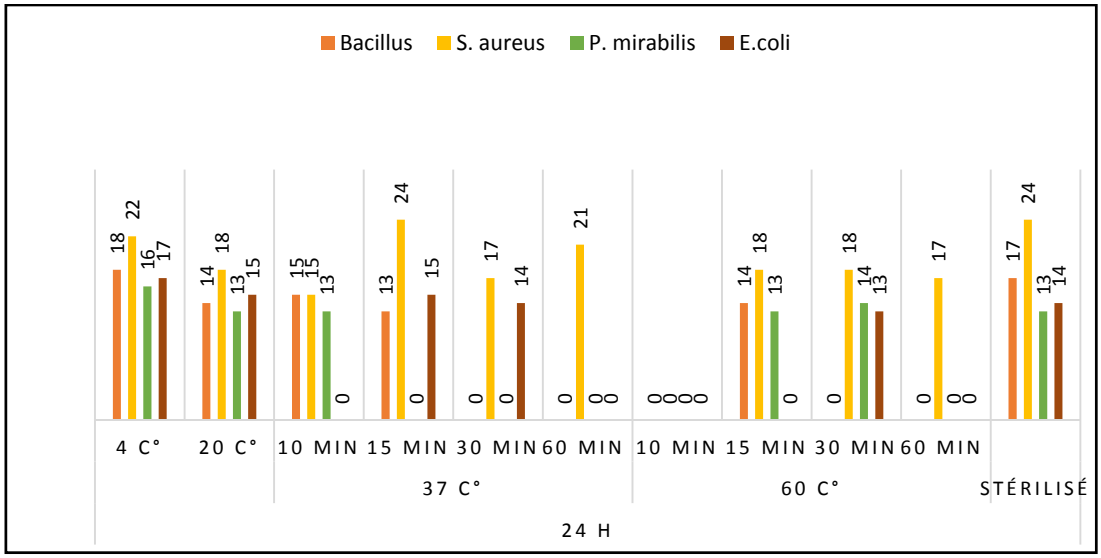


Figure N°34 : Activité d'UC à différentes T° et durée de chauffage sur (*S. aureus/ Bacillus/ E. coli / P. mirabilis*) pendant 24 h.

-Pendant les 24 h d'incubation, pour l' UC à 4C° et stérilisée la meilleure activité a été signalée par *S. aureus* , en second lieu les Bacillus suivi par *E. coli* et en dernier lieu par *P. mirabilis* avec des intervalles allant de (16-22) pour 4c° et (13-24) pour stérilisée.

-A 20c°, les diamètres se décroit de 18 mm pour *S .aureus* jusqu'à 13 mm pour *P. mirabilis*

-A 37 c° pendant 10 min, les trois souches ont donné des zones de 13 -15 mm à l'exception du *P. mirabilis* qui n'a signalé aucune sensibilité.

-A 37c°, le meilleur effet a été enregistré pour *S. aureus* pendant (15 ,30 ,60 min) dont les diamètres atteignent 24 mm.

-Le *Bacillus* a marqué un diamètre de 13 mm seulement à 37 c° pendant 15 min, l'*E. coli* a révélé une zone de 15 et 14 mm pour les chauffages de 37 c° pendant 15 min et de 60 min respectivement.

-Une absence totale de zones d'inhibition de *P. mirabilis* pour les chauffages de 37 c° durant 15, 30 et 60 min.

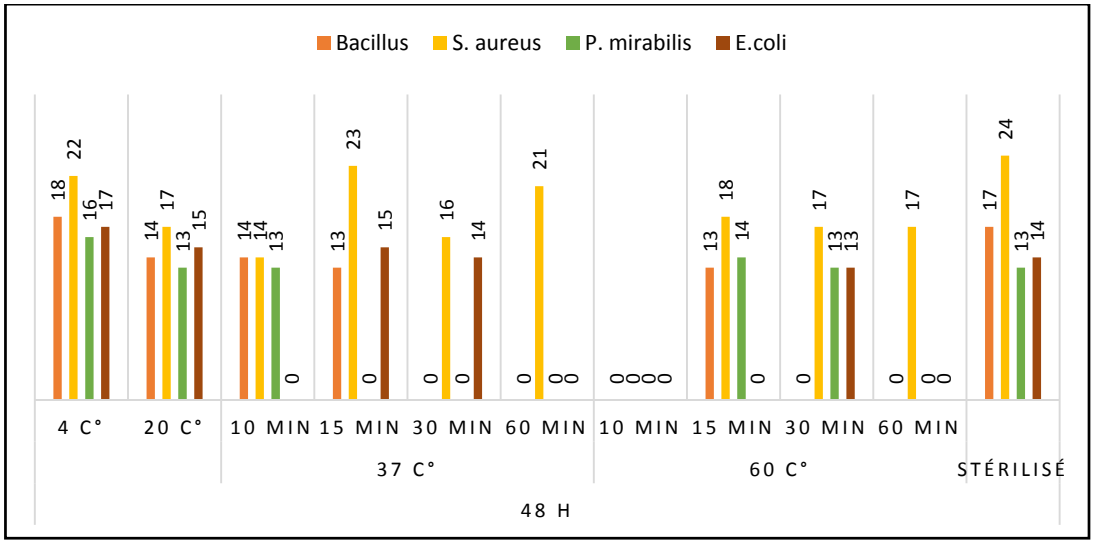


Figure N° 35 : Activité d'UC à différentes T° et durée de chauffage sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli / P. mirabilis*) pendant 48 h**.**

-Pendant les 48 h d'incubation, l' UC à 4C° et stérilisée la meilleure activité a été signalée par S. aureus , en second lieu les *Bacillus* suivi par *E. coli* et en dernier lieu par *P. mirabilis* avec des intervalles allant de (16-22) pour 4c° et (13-24) pour stérilisée.

-A 20c°, les diamètres se décroit de 18 mm pour S .*aureus* jusqu'à 13 mm pour *P. mirabilis* .

-A 37 c° pendant 10 min, les trois souches ont donné des zones de 13 -15 mm à l'exception de *P. mirabilis* qui n'a signalé aucune sensibilité.

-A 37c°, le meilleur effet a été enregistré pour *S. aureus* pendant (15 ,30 ,60 min) dont les diamètres atteignent 24 mm.

-Le Bacillus a marqué un diamètre de 13 mm seulement à 37 c° pendant 15 min, l'*E. coli* a révélé une zone de 15 et 14 mm pour les chauffages de 37 c° pendant 15 min et de 60 min respectivement.

-Une absence totale de zones d'inhibition de *P. mirabilis* pour les chauffages de 37 c° durant 15, 30 et 60 min.

