

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE & BIOCHIMIE

N°:



DOMAINE : SCINCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCE BIOLOGIQUE

OPTION : BIOCHIMIE APPLIQUEE

Mémoire présenté pour l'obtention

Du diplôme de Master Académique

Par : Guerbas Mohamed

Dogha Cheyma & Haffaf Abdelhak

Intitulé

**Etude de l'activité antiparasitaire d'Artemisia
campestris sur Echinococcus granulosus**

Soutenu devant le jury composé de :

MM. Bouaziz S

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Encadreur

Mr. Harrar N

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

MM. Haffaf S

Université Mohamed Boudiaf M'sila

Examineur

Année universitaire : 2021 /2022

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail : A Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné le courage.

Je dédie ce modeste travail

à mon chère père "el hadj" pour son aide et son patience , cette aventure

n'aurait certainement pas existé sans vous.

A ma chère mère "Zineb" en témoignage de mon éternelle reconnaissance ,

Qui m'a imprégné de l'essence de son être, de sa générosité, et de sa gentillesse n'a

jamais cessé d'être là pour moi.

Qu'ils seront toujours fiers de moi. Que dieu vous protège et vous prête bonne

santé et longue vie.

A mes chères grandes pères et grandes mères qui ma donner tout son amour, je

t'aime.

Je le dédie aussi à mes beaux-frères : Amine, islam qui est mes joies.

Et mes sœurs : Meyssa, Amina, Ahlam, Noussa , Yasmine , Iman.

Et mes tantes : mouna, leyla, fayza, batoul.

A tous mes amies , Pour cel qui m'a partagé mes joies et mes peines, qui ma tant

aidé et soutenu, et qui était pour moi un cœur, veillant pendant toute ma vie, que je

ne pourrais jamais assez remercier

Cheyima

DEDICACE

À mes chers parents

À la pensée de mes grands parents

À mes frères

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues

À tous ceux qui aiment la science

Mohamed

À mes chers parents

À la pensée de mes grands parents

À mes frères

À toute ma famille

À mes amis et mes collègues

À tous ceux qui aiment la science

Abdelhak

REMERCIEMENTS

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

Je tiens à exprime toute ma reconnaissance à ma directrice de mémoire,

" Mr. BOUAZIZ SAMIA " je le remercie de m'avoir Encadré, Orienté aidé conseillé., sa disponibilité et la confiance qu'il m'accordé m'ont permis de réaliser ce travail.

J'adresse mes sincères remerciement a tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leur parole, leur critique Ont guidé mes Réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches

Je tiens également mes vifs remerciements à mes professeurs à l'université

Mohamed Boudiaf département de microbiologie et biochimie.

Nous remercions les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail.

Aux personnels du laboratoire biochimie appliquée, en particulier pour leur aide.

À tous les étudiants de master de la promotion 2022.

Sommaire

Résumé.....	i
Liste des abréviations.....	ii
Liste des figures	iii
Listes des tableaux	iv
Introduction	1
Chapitre I. Propriétés biologiques d' <i>Artemisia campestris</i> L.	2
I.1. Généralités	2
I.2. Noms vernaculaires	2
I.3. Description botanique.....	2
I.4. Classification systématique d' <i>Artemisia campestris</i> L.....	2
I.5. Origine et distribution.....	3
I.6. Composition chimique.....	4
I.7. L'utilisation traditionnelle	4
I.8. Activités biologiques	4
I.8.1. Activité anti- oxydante	5
I.8.2. Activité anti- microbienne.....	5
I.8.3. Activité anti inflammatoire	5
I.8.4. Activité antiparasitaire	5
I.9. Les métabolites secondaires	6
I.9.1. Les polyphénols.....	6
I.9.2. Les flavonoïdes	7
I.9.3. Les tanins.....	7
Chapitre II. Le Kyste Hydatique	9
II.1. Généralités	9
II.2. Épidémiologie.....	9
II.3. Répartition géographique	10

II.4. Le parasite <i>Echinococcus Granulosus</i>	10
II.4.1. Classification.....	10
II.4.2. Cycle évolutif	11
II.4.3. Formes parasitaires d' <i>Echinococcus granulosus</i>	12
II.5. Diagnostique et traitement.....	14
II.5.1. Diagnostic.....	14
II.5.2. Traitement	15
II.6. Contrôle et prévention	15
Chapitre III. Matériels et méthodes.....	16
III.1. Matériel	16
III.1.1. Matériel végétale	16
III.1.2. Matériels et produits de laboratoire.....	16
III.1.3. Parasite	16
III.2. Méthodes.....	17
III.2.1. Procédés d'extraction	17
III.2.2. Analyses quantitatives des extraits.....	18
III.2.3. Activité scolicide <i>in vitro</i>	20
Chapitre IV. Résultats et discussion.....	22
IV.1. Rendements des extractions.....	22
IV.2. Analyses quantitatives	22
IV.2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes	22
IV.3. Activité scolicide.....	26
Conclusion.....	33
Références bibliographiques	31

ملخص

Artemisia campestris هو نبات طبي ينتمي الى عائلة Asteraceae يوجد هذا النوع المعروف باسم "دققت" في عدة مناطق من الجزائر بما في ذلك الجنوب. يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي لعلاج أمراض مختلفة مثل السكري والسمنة وخفض الكوليسترول

يتم الحصول على المستخلصات العضوية عن طريق النقع والتفكيك باستخدام: الميثانول والمياه المقطرة (مستخلص مائي وميثانولي). وتبلغ كفاءة استخراج مستخلص الميثانول نحو 20.2 في المائة والنسبة للمستخلص المائي فتقدر ب 23.3 في المائة ويبين التقدير الكمي لمجموع البوليفينول بواسطة طريقة Folin- Ciocalteu أن مستخلص الميثانولي في الجزء العلوي من نبتة "دققت" يحتوي على $115.38 \pm 5.98 \mu\text{g EAG/mg E}$ و $64.67 \pm 6.29 \mu\text{g EAG/mg E}$ بالنسبة للمستخلص المائي، وبالتوازي مع ذلك، فإن التقدير الكمي للفلافونويد هو $14.03 \pm 1.01 \mu\text{g EAG/mg E}$ للمستخلص الميثانولي و $8.91 \pm 0.29 \mu\text{g EAG/mg E}$ للمستخلص المائي.

يتم تقييم النشاط المضاد للهيدياتيك في المختبر لنبتة "دققت" من خلال دراسة التأثير السكوليسيدي للمستخلص الميثانولي والمائي على حياة الطفيليات *Echinococcus granulosus*، تظهر النتائج ان المستخلص الميثانولي له تأثير سكوليسيدي مهم للغاية مقارنة بالمستخلص المائي، بنسبة وفيات تبلغ 100 بالمئة بعد 20 دقيقة من احتضان الطفيليات في تركيز 100 مغ/مل من من المستخلص الميثانولي.

الكلمات المفتاحية: دققت، *Artemisia campestris*، البوليفينول، طفيليات، الفلافونويد، سكوليسيدي، *Echinococcus granulosus*.

Abstract

Artemisia campestris is a medicinal plant belonging to the Asteraceae family. This species known as "Dgouft" is found in several regions of Algeria including the south. It is widely used in traditional medicine to treat various diseases such as diabetes, obesity and to reduce cholesterol.

The organic extracts are obtained by maceration and decoction using: methanol and distilled water (aqueous and methanolic extract). The extraction yield of the methanolic extract is about 20.2 % and the yield of the aqueous extract is about 23.3 %.

The quantitative estimation of total polyphenols by the Folin Ciocalteu method shows that the methanolic extract of the aerial part of *Artemisia campestris* contains: 115.38 ± 5.98 μg EAG/mg E and 64.67 ± 6.29 μg EAG/mg E for the aqueous extract. In parallel, the quantitative estimation of flavonoids is 14.03 ± 1.01 μg EAG/mg E for methanolic extract and 8.91 ± 0.29 μg EAG/mg E for aqueous extract.

The evaluation of the in vitro antihydatic activity of *Artemisia campestris* is assessed by studying the scolical effect of the methanolic extract and the aqueous extract on the viability of the protoscolex form of the parasite *Echinococcus granulosus*. The results show that the methanolic extract has a very significant scolical effect compared to the aqueous extract; whose percentage of mortality is 100% after incubation of the parasite at the concentration 100 mg/ml of the methanolic extract for 20 min.

Key words : *Artemisia campestris*, polyphenols, Flavonoides, scolical, protoscoleces, *Echinococcus granulosus*.

Résumé

Artemisia campestris est une plante médicinale appartenant à la famille des Asteraceae. Cette espèce connue sous le nom de « Dgouft » est trouvée dans plusieurs régions de l'Algérie y compris le sud. Elle est très utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies comme le diabète, l'obésité et pour diminuer le cholestérol.

