

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة محمد بوضياف/المسيلة
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF DE M'SILA



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE ET BIOCHIMIE
MEMOIRE : MASTER ACADEMIQUE
FILIERE : BIOLOGIE
OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Présenté par
Benaissa Walid et Fardjaoui Assala

Thème :

*Evaluation de l'activité antivenimeuse in vivo
d'Artemisia campestris L*

DEVANT LE JURY :

Bouaziz Samia
Cherif Kamel
Harrar Abdenassar
Boudrissa Abdelkrim

Encadreur
Examinateur
Examinateur
Co-encadreur

Promotion : 2019-2020

Remerciements

Nous tenons à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué au succès de ce travail et qui nous aidés lors de la rédaction de ce mémoire.

Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre directrice de mémoire MM. **BOUAZIZ SAMIA** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.

Nous adressons nos remerciements à Mr. **CHERIF KAMAL**, pour avoir accepté d'examiner ce travail, ainsi que pour ses encouragements.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mr. **HARRAR NACER** ; pour avoir accepté d'examiner ce travail ainsi que pour ses conseils qui ont guidé nos réflexions.

Nos Remerciements vont également à Mr **BOUDRISSA Abdelkrim** Directeur de l'institut pasteur de M'sila d'avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire ainsi que pour ses conseils fructueux.

Aussi nous remercions professeur **BOUDJELAL AMEL** et Dr. **CHERIEF NOUREDDINE** pour leurs aides pour l'obtention de l'acceptation de directeur de l'institut de Pasteur l'unité de Msila pour nous accueillir.

Nous tenons à témoigner toute nos reconnaissances aux personnes suivantes, pour leur aide dans la réalisation de ce mémoire :

Mr. SAGHIRI KAMAL et toute l'équipe des ingénieurs des laboratoires de notre département.

Mr. AMINE BOUDRISSA pour la formation et l'illustration de la méthode d'extraction du venin de scorpion dans l'institut de pasteur.

Nous désirons aussi remercier l'équipe de laboratoire des analyses médicales du Docteur **HOUHOV** et surtout le gérant de ce laboratoire Mr. **BAZZA NADJIB** qui nous a aidé dans la réalisation des analyses biochimiques et nous a appris à travailler avec plusieurs automates.

MARROUCHE MOHAMED, MAAROF BRAHIM et **LAZRAG SAMIR** pour leurs aides dans la collection des scorpions et la plante et dans la préparation de l'ensemble d'extraction du venin.

Toute l'équipe de laboratoire d'hôpital de Boussaâda **REZZIG EL BACHIR** pour nous avoir accueilli.

Dédicaces "Walid"

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui
quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer
mon amour sincère

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout
mon respect : mon cher père **THAMER**

A la femme, qui souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes
exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureux : mon
Adorable mère **LORABI FATNA**

A ma chère fiancée **ASSALA**, et sa famille, qui toujours m'encourager et me
soutenir tout au long de mes études. Que dieu la protège et leur offre la
chance et le bonheur

A mon grand-père **LORABI TAHAR** et ma chère grand-mère

A mes frères **SOFIEN, ADEM, MOHAMED, ZOUBIR** et **HMAIDA**

Et mes charmantes sœurs **GHOFRANE, DALIA** et **KHADIDJA**

Mes tantes **ZOULIKHA** et **YAMINA**

A toute ma grande famille de plus grand au plus petit

A toute la promotion de 2eme année master en biochimie appliquée.

Dédicaces "Assala"

Tout d'abord ; je remercie DIEU le tout puissant qui m'a donné la force et le courage de réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire à mon père 'BELKACEM' qui nous a quitté voilà 8 ans ; j'espère que mon dieu a pitié de lui.

A ma mère 'FARDJAOUI FATIHA' :

Tu m'as donné la vie ; la tendresse ; le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage ; je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.

Aucune dédicace ne serait exprimer mes sentiments ; que dieu te préserve et te procure santé et longue vie.

A mon fiancé WALID et sa famille : THAMER ; FATNA ; SOUFIEN ; ADEM ; GHOFRANE et DALIA. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez.

A mes frères : WALID ; AMINE ; HAMZA. DJALEL ; DJAOUED "JOUJOU".

A mes sœurs : SARA et NOUR ELHOUDA et ma grand-mère

A la femme de mon frère HOUDA et son fils IYED 'DADOU'.

A ma très chère amie 'ZAYNEB'.

A ma promotion 2019- 2020

Sans oublier mes professeurs que ce soit primaire ; moyen ; secondaire ; universitaire

Liste d'abréviations

A. campestris L. : *Artemisia campestris* L

Aah : *Androctonus australis hector*

ALAT : Alanine aminotransférase

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

ASAT : Aspartate aminotransférase

BHT : L'hydroxytoluène butylé

CAT : Catalase

CCl₄ : tétrachlorure de carbone

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

DL50 : Dose létale médiane (50)

DL99 : Dose létale

GSH-Px : la glutathion peroxydase

IC50 : la concentration qui inhibe 50% des radicaux libres

L-NEMA : L-Nitro -Ester méthylique d'arginine

MDA : le malondialdéhyde

MED : Dose minimale effectrice

OCDE : Organisation de coopération et de développement

OPC : l'oxydation photo catalytique

PPOA : les produits protéiques d'oxydation avancés

SGOT : Sérum GlutamoOxaloacétate Transférase

SGPT : Sérum GlutamoPyruvate Transférase

SOD : le superoxyde dismutase

SAV : sérum antivenimeux

TBARS : Substances réactives à l'acide thiobarbiturique

Glossaire

Ataxie : un manque de coordination fine des mouvements volontaires. Elle est liée à une atteinte du système nerveux.

Choc cardiogénique : est lié à une défaillance aiguë primitive de la pompe cardiaque, entraînant des désordres hémodynamiques, métaboliques et viscéraux, en relation avec une chute du débit cardiaque et conduisant à un état d'hypo-perfusion tissulaire.

Convulsions : est la contraction violente et involontaire d'un ou plusieurs muscles, d'un ou plusieurs membres, voire de tout le corps.

Dyspnée : distinguée d'une détresse respiratoire ou d'une insuffisance respiratoire.

Hyperthermie : est l'augmentation dangereuse de la température d'un corps au-dessus de la valeur saine.

Hypersalivation : est un terme médical désignant la sécrétion surabondante de la salive et du fluide muqueux buccal.

Incontinence sphinctérienne : toute perte involontaire d'urine.

Nausée : est la sensation de mal-être et d'inconfort qui accompagne l'éventuelle approche des vomissements

Opisthotonos : est une contracture généralisée prédominant sur les muscles extenseurs, de sorte que le corps est incurvé en arrière et les membres sont en extension.

Piloérection : ou réflexe pilo-moteur, redressement des poils qui se traduit par l'apparition sur la peau de la classique "chair de poule" et qui survient lors de l'excitation par certains stimulus sensoriels (froid, peur, bruits désagréables comme le crissement d'une craie sur un tableau noir...).

Résumé :

Artemisia campestris L est une plante bien connue dans la région de Boussaâda qui occupe une place importante dans la médecine traditionnelle pour son efficacité présumée contre le venin des scorpions.

Ce travail vise à étudier la toxicité de venin de scorpion *Androctonus australis hector* et le pouvoir neutralisant de l'extrait d'*Artemisia campestris L* sur ce venin.

Dans un premier temps nous essayions de calculer la DI50 par la méthode de Probit ou elle est de l'ordre de 22 µg/20g de souris par voie IP.

Dans cette étude, nous évaluons aussi l'activité antivenimeuse d'*Artemisia campestris L* contre le venin de scorpion Aah par plusieurs tests (test de neutralisation, effet combinatoire et étude biochimique), où on utilise des doses létales et sublétales (selon le test) avec des doses différentes de l'extrait (0.5, 1 et 2 g/kg) ou l'infusé. La plante a montré une meilleure protection avec la dose de 1 g/kg, avec une augmentation du temps de survie et le pourcentage de survivants, ainsi qu'une diminution de l'intensité et du pourcentage d'apparition des symptômes d'envenimation. Après une injection d'une dose sublétale du venin d'Aah, la restauration des paramètres biochimiques (ASAT, ALAT, urée et créatinine ; par l'extrait de la plante ; a été aussi observée.

Les résultats de notre travail montrent que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes sont de 153.6 mg EAG/mg ps et 67.3 mg EQ/mg ps, respectivement.

Ces résultats ont montré aussi que cette plante présente une activité antioxydante importante avec une IC50 égale à 36 µg/ml, comparativement à l'IC50 d'antioxydant standard (BHT) qui est à l'ordre de 31.03 µg/ml.

Enfin, il est important d'envisager l'utilisation de la plante comme anti-venin contre l'envenimation scorpionique en tant que produit médicamenteux naturel et en combinaison avec le sérum antivenimeux.

Nos perspectives se résument dans l'étude approfondie sur la plante *Artemisia campestris L* pour isoler la molécule ou l'ensemble des molécules responsables de cette activité intéressante aussi de la valorisation des études sur le venin de scorpions en Algérie qui considérer comme un trésor nationale surtout dans notre région.

Liste de tableaux

Tableau 1: le rendement de l'extrait hydrométhanolique d' <i>A.campestris</i> L.....	25
Tableau 2: l'intensité des symptômes dans le test limite 2000 mg/kg.....	26
Tableau 3: l'intensité des symptômes dans le test limite 5000 mg/kg.....	26
Tableau 4: transformation de pourcentages de mortalité en Probit.....	27
Tableau 5: Temps de survie avec différents volumes d'anti venin.....	28
Tableau 6: Le pourcentage d'apparition des symptômes.....	30
Tableau 7: l'effet combinatoire de la plante avec le SAV	31
Tableau 9 : Composition de l'alimentation des souris pour 1 kg d'aliment (selon l'Office Nationale des Aliments des Bétails).....	47
Tableau 10 : Le temps de survie des souris dans le test de neutralisation	48
Tableau 11 : le temps de survie dans le test combinatoire	49

Liste de figures

Figure 1: <i>Artemisia campestris</i> L.....	5
Figure 2: activité hépato-protectrice d' <i>A.campestris</i> L.(Dib and El Alaoui-Faris 2019)	8
Figure 3: Activité néphroprotectrice d' <i>A.campestris</i> L.(Dib and El Alaoui-Faris 2019)	9
Figure 4: Morphologie de l'appareil venimeuse du scorpion (Bettini 1978).....	13
Figure 5 : les symptômes en cas d'envenimation scorpionique(Bekkari 2010)	15
Figure 6: Stimulation électrique de scorpion	20
Figure 7: protocole expérimentale.....	22
Figure 8: courbe de Probit en fonction du logarithme décimale de la dose du venin	27
Figure 9: le temps de survie des souris dans les différents tests	29
Figure 10: Quelques symptômes après envenimation par Aah	30
Figure 11: Taux d'ASAT (UI/l).....	32
Figure 12: Taux d'ALAT (UI/l).....	32
Figure 13: Taux d'Urée (g/l).....	32
Figure 14: Taux de Créatinine (mg/l).....	32
Figure 15 : Djebel Messaad.....	47
Figure 16 : tableau de conversion du pourcentages en Probit.....	48
Figure 18 : l'automate Selectra pro M	49

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste d'abréviations	
Glossaire	
Résumé	
Liste de tableaux	
Liste de figures	

Introduction

1. Introduction :	2
-------------------	---

Chapitre I : Artemisia Campestris L

2. <i>Artemisia Campestris L</i> :	5
2.1. Généralités :	5
2.2. Nom vernaculaire :	5
2.3. Description botanique :	5
2.4. Systématique de la plante :	5
2.5. Origine et distribution :	6
2.6. Composition chimique et métabolites secondaires :	6
2.7. Utilisation traditionnelle de la plante :	7
2.8. Activités biologiques :	7
2.8.1. Activité antivenimeuse :	7
2.8.2. Activité antioxydante :	7
2.8.3. Activité antihypertensive :	8
2.8.4. Activité organo-protectrice :	8
a. Activité hépato-protectrice :	8
b. Activité néphroprotectrice :	9
2.8.5. Activité anti-inflammatoire :	9
2.8.6. Activité antimicrobienne :	9

Chapitre II : Le venin d'androctonus australis hector

1. Introduction :	12
2. Généralités sur les scorpions :	12
2.1. Morphologie et fonction de l'appareil venimeuse :	12
3. Venin de scorpions et envenimation scorpionique :	13
3.1. Physiologie et composition du venin :	13
3.2. L'action du venin sur l'organisme :	13

3.2.1.	Action sur le système nerveux centrale :.....	13
3.2.2.	Action sur les poumons :.....	14
3.2.3.	Action sur le système cardiovasculaire :.....	14
3.2.4.	Action sur le système digestif :	14
3.2.5.	Action sur le métabolisme et la coagulation du sang :.....	14
a.	Action sur le métabolisme :.....	14
b.	Action sur la coagulation du sang :.....	14
3.3.	Symptomatologie clinique observé dans le cas d'envenimation :.....	14
4.	Bio-distribution du venin :	15

Chapitre III : Méthodologie

1.	Matériels et produits :.....	17
1.1.	Matériels de laboratoire :.....	17
1.2.	Matériels végétales :.....	17
1.3.	Le modèle animal :.....	17
2.	L'extraction par solvant :	17
2.1.	Le choix du solvant :	17
3.	Analyse de l'extrait :	17
3.1.	Dosage des polyphénols totaux :	17
3.2.	Dosage des flavonoïdes :.....	18
3.3.	Mesure de la capacité antioxydante de l'extrait :	18
3.3.1.	Test au radical libre DPPH* :.....	18
3.4.	La toxicité aigüe de l'extrait :.....	18
3.4.1.	Essai limite à 2 000 mg/kg :.....	19
3.4.2.	Essai limite à 5 000 mg/kg :.....	19
4.	L'extraction du venin :	19
4.1.	Les scorpions :.....	19
4.2.	Le venin :.....	19
5.	La détermination de la DL50 :	20
6.	Détermination de l'effet neutralisant du SAV :	21
7.	Le pouvoir neutralisant in vivo d'A. campestris L :	21
8.	L'effet combinatoire d'A. campestris L et SAV :.....	22
9.	Etude biochimique :	22
9.1.	Protocole expérimentale :.....	22
9.1.1.	L'aspartate aminotransférase (ASAT ou SGOT) :.....	23
9.1.2.	L'alanine aminotransférase (ALAT ou SGPT) :.....	23
9.1.3.	L'urée :	23

9.1.4. La créatinine :.....	23
10. Etude statistique :	23

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Résultats et discussion :.....	25
1.1. Le rendement de l'extrait :.....	25
1.2. Dosage des polyphénols totaux :	25
1.3. Dosage des flavonoïdes :	25
1.4. Test au Radicale libre DPPH* :.....	26
1.5. La toxicité aigüe de la plante :.....	26
1.5.1. Essai limite à 2000mg/kg :.....	26
1.5.2. Essai limite à 5000mg/kg :.....	26
1.6. Le rendement du venin :	27
1.7. La détermination de la DL50 :.....	27
1.8. Détermination du pouvoir neutralisant du SAV :.....	28
1.9. Le pouvoir neutralisant d' <i>Artemisia campestris L.</i> :	29
1.9.1. Le temps de survie:	29
1.9.2. Les pourcentages d'apparition des symptômes :.....	29
1.10. L'étude de l'effet combinatoire :	31
1.11. L'étude biochimique :.....	31
1.12. Observation macroscopique des organes :.....	33
2. Discussion générale :.....	34

Conclusion

Conclusion :.....	40
-------------------	----

Références

Abstract

ملخص

Annexes

Introduction

1. Introduction :

Depuis longtemps, les plantes médicinales sont utilisées comme remèdes pour les maladies humaines, car ils contiennent des centaines, même des milliers de composés chimiques actifs appelés: métabolites secondaires (Nostro et *al.*, 2000).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 80% de la population mondiale utilisant des médicaments non conventionnels, en particulier les plantes médicinales (Adamu et *al.*, 2005). L'importance de l'utilisation des plantes médicinales est liée à leur teneur en métabolites secondaires tels que les polyphénols, flavonoïdes et huiles essentielles (Mohammedi et Atik, 2011).