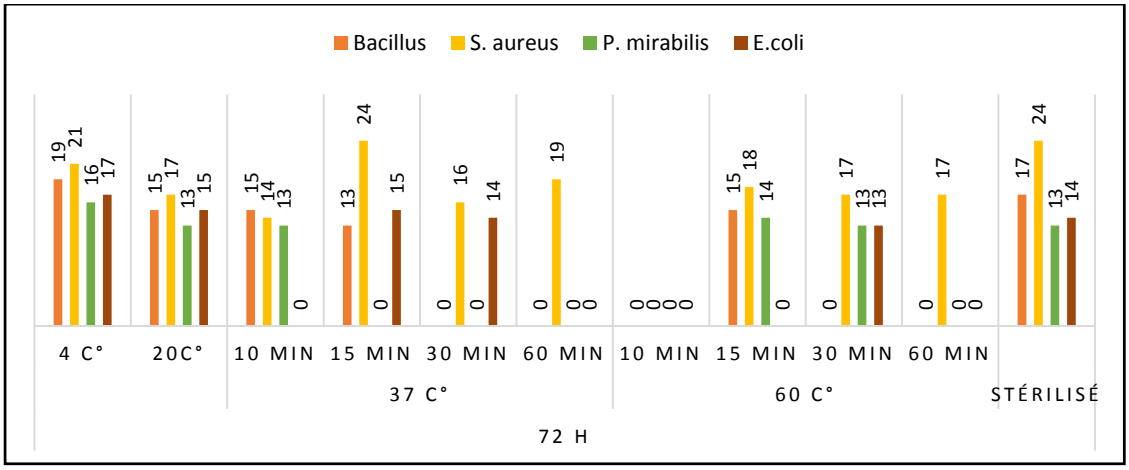


Figure N°36 : Activité d'UC à différentes T° et durée de chauffage sur (*S. aureus/ Bacillus/ E .coli/ P. mirabilis*) pendant 72 h.

-Pendant les 72 h d'incubation, l' UC à 4C° et stérilisée la meilleure activité a été signalée par *S. aureus*, en second lieu les *Bacillus* suivi par *E. coli* et en dernier lieu par *P. mirabilis* avec des intervalles allant de (16-21) pour 4c° et (13-24) pour stérilisée .

-A 20c°, les diamètres se décroit de 17 mm pour *S .aureus* jusqu'à 13 mm pour *P. mirabilis*

-A 37 c° pendant 10 min, les trois souches ont données des zones de 13 -15 mm à l'exception du *P. mirabilis* qui n'a signalé aucune sensibilité.

-A 37c°, le meilleur effet a été enregistré pour *S. aureus* pendant (15 ,30 ,60 min) dont les diamètres atteignent 24 mm.

-Le *Bacillus* a marqué un diamètre de 13 mm seulement à 37 c° pendant 15 min, l'*E. coli* a révélé une zone de 15 et 14 mm pour les chauffages de 37 c° pendant 15 min et de 60 min respectivement.

-Une absence totale de zones d'inhibition de *P. mirabilis* pour les chauffages de 37 c° durant 15, 30 et 60 min.

- **Activité antibactérienne de l'UC sur *S. aureus* après 7, 15, 30, 45 jours de conservation :**

Tableau N°06 : Variation de l'activité antibactérienne d'UC durant 45 jours de conservation à 4c°.

Durée (jours).	**7**	**15**	**30**	**45**
S. aureus	22 mm	17 mm	13 mm	00 mm

L'activité antibactérienne d'UC conservée à 4c°contre *S. aureus* diminue de 22 mm durant la première semaine jusqu'à sa disparition totale après 45 jours donc elle est inversement proportionnelle avec la durée de storage.

III .6/ Activité hémolytique :

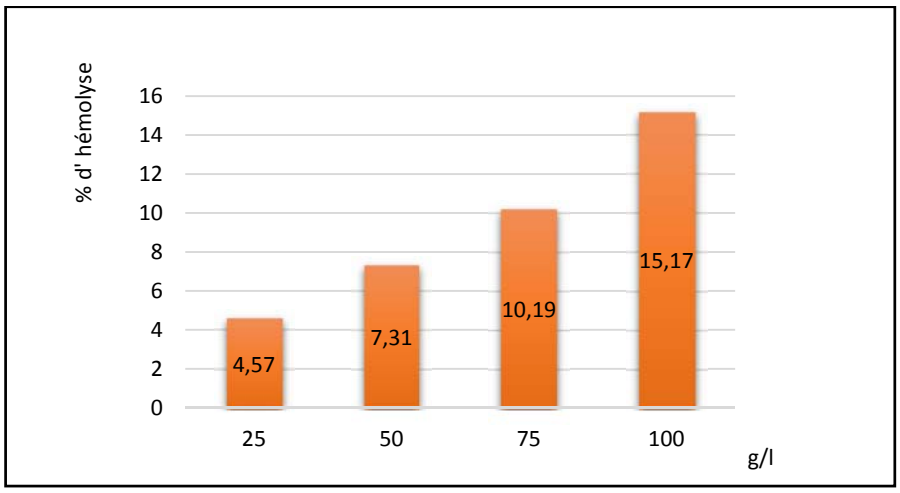


Figure N°37 : Variation du taux d'hémolyse en fonction de différentes concentrations d'UC.

D'après le graphique qui représente l'évolution du pourcentage d'hémolyse en fonction des concentrations d'UC on remarque que le taux d'hémolyse se diminue proportionnellement avec la diminution de la concentration où il atteint 4,57% à concentration d'UC de 25%.

A 10 % aucune activité hémolytique n'a été signalée.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSSION

DISSCUSSION GENERALE :

Le pH de l'urine de chamelle testée dans notre étude est légèrement alcalin due à la forte alcalinité et aux concentrations élevées en potassium, magnésium, protéines albuminées, et aux concentrations faibles en acides urique et créatine **[1]**

Des études antérieures sur les reins de mammifères ont indiqué la capacité du rein à concentrer l'urine qui est liées à trois caractéristiques structurales principales :

La première, apparemment la plus importante est l'épaisseur relative de la médullaire, c'est un indice de la longueur des boucles de Henle qui agissent comme un système multiplicateur contre- courant, et la longueur des vasa recta qui agissent comme un système d'échange à contre-courant**[47].** Il a été constaté que diverses espèces de mammifères variaient directement avec la capacité de produire de l'urine hypertonique.

De plus des coupes prélevées dans la médullaire interne du rein de chameau ont montré que sur crois trop de vasa recta, cette partie était occupé principalement des segments de boucle de Henle et de tubules collecteurs .ceci indique qu'il y'avait beaucoup de néphrons avec de longues boucles, une condition requise pour la production d'urine hypertonique **[33].**

Le rapport entre l'épaisseur corticale et l'épaisseur médullaire et d'environ ¼ **[48],** le rapport du volume du cortex à la moelle peut avoir une plus grande signification fonctionnel en concentration d'urine.

La seconde caractéristique concerne l'architecture du bassin rénale et sa relation avec la médullaire. à ce propos, l'urée pourrait être recyclé à partir de l'urine pelvienne dans des espèces où le bassin rénale est jeté en plis appelés fornices spécialisés. la présence de ces replis permis une association étroite entre l'urine pelvienne et le tissu médullaire ce qui facilite le recyclage de l'urée et par conséquence l'accumulation de la concentration osmotique dans la médullaire **[49].**

La capacité du rein de chameau à produire de l'urine concentrée est en partie due au moins à la morphologie spectral du bassin rénale et de la moelle.