Les extraits organiques sont obtenus par macération et décoction en utilisant : le méthanol et l'eau distillée (extrait aqueux et méthanolique). Le rendement d'extraction de l'extrait méthanolique est de l'ordre 20.2 % et le rendement de l'extrait aqueux est de l'ordre 23.3 %.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux par la méthode Folin Ciocalteu montre que l'extrait méthanolique de la partie aérienne d *Artemisia campestris* contient : $115.38 \pm 5.98 \mu\text{g EAG/mg E}$ et $64.67 \pm 6.29 \mu\text{g EAG/mg E}$ pour l'extrait aqueux. En parallèle, l'estimation quantitative des flavonoïdes est de $14.03 \pm 1.01 \mu\text{g EAG/mg E}$ pour l'extrait méthanolique et $8.91 \pm 0.29 \mu\text{g EAG/mg E}$ pour l'extrait aqueux.

L'évaluation de l'activité antihydrique *in vitro* d'*Artemisia campestris* est évaluée par l'étude de l'effet scolicide de l'extrait méthanolique et de l'extrait aqueux sur la viabilité de la forme protoscolex du parasite *Echinococcus granulosus*. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique possède un effet scolicide très important par rapport à l'extrait aqueux ; dont le pourcentage de mortalité est 100 % après une incubation du parasite à la concentration 100 mg/ml de l'extrait méthanolique pendant 20 min.

Les mots clés : *Artemisia campestris*, polyphénols, Flavonoïdes, scolicide, protoscolex, *Echinococcus granulosus*.

Liste des abréviations

AC : *Artemisia campestris* L.

A. campestris L : *Artemisia Campestris* L

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

BHT : 1 'hydroxytoluène butyl

CE : Cystic echinocccosis : Échinococcose kystique

DPPH : 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyle

EAF : fraction acétate d'éthyle

EM : L'extrait méthanolique

EA : L'extrait aqueux

EAG : équivalent acide gallique

E. granulosus : *Echinococcus granulosus*

EQ : équivalent quercétine

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50%.

MCE : Extrait brut de méthanol

MoO₄²⁻ : phosphomolybdique.

Na₂CO₃ : carbonate de sodium.

PSC : Protoscolex.

WO₄²⁻ : phosphotungstique

Liste des figures

Figure 1: <i>Artemisia campestris</i> L	2
Figure 2 : Répartition géographique d ' <i>Artemisia campestris</i>	4
Figure 3 : Classification des tanins	8
Figure 4 : Répartition géographique de l'échinococcose kystique	10
Figure 5: Le cycle de vie du parasite.....	12
Figure 6: Morphologie du ver d' <i>Echinococcus granulosus</i>	13
Figure 7: Œuf d' <i>Echinococcus</i> sp.....	13
Figure 8: Kyste hydatique d ' <i>Echinococcus granulosus</i>	14
Figure 9: récupération des protoscolex à partir des kystes hydatiques de mouton	16
Figure 10: Procédés d'extraction	17
Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	23
Figure 12: Courbe d'étalonnage de quercétine.....	23
Figure 13: teneur en polyphénols totaux dans l'extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d ' <i>Artemisia campestris</i>	24
Figure 14: teneur en flavonoïdes dans les extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d ' <i>Artemisia campestris</i>	24
Figure 15: L'activité scolicide de l'extrait aqueux et méthanolique d ' <i>Artemisia campestris</i>	28
Figure 16: Microscopie optique montrant les altérations morphologiques d ' <i>E. granulosus</i> PSC après traitement par les extraits l ' <i>Artemisia campestris</i> ,.....	29
Figure 17: Les valeurs d'IC50 de l'extrait aqueux et méthanolique d ' <i>Artemisia campestris</i>	30

Listes des tableaux

Tableau 1: Classification systématique d' <i>Artemisia campestris</i> L	3
Tableau 2: Classification de l' <i>E. granulosus</i>	11
Tableau 3: La gamme d'étalonnage de l'acide gallique.	19
Tableau 4: La gamme d'étalonnage de la quercétine.....	20
Tableau 5: La couleur, l'aspect et le rendement d'extraction de la partie aérienne d' <i>Artemisia campestris</i>	22
Tableau 6: Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits d' <i>Artemisia campestris</i>	25
Tableau 7: pourcentage de mortalité des protoscolex traités par les deux extraits d' <i>Artemisia campestris</i>	26

Introduction

Introduction

L'hydatidose ou l'échinococcose kystique est une zoonose parasitaire à propagation mondiale causée par le parasite *Echinococcus granulosus* (Pensel et al., 2014 ; Rajabloo et al., 2012). Le chien est l'hôte définitif de ce parasite où il vit à l'état adulte dans son intestin grêle.

Les œufs infectieux se propagent dans l'environnement par les selles du chien infecté (Siles-Lucas et Hemphill 2002). Les hôtes intermédiaires, y compris les humains, les bovins, les moutons, les porcs et les chevaux, sont infectés par l'ingestion d'œufs, ce qui entraîne la croissance des kystes hydatiques contenant des larves microscopiques ou des protoscolex dans les différentes parties du corps, en particulier le foie et les poumons (Galindo et al. 2008).

La chirurgie est la modalité de traitement préférée des kystes hydatiques chez l'humain, au cours de laquelle les protoscolex sont susceptibles d'être relâchés dans la région ventriculaire et de provoquer la récurrence de la maladie (Budke et al. 2009 ; Gholami et al. 2013). Depuis, l'utilisation d'agents scolicides pour prévenir la récurrence des kystes hydatiques après la chirurgie est inévitable, trouver des agents plus efficaces avec moins d'effets indésirables semble être important. Moazeni et al ont insisté sur l'importance de trouver des agents scolicides naturels sûrs et efficaces (Moazeni et al. 2012).

Dans le monde, les plantes ont toujours été utilisées dans la médecine traditionnelle. Les médicaments à base de plantes sont considérés comme peu toxiques et doux par rapport aux médicaments pharmaceutiques. Les industries pharmaceutiques sont de plus en plus intéressées par l'étude ethnobotanique des plantes (Dibong et al., 2011).

Artemisia campestris L. (AC) est une plante aromatique vivace appartenant à la famille des astéracées connue en Algérie sous le nom de Dgouft ; elle est répandue en Afrique du Nord et dans d'autres zones agro-écologiques méditerranéennes similaires et elle est couramment utilisée comme plante médicinale (Ghlissi et al. 2016).

Dans ce présent travail, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Analyse quantitative des extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris*
- Etude de l'activité scolicide des extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* sur le protoscolex d'*E.granulosus*.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Propriétés biologiques
d'Artemisia campestris L.

Chapitre I. Propriétés biologiques d'*Artemisia campestris* L.

I.1. Généralités

Artemisia est considéré comme l'un des genres les plus grands et les plus répandus classée de la famille Astracea (Compositae). C'est un genre hétérogène composé de plus de 500 espèces différentes, principalement réparties dans les régions tempérées d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Nord. Ces espèces sont des herbes vivaces, bisannuelles et annuelles ou petit arbuste. (Watson et al., 2002 ; Mehrdad et al., 2007)

Dans la flore de l'Algérie, ce genre est représenté par 11 espèces spontanées parmi lesquelles se trouve *Artemisia campestris* communément appelées "dgouft". (Quezel et Santa, 1963).

I.2. Noms vernaculaires

Plusieurs noms vernaculaires : Dgouft ; tamemmayt ; um nefsa ; alala, hellâla, (Elazzouzi et al., 2018) (Ali Snafi et al., 2015). En anglais Field sagewort, Field wormwood, sand wormwood, et en français Armoise champêtre, Armoise des champs (Dib et El Alaoui- Faris, 2019).

I.3. Description botanique

Artemisia Campestris L. est un sous-ruisseau vivace, qui peut atteindre 30 à 150 cm de hauteur, avec des tiges ramifiées et ascendantes qui forment une forme de panicule ; Il est généralement rouge brunâtre et glabre, et acquiert une forme lignifiée dans la partie inférieure et une forme pubescente en haut (Chalchat et al., 2003 ; de Lamarck et de Candolle, 1815 ; Quézel et Santa, 1962).

Les feuilles sont vertes, succulentes lorsqu'elles sont jeunes et tombent généralement à maturité ; les feuilles basales sont 2-3 pinnatifides, avec des pétioles et même des poils auriculaires, les plus simples ci-dessus. Contient que 8 à 12 fleurs de couleur jaunâtre bordées de rouge et à pédoncule muni de poils blanchâtres à brunâtre. (Chalchat et al., 2003 ; Quézel and Santa, 1962).