L'Algérie possède une flore très diversifiée qui joue un rôle très important dans la médecine traditionnelle. Cette flore constitue une source inépuisable de substance bioactive dotée de nombreuses propriétés pharmacologiques (Beloued 2005).

L'envenimation scorpionique est un problème de santé publique dans plusieurs régions du monde. Les piqûres de scorpion sont souvent grave et leurs leur fréquence pose un sérieux problème (Bessalem, Hammoudi-Triki, and Laraba-Djebari 2003b).

La toxicité des venins de scorpions est essentiellement due à des neurotoxines de faible poids moléculaire, ayant une forte affinité pour les canaux sodium et potassium des cellules excitables (Bekkari, 2010).

Lors d'une piqûre scorpionique, la distribution et la répartition ; du venin du compartiment sanguin vers les organes ; est un processus rapide pouvant provoquer des altérations histopathologiques et métaboliques très importantes. Des études expérimentales réalisées sur les effets histopathologiques causés par les venins de scorpions ont montré plusieurs changements au niveau du foie, poumons, les reins et le cœur (Bessalem et *al.*, 2003).

L'espèce en cause et la plus dangereuse dans les envenimations scorpioniques en Algérie est *Androctonus australis hector* ; elle envahit presque toutes les régions des hauts plateaux et du sud Saharien (Hellal et *al.*, 2012)

L'immunothérapie constitue actuellement le seul traitement susceptible de neutraliser les toxines scorpionique.

Dans le but de chercher des nouvelles alternatives thérapeutiques ainsi que d'exploiter les vertus thérapeutiques et l'utilisation traditionnelle d'*Artemisia campestris L* ; nous nous

sommes intéressés à l'étude de l'effet de cette plante sur des souris envenimées par le venin d'*Androctonus australis hector*. Pour cela notre plan de travail s'articule sur les points suivant :

- Evaluation de la toxicité du venin d'*Androctonus australis hector*.
- Etude de l'activité antivenimeuse d'*Artemisia campestris* sur la survie ainsi que les altérations pathologiques induites chez des souris Swiss envenimées.

Chapitre I : *Artemisia campestris* L.

2. *Artemisia Campestris L* :

2.1. Généralités :

De nombreuses espèces sont utilisées depuis l'Antiquité comme remèdes populaires pour certains traitements. Le genre *Artemisia* considéré parmi les plus répondu dont il englober plus de 400 espèces, plus de 260 espèces d'*Artemisia* ont été étudiés pour révéler qu'ils contiennent de nombreuses classes de métabolites secondaires (Tan et *al.*, 1998).

2.2. Nom vernaculaire :

Artemisia Campestris L a plusieurs noms vernaculaires dans l'Algérie et le grand Maghreb en Arabe et en Tamazight, on cite par exemple D'goufet, T'coufet, taghayaret, Taghachet, Tadjouk, Tamaymayet, Echikh lekhrissi, Om ennafssa'a, Allal, Allala, Hallala, Tighouche et Taghayachet. Aussi Field sagewort, Field wormwood et Sand wormwood en Anglais, Armoise champêtre et Armoise de champs en Français (Dib et El Alaoui- Faris, 2019).

2.3. Description botanique :

Artemisia campestris L est un arbuste aromatique herbacée vivace a tiges robustes d'une hauteur de 30 à 80 cm, possède très petits capitules étroits de 1 à 1.5 mm ovoïdes ou coniques, involucre sec et translucide et contient quelques fleurs jaunes bordées de rouge (maximum 8 fleurs) aux poils blanc a bruns. Ses feuilles sont lisses de couleur vert foncée, les tiges sont ligneuses à la base striée (Ozenda 1985, Quezel et Santa 1962).



Figure 1: *Artemisia campestris L.*

2.4. Systématique de la plante :

Selon Caratini dans son livre la vie des plantes (1976), la plante *Artemisia campestris L.* est classée dans :

Règne	Plante
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Sous-famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Sous-tribu	Artemisiinae
Genre	Artemisia
Espèce	<i>Artemisia campestris L</i> (<i>Caratini 1976</i>)

2.5. Origine et distribution :

Le genre *Artemisia* se trouve de façon spontanée dans plusieurs régions de l'hémisphère nord de la terre, surtout dans les zones semi arides et le bassin méditerranéen, et s'étendent jusqu'à l'Himalaya, dans l'hémisphère sud elles sont trouvées en Afrique du sud, l'Australie et l'Amérique du sud. L'espèce *Artemisia Campestris L.* présente dans toute l'Europe, à l'exception des zones arctiques, et dans la plupart des îles, Baléares, Corse, Sicile, Crète, Irlande, Islande, Spitzberg, aussi en Sibérie, en Asie occidentale et en Afrique du nord, *A. campestris L* est originaire de l'Asie (Vernin et al. 1995, Yun et al.,2007).

2.6. Composition chimique et métabolites secondaires :

Divers extraits obtenus à partir de différentes parties d'*Artemisia campestris L* ont montré une large gamme d'activités biologiques, indiquant l'existence d'un lien causal entre les phytoconstituants qui prédominent dans cette plante et ses activités biologiques (Dib et El Alaoui-Faris 2019).

Cette plante s'est avérée riche en flavonoïdes, acides phénoliques et composés terpéniques. Les feuilles d'*Artemisia campestris L* contiennent aussi des alcaloïdes et des saponines (Dib et El Alaoui-Faris 2019).

2.7. Utilisation traditionnelle de la plante :

Artemisia campestris L est largement utiliser dans la région de l'Afrique du nord comme décoction pour ses propriétés antispasmodiques, anti-inflammatoires, antirhumatismales, antimicrobiennes, anthelminthiques et antivenimeuses (Ghliissi et *al.*, 2016b).

La partie aérienne est utilisée dans le traitement de brûlures, de la diarrhée, les morsures de serpent, les piqûres de scorpions, l'eczéma, la gastroentérite, la dysenterie et le rhumatisme. En plus, la consommation d'une décoction de la partie aérienne d'*Artemisia campestris L* chaque jour peut réduire les symptômes digestifs (Saoudi et *al.*, 2010, Sassi et *al.*,2007).

2.8. Activités biologiques :

L'utilisation large de la plante dans la médecine traditionnelle est due à plusieurs activités biologiques dont on cite :

2.8.1. Activité antivenimeuse :

Selon Ben Hamed et *al.* (2014) une injection intrapéritonéale de l'extrait aqueux de feuilles d'*A.campestris L.* à 200 mg / ml après l'injection du venin *Buthus occitanus tunetanus* (Bot) par voie SC. a produit une diminution de la pression artérielle moyenne, estimée de 30% chez les rates enceintes, et de 10% chez les non enceintes accompagnées d'une baisse de l'hypertrophie pulmonaire, de plus, la co-administration de l'extrait et du venin a été marquée par l'absence de toute élévation de l'hypertension chez les rats enceintes et non enceintes (Ben Hamed et *al.*, 2014).

D'autres études ont montré que l'envenimation induite par le venin du scorpion *Androctonus australis garzonii* a été neutralisée en réponse au traitement à l'extrait éthanolique, tandis que le traitement à l'extrait au di-chloroforme des feuilles d'*A.campestris L* a neutralisé l'envenimation provoquée par la vipère *Macrovipera lebetina* chez des souris *Swiss Albinos* (Memmi et *al.*, 2007).

2.8.2. Activité antioxydante :

L'extrait aqueux d'*A.campestris L.* a été largement étudié pour son effet antioxydant *in vivo* et *in vitro*.

Chez des rats soumis au stress oxydatif induit par l'extrait de foie de poisson-globe *Lagocephalus lagocephalus* ; l'extrait aqueux d'*A. Campestris* a révélé un effet antioxydant

considérable par l'inhibition des substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBARS), suivies par une amélioration des activités enzymatiques antioxydantes comme la catalase (CAT), le superoxyde dismutase (SOD) et la glutathion peroxydase (GSH- Px) (Saoudi et al., 2010).

Une forte activité antioxydante *in vitro* a été démontrée. Megdiche-Ksouri et al trouve un potentiel de piégeage du radical libre DPPH important, avec une IC50 égale à 6 et 10 g/ml pour l'extrait méthanolique brut et la fraction extraite par l'éthyle acétate respectivement; ces activités étaient plus supérieures à celles du contrôle positif qui est le BHT (Megdiche-Ksouri et al., 2015).

2.8.3. Activité antihypertensive :

L'administration de l'extrait aqueux de la partie aérienne *d'A.campestris L.* par voie orale, à une dose de 50 mg / kg du poids corporel, empêche une hypertension artérielle chez des rats hypertendus, traités par l'antagoniste de l'oxyde nitrique, L-Nitro -Ester méthylique d'arginine (L-NEMA) (Dib et al., 2017).

2.8.4. Activité organo-protectrice :

a. Activité hépto-protectrice :

L'administration d'extrait aqueux *d'A.campestris L.* à 5 ml / kg ont permis la réduction des lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl4) chez les souris (Aniya et al., 2000). La même action hépto-protectrice a été observée chez les rats et leur descendance contre le stress oxydatif induit par le Fenthion, et ceci une fois nourris avec le régime complémenté avec 5% *d'A.campestris L.* pendant 21 jours (Sefi et al., 2011).

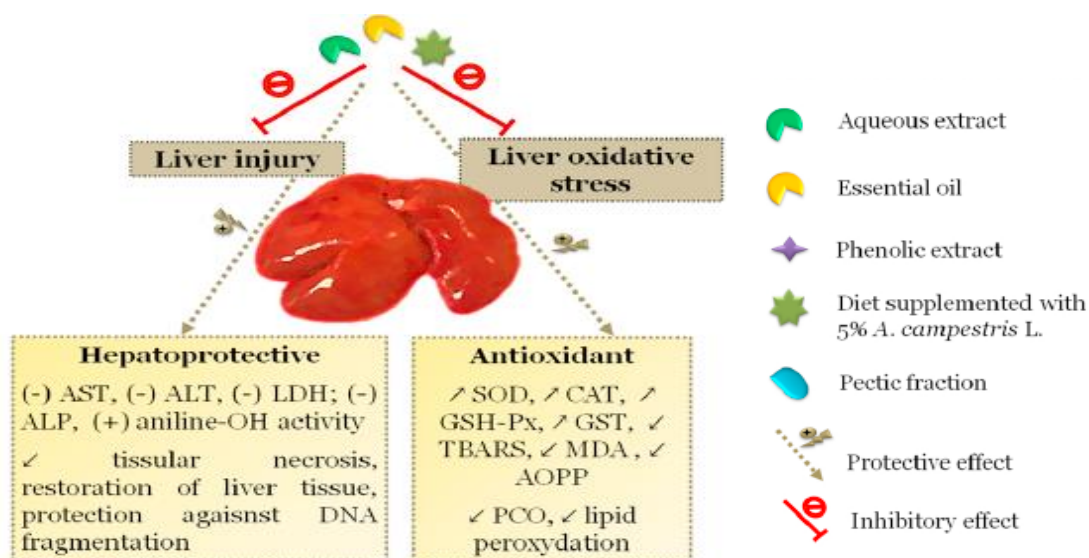


Figure 2: activité hépto-protectrice *d'A.campestris L.* (Dib et El Alaoui-Faris 2019)

b. Activité néphroprotectrice :

Le traitement des rats avec l'extrait de foie de poisson-globe de *Lagocephalus lagocephalus*, pendant dix (10) jours, a provoqué un effet néphrotoxique, qui a été caractérisé par une élévation de la créatinine sérique et de l'urée. Cette augmentation a diminué après l'administration de l'extrait aqueux de la partie aérienne d'*A.campestris L.* à 5 mg/ml (Saoudi et al., 2010).

De même, l'administration intrapéritonéale de l'extrait aqueux des feuilles à 200 mg / kg, pendant 21 jours, aux rats diabétiques induits par l'Alloxane, a baissé les taux élevés de créatinine, d'urée et d'acide urique dans le sérum (Sefi et al., 2012).

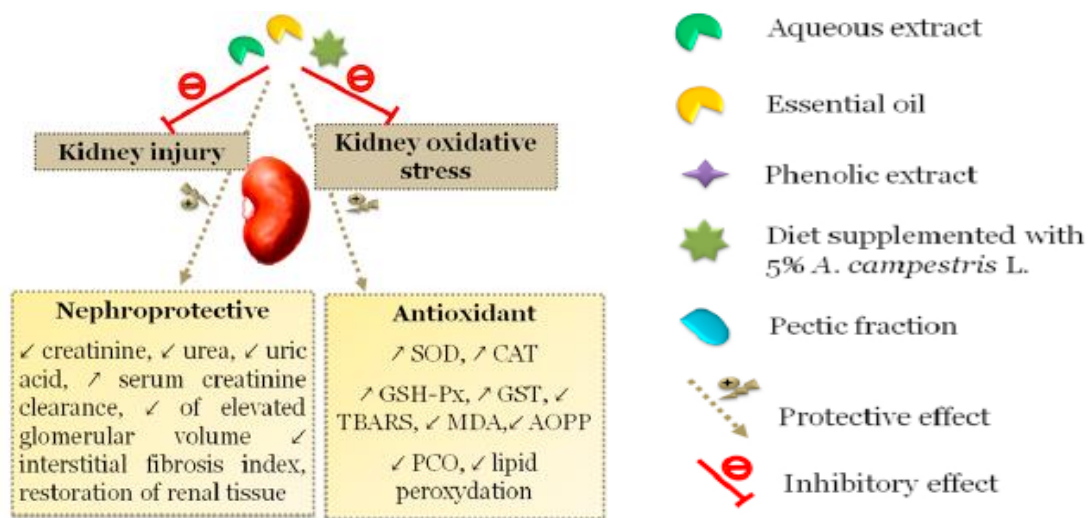


Figure 3: Activité néphroprotectrice d'*A.campestris L.*(Dib et El Alaoui-Faris 2019)

2.8.5. Activité anti-inflammatoire :

L'administration de l'huile essentielle d'*A.campestris L.* aux souris après injection par voie sous-cutanée avec le venin ophidien de *Cerastes cerastes* sur la patte droite, a neutralisé l'effet inflammatoire dû à l'envenimation, et donc la réduction de l'effet œdémateux sur la patte (Jaouadi et al., 2016).