La troisième caractéristique concerne les tubules corticaux **[49].** Le tubule proximal est responsable de la réabsorption de l'eau entrant dans le glomérule **[50].**

Dans le rein de chameau, les tubules corticaux occupaient environ 76.12 ± 2.8% du volume du cortex **[48].**

Le nombre des glomérules dans le rein ne semble pas avoir une influence directe sur sa capacité à produire de l'urine concentré **[51].**

Le nombre de glomérules dans un rein camelin était d'environ $3.6 \pm 0.12 . 10^8$ **[52].**

La glycémie moyenne du dromadaire varie de 3,3 à 7,7 mmol/l **[53],** tous les auteurs qui se sont intéressés à l'évolution de la glycémie chez le dromadaire déshydraté, ont noté une nette augmentation. Pour une privation d'eau de 10 jours, la glycémie augmente de 20 à 80% selon les auteurs alors que la glycosurie est inchangée **[54].**

Suite à une déshydratation de 14 jours, une augmentation de 160% de la glycémie est observé (de 6,2 mmol/l à 16,1 mmol/l), cette hyperglycémie serait due à l'absence de l'élimination rénale du glucose et à la diminution de son utilisation. En effet, lors de la déshydratation, l'insulinémie baisse de plus de 30% **[55].** Le dromadaire déshydraté réduit donc ses pertes hydriques en maintenant une glycémie élevée et une glycosurie pratiquement nulle. L'hypo-insulinémie permettrait de maintenir un métabolisme de base faible en diminuant l'utilisation du glucose **[53].**

L'essentiel de l'urée est réabsorbé au niveau du rein bien que le recyclage commence dans les glandes salivaires et surtout le rumen. En fait, cette réabsorption est étroitement associée à celle de l'eau, ainsi le dromadaire déshydraté même alimenté normalement diminue son excrétion d'urée tant par la voie fécale qu'urinaire. Il a été observé également qu'en l'absence d'urée, la réabsorption de l'eau diminuait **[56].**

La natrémie du dromadaire est plus élevée que celle des autres animaux domestiques, le métabolisme de sodium est fortement influencé par la déshydratation : il y aurait une augmentation simultanée de la natrémie et de la natriurie **[57].**

Cette augmentation s'explique par la diminution de la filtration glomérulaire et de la réabsorption tubulaire du sodium. Après une privation d'eau de 14 jours, une augmentation de la concentration plasmatique de 150 mmol /l à 190 mmol /l est observée **[53].**

La présence d'une leucocyturie dans l'urine de l'être humain et dans l'urine de tous les animaux se traduit généralement par une infection ou une inflammation des voies urinaires, alors que leur présence dans les urines de chamelle est un avantage. Ces derniers peuvent être la source de la production de nanoparticules dans l'UC qui peuvent attaquer les cellules cancéreuses avec succès **[58].**

50% des anticorps circulants dans le sang camelin sont constitués par deux chaines lourdes manquant des chaines légères ce qui fait d'eux un dixième de la taille des anticorps humains, cette taille plus petite leur donne l'avantage d'être transmise par le lait du chamelles

allaitantes et leurs permet également de traversées la barrière hématoencéphalique ou d'être filtrés dans les urines. De plus leurs petites tailles les rendent disponibles pour être absorbés par l'intestin dans la circulation générale des individus qui ont consommés du lait ou de l'urine de chameau **[59].**

Les constituants chimiques et organiques présentant dans l'urine sont à l'origine des propriétés inhibitrices de la croissance bactérienne et fongique **[60].** L'effet bactéricide des produits métaboliques naturels présents dans l'urine avec déférentes quantités (Na, K, urée, nitrogène, créatinine, glucose, calcium, magnésiums, phosphore, acétone, acide urique, protéine, amylase) est montré contre la croissance des bactéries Gram négatif, cette activité peut réfère au composés aromatiques de certains d'entre eux **[61].**

Les espèces végétales préférées broutées par le chameau en Algérie sont *Anabasis articulata, Traganum nudatum, Salsola tétragona* et *Ephédra alata* **[62].**

L'espèce de *Ephédra alata* possède une activité antibactérienne contre *S.aureus* et *E. coli* **[63],** ainsi qu'une forte activité antibacterienne de *Traganum nudatum* sur les deux espèces précédentes **[64].**

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité **[65].** Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des microorganismes **[66].**

Nos résultats sont cohérents avec les travaux portant sur l'évaluation des activités biologiques des flavonoïdes puisque certains d'entre eux ont montré précédemment une forte activité antibactérienne probablement en inhibant le fonctionnement d'enzymes impliquées dans la réplication du pathogène, Ceci pourrait être lié à la nature qualitative et quantitative des composés flavoniques dotés d'un pouvoir antibactérien. En effet, des auteurs ont supposé que certains flavonoïdes appartenant à la classe des flavonols **[67]** des flavan-3-ols**[68].** Provoquent une altération de la membrane cytoplasmique conduisant à sa lyse ou bien l'inhibition de la topo isomérase par les iso flavonoïdes, bloquant alors la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) **[69].**

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSSION

Plus de 80 % de l'alimentation du dromadaire repose sur les plantes dicotylédones qui possèdent plus de molécules extracellulaires comparées avec celles mangées par les bovins, les ovins et les chèvres, aussi une variétés de plantes telle que les thorn, les halophytes et les espèces aromatiques que les ovins et les bovins évitent, le dromadaire broute **[1].**

Ces plantes sont très riches en composés actifs (flavonoïdes, alcaloïdes, terpènes, huiles essentiels, anthraquinones et les phénols) qui sont excrétés dans l'urine et qui sont à l'origine de ses propriétés antimicrobiennes **[1].**

Le traitement d'*E.coli* avec l'UC fraiche provoque l'arrêt de la prolifération des plasmides et donc l'obtention d'un produit des cellules exempt de plasmide, l'exposition continue de ces cellules à l'UC conduit à un second effet : l'impact des cellules tueuses. Ceci va également empêcher la désintégration des cellules bactériennes et par conséquence la mort des cellules bactériennes puis la bactériolyse qui est due à l'apparition des chromosomes bactérien sans plasmides (effet bactéricide) contrairement aux antibiotiques **[70]**.

L'UC crue et celle stérilisé ont le même effet antibactérien avec des zones d'inhibitions presque similaire.

Les résultats de l'analyse statistique de comparaison entre les Gram (positif et négatif) sont significatifs ($p< 0.05$).

La stérilisation de l'UC à l'aide d'un filtre 0.22 µm (l'élimination de la flore résidente sans affecter la composition) a donné un effet antibactérien tandis que la stérilisation par autoclavage n'a donné aucun effet.

L'UC conservée à 4 C° a gardé ces propriétés antibactériennes jusqu'à un mois, au-delà de ce délais ces propriétés vont être perdues.

Les résultats obtenus montrent que le chauffage d'un UC ne détruit pas facilement la totalité de son antibiotique. Pour des UC à 20°C, la valeur antibiotique est moins de celle des mêmes UC frais et stérilisé. Au-dessus de 37°C. L'effet de la chaleur est irrégulier sur le facteur antibactérien ; il semble qu'il se produise alors des modifications biochimiques très importantes dans le UC. Le temps de chauffage est très important ; après une heure les résultats sont presque semblables sur les différents UC.

D'après nos résultats, le facteur antibiotique du UC est presque thermostable et lorsqu'il y a une destruction partielle par chauffage celle-ci est en général très faible même à des températures atteignant 60°C pendant une demi-heure.

Cependant l'interprétation des résultats demande de la prudence ; en effet la variation de la valeur du facteur antibiotique lors du chauffage est influencée par de nombreux facteurs

dont il faut tenir compte : les modifications chimiques des pharmacophores d'après les spectre FTIR (une absence de la bande 1450 cm^{-1} pour les différents UC chauffé), choix du UC (âge de chameau et conditions de conservation, présence plus ou moins importante d'un facteur de croissance, présence d'un facteur modificateur sur certaines bactéries), d'autre part le choix des souches bactériennes et la sensibilité différentielle de certaines bactéries obligent à des mesures très précises.