Figure 1: *Artemisia campestris* L

I.4. Classification systématique d'*Artemisia campestris* L

Selon (Al-Snafi et al.,2015), la plante *Artemisia campestris* L est classée dans le tableau suivant :

Tableau 1: Classification systématique d'*Artemisia campestris* L

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophytes
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asterides
Ordre	Asterales
La famille	Asteraceae
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisiacampestris L

I.5. Origine et distribution

L'espèce *Artemisia* est principalement distribuée dans l'hémisphère Nord, en particulier sur la côte méditerranéenne des pays européens et africain (Ferchichi. L et al., 2006), Il est originaire d'Asie et est maintenant distribué à Amérique du Nord et dans de vastes régions d'Asie et du Nord Afrique (Ali Snafi et al.,2015).

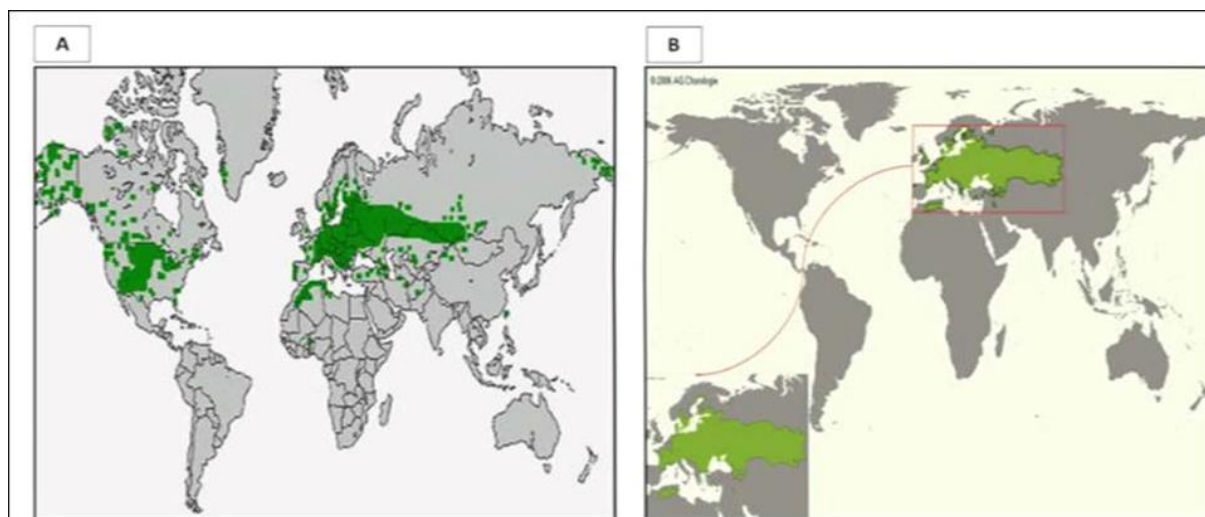


Figure 2 : Répartition géographique d'*Artemisia campestris* (Dib et al., 2016)

I.6. Composition chimique

Divers extraits obtenus à partir de différentes parties de *A. Campestris* L, ont montré un large éventail d'activités biologiques, indiquant l'existence potentielle d'un lien causal entre les phytoconstituants qui se présentent dans cette plante et ses activités biologiques (Dib et El Alaoui 2019).

Cette plante s'est avérée riche en flavonoïdes, acides phénoliques et composés terpéniques (pinène, β -myrcène, β -pinène, 1,8-cinéole, limonène, p-cymène, α -terpinene, γ -terpinene, menthol, α -co-paneene, β -fernesene), les flavonoïdes (la quercétine et la myricétine...) les acides phénoliques (l'acide méthoxycinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique) et les alcaloïdes et des saponines dans ces feuilles (Dib et El Alaoui 2019).

I.7. L'utilisation traditionnelle

Artemisia campestris est utilisée depuis l'Antiquité dans la médecine traditionnelle pour traiter différentes maladies. Les fleurs d'*Artemisia campestris* ont été utilisées comme hypoglycémique, cholagogue, cholérétique, digestif, dépuratif, antilithiasique, pour le traitement de l'obésité et pour diminuer le cholestérol. Elle est utilisée en décoction comme antivenimeuse, anti-inflammatoire, antirhumatismal et antimicrobienne (Ali Snafi et al., 2015).

I.8. Activités biologiques

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

I.8.1. Activité anti- oxydante

Plusieurs études montrent l'activité antioxydante des extraits de la plante *Artemisia campestris*, Cette plante est riche en composés doués d'activité anti-oxydante tels que : les flavonoïdes, les polyphénols et les tanins.

L'activité anti-oxydante totale, le MCE suivi de l'EAF a montré les plus fortes capacités de piégeage des radicaux DPPH avec des valeurs IC₅₀ égales à 6 et 10g / ml, respectivement. Ces activités étaient supérieures à celles du témoin positif (BHT). Les résultats impliquent que les activités de piégeage des radicaux du MCE et de l'EAF peuvent être attribuées à leurs capacités plus fortes de donner des protons. (Megdiche-Ksouri et al.,2015).

I.8.2. Activité anti- microbienne

L'extrait de feuilles méthanoliques d'A. *Campestris* n'a exercé une activité antibactérienne qu'à Gram positive sans effets antagonistes contre les espèces bactériennes Gram négatives. Les concentrations minimales inhibitrices contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* étaient respectivement de 12,5, 12,5, 250, 500 et 250 µg / ml (Al-Snafi et al., 2015)

I.8.3. Activité anti inflammatoire

Dans l'étude menée par Ghilissi et al., (2016), des rats ont été divisés en 3 groupes et ont été traités respectivement avec 1 ml / kg de solution saline stérile, 150 mg / kg d'acide acétylsalicylique (AA) et 200 mg / kg de l'extrait aqueux. Après 1 h d'injection intrapéritonéale du médicament et d'extrait végétal, 0,1 ml de carraghénane (1% dans une solution saline normale) a été injectée sous-cutanée dans le coussin de pied de la droite rat.

Les résultats ont montré l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia campestris*, l'extrait réduit de manière significative les inflammations tissulaires des pattes des rats avec une réduction du nombre de cellules inflammatoires ainsi que des améliorations modérées du tissu œdémateux ont été observé

I.8.4. Activité antiparasitaire

Abidi et al., 2018 montrent une activité antiparasitaire potentielle de l'huile essentielle d'*Artemesia campestris* dans des tests *in vitro* sur le ver *Haemonchus contortus* en utilisant le test d'éclosion des œufs et le test de mobilité du ver adulte par rapport à un médicament de référence l'albendazole.

Autre étude réalisée par Aloui et al montre l'activité anti-leishmaniose de l'huile essentiel d'*Artemisia campestris* dose et temps dépendante. Cette activité induit une apoptose cellulaire au niveau des promastigotes de *Leishmania infantum* (Aloui et al.,2016).

L'efficacité anthelminthique d'*Artemisia campestris* a été aussi évaluée contre les nématodes gastro-intestinaux du mouton. Les résultats ont montré un effet modéré (Fabio Castagna et al.,2021)

I.9. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Won Yun K et al., 1993)

I.9.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement (Harrar, 2012).

Ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées tels les tanins condensés (Urquiaga and Leighton, 2000).

I.9.1.1. Classification des polyphénols

- Les acides phénoliques simples

- **Acides hydroxycinnamiques** : Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C6-C3).

- **Acides hydroxybenzoïques** : Sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C6-C1).

- **Les Coumarines** : Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Harrar, 2012).

- **Les flavonoïdes** : C6-C3-C6 deux noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné. (Bravo 1998 ; Manach *et al.* 2004 ; Tsao 2010).
- **Les tanins** : hydrolysables et non hydrolysables. (Bravo 1998 ; Lesschaeve and Noble 2005)

I.9.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe importante de produits naturels ; ils appartiennent en particulier à une classe de métabolites végétaux secondaires ayant une structure polyphénolique, largement présente dans les fruits, les légumes et certaines boissons.

Les flavonoïdes sont associés à un large éventail d'effets bénéfiques pour la santé et constituent un composant indispensable dans une variété d'applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques. Ceci est dû à leurs propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires, anti-mutagènes et anti-cancérigènes couplées à leur capacité à moduler les fonctions enzymatiques cellulaires clés.

Dans la nature, les composés flavonoïdes sont des produits extraits de plantes et se trouvent dans plusieurs parties de la plante. Ils appartiennent à une classe de composés phénoliques de faible poids moléculaire qui sont largement dispersés dans le règne végétal. Ils constituent l'une des classes de composés les plus caractéristiques des plantes supérieures. Beaucoup de flavonoïde sont facilement reconnus comme pigments floraux dans la plupart des familles d'angiospermatozoïdes (Panche *et al.*, 2016).

I.9.2.1. Classification des flavonoids

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : flavonols, flavones, flavanones, flavan-3-ols, anthocyanidines, chalcones et aurones (Joanne *et al.*, (2005).