Aussi bien, l'extrait aqueux administré aux rats à la dose de 200 mg / kg, a réduit le volume de l'œdème induit par la carraghénine, ainsi que le nombre des cellules inflammatoires (Ghliissi et al., 2016a).

2.8.6. Activité antimicrobienne :

Plusieurs études montrent l'effet antibactérien et antifongique d'*A.campestris L.* l'extrait méthanolique des feuilles a une bonne activité contre les bactéries gram positif (*Staphylococcus aureus*) plus que les bactéries à gram négatif (*Escherichia coli*) (Naili et al., 2010).

En plus, l'extrait aqueux des racines présente un potentiel antifongique contre les champignons de mycorhize (Yun et *al.*, 2007).

L'huile essentielle extraite de la partie aérienne d'*A. campestris L.* montre un bon effet anti-leishmanien, justifié par l'inhibition de la croissance de deux formes de promastigotes dérivés de *Leishmania infantum* (IC50 = 3,24 µg / ml) et de *Leishmania major* (IC50 = 4,59 µg / ml) (Essid et *al.*, 2015).

Chapitre II :
Le venin d'*Androctonus australis*
hector

1. Introduction :

Dans le monde chaque année, plus de 1 200 000 cas de piqûres scorpioniques et 3250 décès sont enregistrés (Chippaux et Goyffon 2008).

En 2008, les cas d'envenimations enregistrés en Algérie arrivent à 49843 cas où les enfants âgés moins de quinze ans (15) présentent 23.52 % (11723 cas) des cas totaux (Elyassir, 2013).

2. Généralités sur les scorpions :

Les scorpions appartiennent à la classe d'*Arachnida*, sont des animaux thermophiles. Leurs tailles et poids varient entre 3 à 20 cm et 3 à 60g ; respectivement ; la chitine recouvre leur corps qui est segmenté en 3 parties : le céphalothorax ; l'abdomen et la queue. Le telson se trouve à la partie terminale du dernier segment de la queue ; il se présente sous forme de vésicule munie d'une aiguille (Bekkari, 2010).

Ces animaux nocturnes s'éveillent au crépuscule et hyperactifs entre 20 et 24h. ils sont actifs au printemps et en été ; de nature craintifs, inoffensifs et peu agressifs, ils ne piquent que lorsqu'ils se sentent menacés (Vachon, 1952).

Parmi plus de 2200 types décrits, il existe environ 50 types de scorpions qui sont dangereux pour l'homme, parmi eux : *Buthus*, *Parabus*, *Mesobuthus*, *Titus*, *Leiurus*, *Androctonus* ou *Centrouroides*, tous appartiennent à la famille des *Buthidae* (Lourenço, 2008).

En Algérie ; Il existe 28 espèces de scorpions identifier dont 4 de ces derniers sont très dangereuses pour l'homme, dont *Androctonus australis hector* (Aah) reste la plus dangereuse (Vachon, 1952).

2.1. Morphologie et fonction de l'appareil venimeux :

Tous les scorpions sont venimeux. Le venin est injecté économiquement au moyen d'un dard (aculeus), trouvé à l'extrémité distale du telson. La partie bulbeuse ; la vésicule (ou ampoule) du telson contient deux glandes, chacune entourée et séparée par un faisceau musculaire et avec un conduit séparé s'ouvrant dans un orifice en forme de larme placé latéralement près de la pointe du dard. Ainsi, il existe deux grands débouchés pour le venin (Bettini, 1978).

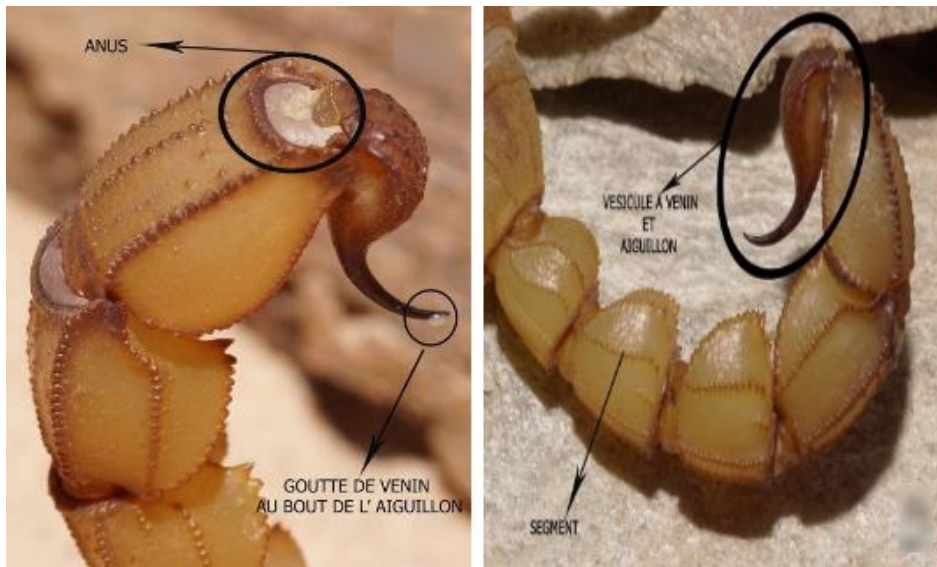


Figure 4: Morphologie de l'appareil venimeux du scorpion (Bettini, 1978)

3. Venin de scorpions et envenimation scorpionique :

Les venins de scorpions contiennent plusieurs composés : enzymes ; peptides ; lipides ; nucléotides. Les neurotoxines des scorpions représentent des actions pharmacologiques et des propriétés immunologiques différentes. Les groupes de neurotoxines des venins les plus étudiés sont les polypeptides Neurotoxiques qui se fixe sur les canaux ioniques et les récepteurs de membranes de cellules excitables (Boushaki-Haddad, 2018).

Le venin de scorpion *Androctonus australis hector* se compose par plusieurs toxines (Aah I, Aah II, Aah III...) qui sont actives sur les mammifères, et la toxine Aah IT qui est active sur les canaux ioniques des insectes (Boushaki-Haddad, 2018).

3.1. Physiologie et composition du venin :

Le venin de scorpion est un liquide visqueux, opale, thermorésistant, miscible à l'eau et conservable jusqu'à quelques années, composé d'un mélange hétérogène de substances (Inceoglu, 2003).

Selon Ortiz et *al.* (2015), le venin de scorpion est composé de concentrations variables de neurotoxines, cardiotoxines, nephrotoxines, toxines hémolytiques, phosphodiesterases, phospholipases, glycosaminoglycans, histamine et sérotonine.

3.2. L'action du venin sur l'organisme :

3.2.1. Action sur le système nerveux centrale :

L'injection expérimentale de venin purifié dans les ventricules cérébraux chez le chat, le lapin et le rat, induit des manifestations très variées d'excitation du système nerveux : état

d'agitation, tremblements, mouvements anormaux, opisthotonos, convulsions, incontinence sphinctérienne, hyperthermie et troubles respiratoires (Elyassir, 2013).

3.2.2. Action sur les poumons :

Lors d'une piqure scorpionique certains rapports cliniques montrent que cette piqure provoque un œdème pulmonaire qui est la complication la plus grave des voies respiratoires. La cause de cet œdème pulmonaire est l'augmentation de la perméabilité capillaire d'origine hémodynamique (Elyassir, 2013).

3.2.3. Action sur le système cardiovasculaire :

Lors d'une envenimation scorpionique, une phase « cardiogénique » marquée par la survenue d'un état de choc cardiogénique en relation avec une myocardiopathie s'installe progressivement, après une phase « vasculaire » caractérisée par l'augmentation transitoire de la pression artérielle systémique (Elyassir, 2013).

3.2.4. Action sur le système digestif :

Chez un enfant envenimé ; les symptômes digestifs les plus fréquents sont : la nausée, hypersalivation, vomissement et la diarrhée (Elyassir, 2013).

3.2.5. Action sur le métabolisme et la coagulation du sang :

a. Action sur le métabolisme :

Les troubles métaboliques observés étaient à type de d'hypokaliémie, d'hypocalcémie et d'hyperglycémie. L'hyperglycémie est en partie causée par une inhibition de la sécrétion et de l'action de l'insuline et augmentation de la sécrétion du glucagon aussi par une augmentation de la glycolyse hépatique (Elyassir, 2013).

b. Action sur la coagulation du sang :

L'envenimation par certaines espèces, peut entraîner des troubles hématologiques (hémorragie digestive et pulmonaire) dont le venin contient une Phospholipase A (Elyassir, 2013).

3.3. Symptomatologie clinique observé dans le cas d'envenimation :

Lors d'une envenimation scorpionique ; les symptômes se présentent sous forme douleurs ; vomissements ; hypertension ; dyspnée ; constriction ; agitation ; diarrhée ; salivation ; ataxie ; polyurie ; convulsions ; mouvements du queue..., la figure suivante montre les grades des symptômes après envenimation scorpionique (Bekkari 2010).

GRADE I	<p>Signes locaux : Douleurs –fourmillement</p> <p>Signes généraux : irritabilité – agitation – obnubilation.</p> <p>Signes locaux : Douleurs –fourmillement</p> <p>Signes généraux : irritabilité – agitation – obnubilation-sueur-rhinorrhée – diarrhée –vomissement /nausées-hyper salivation –ballonnement gastrique –</p>
GRADE II	<p>Extrémités froides –fièvres/frissonnement-Dysrégulation thermique.</p> <p>-----</p> <p>Signes cardiovasculaires : hypertension-hypotension– tachycardie.</p> <p>Signes respiratoires : cyanose</p> <p>Signes neuromusculaires : priapisme.</p> <p>Signes locaux : Douleur –fourmillements</p> <p>Signes généraux : irritabilité – agitation – obnubilation -sueur-rhinorrhée – diarrhée –vomissement /nausées-hyper salivation –ballonnement gastrique –</p> <p>Extrémités froides –fièvres/frissonnement-Dysrégulation thermique.</p>
GRADE III	<p>-----</p> <p>Signes cardiovasculaires : hypertension-hypotension– tachycardie –bradycardie –Hypertrophie-Auriculaire –fibrillation auriculaire et ventriculaire – troubles de la conductance.</p> <p>Signes respiratoires : cyanose, polypnée –dyspnée –mousse aux lèvres –râles crépitantes – sécrétions bronchiques – arrêt respiratoire, OAP.</p> <p>Signes neuromusculaires : priapisme – hyperexcitabilité nystagmus -hémiplégie –prostration – convulsion</p>

Figure 5 : les symptômes en cas d'envenimation scorpionique (Bekkari 2010).

4. Bio-distribution du venin :

La distribution du venin ou bien le cheminement du venin à partir de son site d'administration vers la circulation sanguine puis dans les tissus et organes est très rapide, à cause de la petite taille de ses constituants. La demi-vie du venin d'Aah est de 13 min. la concentration plasmatique du venin est maximale entre 20-40 min après l'envenimation (Tmax). Le venin injecté par voie sous cutanée ; atteint des concentrations maximales dès les premières 15 minutes dans les reins et le foie, et à 30 minutes dans les poumons, le cœur et la rate ; la diminution des concentrations du venin à partir de sérum est observée après 2 heures (Bekkari, 2010).

METHODOLOGIE

1. Matériels et produits :

1.1. Matériels de laboratoire :

Soxhlet, Rotavapor, Etuve, Micropipettes, Balance, Verrerie, Plaque chauffante avec agitateur magnétique, L'automate Selectra Pro M et l'ensemble d'extraction du venin.

1.2. Matériels végétales :

La plante *Artemisia Campestris* a été collectée au mois d'aout (2019) de la région de Djebel Messaad (Annexe 1), les feuilles sont séchées dans une chambre sèche « à l'obscurité ».

1.3. Le modèle animal :

Souris Swiss Albinos sont fournis par le service des animalières de l'Institut Pasteur d'Alger, les expériences sont effectués sur des souris de $36g \pm 3g$.

Les animaux sont logés dans des cages en plastique avec le libre accès à l'eau et à la nourriture (la composition de l'aliment est montrée dans l'annexe 2), la litière est renouvelée chaque trois jours.

2. L'extraction par solvant :

On a appuyé sur l'extraction en continu par Soxhlet dont le cycle se répète indéfiniment comme macérations successives sans interventions. Selon I. Karabegović et ses collaborateurs (2011), la meilleurs méthode d'extraction de la plante *Artemisia Campestris* est par soxhlet, dont ils ont obtenu des activités biologiques plus importantes qu'autres méthodes d'extraction (Karabegović et al., 2011).

2.1. Le choix du solvant :

Dans notre travail on a adapté un solvant hydrométhanolique à 70%. D'après les travaux de Memmi et al. (2007), l'extrait méthanolique d'*A. campestris* L. présente le meilleur rendement d'extraction avec 21%. En effet, l'extrait éthanolique montre une efficacité de dans la neutralisation du venin de scorpion *Androctonus australis garzonii* (Memmi et al. 2007).

3. Analyse de l'extrait :

3.1. Dosage des polyphénols totaux :

100 microlitres de l'extrait de plante ont été mélangé avec 2.5 ml de réactif de folin-ciocalteu dilué 10 fois et incubé pendant 10 min, puis on rajoute 2.5 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium et laissé réagir 1h avant la lecture par le spectrophotomètre à 725 nm ;

La teneur totale en polyphénols de l'extrait a été exprimé en mg d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale sur une base sèche (Wong et al., 2006).

3.2. Dosage des flavonoïdes :

Une quantité de 1 ml de chaque échantillon et de standard (préparée dans le méthanol) est ajoutée à 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2 % dissous au méthanol). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée ($\lambda_{\text{max}} = 430$ nanomètres) par rapport au blanc préparé de réactif seulement. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la gamme de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine (0-35 $\mu\text{g/ml}$). Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de Quercétine par 100 g d'extrait : mg EQ/100g d'extrait (Bahorun et al., 1996).

3.3. Mesure de la capacité antioxydante de l'extrait :

3.3.1. Test au radical libre DPPH* :

La capacité des extraits d'*A. Campestris* à réduire le radical 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) a été déterminée par spectrophotométrie selon Ita et Eduok avec quelques adaptations.

Un volume de 600 μl de chaque extrait à différentes concentrations a été ajouté à 600 μl de solution de DPPH (0,004%) dans le méthanol. Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 517 nm. Le BHT a été utilisé comme antioxydant standard. Le pourcentage d'inhibition a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ De piégeage de DPPH} = [(A \text{ du contrôle} - A \text{ d'échantillon}) / A \text{ du contrôle}] \times 100.$$

A du contrôle : absorbance de la réaction de contrôle (contenant tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester).

A d'échantillon : Absorbance de l'échantillon testé.

L'activité antioxydante des extraits a été exprimée en IC₅₀. Toutes les opérations ont été effectuées en triplicité. (Ita et Eduok 2017).

3.4. La toxicité aiguë de l'extrait :

La toxicité aiguë de l'extrait d'*Artemisia Campestris* a été évaluée par le test limite 2000 mg/kg et 5000 mg/kg selon la méthode de l'OCDE 425 (Organisation de coopération et de développement, 2008).