Les polyphénols et leurs dérivés sont éliminés principalement dans l'urine et la bile **[71]** vue que le chameau est dépourvu de glande biliaire **[30].** Donc la totalité des polyphénols consommé est excrété dans l'urine.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires ont des propriétés antioxydantes, et en particulier la classe des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant par capture directe des radicaux libres, par chélation de métaux de transition comme le fer ou par inhibition de l'activité de la xantineoxydase **[72].**

Le zinc est un élément présent en petite quantité dans l'urine mais joue un rôle important dans l'organisme comme la construction de l'ADN et l'ARN, la production d'énergie, la régulation du système immunitaire et le métabolisme cellulaire. le Zn est un antioxydant qui bloque l'action des atomes d'oxygènes actives qui sont des radicaux libres et des endommageurs de la cellule **[73].**

Le cuivre est présent en trace dans l'urine de chameau intervenant dans plusieurs processus importants **[3]**, des études vétérinaires ont montrées que le cuivre est utilisé pour la maintenance des défenses antioxydantes par le blocage des actions des atomes d'oxygènes activés connus comme radicaux libres pouvant endommager les cellules **[74].**

L'effet synergétique augmente en cas d'association et concentration de plusieurs facteurs antioxydants en mélange dans un système biologique que dans le cas où ces molécules existent pures **[75].**

L'hémolyse est la destruction ou l'enlèvement des globules rouges dans la circulation avant leur durée de vie normale (120 jours), il existe deux mécanismes d'hémolyse : Hémolyse extravasculaire est l'élimination et la destruction des globules rouges avec des altérations de la membrane par les macrophages, de la rate et du foie. L'hémolyse intravasculaire est la destruction des globules rouges dans la circulation avec la libération du contenu cellulaire dans le plasma, des agents infectieux peuvent provoquer une dégradation de la membrane et la destruction directe des cellules **[76].** Parmi ces agents c'est les radicaux libres **[77].**

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSSION

Le test d'hémolyse in vitro a été réalisé pour tester les contres indications de l'utilisation thérapeutique d'UC.

Nos résultats ont démontré un faible taux d'hémolyse ce qui explique l'absence du risque en cas d'utilisation. De plus, son activité antiradicalaire contribue à la maintenance de ces cellules contre la destruction.

Conclusion et perspectives :

La présente étude a pour objectif de déterminer les caractéristiques biologiques de l'urine de chamelle.

La composition biochimique des urines de chamelle leur a conféré des particularités en le comparant avec celles des autres animaux herbivores par la présence d'un taux élevé de protéines (20 g/mol), l'absence d'ammoniac qui est présent dans l'urine de l'Homme et le responsable de sa toxicité. Son absence dans l'urine de chamelle rend son utilisation thérapeutique sans effet indésirable. Les polyphénols et les flavonoïdes sont responsables d'une activité antiradicalaire plus élevée que la vitamine C jusqu'à 18 fois, à l'instar de quelques composés inorganiques comme le zinc et le cuivre qui sont dernièrement prouvés comme agents antioxydant et qui rendent ces urines très efficaces dans l'éradication des maladies causé par le stress oxydatif telle que le cancer.

L'urine de chamelle crue, à 20C°, chauffée à 37 C°, 60 C°, et stérile a donné une activité antibactérienne pour toutes les souches testées :

-Pour *S. aureus* les meilleures zones sont marquées pour l'UC crue, 37 C° et stérile suivi par l'UC à 20 C° et à 60 C° (18-24 mm).

-Pour *Bacillus sp* l'UC crue et stérile ont donné les meilleures zones d'inhibition par la suite l'UC à 20 C° , 37 C° et 60C° (15-19 mm).

-L*'E. coli* a révélé des meilleures zones d'inhibition pour l'UC crue , 37 C° suivi par l'UC à 20 C°, 60 C° et stérile (17-13 mm).

-*P. mirabilis* a donné des meilleures zones pour l'UC crue , 60 C° suivi par l'UC à 20 C° , 37 C° et stérile (16-13 mm).

D'après nos résultats, le facteur antibiotique du UC est presque thermostable et lorsqu'il y a une destruction partielle par chauffage celle-ci est en général très faible même à des températures atteignant 60°C pendant une demi-heure.

L'urine stérilisée a donné presque le même effet que celui de l'urine crue, Les mêmes zones d'inhibitions restent presque constantes durant les 3 jours d'incubation.

Les résultats de comparaison entre les souches Gram positif et négatif issus d'une analyse statistique sont significatifs ($P< 0,05$).

Les résultats de stérilisation d'UC ont été révélés à partir d'une stérilisation par filtration (0.22 µm) par contre l'autoclavage rend l'UC sans effet ainsi qu'une durée de conservation passant un mois.

L'UC est dépourvue d'effets secondaires, cela est confirmé par son faible potentiel d'hémolyse qui leur a fait sans risque dans le cadre d'urinothérapie. De plus, elle participe dans le piégeage des radicaux libres considérés comme agents destructifs des globules rouges.

Les résultats obtenus dans notre travail et d'autres études antérieures ont permis de comprendre l'avantage de sa prescription par notre prophète.

L'urine de chamelle est restée limiter à l'utilisation traditionnelle comme remède malgré sa disponibilité et son faible coût ainsi sa non toxicité prouvée, donc il faut élargir le spectre de son étude en purifiant son principe actif et de l'utiliser seul comme un antibiotique ou combiné avec d'autres antibiotiques, de bien comprendre son mode d'action et le suivre in vivo.

REFERENCES :

1- AL AWADI. A, AL JUDAIBI. A (2014): Effects of heating and storage on the antifungal activity of camel urine. Journal of Clinical Microbiology, 3:6.

2- MOSTAFA M.S, DWEDAR R.H (2016): Antimicrobial activity of camel's urine and its effect on multidrug resistant clinical bacterial and fungal Isolates. British Journal of Pharmaceutical research, 13(4):1-6.

3-AHMED S.R, AL HAIDAR. A, RAISH. M, SHAKEEL. F (2017): Metabolomic and elemental analysis of camel and bovine urine by CG-MS and ICP-MS. Saudi Journal of Biological Sciences, 24(1) 23-29.

4-SILVERTON N (2007).

5-MOKASA –MUGARWA (1981): The camel (*Camelus dromedarius*) a bibliographical Review.

6-FARAH. Z (1993): Composition and characteristics of camel milk. Journal of Dairy Res, 601: 603-626. Et OULD AHMED. M (2009) : Caractérisation de la population des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie. Thèse de DOCTORAT en Sciences agronomiques. Institue National Agronomique de Tunisie.

7-WARDEH (1989), CHAHMA (1996) cités par DEHAN K (2010) : Evaluation de la production de viande cameline et estimation des poids dans la caummune de Metlili. Thèse de DOCTORAT en Sciences agronomiques.

8-CORRERA .A (2006) : Thèse de DOCTORAT en Ecologie et Gestion de la Biodiversité, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

9-FAYE B, SAINT-MARTIN G, BONNET P, BENGOUMI M, DIA M.L (1997): Guide de l'élevage du dromadaire. édition Sanofi, Libourne 126p.

10-FAO (2009) : Camel milk.

Retrivied from : http// WWW.FAO.org/ag/againfo/Theme/en/Dairy Camel.

11- SKIDMORE J.A (2005): Reproduction in dromedary camels: an update. Anim. Reprod 2 N°3:161-171.