I.9.3. Les tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires polyphénoliques des plantes supérieures et sont :

- Soit des esters galloyliques et leurs dérivés, dans lesquels des moitiés galloyliques ou leurs dérivés sont attachés à une variété de coeurs polyols, catéchines et triterpénoïdes (gallo-tanins, ellagitannins et tanins complexes)
- Ou ce sont des proanthocyanidines oligomériques et polymériques qui peuvent posséder différents schémas de couplage et de substitution interflavanyle (tanins condensés). (Khanbabaee K *et al.*,2001)

I.9.3.1. Classification des tanins

Les tanins constituent un groupe chimique hétérogène, avec des structures moléculaires variées, ils sont subdivisés en deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique, celui-ci on distingue : les tanins galliques, et les tanins ellagiques. (Khanbabaee K et *al.*,2001).

a) Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, estérifiés avec l'acide gallique (cas des gallotannins) ou un dimère de l'acide gallique qui est l'acide hexahydroxydiphénique (cas des ellagitannins). (Leinmüller E et *al* 1991).

b) Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (Khanbabaee et Ree., 2001).

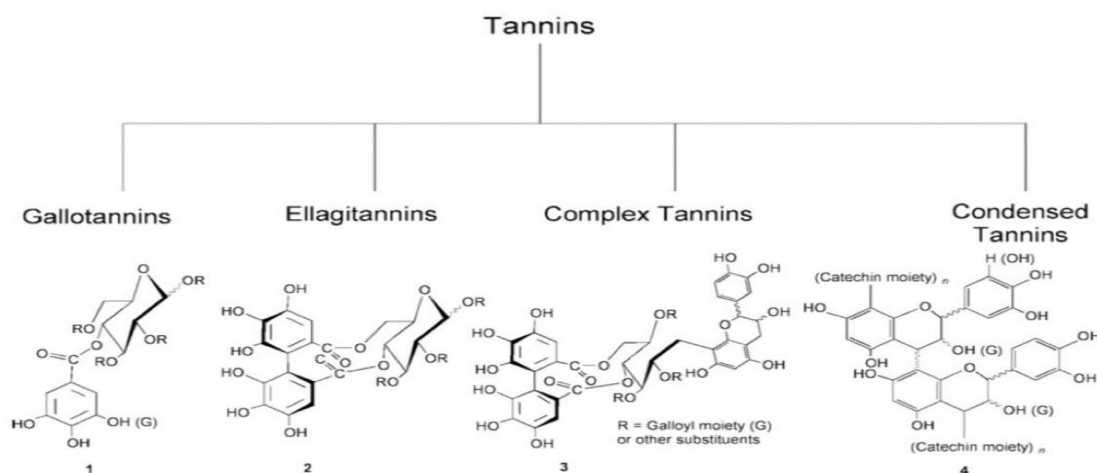


Figure 3 : Classification des tanins (Khanbabaee K et *al.*,2001)

Chapitre II

Le kyste hydatique

Chapitre II. Le Kyste Hydatique

II.1. Généralités

"Ceux dont le foie est chargé d'eau ouverte dans l'omentum, le ventre est rempli d'eau, et ils meurent," Hippocrate (377 avant Jésus Christ) a écrit dans ses écrits (Septième, 55) : "Ceux dont le foie est rempli d'eau ouverte dans l'omentum, le ventre est rempli d'eau, et ils meurent." (Thompson et al., 2017 ; Slimane et al., 2018). Galen considérait le foie comme le principal site d'hydatides dans l'abattage des animaux en 200 avant JC. Les hydatides ont plus tard été trouvées régulièrement chez les animaux et les humains (Slimane et al., 2018). La véritable nature des hydatides était inconnue jusqu'au début de l'ère moderne. Lorsque Philip Hartmann décrit une minuscule structure sphérique liée à la vessie en 1685, il souligne le caractère animal du cysticerci.

Les hydatides ont été classés comme un groupe distinct (vers de la vessie) par Peter Pallas, qui les a décrites comme des corps minuscules sur la paroi interne des vessies dans sa thèse médicale (publié en 1760). Le mot *Echinococcus* a été utilisé pour la première fois en zoologie par Carl Asmund Rudolphi (1801) (Thompson et al., 2017).

II.2. Épidémiologie

Le parasite *E. granulosus* se propage presque partout dans le monde, mais il est plus fréquent dans les zones rurales avec de grandes zones pastorales, où il y a un grand nombre d'animaux qui sont les hôtes du parasite, tels que les bovins, les moutons, et d'autres, avec la présence d'hôtes définitifs dans ces zones en particulier les chiens (Craig et al., 2008)

L'échinococcose est un problème de santé et économique dans la plupart des régions du monde, et certaines études ont enregistré plus de 50 cas par 100 000 personnes chaque année dans des régions très endémiques, où la prévalence de la maladie en Chine, en Argentine et en Afrique de l'Est était d'environ 5 à 10 %. La maladie tue également environ 1 million de personnes par an dans le monde et entraîne également une perte d'environ 3 milliards de dollars, y compris les frais de traitement et de bétail (Higueta et al., 2016 ; Pakala et al., 2016)

L'épidémiologie de la maladie dépend des facteurs économiques et agricoles et du niveau d'apprentissage, de la santé et de la culture sociale dans la société humaine où le parasite se propage, et ce qui aide à propager la maladie est le mélange avec les animaux de compagnie, en particulier les chiens, en l'absence de conditions de santé appropriées (Al-Shahwani, 2010).

II.3. Répartition géographique

L'échinococcose kystique ou le kyste hydatique est présent partout dans le monde, mais il est plus fréquent dans les régions rurales.

En général, les endroits endémiques peuvent être trouvés dans la Méditerranée orientale, près de la pointe sud de l'Amérique du Sud, l'Europe du Sud et de l'Est, l'Afrique du Nord, l'Asie centrale, la Sibérie et la Chine occidentale. *L'E. granulosus* n'est présent que dans l'hémisphère nord, en particulier en Chine, en Russie et dans les pays d'Europe continentale et d'Amérique du Nord (Siles- Lucas et al.,2017)

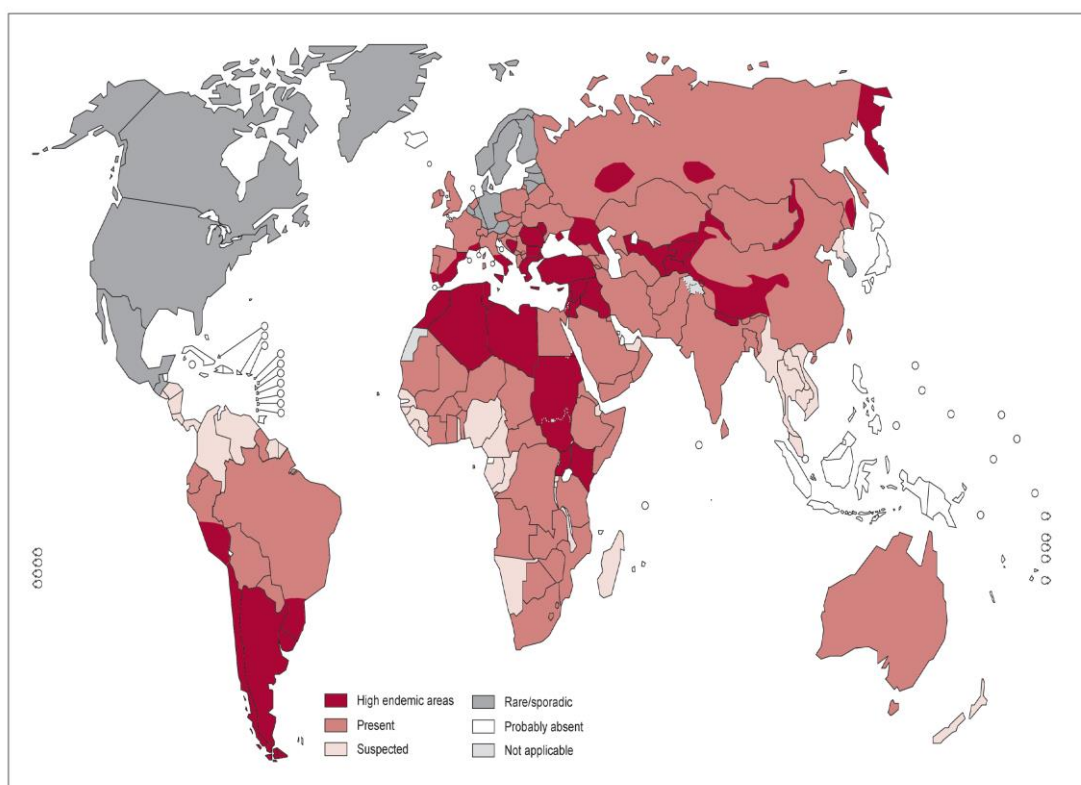


Figure 4 : Répartition géographique de l'échinococcose kystique (WHO, 2012)