Des souris femelles suisses en bonne santé ont été sélectionnées et conservés dans leurs cages pendant au moins 5 à 7 jours avant l'administration. L'extrait a été administré à des souris

à jeun par gavage oral. Après l'administration de l'extrait, la nourriture, mais pas l'eau, a été suspendue pendant 3 à 4 heures.

3.4.1. Essai limite à 2 000 mg/kg :

Selon la directive, un seul animal est traité avec 2000 mg / kg et l'animal est surveillé pendant 48 heures. Quand l'animal n'est pas mort, alors les quatre autres animaux ont été traités par la même dose et sont suivis les 4 premières heures puis quotidiennement pendant 14 jours. Les observations ont été enregistrées, y compris les modifications de la peau et de la fourrure, des yeux et des muqueuses, ainsi que le comportement (Organisation de coopération et de développement 2008).

3.4.2. Essai limite à 5 000 mg/kg :

Un seul animal est traité avec 5000 mg / kg et l'animal est surveillé pendant 48 heures. Si l'animal survécu, on traite 2 autres souris par la même dose. Les animaux sont observés et le comportement est enregistré pendant les 4 premières heures puis quotidiennement pendant 14 jours (Organisation de coopération et de développement 2008).

4. L'extraction du venin :

4.1. Les scorpions :

Les scorpions *Androctonus australis hector* (Aah), sont collectés au niveau de la région de Boussaâda dans le mois de juillet où on rencontre une activité maximale de ces animaux. Ces derniers sont gardés dans un endroit propre et sec et se nourrissent une fois par deux semaines (Miranda et al., 1970).

4.2. Le venin :

Le venin de scorpion Aah est obtenu par la méthode de stimulations électriques cycliques de l'abdomen. Les scorpions sont stimulés par 12 volts pendant une (01) seconde suivi d'un repos de même durée, répété 4 à 5 fois jusqu'à l'obtention de toute la quantité du venin contenue dans le scorpion, des fois il faut ajouter des gouttes d'eau physiologique sur les plaques pour augmenter la conductivité, après l'extraction, le venin est lyophilisé et conservé à 4°C jusqu'à l'utilisation (Miranda et al., 1970).

La figure suivante résume les étapes principales de l'extraction du venin :

a : l'ensemble du montage pour l'extraction du venin (générateur électrique, plaques, deux pinces et verre de montre)

b : Attraper un scorpion par les pinces

c : Mettre le scorpion sur la plaque humide

d : application de pression sur l'abdomen pour réaliser un contact électrique avec la plaque
e : Positionner le telson sur la 2eme plaque et le ver de montre pour l'obtention du venin

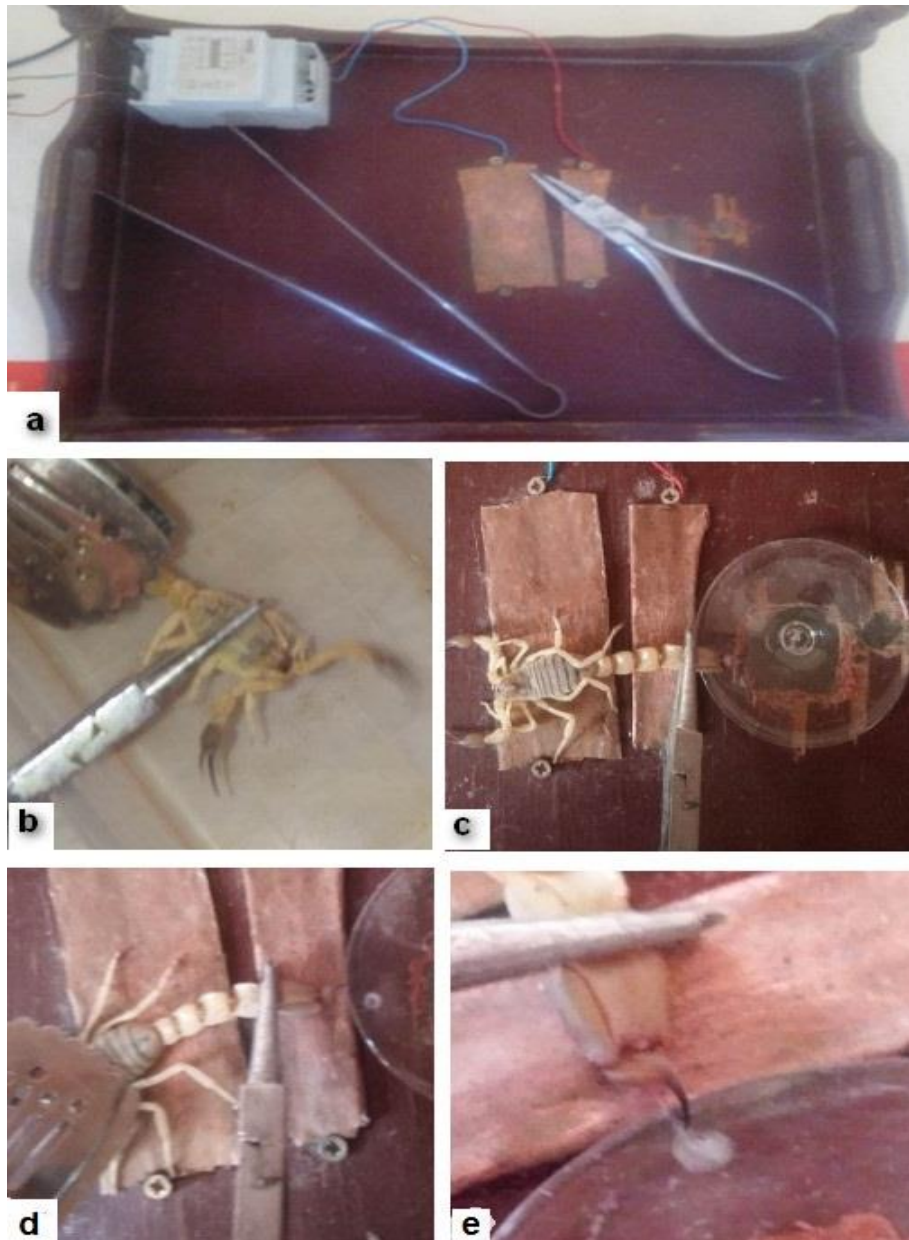


Figure 6: Stimulation électrique de scorpion

5. La détermination de la DL50 :

La DL50 est la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% du nombre initiale d'animaux mis en expérience après administration d'une dose unique du composé (Vincent, 2008).

La détermination de la DL50 se fait par la méthode de l'analyse de Probit. Cette analyse est un type de régression utilisé pour analyser les variables de réponse binomiales. Il transforme

la courbe dose-réponse sigmoïde en une ligne droite qui peut ensuite être analysée par régression (Vincent, 2008).

Le protocole expérimental consiste à expérimenter sur 6 lots de 5 animaux auxquels sont administrées des doses croissantes de la substance à essayer pour obtenir des pourcentages de mortalité variables. Les pourcentages ensuite sont convertis en valeurs de probit. Après on trace une courbe donnant la mortalité (valeurs de Probit) (annexe 3) en fonction du logarithme décimale de la dose conduit à déterminer la dose qui serait la DL50 (Vincent 2008).

Selon plusieurs études la DL50 du scorpion *Androctonus australis hector* est entre 16 à 18 µg/20g de souris par voie intra-péritonéale (Chair-Yousfi et al., 2015, Bekkari et al., 2015). Pour cela, nous avons choisis de faire le test sur 5 doses (4, 8, 16, 32 et 64 µg/20g de souris) sur des lots de 5 souris.

6. Détermination de l'effet neutralisant du SAV :

Afin d'étudier le pouvoir neutralisant de SAV, nous nous sommes intéressés à la détermination de la dose minimale effectrice du l'anti-venin.

Ce test consiste à incuber *in vitro* plusieurs doses de l'anti-venin (0,100, 200, 400 et 800µl) avec la dose létale DL99 (3DL50) du venin. Après incubation de 30 min ; 400 µl du mélange est injecté par i.p à 3 souris ; pour chaque concentration. La mortalité ou la survie des souris est enregistrée après 24 heures. Un autre groupe de souris a été aussi injecté par le même volume en eau physiologique (i.p) (contrôle négatif) (Chaubey, 2009).

7. Le pouvoir neutralisant in vivo d'*A. campestris* L :

Afin d'évaluer le pouvoir neutralisant de l'extrait hydrométhanolique d'*A. campestris* L, différentes doses de l'extrait ont été administrées per os (500 µl) après injection intra-péritonéale d'une DL99 (200 µl) de venin d'*Androctonus australis hector*. Les animaux ont été divisés en 6 groupes de 3 souris. Le premier groupe a reçu que l'eau physiologique (200 µl) i.p. (contrôle négatif), le groupe 2 a reçu une dose létale 99 comme contrôle positif. Les groupes 3, 4 et 5 reçoivent une DL99 et 5 minutes après des doses croissantes de l'extrait de la plante 0.5, 1 et 2g/kg du poids corporel respectivement, le dernier groupe a reçu 0.5 ml d'infusé 5 minutes après l'injection de la même dose du venin que les autres groupes. Le temps de survie des souris et les symptômes remarqués de chaque groupe ont été enregistrés pendant 24 h (Bouimeja et al., 2019).

8. L'effet combinatoire d'*A. campestris* L et SAV :

Ce test permettra l'évaluation de la combinaison entre le sérum antivenimeux et l'extrait de plante. Il est réalisé sur 5 groupes de 3 souris. Le groupe 1 a reçu de l'eau physiologique et il est considéré comme groupe témoin négatif. Les autres groupes ont reçu une dose DL99 de venin d'Aah i.p. Le groupe 2 n'a reçu aucun traitement. Le groupe 3 a reçu l'extrait de la plante (1 g / kg) par gavage. Le groupe 4 a reçu du SAV (100 μ l) par voie i.p. Le groupe 5 a reçu l'extrait de plante (1g/kg) par gavage plus du SAV (100 μ l) par i.p.

L'extrait de la plante ainsi que le sérum anti venin ont été administrés 5 min après la dose de venin, et tous les groupes ont reçu le même volume de préparations. Dans tous les groupes, le temps de survie et le nombre d'animaux qui ont survécu ont été enregistrés jusqu'à 24 h (Kale *et al.*, 2013a).

9. Etude biochimique :

Afin d'évaluer l'impact thérapeutique de cette plante sur les paramètres biochimiques après l'envenimation ; nous avons étudié son effet sur des doses sub-létales du venin (doses qui engendrent des effets toxiques biochimiques et histologique sans induire une mortalité) (Lamraoui *et al.*, 2015).

9.1. Protocole expérimentale :

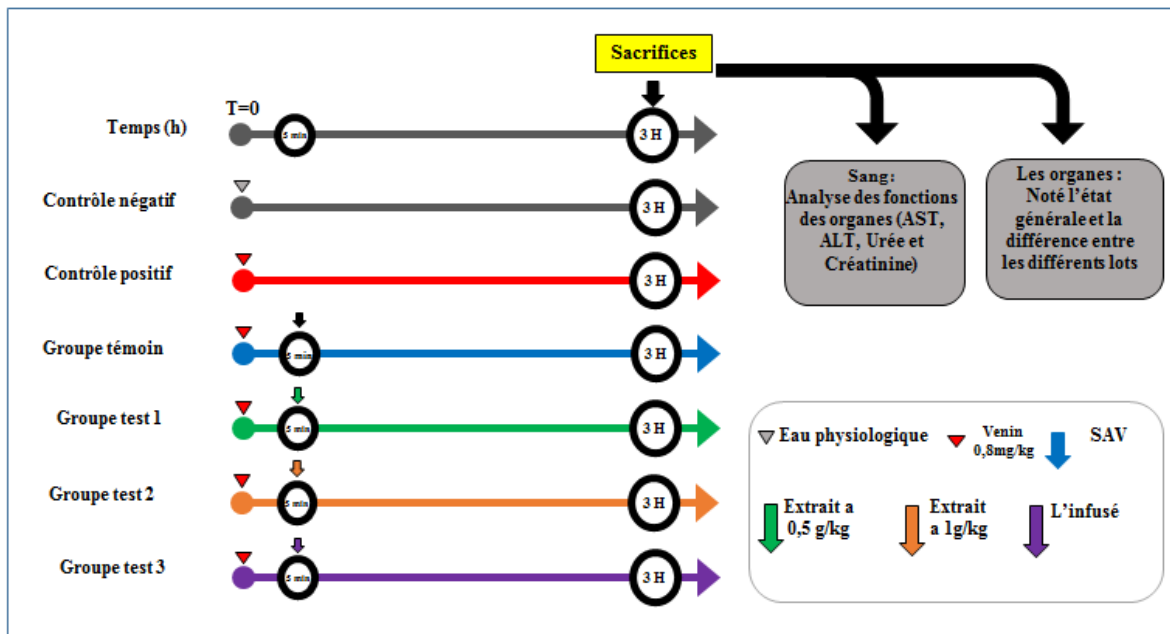


Figure 7: protocole expérimentale

Les dosages biochimiques sont réalisés par l'automate Selectra proM (annexe 6) qui se base sur la turbidimétrie qui est une méthode de dosage des substances insolubles ou émulsionnées, qui consiste à mesurer par un moyen optique le trouble qu'elles produisent dans un milieu liquide (Thuillier et *al.*, 2008).

9.1.1. L'aspartate aminotransférase (ASAT ou SGOT) :

Est une enzyme présente dans plusieurs tissus, en particulier dans le foie et les muscles, incluant le muscle cardiaque, son dosage est surtout indiqué pour le diagnostic et le suivi des maladies hépatiques (Huang et *al.*, 2006).

9.1.2. L'alanine aminotransférase (ALAT ou SGPT) :

L'alanine aminotransférase (ALAT ou SGPT) est une enzyme présente principalement dans le foie. Le dosage de l'ALAT est plus sensible que celui de l'ASAT pour détecter des atteintes légères du foie. Dans la plupart des maladies hépatiques ; le taux d'ALAT est plus élevé que celui de l'ASAT, sauf dans l'hépatite alcoolique chronique (Huang et *al.*, 2006).

9.1.3. L'urée :

L'urée est un produit de la dégradation des protéines qui est éliminé par les urines. Les taux d'urée dans le sang sont donc un reflet de la fonction rénale, et, dans certaines conditions, de l'apport alimentaire en protéines ainsi que du fonctionnement du foie (Tsinalis et Binet, 2006).

9.1.4. La créatinine :

Le dosage de la créatinine, est utilisé pour mesurer l'activité des reins et diagnostiquer une éventuelle altération de la fonction rénale. L'analyse de la créatinine est également réalisée pour s'assurer du fonctionnement musculaire, cette dernière étant issue d'un processus de dégradation au niveau des muscles. Ainsi, plus la densité musculaire est importante, plus le dosage de la créatinine sera lui aussi élevé. (Tsinalis et Binet, 2006)

10. Etude statistique :

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de GraphPad Prism 7. Les données obtenues ont été analysées par le test d'ANOVA combiné avec le test de Tukey. Des valeurs de p inférieures à 5% ($p < 0,05$) ont été considérées comme différences significatives (Bertella et *al.*, 2018).

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion :

1.1. Le rendement de l'extrait :

Nos résultats montrent que le rendement de l'extraction par le solvant méthanolique (70%) par soxhlet est égal à $24.37\% \pm 0.62$ (Tableau 1).