12-KARAY. N, LOPEZ .C, LISIER. P, OLLIVON. M, (2004) : Dromedary milk fat, thermal and structural properties ; 1 cristalline forms obtained by slow cooling, lait 84: 399- 416. Et CORRERA. A (2006) : Thèse de DOCTORAT en Ecologie et Gestion de la Biodiversité, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

13-RAHLI F (2015) : Valorisation du lait de chamelle par l'exploitation des potentialités technologiques des bactéries lactiques isolées localement. Thèse de DOCTORAT en Microbiologie appliquée.
14-BEN AISSA .R (1989) : Le dromadaire en Algérie; option méditerranéenne. Série N°2, P 19 ,20 et 25.
15-BEN AISSA .R (1989) : Le dromadaire en Algérie; option méditerranéenne. Série N°2, P 19 ,20 et 25. Et TITAOUINE. M (2006) : Considération zootechnique de l'élevage du dromadaire dans le sud -est algérien, influence du sexe, de la saison sur certains paramètres sanguins. Thèse de MAGISTERE en Sciences vétérinaires, UEL Hadj Lakhdar Batna P32.
16-OUELD BELKHIR cité par DEHAN K(2010) : Evaluation de la production de viande cameline et estimation des poids dans la caummune de Metlili. Thèse de DOCTORAT en Sciences agronomiques.
17-GAUTHIER-PILTERS (1977) : Contribution à l'étude de l'écophysiologie du dromadaire en été dans son milieu naturel (moyenne et haut Mauritanie). Bull inst fondam AFR noire, 39 (2) 385-459.
18-GAUTIER –PILTERS, DAGG .A.I (1981): The camel: its evolution, ecology behavior and relationship to man .Chicago, university of Chicago presses 208 P.
19-YAGIL. R (1982) : Camels and camel milk. Rome FAD 69P (FAD animal production and health paper : 26).
20-MAXWELL DARLING R. C (1938) : Notes on the food of camels on the red sea coast and in north-eastern Kordofan. Sudan notes Rec .21 P189-195.
21-LEESE A.S (1927) : A treatise on the one humped camel in health and disease. Stamford (lincs) Haynes et fils, 382P.
22-KAYOULI .C, DARDILAT.C, JONNAY .J .P, TISSERAND.J .L (1995) : Particularités physiologiques du dromadaire : conséquences sur son alimentation ; options méditerranéennes, série B études et recherches 13 :143-155.
23-KAYOULI .C; JONNAY .J.P, BEN AMOR.J (1991) : Comparison of microbial activity in the forestomachs of the dromedary and the sheep measured in vitro and sacco on mediteranean roughags. Anim. Feed .Sci .Tech .237-245.
24-GIHAD E.A, EL-GALLAD T, SOOUD A.E, ABOU ELNASR, FARID M.F.A (1989): Feed and water intake, digestibility and nitrogen utilization by camels compared to sheep and goats fed low protein desert by products. J.L.Tisserend edition, Ouargla, Algérie. Options méditérraniennes. A(2):75-81.

25-PAYRE DE FABREGUES B (1989) : Le dromadaire dans son milieu naturel. Rev.Elev.Med.Vet.Pays trop 42,127-132.

26-DJELLOULI M .S (1991) : Productivité et Socio-économie des élevages camelins

En Tunisie. Thèse Med. Vet: Tunis, 20.

27-SCHMIDT-NIELSEN (1995) : Animal physiology adaptation and environment. 5th edi.

Cambridge university press.

28-COLE D.P (1975): Nomads of the nomads, the almurrah Bedouin of the Empty quarter. Chicago, Aldine publishing co. 179p.

29-BENGOUMI. M, FAYE. B, DE LA FARGE .F, OLSEN W. G, RIO A .G (1997) : Clinical enzymology in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*) part 1: Enzyme activities and distributions of ASAT, ALAT, GGT, AP and LDH in liver kidney, muscle, myocardium and blood, Journal of Camel Pract Res, 4, 19- 23.

30- GRECH –ENGELINI S.J.C (2007) : Effet de la déshydratation sur le métabolisme énergétique et sur l'état corporel du dromadaire (*Camelus dromedarius*). Thèse de DOCTORAT en Vétérinaire.

31-SCARAMELLA D, CIANCI D, MACCHIONI G, (1989) : *Il Camelo*. Edizioni Agricole, 211p.

32-TAYEB M.A.F (1948) : Urinary system of camel, Journal of American Vet. Med association 113, 568-578.

33-NIELSEN- SCHMIDT. B (1964): Organ system in adaptation the excretory system in handbook of physiology CH 13 (edition D.B, DILL E.F, ADOLF and WILBER C.G Washington DC, American physiological society).

34-FAYE B cité par TAYEB M.A.F (1948) : Urinary system of camel. Journal of American Vet. Med association 113, 568-578.

35-READ B.E (1925) : Chemical constituents of camel's urine, Journal of Boil .Che, 64: 615.

36-SCHALLER C T, RAZANAMAHAY J (2011) : Le jeune holistique.

37- CHATT A (2012) : Etude analytique et comparative des termes zoologiques arabes relatives à la biologie des chameaux : cas du dictionnaire LISAN AL'arab. Thèse de DOCTORAT en Sciences et Techniques.

38-SCHALLER CT, RAZANAMAHAY J (2007) : Urinotherapie : Amorali, la découverte d'une écologie intérieure.

39-HARALD T (2002): Urine, the holy water 3eme edition.

40- SCHALLER C T, RUEL P (1996) : Délivrez vous de vos rhumatisme.

41-AL YOUSSEF N, GAAFAR A, ALOTAIBI B, ALJAMMAZE I, ALHUSSEIN K, ABOUSSEKHRA A (2012) : Camel urine components display anticancer properties in vitro. Journal of Ethnopharmacology 143:819- 825.

42-ALHAIDAR A, ABDELGADER A.G, MOUSA S.A (2011): The antiplatelet activity of camel urine. Journal of Altern. Complement, Med a, 17(9):803-808.

43-El BASHAN M.M (2011): In vitro assessment of the antimicrobial activity and biochemical properties of camel's urine against some human pathogenic microbes .Middle- East Journal of Scientific research, 7(6):947-958.

44-HAMDOUCHE C, TABAL A (2016) : *Proteus mirabilis* au niveau CHU. Constantine caractérisation biochimique, microbiologique et mutagenèse .Thèse de MASTER en Génétique moléculaire.

45-ARMELLE M (2007) : Action inhibitrice d'extrait de *Terminalia superba* sur des Souches d'*Escherichia coli* productrice de B-lactamases; propriétés biochimiques des B-lactamases. Thèse de DOCTORAT en Pharmacie.

46-BOUBEKRI C (2014) : Etude de l'activité antioxydante des polyphénoles extraits de *Solanum melongena* par des techniques éléctrochimiques. Thèse de DOCTORAT en Sciences.

47- SCHMIDT-NIELSEN B, O'DELL R (1961): Structure and concentrating mechanism in the mammalian kidney. Am J Physio, 200:1119-1124.

48-DUNNILL M.S, HALLEY W (1973) : Some observations on the quantitative anatomy of the kidney. Journal of Pathology, 110 : 113-121.

49-PFEIFFER E.W (1968) : Comparative anatomical observations of the mammalian renal pelvis and medulla. Jornal of anatomy, 102: 321-3311.

50-DRAMADY E.M, OFFER J, PRINCE J, FAY S (1963): The proximal convoluted tubule in the renal handlig of water. Proceeding of the International Congress of Nephrology, p461-462. New York: Czechoslovak Academy of Sciences and Exerpta Medica Foundation.

51-SMITH H.W (1951): The kidney: Structure and fonction in health and disease. P570, New York: Oxford University Press.

52-MUNKATSI I (1964) : The vascular and tubular structure of the mammalian kidney in relation to water conservation. Ph. D. Thesis, University of Khartoum.