II.4. Le parasite *Echinococcus Granulosus*

II.4.1. Classification

Selon (Bentounsi, 2011), Le parasite *Echinococcus Granulosus* est classée dans le tableau suivant :

Tableau 2: Classification de l'*E. granulosus*

Embranchement	Helminthes
Sous embranchement	Plathelminthes (vers plats)
Classe	Cestodes (vers segmentés)
Sous classe	Eucestodes
Ordre	Cyclophylidea (scolex portant des ventouses et parfois des crochets).
Famille	Taeniidae
Genre	<i>Echinococcus</i>
Espèces	<i>Echinococcus granulosus</i>

II.4.2. Cycle évolutif

Les phases adultes de l'*E. granulosus* vivent dans la muqueuse de l'intestin grêle de l'hôte définitif, et les œufs sont très résistants aux conditions environnementales difficiles pendant plusieurs mois, voire un an, selon les conditions environnementales (**Higuita et al.,2016**). Par conséquent, il reste une source d'infection pour les hôtes intermédiaires lors de la consommation d'eau et d'aliments contaminés, y compris les humains qui peuvent également être infectés par contact avec des chiens infectés, en particulier chez les enfants, tandis que les œufs adhèrent aux poils de chien autour de l'anus (**Yang et al.,2017 ; Thatte et al.,2016**).

Les œufs atteignent l'estomac de l'hôte intermédiaire, puis décomposent le cortex chitineux par des sucs digestifs et libèrent l'embryon (oncosphères), qui pénètrent l'intestin et atteignent le foie, poumons, et d'autres organes, y compris le cerveau et les muscles pour se développer en kystes hydatiques (**Herenda et al., 1994**)

Lorsque l'hôte définitif se nourrit des organes infectés de l'hôte intermédiaire, le parasite atteint son intestin grêle, où les têtes primaires deviennent des vers adultes dans les 7 à 4 semaines, et chaque ver produit des milliers d'œufs par jour, en commençant le cycle à nouveau (**Higuita et al.,2016**)

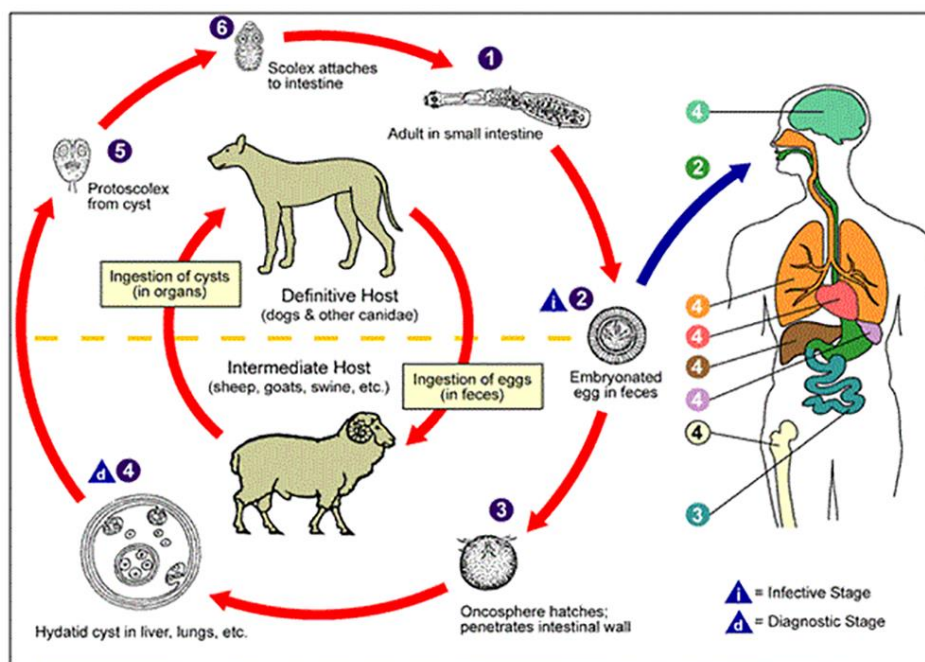


Figure 5: Le cycle de vie du parasite (cdc.gov,2019)

II.4.3. Formes parasitaires d'*Echinococcus granulosus*

E. granulosus a trois stades de développement différents : œufs, larves et vers adultes, qui sont :

II.4.3.1. Les vers adultes

Petits et ne dépassent pas 7 mm de longueur, ils vivent au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle des hôtes définitifs jusqu'à ce qu'ils atteignent les phases adultes de maturité sexuelle en environ 5 à 4 semaines (Siracusano et al.,2012 ; Mandal et al.,2012).

Morphologiquement, ce ver a une tête sphérique de 0,3 mm de diamètre avec un cou court et trois types de segments reliés. La tête contient un meunier entouré de deux rangées d'épines allant de 50 à 28 fourches, avec quatre meuniers latéraux. Le segment qui suit la tête est immature et contient des organes génitaux immatures, tandis que le segment du milieu est mature et contient les testicules et les ovaires et est situé au milieu de l'ouverture génitale. Le troisième segment est appelé segment gravide et contient un utérus ramifié et 15 à 12 branches contenant de 500 à 1000 œufs (Al-Qaisi, 2020).



Figure 6: Morphologie du ver d'Echinococcus granulosus (Ganímedes,2015)

II.4.3.2. Œufs d'*E. granulosus*

Les œufs sont de forme sphérique (figure 07) et ont un diamètre d'environ 40 à 30 μm et ont une apparence semblable à celle des œufs d'autres ténias, contenant un embryon d'hexacanthé ou d'oncosphère parce que l'embryon a des robinets. Les œufs sont entourés de revêtements transparents (John et al.,2006),et les œufs contiennent une couche collante qui adhère à la fourrure des animaux et d'autres choses, ce qui les aide à se propager, ainsi que des insectes comme les mouches, les coléoptères et les oiseaux qui jouent le rôle de porteur mécanique des œufs, en cas de conditions optimales, les œufs restent viables pendant des semaines ou des mois dans les pâturages et les jardins ainsi qu'avec le bon taux d'humidité et des températures modérées, et les œufs sont trouvés dans l'eau et le sable humide pendant 3 semaines à 30 °C et 225 jours à 6 °C et 32 jours à 10–21 °C. De plus, les œufs restent pendant une courte période lorsqu'ils sont exposés à la lumière du soleil et à des conditions sèches. Les œufs sont tués lorsqu'ils sont exposés à 3,75 % d'hypochlorite de sodium pendant 10 minutes, ou lorsqu'ils sont congelés à 70 °C pendant 4 jours ou à 80 °C pendant 2 jours ou par une chaleur supérieure à 60 °C pendant 3 minutes (Krauss et al., 2003).

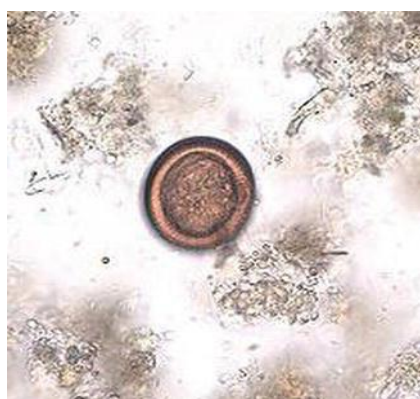


Figure 7: Œuf d'Echinococcus sp. (Photo CDC, USA)

II.4.3.3. Stade larvaire (kyste hydatique)

Lorsque des hôtes intermédiaires (animaux d'élevage) ou humains (hôtes accidentels) ingèrent les œufs, l'embryon (oncosphère) éclot et devient actif, transmis par la circulation sanguine au foie ou à tout autre organe. Dès que l'embryon hexacanthe atteint sa position définitive, il se développe en kyste hydatide uniloculaire qui agrandit et produit des kystes fille ou protoscolices à l'intérieur de la couche interne du kyste hydatide (**Badley et al., 2001 ; Moro et al., 2009**).