Selon Memmi et ses collaborateurs le rendement d'*Artemisia Campestris* L par l'éthanol, dichlorométhane, l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle et le méthanol est 16,13 ; 16,83 ; 4,43 ; 19,13 et 21,76 % respectivement.

les essais	1er essai	2eme essai	3eme essai	4eme essai	5eme essai
pois de la plante(g)	80	80	80	80	70
pois de l'extrait(g)	18,64	19,921	20,002	19,104	17,337
le rendement (%)	23,3	24,90125	25,0025	23,88	24,7671429
La moyenne	$24.37\% \pm 0.62$				

Tableau 1: le rendement de l'extrait hydrométhanolique d'A.campestris L.

1.2. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue à la longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

$$Y = 0,0285x - 0,0831 ; R^2 = 0.9923$$

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide gallique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAG/mg Ps). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des polyphénols totaux est : $153.6 \pm 49,446$ mg EAG/g Ps.

1.3. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la Quercétine a été utilisée comme standard. L'absorbance a été lue à la longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

$$Y = 0,0345x + 0,2856 ; R^2 = 0.978$$

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la Quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/mg Ps). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes est : 67.3 ± 4.934 mg EQ/mg Ps.

1.4. Test au Radicale libre DPPH* :

L'activité anti radicalaire d'extrait d'*Artemisia campestris* L. et du témoin positif BHT ont été déterminées par la méthode au DPPH. Les résultats obtenus sont représentés sous forme de droites dont les équations sont les suivantes :

Extrait hydrométhanolique : $Y = 155.2x + 7.1627$; $R^2 = 0.9291$

BHT : $Y = 1261x + 10.859$; $R^2 = 0.998$

L'activité anti radicalaire est exprimée en CI50. Pour chaque essai la CI50 est déduite de la droite d'étalonnage correspondante.

L'antioxydant standard BHT a montré une activité antioxydante puissante avec une CI50 de l'ordre de **31.03 µg/ml ± 1.071**

L'extrait de méthanol (70%) présente une puissante CI50 de l'ordre de **36 µg/ml ± 1.56**, L'activité de l'extrait est presque égale à celle du BHT.

1.5. La toxicité aigüe de la plante :

1.5.1. Essai limite à 2000mg/kg :

Dans la dose 2000mg/kg on a rien remarqué sur le comportement des animaux sauf une hyperactivité dans les 10 premières minutes après gavage de la plante.

Les symptômes	Hyperactivité	Douleur	Vertiges	Convulsions	Vomissement	Puléruc-tion	somnolence	Ataxie	mort
L'intensité	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 2: l'intensité des symptômes dans le test limite 2000 mg/kg

1.5.2. Essai limite à 5000mg/kg :

Il y avait une augmentation dose-dépendante de l'apparition des symptômes dont on a remarqué l'apparition de plusieurs symptômes de différentes intensités.

Les symptômes	Hyperactivité	Douleur	Vertiges	Convulsions	Vomissement	Puléruc-tion	somnolence	Ataxie	mort
L'intensité	+++	++	++	+	-	+	-	++	-

Tableau 3: l'intensité des symptômes dans le test limite 5000mg/kg

1.6. Le rendement du venin :

Selon la bibliographie les scorpions peuvent sécrétés entre 0.5 et 2 mg selon la taille et le poids de ces arthropodes (Miranda et *al.*, 1970).

D'après nos expériences 20 mg de venin lyophilisé sont obtenus après stimulation électrique de 14 scorpions de 4 à 6 grammes et de 8 à 10 cm de longueur, donc, environ 1.5mg par scorpion.

1.7. La détermination de la DL50 :

Selon la méthode de l'analyse par le Probit on a trouvé les résultats suivants :

Dose($\mu\text{g}/20\text{g}$ de souris)	de $\log_{10}(\text{dose})$	%de mortalité	formule correcte	Probit
4	0,60205999	0	5	3,36
8	0,90308999	0	5	3,36
16	1,20411998	20	20	4,16
32	1,50514998	60	60	5,25
64	1,80617997	100	95	6,64

Tableau 4: transformation de pourcentages de mortalité en Probit

La formule correcte : $n=5$; pour 0% : $100(0.25/n) = 100(0.25/5) = 5$;

Pour 100% : $100[(n-0.25) /n] = 100[(5-0.25) /5] = 95$.

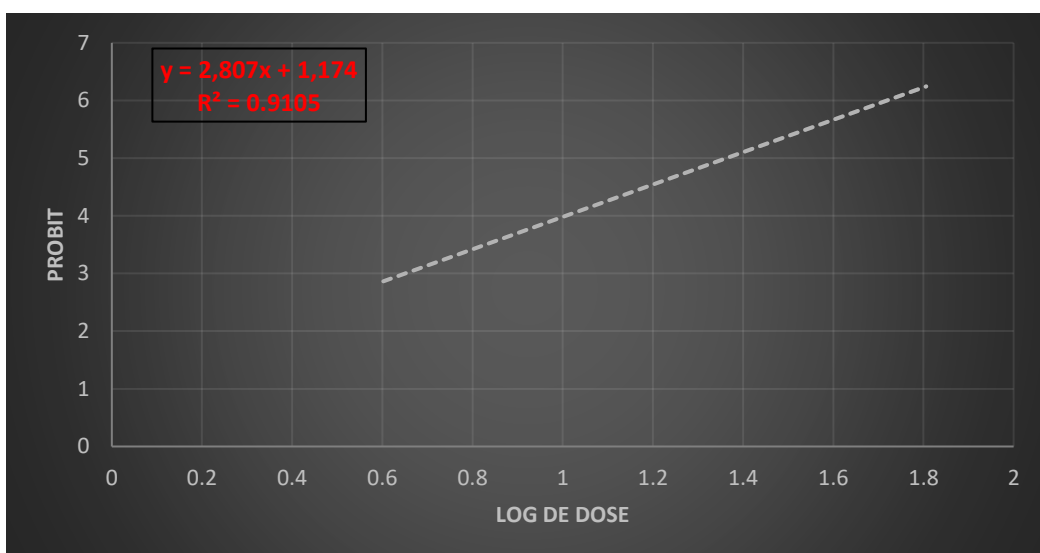


Figure 8: courbe de Probit en fonction du logarithme décimale de la dose du venin

Donc la DL50 à partir de l'équation est :

$$y = 2.807x + 1.174$$

$$5 = 2.807x + 1.174$$

$$x = (5 - 1.174) / 2.807 \quad \text{-----} \blacktriangleright \quad x = 1.363$$

DL50 = inverse du log de 1.363

$$\text{DL50} = 22\mu\text{g}/20\text{g}; 1100\mu\text{g}/\text{kg}; 1.1 \mu\text{g}/\text{g}$$

1.8. Détermination du pouvoir neutralisant du SAV :

Le pouvoir neutralisant du sérum antiscorpionique a été évalué chez la souris par la détermination de la dose effectrice minimale (MED : Minimum effective dose).

MED : c'est-à-dire le plus faible volume de l'antisérum protégeant 100% du nombre initiale des souris contre une quantité létale du venin.

Nos résultats montrent que la MED est de 400 μ l pour 3DL50. En effet, le SAV neutralise 7.5 DL50/ml du venin.

Les groupes	DL99	DL99+100 μ l de SAV	DL99+200 μ l de SAV	DL99+400 μ l de SAV	DL99+800 μ l de SAV
Les souris	Le temps de survie				
S1	9 min 56 sec	31 min 55 sec	1h 38min 03sec	Survie	Survie
S2	25 min 01 sec	35 min 02 sec	1h 56min 27 sec	Survie	Survie
S3	25 min 49 sec	42 min 59 sec	2h 29min 03 sec	Survie	Survie
La moyenne	20min 15sec	36min 58sec	2h 11min 50min	/	/
Nombre des survivants	0/3	0/3	0/3	3/3	3/3

Tableau 5: Temps de survie avec différents volumes d'anti venin

1.9. Le pouvoir neutralisant d'*Artemisia campestris* L. :

L'activité neutralisante d'*Artemisia campestris* L. est représentée par l'évaluation de ces 2 paramètres : le temps de survie et le pourcentage d'apparition des symptômes (Figure 9 et Tableau 6).

1.9.1. Le temps de survie:

Nous avons remarqué que l'administration de différentes doses de l'extrait de la plante d'*Artemisia campestris* L a prolongé le temps de la survie des souris par rapport au groupe qui a reçu le venin seul (Figure 9).

Le groupe 3 qui a reçu la dose 1g/kg présente un temps de survie moyen (TSM) de $23,742 \pm 3,775$ min et un pourcentage de survie de 33.33%.

Par contre, les groupes 2, 4 et 5 (0.5g/kg ; 2g/kg ; infusé) ont un TMS égale à 336.92 ± 408.05 min ; $23,133 \pm 8.1666$ min ; $31,672 \pm 4.452$ min ; respectivement ; avec un pourcentage de survie de 0%.

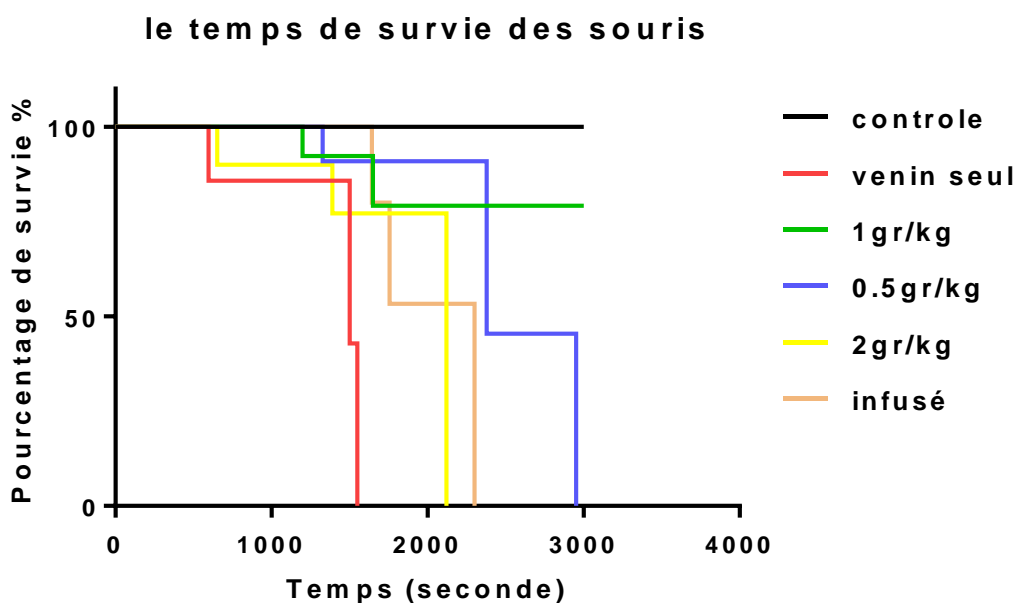


Figure 9: le temps de survie des souris dans les différents tests

1.9.2. Les pourcentages d'apparition des symptômes :

groupes	0	DL99	DL99+0.5gr	DL99+1gr	DL99+2G	DL99+inf
TMS (h)	/	0,338	5,615	0,396	0,386	0,528
Ecart-type(h)	/	0,115	6,8	0,063	0,136	0,074
Pourcentage de survie %	100	0	0	33,33	0	0

symptômes	% d'apparition des symptômes					
	0	100	100	100	100	100
douleur	0	100	100	100	100	100
hyperactivité	0	100	33	67	33	67
salive	0	100	67	67	100	100
diarrhée	0	100	100	67	100	100
hyperventilation	0	100	100	100	100	100
dyspnée	0	100	67	67	100	100
polyurie	0	100	100	100	100	100
vertige	0	100	100	100	100	100
mouvement de la queue	0	100	33	0	33	33
hypoactivité	0	0	33	33	67	33
hypersensibilité	0	100	67	33	100	67
convulsions	0	100	100	100	100	100
ataxie	0	100	100	67	100	100
piloérection	0	100	67	33	100	67

Tableau 6: Le pourcentage d'apparition des symptômes



Figure 10: Quelques symptômes après envenimation par Aah

1.10. L'étude de l'effet combinatoire :

Les résultats de l'effet combinatoire de la plante avec le SAV montrent qu'il y a une amélioration : augmentation du temps de survie et le taux de protection par rapport à l'utilisation de SAV seul ou l'extrait de la plante seul. Ces résultats suggèrent un effet synergique important entre le SAV et l'extrait de la plante *A. campestris L.*

Groupes	Temps moyen de survie (h)	Le taux de protection	Le nombre de survivants	Pourcentage de survie %
Contrôle -	/	/	3/3	100
DL99	0.338 ± 0.115	/	0/3	0
DL99+1g/kg	0.396 ± 0.063	1.17	1 /3	33
DL99+SAV	0.611 ± 0.070	1.81	0/3	0
DL99+1g/kg+ SAV	18.69 ± 2.38	55.3	1/3	33

Tableau 7: l'effet combinatoire de la plante avec le SAV

Le taux de protection = temps moyen de survie du groupe test/temps moyen de survie du groupe DL99. (Kale et al., 2013a)

1.11. L'étude biochimique :

D'après les résultats présentés dans les graphes suivants ; les paramètres ALAT, ASAT, urée et créatinine augmentent significativement chez les souris envenimées par rapport au contrôle négatif.

En outre, les souris envenimées traitées par l'extrait des feuilles d'*A. campestris L.* ou le sérum anti venimeux ont montré une diminution des activités enzymatiques hépatiques et du taux d'urée et créatinine par rapport aux souris envenimées.

La différence entre le contrôle négatif et le positif est toujours très hautement significative ($p < 0.001$). Par contre, la différence entre le groupe traité par SAV et le groupe traité par la concentration 1g/kg d'extrait de plante ; est dans la plupart des tests non significative ; ce qui traduit l'effet similaire de la plante à la dose de 1g/kg au sérum antivenimeux.