53-.BENGOUMI M (1992): Biochimie clinique du dromadaire et mécanismes de son adaptation à la déshydratation. Thèse de DOCTORAT en Sciences agronomiques, IAV Hassan II.

54-BERLYNE G, SHAINKIN-KESTENBAUM R, SHARMA K, SHEKHAWAT V (1978): Renal physiology of the dromedary camel. Nippon Jinzo Gakkai Ski, 9, 1015-1021.Et BANERJEE S, BHATTACHARJEE R (1963): Distribution of water body in the camel. Am.J.

55-BERLYNE G, SHAINKIN-KESTENBAUM R, SHARMA K, SHEKHAWAT V (1978): Renal physiology of the dromedary camel. Nippon Jinzo Gakkai Ski, 9, 1015-1021.

56-FAYE B (1997): Guide de l'élevage du dromadaire. Ed. Sanofi, Libourne, 126p.

57-DJEGHAM M, BELHADJ O (1986) : Comportement de thermorégulation et résistance à la privation d'eau chez le dromadaire: variations saisonnières des profils biochimiques ethématologiques. Maghreb Vet, 10, 11-16.

58-KHORCHID F.A, AHMED G.A, KUMOSANI T.A (2010): FT-IR Spectroscopy of A549 cells Treated with PMF: Structural changes in DNA and cell membrane.

59-HAMERS CASTERMAN C, ATARHOUH T.M, UYLDERMANS S, ROBINSON G (1993) : Naturally occuring antibodies devoid of light chaines. Nature, 363: 446-448.

60- HASSAN A, AL-ABDULLAH A (2010): The inibitory effect of camel's urine on mycotoxines and fungal growth. African Journal of Agriculture Research, 5(11) 1331-1337.

61- EL-SHAHAWI A, ELSAWI N.M, BAKER W.A, KHORCHID F, GEWEELY N (2010): Spectral analysis, molecular orbital calculation and antimicrobial activity of PFM-G fraction extracted from PM70. International Journal of Pharma and Bio Sciences, V1 (2).

62- LAKHDARI K (2016) : Etude écologique sur le dromadaire: pâturage, choix instinctif des aliments et qualité de fourrage sélectionnée (cas de la région d'el Hadjira, Wilaya de Ouargla).Thèse de DOCTORAT en Sciences biologiques.

63-KEBILI Z (2016) : Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des extraits d'*Ephedra alata* de la région d'Ouargla .Thèse de MAGISTERE en Biologie.

64-العابد إبراهيم، غراف نور الدين، يوسفي محمد (2011) : دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للاكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *Treganum nudatum*.حوليات العلوم و التكنولوجيا ،3(1).

65-COWAN M.M (1999): Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbio. Rev, 12 : 564-582.

66-SCALBERT A (1991): Antimicrobial properties of tanins. Phytochemistry (Oxford), 30(12) :3875-3884.

67-CUSHNIE T.P.T, LAMB A.J (2005): Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. Journal of Ethnopharmacology, 101: 243-248.

68- SIRK T.W, BROWN E.F, SUU A.K, FRIEDERMAN M (2008): Molecular dynamics study on the biophysical interactions of seven green tea catechins with lipid bilayers of cell membranes, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 7750-7758.

69- Gradisar H, Pristovsek P, Plaper A, Jerala R (2007) : Green tea catechins inhibit bacterial DNA gyrase by interaction with its ATP binding site. Journal of Medicinal Chemistry, 50: 264-271. Et WANG D, TANG W, YANG G.M, CAI B.C (2010): Anti-inflammatory, Antioxidant and Cytotoxic Activities of flavonoids from *Oxytropis falcate* Bunge. Chinese Journal of Natural Medicines, 6(8): 461-465.

70-SHOEIB A, BA-HATHEQ A (2008): Electromicroscopic Study of Camel Urine Effect on the Morphology of Some Human Pathogenic Bacteria. Comparison with the Antibiotic Cefuroxime. Saudi Journal of Biolo. Sci, 15**,** 119-125.

71-MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, REMESY C, JIMENEZ L (2004): Polyphenols: foud sources and bioavailability. The American Journal of Clinical Nutrition, 79(5) :727-747.

72-LI A.N, LI S, ZHANG Y.J, XU X.R, CHEN Y.M, LI H.B (2014): Resources and biological activities of natural polyphenols. Nutrients, 6; 6020-6047.

73- CLEMONS T.E, KURINIF N, SPERDUTO R.D, AREDD Research Group (2004): Associations mortality with ocular disorders and an intervention of high dose antioxidanta and Zinc in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS Report No. 13. Archophthalmol, 122(5) : 761-26.

74- ARAYA M, OLIVARES M, PIZARRO F (2005): Supplementing copper at the upper level of the Adult dietery recommended intake induces detectable but transient changes in Healthy adults. J Nutr, 135: 2367- 2371.

75- LIU D, SHI J, IBARRA A.C, KAKUDA Y, XUE S.J (2008): The Scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C and b-carotene mixtures on the DPPH free radical. Food Science and Technology, 41:1344-1349.

76- DHALIWAL G, CORNETT P.A, TIERNEY L.M (2004): Hemolytic anemia. American Family Physician, 69(11) 2599- 2606.

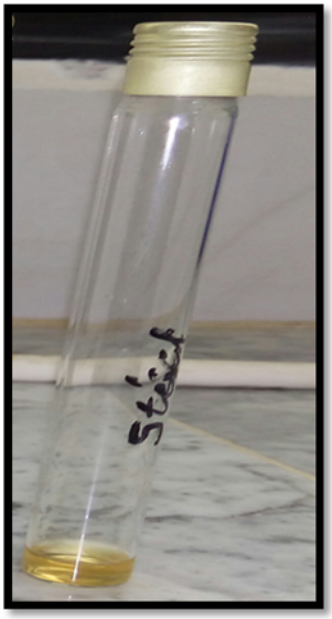
77- LIU Z, HAN K, LIN Y. LUO X (2002): Antioxidative or prooxidative effect of 4-hydroxyquinoline derivatives on free-radical-initiated hemolysis of erythrocytesis due to its distributive status. Biochimica et Biophysica Acta, 1570; 97-103.

ANNEXES

Annexe 1 : Matériel biologique utilisé dans ce travail

- L'urine de chamelle





- Confirmation de la souche *P.mirabilis*



- **Antibiogramme des souches**

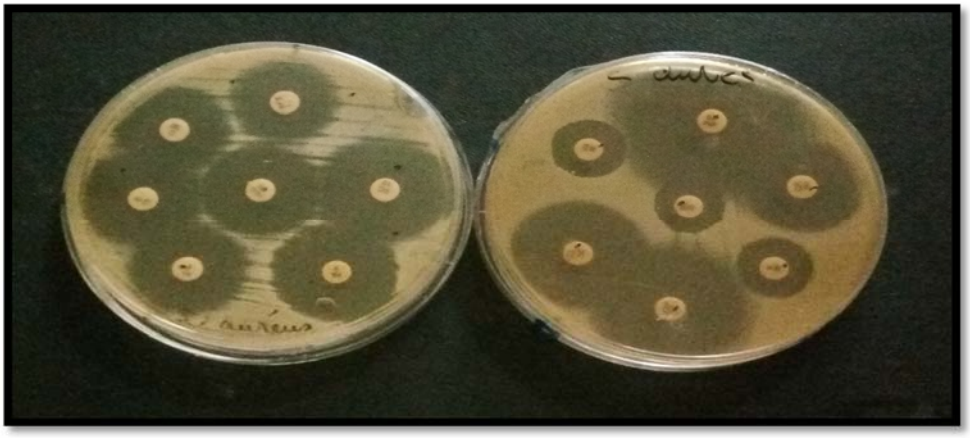
Tableau : Zones d'inhibition (mm) de *S.aureus et Bacillus* par une dizaine d'antibiotiques.