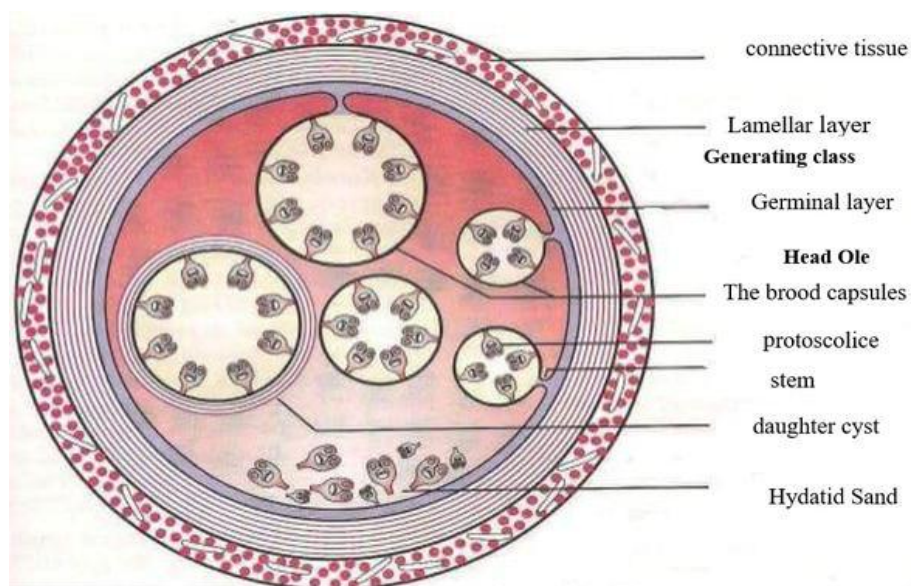


Figure 8: Kyste hydatique d'*Echinococcus granulosus* (**Thompson et al., 2001**)

II.5. Diagnostique et traitement

II.5.1. Diagnostic

Auparavant, l'échinococcose était diagnostiquée en observant et en palpant un ventre gonflé ou un kyste hydatique palpable. En 1877, Neisser a soutenu la valeur de la ponction comme méthode de diagnostic de la CE, des ascites, des kystes ovariens et d'autres affections (**Thompson et al., 2017**).

En 1990, l'angiographie, la tomодensitométrie, la cholangiographie, l'échographie, l'imagerie par résonance magnétique et la tomographie par émission de positons ont toutes été introduites comme techniques de diagnostic (**Thompson et al., 2017**).

Des tests d'héماغglutination indirecte, d'immunoprécipitation et d'immunoélectrophorèse, ainsi que des tests d'anticorps, y compris des tests d'anticorps fluorescents indirects et des tests immunoenzymatiques, sont utilisés pour diagnostiquer l'échinococcose chez les personnes depuis le début du XXe siècle (**Thompson et al., 2017**).

II.5.2. Traitement

Le traitement est essentiellement chirurgical par exérèse de la masse parasitaire ou par ponction-aspiration sous échographie guidée, suivie de l'injection de sérum salé hypertonique et enfin de la réaspiration du sérum (technique PAIR). Il faut éviter tout essaimage parasitaire au cours de l'intervention : protection du champ opératoire par sérum salé hypertonique, eau oxygénée. Un traitement à l'albendazole est nécessaire lorsque l'intervention chirurgicale est contre-indiquée ou pour encadrer la chirurgie (Eskazole à 15 mg/kg par jour pendant plusieurs mois) (**Khuroo et al., 1993**).

II.6. Contrôle et prévention

Il est difficile de modifier l'exposition à *l'échinococcose* parce qu'il est difficile de rester à l'écart des œufs de la CE, qui sont transmis par les fèces d'animaux sauvages et causent une récurrence de la CE ; d'autre part, il est difficile de diagnostiquer la maladie chez les animaux parce qu'elle est asymptomatique (**Velasco et al., 2017**). Le contrôle de l'hydatidose, par contre, exige d'interrompre le cycle d'infection, soit en empêchant les hôtes définitifs (comme les chiens) de manger les carcasses des hôtes intermédiaires infectés, soit en empêchant les hôtes intermédiaires (comme les humains) de manger des aliments contaminés par des matières fécales (**Mohamed et al., 2017**). Pour ce des procédures doivent être mises en œuvre pour empêcher sa propagation :

- Les chiens ne devraient pas être autorisés à manger des agneaux malades (**Mahmoudvand et al., 2018**)
- Les bouchers à domicile sont assujettis à des restrictions (**Torgerson et al., 2014**).
- Évitez de manger ou de boire tout ce qui pourrait être contaminé par des excréments de chien (**ministère de la Santé ; 2019**).
- Après avoir touché les chiens, l'avez-vous les mains avec de l'eau et du savon.
- Vaccination des bovins au moyen du vaccin EG95 pour empêcher *E. granulosus* de se reproduire (**Morariu et al., 2010 ; Gauci et al., 2005**)
- Le Praziquantel peut être utilisé pour tuer des chiens toutes les six semaines (**Craig et al., 2017 ; Jiang et al., 2017**).
- Éviter les animaux sauvages comme les renards et les chiens errants (**professionnels de la santé, août 2019**).

PARTIE
EXPERIMENTALE

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Chapitre III. Matériels et méthodes

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétale

La plante *Artemisia Campestris* a été achetée à l'herboriste, qui a été cueillie dans la région d'Al-Ma'adid, Willaya de M'sila. La partie aérienne de la plante est nettoyée ensuite séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue est conservée à l'abri de lumière et de l'humidité en vue de son utilisation.

III.1.2. Matériels et produits de laboratoire

III.1.2.1. Matériel

Bécher, Eprouvette, Erlenmeyer, Balance, Plaque chauffante, Rotavapeur, Etuve, Boîtes pétries en verre, Cristalliseur, Entonnoir, Papier filtre, Papier aluminium, Eppendorf, Tube à essai, Balance précise, Spectrophotomètre, Micropipette, Microplaque de 96 puits, Agitateur Vortex.

III.1.2.2. Produits

Méthanol pur (CH_3OH), eau distillée, eau physiologique, Quercitine, Chlorure à 2% (AlCl_3), Carbonate de sodium (NaCO_3), Folin-Ciocalteu, l'acide gallique, l'éosine.

III.1.3. Parasite

Les kystes hydatiques d'origine hépatique de mouton ont été obtenus de l'abattoir de M'sila. Les protoscolex sont récupérés à partir du liquide hydatique dans des conditions stériles.



Figure 9: récupération des protoscolex à partir des kystes hydatiques de mouton (**photo original**).

III.2. Méthodes

III.2.1. Procédés d'extraction

III.2.1.1. Extraction méthanolique par macération

L'extrait méthanolique (EM) est préparé selon la procédure décrite par (**Benslama *et al.*, 2017**) avec de légères modifications. 50 g de la poudre de la plante a été extraite par macération en utilisant 500 ml du méthanol à 99,9 % sous agitation à 800 tr/min par un agitateur automatique à température ambiante pendant 24 heures à l'abri de la lumière (figure 10-a). Le produit de l'extraction a été filtré à travers papier Whatman. Le solvant a été évaporé de la fraction par évaporation rotative dans un bain à 40 °C.

Le produit obtenu de couleur verte ; a été récupéré sur le ballon d'évaporation, puis mis dans des boîtes pétries. Le filtrat est séché dans l'étuve à 40°C pendant 24h. L'extrait obtenu est stockés dans un flacon opaque à température ambiante jusqu'à utilisation.

III.2.1.2. Extraction aqueuse par décoction

L'extraction aqueuse a été effectuée par décoction (figure 10-b) ; 50g de la plante en poudre sont ajoutés à 500ml d'eau distillée puis agitée. Le mélange est ensuite porté à ébullition pendant 30 minutes sous agitation continue. Le macéré obtenu a été filtré à l'aide d'un papier filtre (papier Whatman) (**Akassa *et al.*, 2019**). Le filtrat obtenu a été concentré et séché à 40°C dans une étuve. L'extrait sec a été récupéré et stocké dans un flacon opaque à température ambiante jusqu'à utilisation. (**Benothman *et al.*, 2017**).

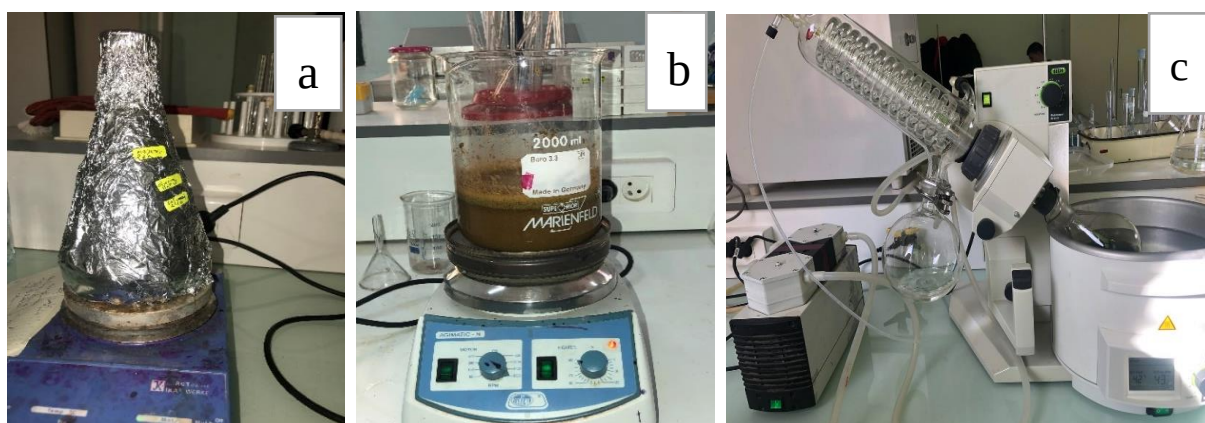


Figure 10: Procédés d'extraction : a) Macération b) décoction c) Évaporation sous vide (**photo original**).