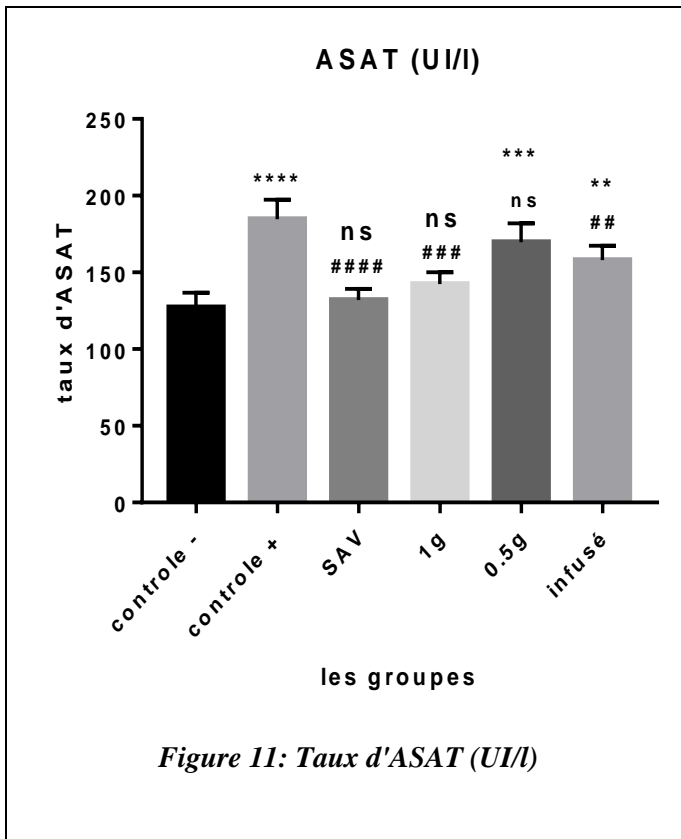


Figure 11: Taux d'ASAT (UI/l)

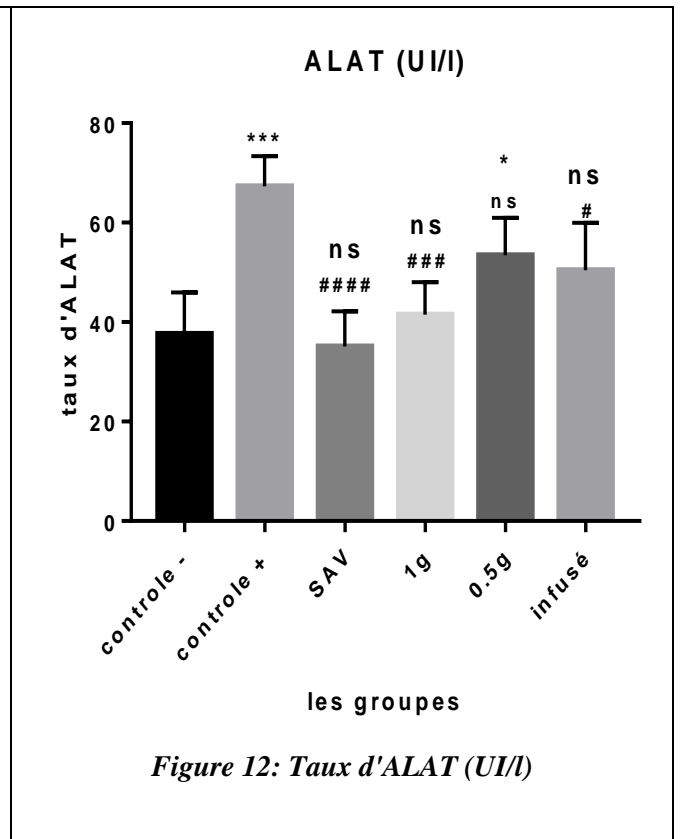


Figure 12: Taux d'ALAT (UI/l)

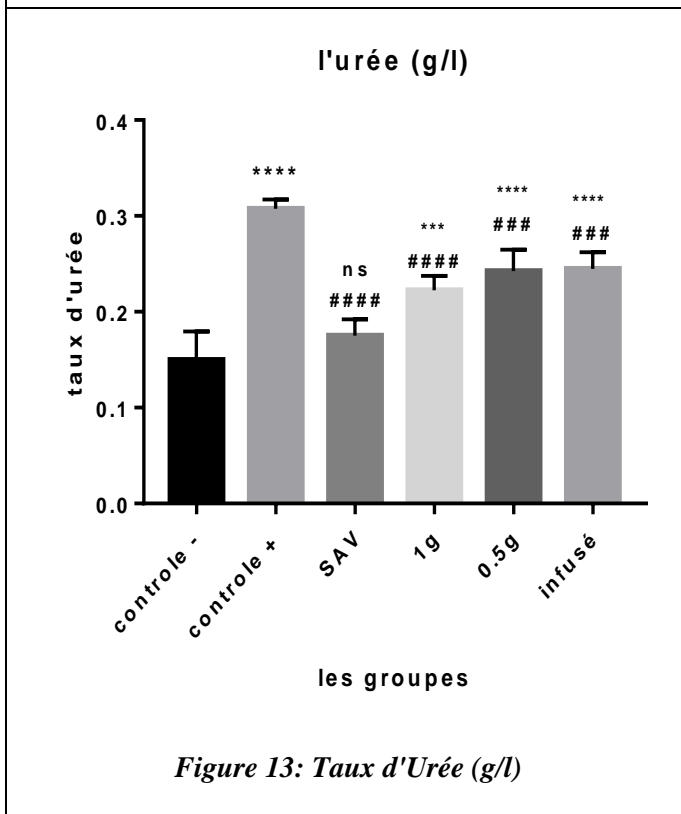


Figure 13: Taux d'Urée (g/l)

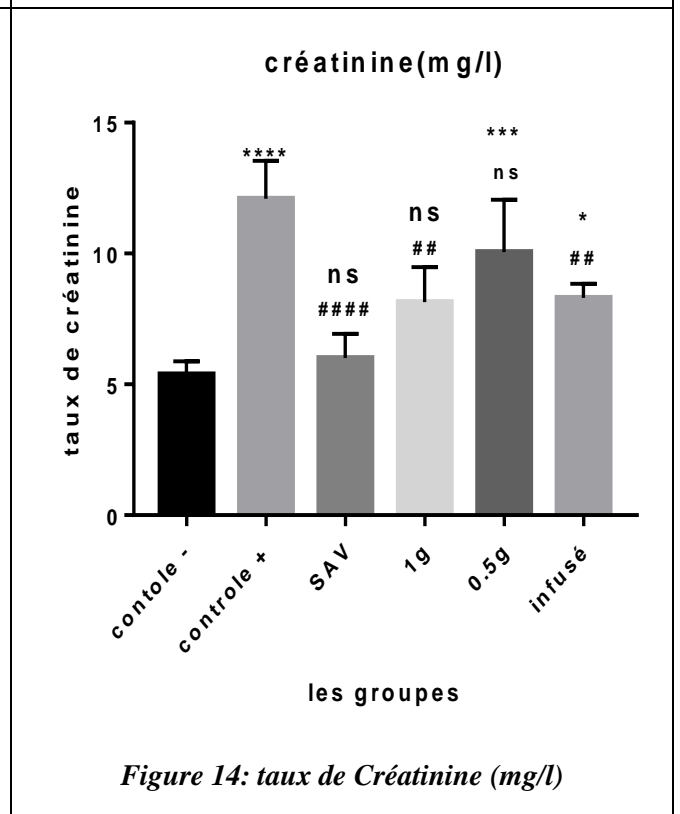


Figure 14: taux de Créatinine (mg/l)









* : différence significative ($p < 0,05$) ; ** : différence hautement significative ($p < 0,01$) ;

*** : différence très hautement significative ($p < 0,001$) ; **** : différence très très hautement significative ($p < 0,0001$) ; ns : différence non significative ($p > 0,05$). Comparé au groupe non envenimé (contrôle-).

#P < 0.05 ; ##P < 0.01 ; ###P < 0.001 et ####P < 0.0001 comparé au groupe venin (contrôle+).

Contrôle - : contrôle négatif ; contrôle + : contrôle positif ; SAV : sérum antivenimeux ; 1g : 1g/kg p.c. ; 0.5g : 0.5g/kg p.c.

1.12. Observation macroscopique des organes :

Les groupes	Les organes	
	Les poumons	Le foie
Contrôle négatif	 A1	 A2
Contrôle positif	 B1	 B2
Sérum antivenimeux	 C1	 C2
Extrait à 0.5g/kg	 D1	 D2

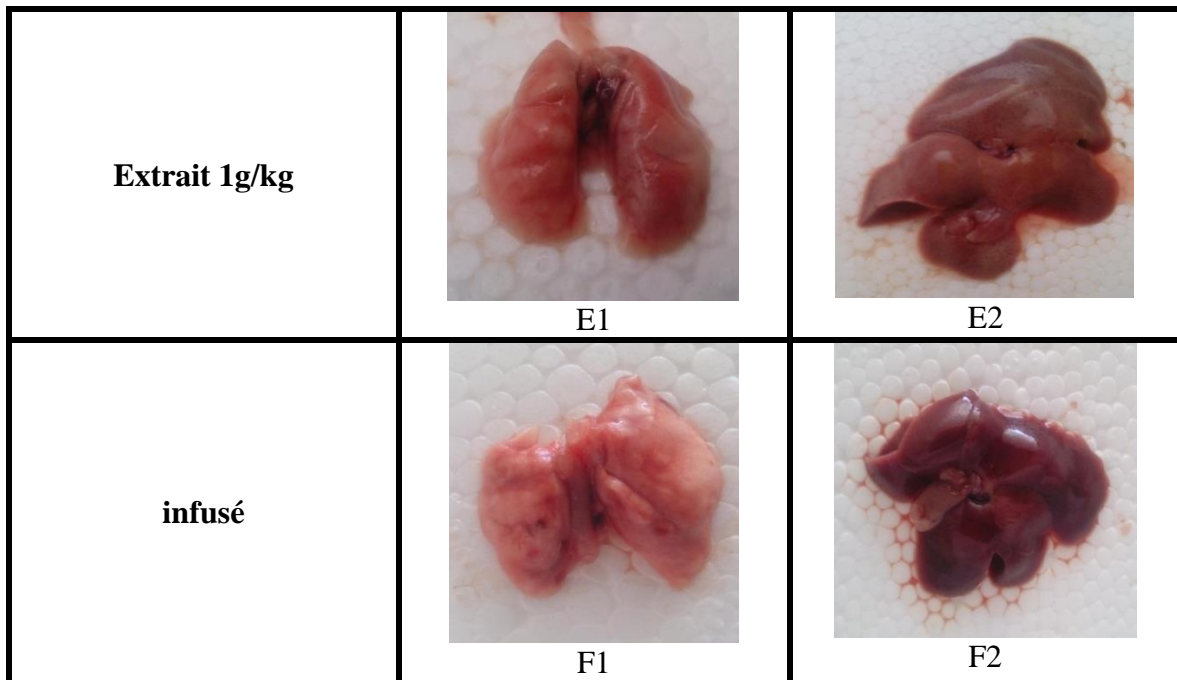


Figure 15 : Observation macroscopique des altérations des organes (Foie et poumons) après envenimation avec les différents traitements

A l'œil nue, nous avons remarqué que les effets toxiques du venin apparaissent comme des lésions très importantes au niveau des organes (B1, B2), Ces lésions diminuent chez le groupe traité par le sérum antivenimeux (C1, C2).

En outre, chez les groupes traités par la plante (l'extrait et l'infusé), les organes issus de lot de 1g/kg ont montré une meilleure amélioration de l'état des organes (E1, E2).

Au niveau pulmonaire, nous avons remarqué des hémorragies et des œdèmes chez les groupes envenimés (B1) et envenimés traités par 0.5gr/kg de l'extrait (D1). En parallèle, cette hémorragie est absente chez les autres groupes

Ces résultats prouvent l'efficacité de la plante dans la neutralisation et la minimisation des effets toxiques du venin de scorpions.

2. Discussion générale :

L'envenimation scorpionique représente la principale cause d'intoxication en Algérie en raison de la présence de substances hautement venimeuses (Bouimeja et *al.*, 2019).

Plusieurs études ont été menées sur l'effet des plantes médicinales sur la neutralisation du venin scorpionique, ainsi que sur la diminution de la pathogénèse et l'altération des organes lors de ces envenimations.

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la toxicité du venin d'*Androctonus australis hector* sur des souris Swiss femelles adultes ainsi qu'à l'évaluation de l'effet antivenimeux d'*A. campestris L.*

Cette plante nous a donné un rendement de 24.36% par le méthanol (70%). Nos résultats se concordent avec plusieurs travaux. Memmi et *al.*, ont trouvé un rendement de 21.76% pour l'extrait méthanolique (Memmi et *al.*, 2007). D'autre étude a montré un rendement de 15.68% pour l'extrait méthanolique de la plante récupérée de la région de Boussaâda et de 6.36 % de celle récupérée d'Oum El Bouaghi (Boudjouref, et *al.*, 2018).

Notre étude montre aussi que l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris L.* est riche en polyphénols et flavonoïdes avec des teneurs de $153.6 \pm 49,446$ mg EAG/g Ps et 67.3 ± 4.934 mg EQ/mg Ps respectivement.

Djidel et Khennouf ont trouvé que l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* récolté de la région de Boussaâda a une teneur en polyphénols et flavonoïdes de 143.4 ± 0.033 EAG mg/g et 17.75 ± 0.001 mg EQ mg/g, respectivement. L'activité antioxydante par test DPPH a donné aussi une IC50 de 2.467 mg/ml (Djidel et Khennouf, 2014).

Dans une autre étude, l'extrait méthanolique d'*A.campestris L* contient des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de 158.75 ± 12.5 EAG mg/g et 175.232 ± 7.2 EQ mg/g respectivement.

Une importante activité antioxydante par test DPPH a été notée ; exprimée par une IC50 de $6 \mu\text{g/ml}$ comparant au BHT, dont l'IC50 est de $11.5 \mu\text{g/ml}$ (Megdiche-Ksouri et *al.*, 2015).

Récemment, une étude réalisée par Boudjouref et *al.* 2018 montre que les extraits méthanoliques d'*A.campestris* récolté de la région de Boussaâda et Oum El Bouaghi présentent des teneurs en polyphénols de $88,61 \pm 0,22$ et $82,84 \pm 0,09$ mg EAG/g extrait respectivement, et des teneurs en flavonoïdes de $12,91 \pm 0,01$ et $13,72 \pm 0,00$ mg EQ/g extrait respectivement.

En plus, l'extrait éthanolique à 50% ; donne des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de 463.2 EAG mg/g et 56.3 EQ mg/gr, respectivement. Toujours dans la même étude ; l'infusé d'*A, campestris L.* donne des teneurs en polyphénols et flavonoïdes de 463.2 EAG mg/g et 56.3 EQ mg/g, respectivement. En parallèle, l'activité antioxydante par test DPPH de l'extrait éthanolique et l'infusé est exprimée par des IC50 de : 2.053 mg/ml et 0.658 mg/ml, respectivement (Akrouf et *al.*, 2011).

Il est important de noter que les conditions d'extraction des plantes ainsi que les conditions météorologiques affectent le rendement et le contenu en polyphénols et en flavonoïdes ; et par

conséquent ; influent sur les activités biologiques dues à ces métabolites (Boudjouref et *al.*, 2018; Ghliissi et *al.*, 2016b; Megdicke-Ksouri et *al.*, 2015).

L'étude de la toxicité du venin Aah de la région de Boussaâda ; nous a donné une DL50 de 1.1mg/kg ; qui est relativement élevée par rapport aux travaux de Bessalem et *al.* (2003) (DL50 entre 0.8 et 0.9 mg/kg). Cependant, nos résultats sont en accords avec ceux de Haddad et ses collaborateurs en 2017 ; qui ont trouvé que la DL50 du venin Aah est un facteur âge-dépendant où ils ont trouvé des DL50 de : 0.338, 1.315 et 2.448 mg/kg pour des souris âgées de 7 jours, 21 jours et adultes respectivement (Haddad-Boushaki et Laraba-Djebari 2017; Bessalem et *al.*, 2003a).