Disques d'antibiotique (µl).	***S.aureus***	**Disques d'antibiotique (µl).**	***Bacillus sp***
Pristinamycine (15)	27	Amoxicilline(25)	26
Rifampicine (5)	27	Céftriaxone(30)	22
Acide Fusidique (10)	30	Colistine(10)	15
Oflaxocin (5)	25	Amoxyclave(30)	13
Chloramphénicol (30)	25	Amykacine(30)	30
Erythromycine (15)	25	Gentamycine(10)	38

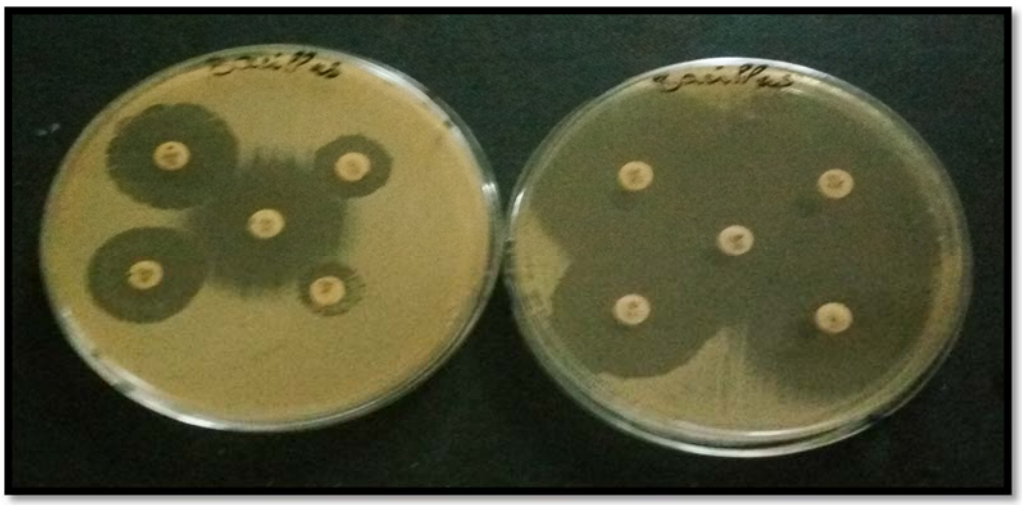
ANNEXES

Gentamycine (120)	27	Céfotaxime(30)	50
Kanamycine (30)	16	Céfazoline(30)	22
Tétracycline(30)	30	Fosfomycine(200)	50
Vancomycine (30)	16	Cotrimoxasasol(25)	Sensible
Teicomplanin (30)	15		
Imipenème (10)	46		
Ofoxitin (30)	26		
Céphalotine (30)	32		

**S.aureus*



**Bacillus sp*



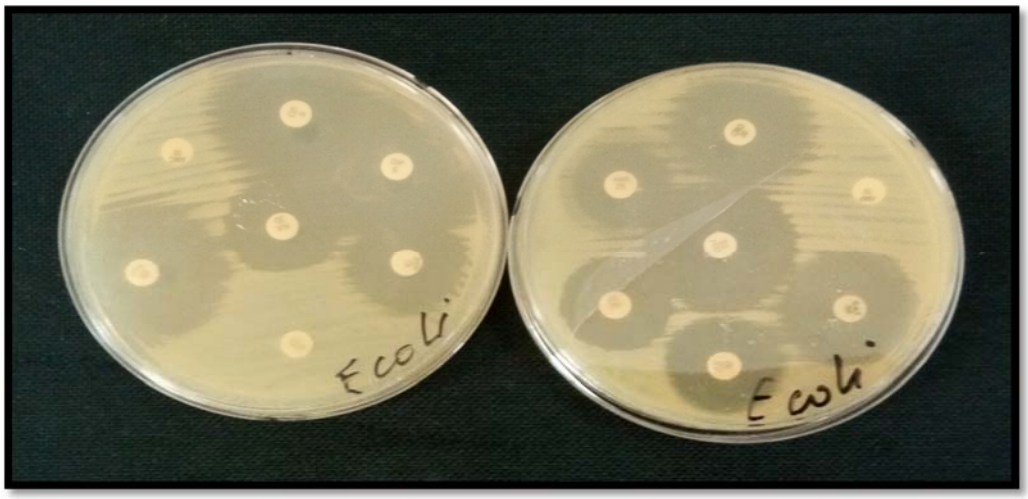
ANNEXES

Tableau: Zones d'inhibition (mm) *d'E.coli et P.mirabilis* par une dizaine d'antibiotiques.

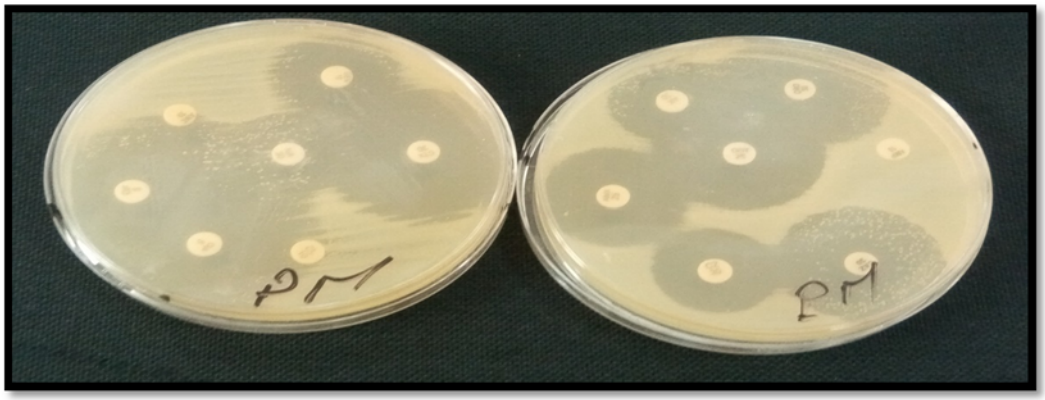
Disques d'antibiotique (µl).	***E.coli***	***P.mirabilis***
Ceftazidime (30).	29	33
Céfazoline (30).	24	23
Amycacine (30).	22	26
Amoxicilline (25).	21	28
Cotrimoxasasol (25).	32	33
Ampicilline (10).	00	00
Ceftriaxone (30).	27	35
Gentamicine (10).	24	25
Colistine (10).	00	00
Céfotaxime (30).	35	40
Amoxicilline+acideclavulanique (30).	00	00
Ofloxacine (5).	34	32
Cépofloxacine (5).	38	34
Acide nalidixique (30).	24	26