III.2.1.3. Calcule du rendement d'extraction

Le rendement en extrait est exprimé en pourcentage par rapport au poids sec de la plante et est calculé par la formule suivant (Muniyandi et al., 2019) :

$$\text{Rendement Ext\%} = \text{M Ext} / \text{M Ech} \times 100$$

Où

M Ext : Masse de l'extrait après évaporation du solvant en g.

M Ech : Masse de l'échantillon végétal en g.

III.2.2. Analyses quantitatives des extraits

Des déterminations quantitatives des principaux groupes de métabolites secondaires ont été effectuées sur les extraits d'*Artemesia campestris*.

III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux

III.2.2.1.1 Principe de dosage

Les polyphénols ont été évalués par spectrophotométrie par la méthode Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999), qui est un réactif jaune composé d'acide phosphotungstique (WO₄²⁻) et d'acide phosphomolybdique (MoO₄²⁻). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils transforment le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu d'oxyde de tungstène et de molybdène. Le taux d'oxydation des produits chimiques phénoliques influe proportionnelle sur l'intensité de la coloration (Boizot et charpentier, 2006).

III.2.2.1.2 Mode opératoire

❖ Réactifs et extraits utilisés

- EM (1 mg/ml) : (1mg extrait méthanolique sec +1 ml de méthanol).
- EA (1 mg/ml) : (1mg extrait aqueux sec + 1 ml de méthanol).
- Folin-Ciocalteu dilué 10 fois : (1ml de folin-Ciocalteu + 9ml d'eau distillée).
- Un polyphénol témoins : Acide gallique : (0.2mg + 1ml de méthanol).
- Carbonate de sodium (Na₂CO₃) (7.5mg/ml) : (3.75 g + 500 ml de l'eau distillé).

❖ Protocole de dosage

Le dosage de polyphénols totaux dans notre extrait a été effectué par la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole décrit par (Li et al., 2007).

Dans un tube à essai ; introduire un volume de 0.2 ml de l'extrait (1 mg/ml) en solution est mélangé avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué avec de l'eau distillée). Agiter vigoureusement puis, 4 minutes après, ajouter 0.8 ml de solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃

: 7,5 %) et incuber à l'ombre et à la température ambiante pendant 2 heures. La lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm.

L'acide gallique est utilisé comme standard. Une gamme d'étalonnage est préparée (20 à 200 µg /ml) a été préparée à partir d'une solution mère de 200 µg/ml de concentration et ceci est réalisé dans les mêmes conditions que l'extrait.

Les résultats sont exprimés en µg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait sec (µg EAG/mg d'extrait).

Tableau 3: La gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

N° des tubes	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Volume pris de la solution mère (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
Volume d'eau ajouté (ml)	1	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
Concentration finale de l'acide gallique (µg/ml)	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200

III.2.2.2. Dosage des Flavonoïdes

III.2.2.2.1 Principe de dosage

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits d'*Artemisia campestris* (Benslama et Harrar, 2016).

Le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 430 nm (Sun, B.et al.,1998).

III.2.2.2.2 Mode opératoire

❖ Réactifs et extraits utilisés

- Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2 % : 2 g dissous dans 100 ml de méthanol.
- Solution mère de quercétine 40 µg/ml.
- EM (1 mg/ml) :(1mg extrait méthanolique sec +1 ml de méthanol).

➤ EA (1 mg/ml) : (1mg extrait aqueux sec + 1ml de méthanol).

❖ Protocol de dosage

1 ml d'extrait (1 mg/ml) ou quercétine a été mélangée avec 1 ml $AlCl_3$ (2%). Après incubation à température ambiante pendant 10 min, l'absorbance est lue à 430 nm. Utiliser quercétine à différentes concentrations (2.5-40 μ g/ml) comme standard dans les mêmes conditions que l'extrait.

Les résultats sont exprimés en μ g équivalent Quercétine par mg d'extrait sec (μ g EAG/mg d'extrait).

Tableau 4: La gamme d'étalonnage de la quercétine.

N° des tubes	Blanc	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Volume pris de la solution mère (ml)	0	0.2	0.4	0.8	1.1	1.5	1.8	2.3	2.6	3
Volume ajouté de méthanol (ml)	3	2.8	2.6	2.2	1.9	1.5	1.2	0.7	0.4	0
Concentration finale de quercétine (μ g/ml)	0	2.5	5	10	15	20	25	30	35	40

III.2.3. Activité scolicide *in vitro*

III.2.3.1. Préparation de l'extrait de la plante

L'extrait aqueux et méthanolique de la plante *Artemisia Campestris* est dissous dans l'eau physiologique pour l'obtention d'une solution mère avec la concentration de 200 mg /ml. (Bouaziz et al., 2021).

III.2.3.2. Collection des protoscolex (PSC)

Des kystes hydatiques fertiles et en bon état ont été obtenus des foies des moutons infectés à partir de l'abattoir de M'sila. Les protoscolex ont été obtenus à partir des kystes hydatiques par ponction. Le liquide hydatique est centrifugé à 3000 rpm pendant 5 min. Les culots renferment les protoscolex vont subir plusieurs lavages dans l'eau physiologique et l'ensemble est conservé à +4 C°. (Bouaziz et al., 2021).

III.2.3.3. Test de viabilité à l'éosine

Le test de viabilité a été effectué selon une méthode rapportée par **(Smyth et Barrett 1980)**. Brièvement, 20 µl de protoscolex en suspension dans l'eau physiologique ont été mélangés avec le même volume de 0,1 % de colorant aqueux à l'éosine (1g de poudre d'éosine en 100 ml d'eau distillée). Ce dernier est un colorant vital qui permet de distinguer les protoscolex vivants des protoscolex morts. Les protoscolex morts absorbent l'éosine et se colorent en rouge, contrairement aux protoscolex vivants qui sont restés sans coloration. La lecture est répétée trois fois.

Le pourcentage de viabilité des protoscolex est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage de viabilité} = \frac{\text{Nombre de protoscolex viables}}{\text{Nombre total de protoscolex calculé dans l'échantillon}} \times 100$$

III.2.3.4. L'effet scolicide de la plante sur la viabilité des PSC

Dans une microplaque de 96 puits, des gammes de concentration croissante de l'extrait aqueux et méthanolique considérés ont été préparées afin de tester l'effet de la plante sur la viabilité des PSC : 12.5, 25, 50, 75 et 100 mg/ml pour chaque extrait, après cela nous ajoutons 100 µl de protoscolex en suspension dans l'eau physiologique dans chaque puits. L'effet de la plante est évalué après une incubation à température ambiante pendant :

- 10, 30, 60, 80 min, et 2 h pour l'extrait aqueux,
- 10, 30, 40, 60 min pour l'extrait méthanolique.

L'expérience est répétée trois fois, et la moyenne des pourcentages de viabilité est calculée. **(Bouaziz et al., 2021).**

III.2.3.5. Analyse statistique

Le traitement des données a été réalisé par Microsoft Excel (2019) et les tests statistiques par le Logiciel de GraphPad Prism version 9.

Chapitre IV

Resultats et Discussion

Chapitre IV. Résultats et discussion

IV.1. Rendements des extractions

Le rendement des EMs et EAs de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* ; qui a été déterminé par rapport à 50 g de matériel végétal sec et broyé ; est exprimé en pourcentage.

Le rendement des extractions, l'aspect et la couleur des extraits obtenus à partir des deux solvants de la plante sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5: La couleur, l'aspect et le rendement d'extraction de la partie aérienne d'*Artemisia campestris*

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement%
Méthanolique	Pâte collante	vert	20.2
Aqueux	Poudre vitreuse	Marron foncé	23.3

D'après le tableau, on remarque que pour l'extraction au décoction , le rendement de l'extrait aqueux (23.3%) , est plus élève que celui de l'extrait methanolique par macération (20.2 %) ceci confirme que les rendement des extraits dépendent de la méthode d'extraction utilisée et aussi de la nature des solvants ou même selon plusieurs facteurs tels que le ratio volume de solvant par masse de broyat, le pourcentage en solvant, la granulométrie du broyat et la durée de macération qui influent le rendement d'extraction (**Koné et al., 2017**).

IV.2. Analyses quantitatives

IV.2.1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

Les quantités correspondantes de polyphénols totaux (PPT) sont exprimées en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg extrait}$)(Tableau 06 ; Figure 13).La méthode est basée sur l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage à l'aide de l'acide gallique (figure 11), sur la base des valeurs d'absorbance des solutions des EMs et EAs réalisées par méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu, et par rapport aux solutions standards d'équivalents de l'acide gallique.