Le sérum antivenimeux utilisé est le sérum antiscorpionique de l'Institut Pasteur d'Alger. C'est un sérum équin purifié préparé dans des conditions décrites par Boussarsar (1979), à partir du venin d'*A. australis hector*. D'après la notice d'accompagnement, ce sérum neutralise 25 DL 50 de venin par ml ; Nos résultats montrent que le sérum neutralise au minimum 7.5 DL50 par ml. Ceci est probablement dû à notre DL50 élevée (Goyffon,1984; Boussarsar,1979).

D'après la littérature, les feuilles d'*A. campestris* sont utilisées en médecine traditionnelle pour divers traitements. Parmi ces derniers, l'utilisation dans les cas des morsures de serpents et de piqures de scorpions (Dib et El Alaoui-Faris 2019; Memmi et *al.*, 2007).

Afin d'étudier l'effet de la plante *A. campestris L.* sur l'envenimation scorpionique *in vivo*, un test de neutralisation a été effectué ; ce test a révélé une protection par la dose de 1gr/kg où on trouve 33% de survivants et une diminution de l'intensité des symptômes qui apparaitre chez les souris mieux que les dose 0.5 et 2 g/kg et de l'infusion où la mortalité est totale.

Ce test révèle une protection modérée avec la dose de 1 gr / kg. Cet effet est non dose dépendant. Des résultats similaires ont été obtenus par Brahmane et *al.* (2013), qui a montré que la dose 1gr/kg de l'extrait de la plante *Andrographis paniculata* est plus efficace dans la neutralisation du venin de *Mesobuthus tamulus* par rapport à la concentration 2gr/kg

Memmi et *al.*, ont testé trois extraits d'*Artemisia campestris* (l'extrait à l'acétate d'éthyle, l'extrait au dichlorométhane et l'extrait éthanolique) pour leur pouvoir neutralisant contre le venin d'*Androctonus australis garzonii Aag*. Leurs résultats montrent que l'extrait à l'acétate d'éthyle et au dichlorométhane sont dépourvus de toute activité neutralisante. Par contre l'extrait éthanolique est capable de neutraliser au minimum une DL50 (Memmi et *al.*, 2007).

De même, l'extrait au dichlorométhane entraîne la neutralisation de venin de vipère *Macrovipera lebetina Ml*. Alors que l'extrait éthanolique n'a aucune activité antivenimeuse. L'ensemble de leurs résultats indiquent clairement que les extraits éthanoliques et au

dichlorométhane ont une activité neutralisante sélective contre le venin de scorpion *Aag* et de vipère *MI* respectivement (Memmi et *al.*, 2007).

Récemment, Boukhalkhal et *al.* montrent que l'extrait au dichlorométhane est composé principalement par des flavonols et flavones (Boukhalkhal et *al.* 2020).

D'autre part, un test combinatoire (plante + sérum antivenimeux) a été réalisé, cette étude a montré une augmentation dans le temps de survie ainsi que le taux de protection par rapport à l'utilisation du sérum ou l'extrait seul.

Des résultats similaires ont été trouvés par Kale et ses collaborateurs (2013) qui ont montré une augmentation du temps de survie après l'association du SAV contre le venin de scorpion *Mesobuthus tamulus* à l'extrait de plante *Andrographis paniculata*.

En outre, afin d'évaluer l'effet de la plante sur le fonctionnement des organes, des analyses biochimiques sont mis en place. L'objectif de ces analyses est la mise en évidence des altérations tissulaires et enzymatiques provoquées par une dose sublétales du venin d'*Aah* ; cette dernière permettra d'induire ces altérations sans recours à une mortalité des souris.

La réponse inflammatoire et le stress oxydatif sont des éléments essentiels et critiques dans la pathogenèse de l'envenimation scorpionique par *Aah* ainsi que dans les altérations des organes. En effet, plusieurs travaux montrent l'activité anti-inflammatoire et antioxydante d'*A. campestris* (Jaouadi et *al.*, 2016; Saoudi et *al.*, 2010; Sefi et *al.*, 2013).

L'activité enzymatique des transaminases ASAT et ALAT a montré une augmentation dans le sérum des souris envenimées par le venin *Aah*. Plusieurs études montrent des résultats similaires après 30 min à 3 heures après l'envenimation scorpionique (Lamraoui et *al.*, 2015; Bouimeja et *al.*, 2019).

L'augmentation du taux de ces enzymes est interprétée par les lésions et les nécroses au niveau du foie et cœur de souris envenimés, aussi il peut revenir à la libération des neurotransmetteurs, l'intensité de l'augmentation dépend du nombre des cellules lésées (Sodikoff 1984; Bertke et Atkins 1964).

Cependant, l'administration de la plante (extrait ou infusion) a montré une réduction de ces enzymes. Ceci pourrait être dû à l'action hépato-protectrice de cette plante (Aniya et *al.*, 2000; Dib et El Alaoui-Faris 2019).

En parallèle, l'effet inhibiteur du SAV sur les transaminases hépatiques pourrait être expliqué par la neutralisation rapide du venin par les fragments Fab`2 (Kabrine et Laraba-Djebari 2014).

De la même façon, nous avons remarqué une augmentation des taux sériques d'urée et créatinine chez le groupe envenimé par rapport aux autres groupes. En effet, L'urée et la créatinine sont connues pour être des bons marqueurs biochimiques du dysfonctionnement rénal, dont les taux élevés impliquent une insuffisance rénale ainsi qu'une inflammation du tissu rénal (Costal-Oliveira et *al.*, 2015).

Nos résultats sont en accord avec des études précédentes qui ont montré des taux très élevés de ces deux paramètres chez les groupes envenimés (Bessalem et *al.*, 2003a, Bouimeja et *al.*, 2019; Lamraoui et *al.*, 2015).

Néanmoins, chez les souris traitées avec la plante ; nous avons remarqué une diminution de ces paramètres. Ceci pourrait être dû à l'activité néphroprotectrice de la plante (Dib et El Alaoui-Faris 2019; Sefi et *al.*, 2013).

De même, l'effet du SAV a montré aussi son efficacité sur les taux d'Urée et créatinine. Ce résultat est dû à l'effet neutralisant des Fab`2 sur le venin (Kabrine et Laraba-Djebari 2014).

L'observation macroscopique des organes (Foie et poumons) après envenimation avec les différents traitements a montré des altérations considérables chez le groupe non traité, avec une amélioration après traitement avec le SAV ou l'extrait de plante à 1gr/kg. Ces observations se concordent avec les résultats des taux des transaminases dans le sang (figures 10 et 11).

Le potentiel neutralisant de l'extrait de la plante peut être attribué à l'effet inhibiteur des composantes phytochimiques présentes dans l'extrait de la plante.

L'ensemble de ces résultats pourraient s'expliquer par la richesse de la plante en métabolites secondaires tels que les polyphénols, les flavonoïdes, les saponines, les tanins et les alcaloïdes (Dib et El Alaoui-Faris 2019; Memmi et *al.*, 2007; Sefi et *al.*, 2010; Kale et *al.*, 2013b).

Cependant, d'autres expériences sont indispensable afin d'élucider les mécanismes et les molécules impliqués dans cette activité antivenimeuse.

Conclusion

Conclusion :

Cette étude nous a permis, d'une part, d'évaluer le degré de toxicité du venin de scorpion Aah sur des souris femelles adultes Swiss. Ce venin est classé parmi les venins les plus toxiques non seulement en Algérie mais à l'échelle mondiale.

Et d'autre part, évaluer l'effet neutralisant de la plante *Artemisia campestris* L chez les souris envenimées.

Les résultats de notre étude ont évalué l'activité antivenimeuse d'*Artemisia campestris* L par plusieurs tests. L'administration de l'extrait méthanolique de la partie aérienne de la plante après l'envenimation pourrait prolonger le temps de survie et améliorer le pourcentage d'apparition des symptômes. En parallèle, il induit aussi une protection des organes vitaux (foie, poumons, reins) par la restauration des paramètres biochimiques.

Par conséquent, il est important d'envisager l'utilisation de la plante contre l'envenimation scorpionique en tant que produit médicamenteux naturel en combinaison avec la thérapie conventionnée.

Nos perspectives se résument dans l'étude approfondie sur la plante *Artemisia campestris* L pour isoler la molécule ou l'ensemble des molécules responsables de cette activité intéressante. aussi de la valorisation des études sur le venin de scorpions en Algérie qui est considéré comme un trésor nationale surtout dans notre région.

Références:

- Adamu, H. M., O. J. Abayeh, M. O. Agho, A. L. Abdullahi, A. Uba, H. U. Dukku, and B. M. Wufem. 2005. "An ethnobotanical survey of Bauchi State herbal plants and their antimicrobial activity." *Journal of ethnopharmacology* 99 (1):1-4.
- Akrout, Ahmed, Lidia Alarcon Gonzalez, Hajer El Jani, and Pablo Campra Madrid. 2011. "Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia." *Food and Chemical Toxicology* 49 (2):342-347.
- Aniya, Y., M. Shimabukuro, M. Shimoji, M. Kohatsu, M. A. Gyamfi, C. Miyagi, D. Kunii, F. Takayama, and T. Egashira. 2000. "Antioxidant and Hepatoprotective Actions of the Medicinal Herb *Artemisia campestris* from the Okinawa Islands." *BIOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN* 23:309-312.
- Bahorun, T., B. Gressier, F. Trotin, C. Brunet, T. Dine, M. Luyckx, J. Vasseur, M. Cazin, J. C. Cazin, and M. Pinkas. 1996. "Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations." *Arzneimittelforschung* 46 (11):1086-9.
- Bekkari, Nadja. 2010. "Effets du venin d'*androctonus australis hector* et de ses toxines purifiées AaHI et AaHII sur le système immunitaire."
- Bekkari, Nadja, Marie-France Martin-Eauclaire, and Fatima Laraba-Djebari. 2015. "Complement system and immunological mediators: their involvements in the induced inflammatory process by *Androctonus australis hector* venom and its toxic components." *Experimental and Toxicologic Pathology* 67 (7-8):389-397.
- Beloued, A. 2005. *Plantes médicinales d'Algérie*. Alger: Offices des publications universitaires.
- Ben, Nasr Hamed, T. Serria Hammami, Lobna Mahmoudi, and Khaled Zeghal. 2014. "Aqueous leaves extract of *Artemisia campestris* inhibition of the scorpion venom induced hypertension." *J. Med. Plants Res. Journal of Medicinal Plants Research* 8 (13):538-542.
- Bertella, Anis, Kheira Benlahcen, Sidaoui Abouamama, Diana CGA Pinto, Karim Maamar, Mebrouk Kihal, and Artur MS Silva. 2018. "Artemisia herba-alba Asso. essential oil antibacterial activity and acute toxicity." *Industrial Crops and Products* 116:137-143.
- Bertke, Eldridge M, and Joseph H Atkins. 1964. "Effect of *Centruroides sculpturatus* venom upon rat tissue: A histopathologic study." *Toxicon* 2 (3):205-209.
- Bessalem, S, D Hammoudi-Triki, and F Laraba-Djebari. 2003a. "Effet de l'immunothérapie sur les modifications métaboliques et histopathologiques après envenimation scorpionique expérimentale." *Bull Soc Pathol Exot* 96 (2):110-114.
- Bessalem, S., D. Hammoudi-Triki, and F. Laraba-Djebari. 2003b. "Effet de l'immunothérapie sur les modifications métaboliques et histopathologiques après envenimation scorpionique expérimentale." *Bulletin de la Societe de pathologie exotique (1990)* 96 (2):110-4.
- Bettini, Sergio. 1978. *Arthropod venoms*. Berlin: Springer-Verlag.
- Boudjouref, Mourad, B Rachid, and B Sihem. 2018. "Antioxidant Activity and Phenolic Content of *Artemisia Campestris* from Two Regions of Algeria." *World Journal of Environmental Biosciences* 7 (2):61-66.
- Bouimeja, B, KH Yetongnon, O Touloun, H Berrougui, MA Laaradia, F Ouanaïmi, A Chait, and A Boumezzough. 2019. "Studies on antivenom activity of *Lactuca serriola* methanolic extract against *Buthus atlantis* scorpion venom by in vivo methods." *South African Journal of Botany* 125:270-279.
- Boukhalkhal, Sarah, Nadhir Gourine, Diana CGA Pinto, Artur MS Silva, and Mohamed Yousfi. 2020. "UHPLC-DAD-ESI-MSn profiling variability of the phenolic constituents of *Artemisia campestris* L. populations growing in Algeria." *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 23:101483.

- Boushaki, Ishak, and Wassila épse Haddad. 2018. "Etude comparative de la réponse inflammatoire" cas cliniques et expérimentaux".
- BOUSSARSAR, A. 1979. "Production de sérum antiscorpionique en Tunisie." Thèse Doct. méd. vétérinaire, Sidi Thabet, Tunisie.
- Caratini, Roger. 1976. *La vie des plantes*. Paris: Bordas.
- Chair-Yousfi, Imène, Fatima Laraba-Djebari, and Djelila Hammoudi-Triki. 2015. "Androctonus australis hector venom contributes to the interaction between neuropeptides and mast cells in pulmonary hyperresponsiveness." *International Immunopharmacology* 25 (1):19-29.
- Chaubey, Mukesh Kumar. 2009. "Antivenom reversal of biochemical alterations induced by black scorpion Heterometrus fastigiosus Couzijn venom in mice." *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 15 (2):226-235.
- Chippaux, J. P., and M. Goyffon. 2008. "Epidemiology of scorpionism: A global appraisal." *Acta tropica*. 107 (2):71.
- Costal-Oliveira, F, C Guerra-Duarte, KLP Castro, B Tintaya, C Bonilla, W Silva, A Yarlequé, R Fujiwara, MM Melo, and C Chávez-Olórtegui. 2015. "Serological, biochemical and enzymatic alterations in rodents after experimental envenomation with Hadruroides lunatus scorpion venom." *Toxicon* 103:129-134.
- Dib, I., and F. E. El Alaoui-Faris. 2019. "Artemisia campestris L.: review on taxonomical aspects, cytogeography, biological activities and bioactive compounds." *Biomed Pharmacother* 109:1884-1906. doi: 10.1016/j.biopha.2018.10.149.
- Dib, I., M. Tits, L. Angenot, J. N. Wauters, A. Assaidi, H. Mekhfi, M. Aziz, M. Bnouham, A. Legssyer, M. Frederich, and A. Ziyat. 2017. "Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract of Artemisia campestris L. from Eastern Morocco." *Journal of ethnopharmacology* 206:224-235.
- Djidjel, Saliha ; Khennouf, Seddik. 2014. "Radical scavenging, reducing power, lipid peroxidation inhibition and chelating properties of extracts from Artemisia campestris L. Aerial parts." *Annual Research & Review in Biology*:1691-1702.
- Elyassir, Fatima Ezzahra 2013. "Envenimations chez l'enfant par morsure de serpent et piqure de scorpion a propos d'un cas (à propos d'un cas)."
- Essid, Rym, Fatma Zahra Rahali, Kamel Msaada, Ines Sghair, Majdi Hammami, Aida Bouratbine, Karim Aoun, and Ferid Limam. 2015. "Antileishmanial and cytotoxic potential of essential oils from medicinal plants in Northern Tunisia." *INDCRO Industrial Crops & Products* 77:795-802.
- Ghlassi, Z., N. Sayari, R. Kallel, A. Bougatef, and Z. Sahnoun. 2016a. "Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of Artemisia campestris aqueous extract in rat." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 84:115-122.
- Ghlassi, Z., N. Sayari, R. Kallel, A. Bougatef, and Z. Sahnoun. 2016b. "Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of Artemisia campestris aqueous extract in rat." *Biomed Pharmacother* 84:115-122. doi: 10.1016/j.biopha.2016.09.018.
- Goyffon, M. 1984. "Scorpionisme et sérums antiscorpioniques." *Rev. Arachnol.* 5 (4):311-319.
- Haddad-Ishak-boushaki, Wassila, and Fatima Laraba-Djebari. 2017. "Age-related changes in inflammatory response after experimental envenomation: impact on the susceptibility to Androctonus australis hector venom." *Inflammation* 40 (4):1131-1142.
- Huang, Xing-Jiu, Yang-Kyu Choi, Hyung-Soon Im, Oktay Yarimaga, Euisik Yoon, and Hak-Sung Kim. 2006. "Aspartate aminotransferase (AST/GOT) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques." *Sensors* 6 (7):756-782.
- Inceoglu, Bora; Lango, Jozsef; Jing, Jie; Chen, Lili; Doymaz, Fuat; Pessah, Isaac N.; Hammock, Bruce D. 2003. "One scorpion, two venoms: Prevenom of Parabuthus transvaalicus acts