ANNEXES

**E.coli*



**P.mirabilis*



Annexe 2 :matériels non biologique

*Bain marie

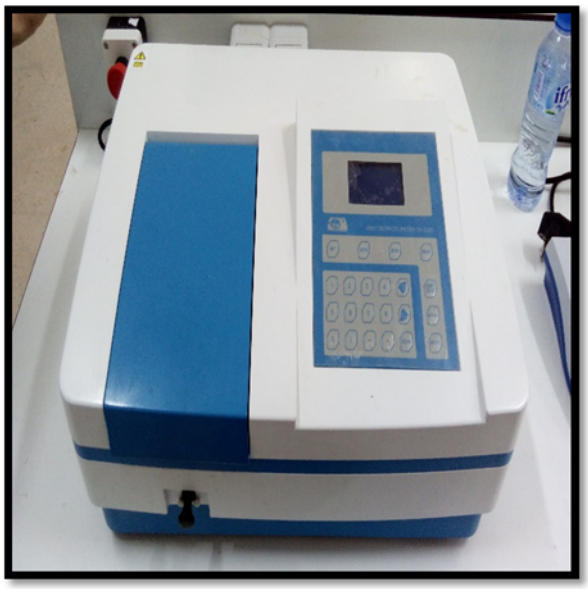


*Etuve



ANNEXES

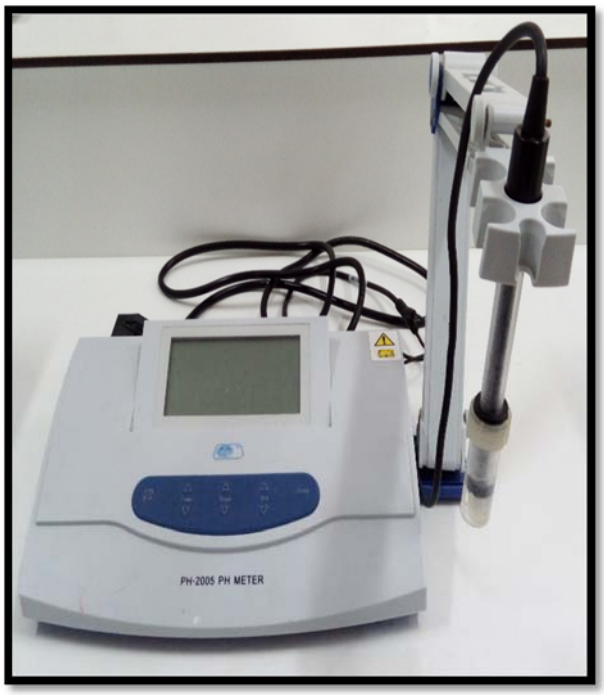
*Spectrophotomètre



* Centrifugeuse



*PH mètre

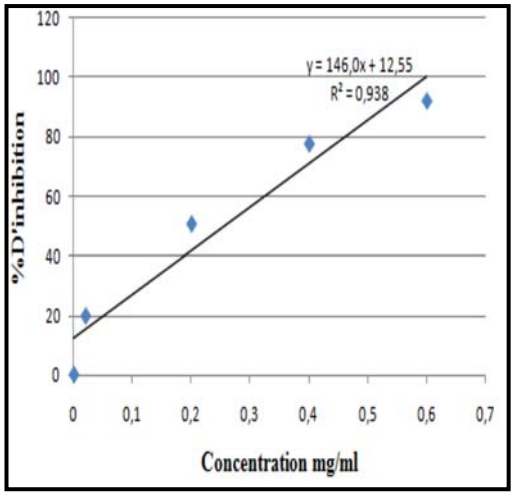


*Bandelettes DIAG-SANTE

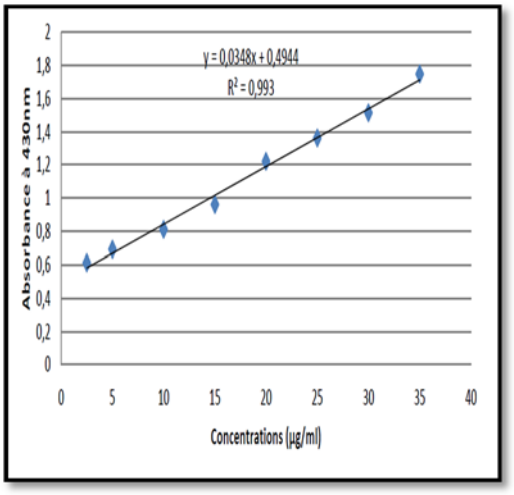


Annexe 3 :résultats biochimique.

*Courbe d'étalonnage de Vit C



*Courbe d'étalonnage de Quercitine.

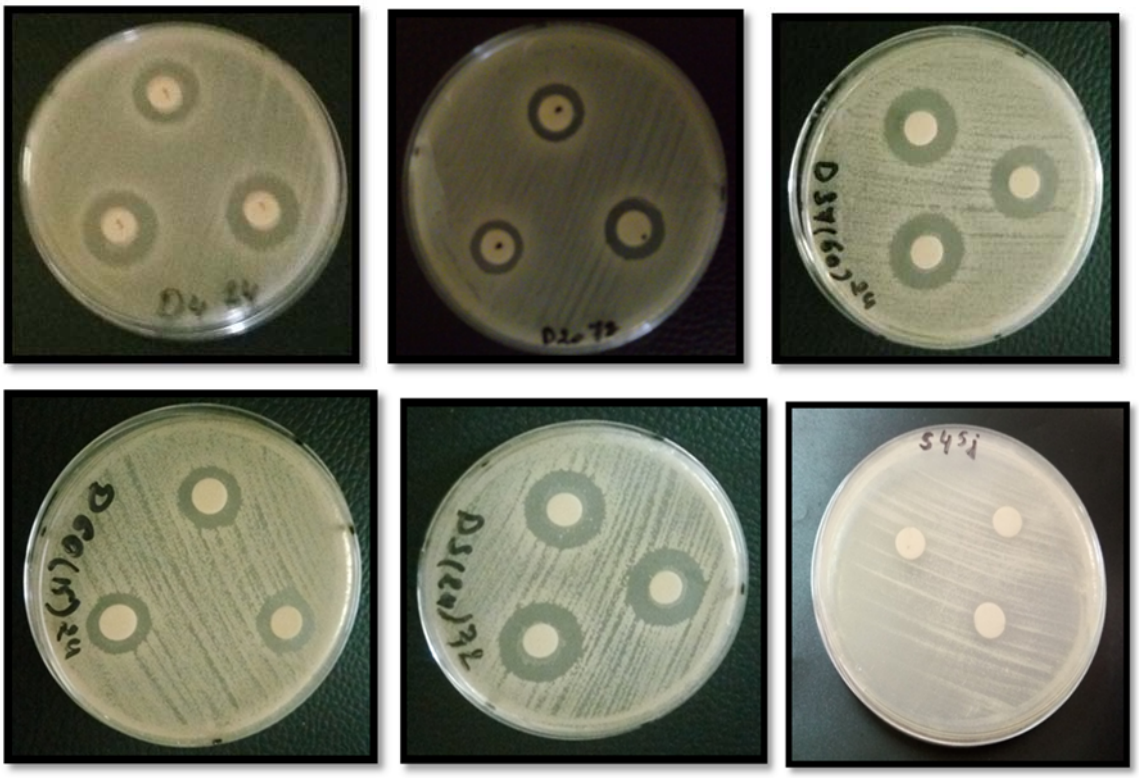


*concentration de l'activité hémolytique.

CONCENTRATION	ABSORBANCE	POURCENTAGE
100	0,521	15,17
75	0,412	10,19
50	0,349	7,31
25	0,289	4,57

Annexe 4 : Résultat microbiologique.

*****_S.aureus_



Annexe 5 :Analyse statistique

Effect	Multivariate Tests of Significance (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
	Test	Value	F	Effect df	Error df	p
Intercept	Wilks	0,001409	236,2518	3	1,000000	0,047781
Halo 2	Wilks	0,001728	1,9007	15	3,161959	0,320189

ANNEXES