- as an alternative type of venom with distinct mechanism of action." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:922-927.
- Ita, BN, and SI Eduok. 2017. "Radical Scavenging Activity of Edible Fungal Sporocarp Extracts from the Niger Delta Region of Nigeria." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9 (4):493-497.
- Jaouadi, Ichrak, Zaineab Abdelkafi-Koubaa, Sana Riabi-Ayari, Imed Hassen, Mbarka Tej Yakoubi, Mohamed El Ayeb, Mohamed El Gazzah, and Naziha Marrakchi. 2016. "Anti-hemolytic and Anti-cytotoxic Effect of Two Artemisia Species (A. campestris and A. herba-alba) Essential Oil against Snake Venom." *International journal of agriculture and biology* 18 (4):805-812.
- Kabrine, M, and F Laraba-Djebari. 2014. "Immunomodulatory and protective properties of tacrolimus in experimental scorpion envenomation." *International journal of immunopathology and pharmacology* 27 (1):69-78.
- Kale, R. S., S. E. Bahekar, S. R. Nagpure, and K. J. Salwe. 2013a. "Anti-scorpion venom activity of *Andrographis paniculata*: A combined and comparative study with anti-scorpion serum in mice." *Anc Sci Life* 32 (3):156-60. doi: 10.4103/0257-7941.122999.
- Kale, Ranjana S, Satish E Bahekar, Shailesh R Nagpure, and Kartik J Salwe. 2013b. "Anti-scorpion venom activity of *Andrographis paniculata*: a combined and comparative study with anti-scorpion serum in mice." *Ancient science of life* 32 (3):156.
- Karabegović, Ivana, Milena Nikolova, Dragan Veličković, Saša Stojičević, Vlada Veljković, and Miodrag Lazić. 2011. "Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques." *Chinese Journal of Chemical Engineering* 19 (3):504-511.
- Lamraoui, Amal, Sonia Adi-Bessalem, and Fatima Laraba-Djebari. 2015. "Immunopathologic effects of scorpion venom on hepato-renal tissues: Involvement of lipid derived inflammatory mediators." *Experimental and molecular pathology* 99 (2):286-296.
- Megdiche-Ksouri, Wided, Najla Trabelsi, Khaoula Mkadmini, Soumaya Bourgou, Amira Noumi, Mejdj Snoussi, Rahma Barbria, Olfa Tebourbi, and Riadh Ksouri. 2015. "Artemisia campestris phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity." *Industrial Crops and Products* 63:104-113.
- Memmi, A., G. Sansa, I. Rjeibi, M. El Ayeb, N. Srairi-Abid, Z. Bellasfer, and A. Fekhih. 2007. "Utilisation des plantes médicinales contre l'envenimation scorpionique et ophidienne." *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis* 84 (1-4):1-4.
- Miranda, François, Charles Kupeyan, Hervé Rochat, Catherine Rochat, and Serge Lissitzky. 1970. "Purification of animal neurotoxins: isolation and characterization of eleven neurotoxins from the venoms of the scorpions *Androctonus australis Hector*, *Buthus occitanus tunetanus* and *Leiurus quinquestriatus quinquestriatus*." *European journal of biochemistry* 16 (3):514-523.
- Mohammed Z, Atik F. 2011. "IMPACT OF SOLVENT EXTRACTION TYPE ON TOTAL POLYPHENOLS CONTENT AND BIOLOGICAL ACTIVITY FROM TAMARIX APHYLLA (L.) KARST."
- Naili, Mahboba B., Rabia O. Alghazeer, Nabil A. Saleh, and Asma Y. Al-Najjar. 2010. "Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia campestris* (Astraceae) and *Ziziphus lotus* (Rhamnaceae)." *ARABJC Arabian Journal of Chemistry* 3 (2):79-84.
- Nostro, A., M. P. Germano, V. D'Angelo, A. Marino, and M. A. Cannatelli. 2000. "Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity." *LETTERS IN APPLIED MICROBIOLOGY* 30:379-384.
- Organisation de coopération et de développement, économiques. 2008. "Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l'ajustement des doses."
- Ozenda, Paul. 1985. *Flore du Sahara*.

- Quezel, P., and S. Santa. 1962. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Tome 1.* Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- Saoudi, M., M. S. Allagui, A. Abdelmouleh, K. Jamoussi, and A. El Feki. 2010. "Protective effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* against puffer fish *Lagocephalus lagocephalus* extract-induced oxidative damage in rats." *Exp Toxicol Pathol* 62 (6):601-5. doi: 10.1016/j.etp.2009.08.003.
- Sassi, Ahlem Ben, Fethia Harzallah-Skhiri, and Mahjoub Aouni. 2007. "Investigation of Some Medicinal Plants from Tunisia for Antimicrobial Activities." *Pharmaceutical Biology* 45 (5):421-428.
- Sefi, M., H. Bouaziz, N. Soudani, N. Zeghal, and T. Boudawara. 2011. "Fenthion induced-oxidative stress in the liver of adult rats and their progeny: Alleviation by *Artemisia campestris*." *Pestic. Biochem. Physiol. Pesticide Biochemistry and Physiology* 101 (2):71-79.
- Sefi, M., H. Fetoui, M. Makni, and N. Zeghal. 2010. "Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation end products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats." *Food Chem Toxicol* 48 (7):1986-93. doi: 10.1016/j.fct.2010.05.005.
- Sefi, M., A. Troudi, F. B. Hamida, N. Soudani, T. Boudawara, and N. Zeghal. 2013. "Protective effects of *Artemisia campestris* upon fenthion-induced nephrotoxicity in adult rats and their progeny." *General physiology and biophysics*. 32 (4):577-588.
- Sefi, Mediha, Hamadi Fetoui, Nejla Soudani, Yassine Chtourou, Mohamed Makni, and Najiba Zeghal. 2012. "*Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products." *PRP Pathology - Research and Practice* 208 (3):157-162.
- Sodikoff, Charles. 1984. *Guide de diagnostic de laboratoire: profils biochimiques des affections des petits animaux*: Vigot.
- Tan, R. X., W. F. Zheng, and H. Q. Tang. 1998. "Biologically active substances from the genus *Artemisia*." *Planta Med* 64 (4):295-302. doi: 10.1055/s-2006-957438.
- Thuillier, F, C Demarquilly, A Szymanowicz, C Gaillard, M Boniface, C Braidy, A Daunizeau, D Gascht, A Gruson, and JF Lagabrielle. 2008. "Turbidimétrie ou néphélémétrie: quel choix pour les dosages de l'albumine, l'ApoA, la CRP, l'haptoglobine, l'IgM et la transthyréline?" *Annales de biologie clinique*.
- Tsinalis, Dimitrios, and Isabelle Binet. 2006. "Appréciation de la fonction rénale: créatininémie, urée et filtration glomérulaire." *Forum Médical Suisse*.
- Vernin, G, O Merad, GMF Vernin, RM Zamkotsian, and C Parkanyi. 1995. "GC-MS analysis of *Artemisia herba alba* Asso essential oils from Algeria." In *Developments in Food Science*, 147-205. Elsevier.
- Vincent, Kim. 2008. "Probit analysis." *San Francisco: San Francisco State University*.
- Wong, S.P., L.P. Leong, and J.H. William Koh. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants.
- Yun, Kyeong Won, Anwar Maun, and Jong Hee Kim. 2007. "Effects of the aqueous extract from *artemisia campestris* ssp. *caudata* on mycorrhizal fungi colonization and growth of sand dune grasses." *Journal of Plant Biology* 50 (3):358-361. doi: 10.1007/BF03030667.

Abstract:

Artemisia campestris L is a well-known plant in the region of Boussaada which occupies an important place in traditional medicine for its presumed efficacy against scorpion venom.

This work aims to study the toxicity of the venom of *Androctonus australis hector* scorpion and the neutralizing power of the extract of *Artemisia campestris* L against this venom.

First, we tried to calculate the LD50 by the Probit method where it is 22 μ g/20g of mice b.w. by IP route. We also evaluate the antivenom activity of *Artemisia campestris* L against Aah scorpion venom by several tests (neutralization, combined effect and by the sublethal dose). Lethal and sublethal doses (depending on the test) are used with different doses of plant extract (0.5, 1 and 2 g / kg) or infusion. The plant show a very good effect especially the dose of 1g / kg, which improve survival time, percentage of survivors and a decrease in symptoms intensity. Moreover, plant treatment increase in the protection rate and restore the values of the biochemical parameters.

These results are probably due to the richness of this plant in antioxidants, of which it has a powerful IC50 equal to 36 μ g / ml, which is very close to IC50 of the standard antioxidant (BHT) which is around 31.03 μ g / ml. plant extract show a total polyphenols (153.6 mg EAG / mg dw) and flavonoids (67.3 mg EQ / mg dw).

Finally, it is important to consider the use of the plant as an anti-venom against scorpion envenomation as a natural drug product with combination to drug therapy.

Our perspectives can be summed up in the in-depth study on the plant *Artemisia campestris* L to isolate the molecule or all the molecules responsible for this interesting activity also for the valuation of studies on scorpion venom in Algeria which is considered as a national treasure mostly in our region.

ملخص

يعتبر *Artemisia campestris* L نباتاً معروفاً خاصة في منطقة بوسعادة حيث يحتل مكاناً هاماً في الطب التقليدي لفعاليته ضد سم العقرب.

يهدف هذا العمل إلى دراسة درجة سمية سم العقرب *Androctonus australis hector* وقوة ابطال المفعول لمستخلص نبات *Artemisia campestris* L على هذا السم.

في البداية، حاولنا حساب LD50 بواسطة طريقة Probit حيث كانت النتيجة تساوي 22 ميكروغرام / 20 جرام من وزن الفئران عبر المسار داخل الصفاقي (i.p).

في هذه الدراسة، قمنا أيضاً بتقييم النشاط المضاد لسوموم *Artemisia campestris* L ضد سم العقرب Aah من خلال عدة اختبارات (ابطال المفعول والتوليف والجرعة شبه المميئة)، حيث يتم استخدام الجرعات المميئة ودون المميئة (حسب الاختبار) مع جرعات مختلفة من المستخلص (0.5، 1 و 2 جم / كجم) أو مغلي النبتة. حيث أظهر النبات تأثيراً جيداً جداً وخاصة جرعة 1 جم / كجم والتحسين يتجلى في تحسين زمن البقاء على قيد الحياة ونسبة الناجين وتقليل شدة ونسبة ظهور الأعراض، زيادة معدل الحماية واستعادة قيم الاختبارات البيوكيميائية التي تم تحليلها إلى ما يقارب قيم المجموعة الشاهدة.

ترجع هذه النتائج -ربما- إلى غنى هذا النبات بمضادات الأكسدة، حيث قدر تركيز التثبيط IC50 بما يساوي 36 ميكروغرام / مل وهو تركيز قوي جداً، وهو قريب جداً من مضاد الأكسدة المتغير المستعمل حيث تركيز تثبيطه للجذور الحرة قدر ب (BHT) 31.03IC50 ميكروغرام / مل؛ كما قدر إجمالي البوليفينول ب (153.6 مجم / EAG ملغ من وزن الجسم النبات الجاف) والفلافونويدات ب (67.3 مجم / EQ مجم من وزن النبات الجاف).

لذلك، من المهم اعتبار استخدام النبات كمضاد للسم ضد تسمم العقرب كمنتج دوائي طبيعي. كما تتلخص وجهات نظرنا المستقبلية في الدراسة المتعمقة حول نبات *Artemisia campestris* L لعزل الجزيء أو مجموعة الجزيئات المسؤولة عن هذا النشاط المثير للاهتمام وكذلك تقييم الدراسات حول سم العقرب في الجزائر والذي يعتبر كنزاً وطنياً خاصة في منطقتنا.

Annexes

Annexe 1 :



Figure 15 : Djebel Messaad

Annexe 2 :

Matière Alimentaire	Quantité en g/100g dans l'aliment	Pourcentage %
Mais	62	62
Soja	26	26
Phosphate	1.6	1.6
Calcaire	0.9	0.9
Cellulose	1	1
Minéraux	1	1
Vitamines	1	1

Tableau 8 : Composition de l'alimentation des souris pour 1 kg d'aliment (selon l'Office Nationale des Aliments des Bétails)

Annexe 3 :

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.25	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

*Figure 16 : tableau de conversion du pourcentages en Probit***Annexe 4 :**

	Les groupes	groupe1	Groupe 2	groupe 3	groupe 4	groupe 5
	Le test	venin seul	0.5gr/kg	1gr/kg	2gr/kg	infusé
	les souris		temps de survie (min)			
	s1	9 min 56 sec	22min 07sec	19 min 58 sec	10 min 53 sec	27 min 24 sec
	s2	25 min 01 sec	39min 39sec	27min31 sec	23 min 09 sec	29 min 16 sec
	s3	25 min 49 sec	15h 49min	survie	35 min 22 sec	38 min 21 sec
	moyennes (min)	20,255	336.92	23,742	23,133	31,672
	Ecart-types (min)	6,881	408.05	3,775	8,1666	4,452

Tableau 9 : Le temps de survie des souris dans le test de neutralisation

Annexe 5 :

Les groupes	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5
Le test	Contrôle -	DL99	DL99+1gr/kg de l'extrait	DL99+100µl de SAV	DL99+100µl de SAV +1gr/kg
Les souris		Le temps de survie			
S1	/	9 min 56 sec	19min 58sec	31 min 55 sec	16h 18min 36sec
S2	/	25 min 01 sec	27min 31sec	35 min 02 sec	21h 4min 13sec
S3	/	25 min 49 sec	survie	42 min 59 sec	survie
La moyenne	/	20min 15sec	23min 46sec	36min 39sec	18h 41min 24sec

Tableau 10 : le temps de survie dans le test combinatoire

Annexe 6 :

Figure 17 : l'automate Selectra pro M