D'autre part, la teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg extrait}$) (Tableau 06 ; Figure 14). La

détermination quantitative des flavonoïdes a été obtenue par l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage à l'aide de quercétine (figure 12).

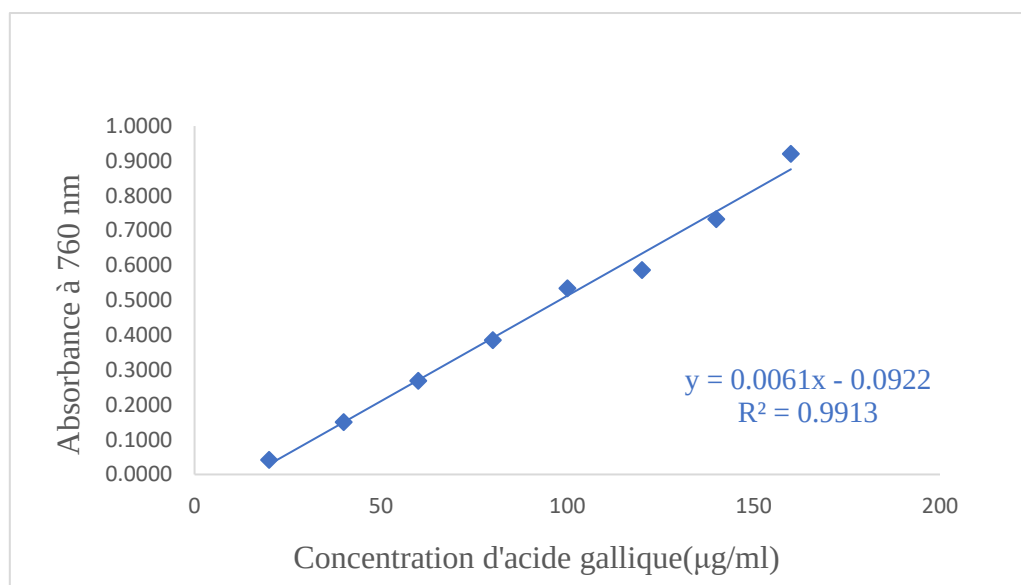


Figure 11: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

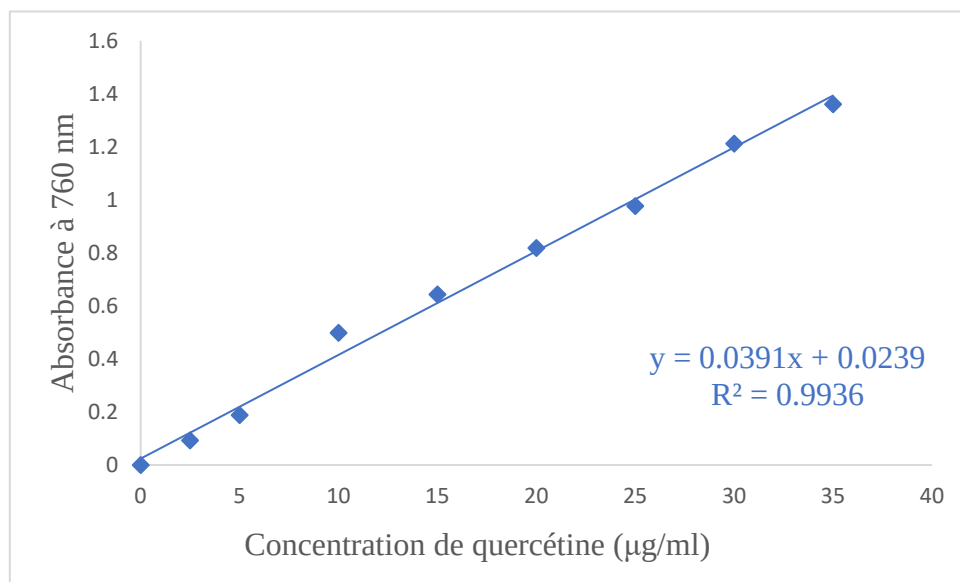


Figure 12: Courbe d'étalonnage de quercétine.

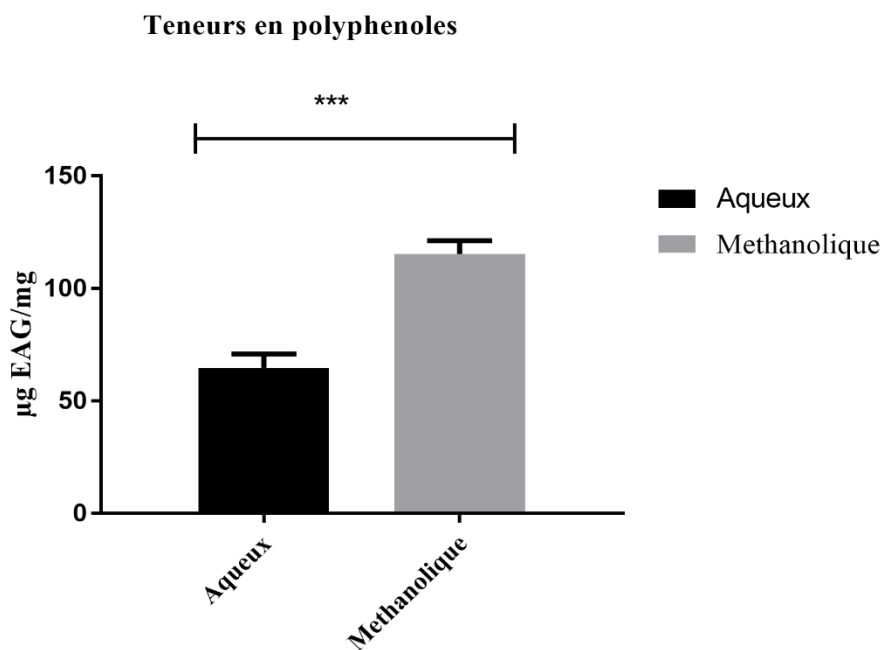


Figure 13: teneur en polyphénols totaux dans l'extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris*, *** : différence très hautement significative ($p < 0,001$).

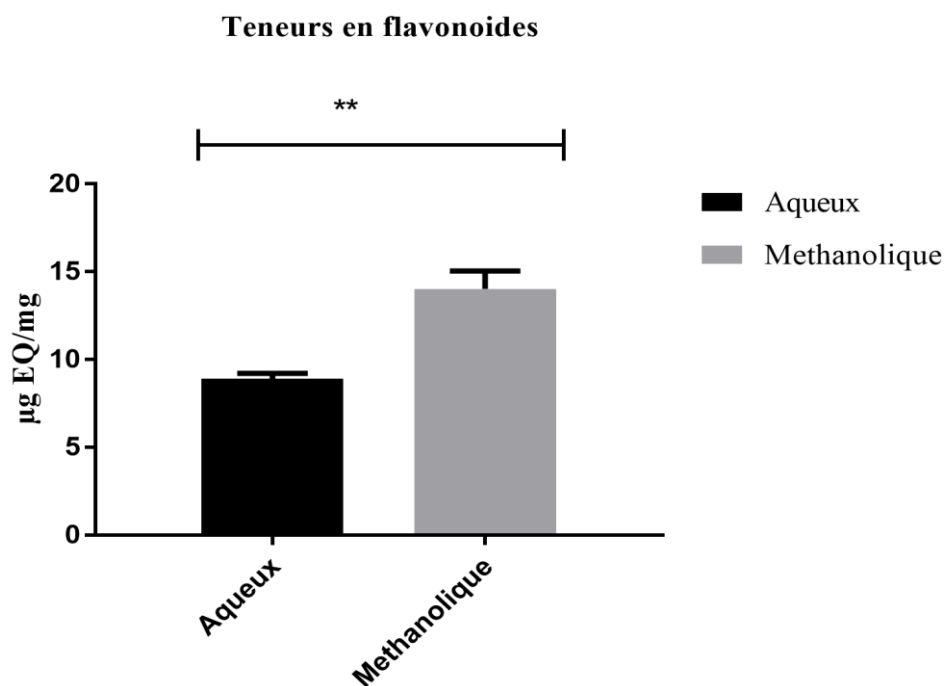


Figure 14: teneur en flavonoïdes dans les extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris*, ** : différence hautement significative ($p < 0,01$)

Tableau 6: Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits d'*Artemisia campestris*.

Extrait	Teneur en polyphénols ($\mu\text{g EAG/mg E}$)	Teneur en flavonoïdes ($\mu\text{g EQ/mg E}$)
Méthanolique	115.38 ± 5.98	14.03 ± 1.01
Aqueux	64.67 ± 6.29	8.91 ± 0.29

Remarque ; Les valeurs représente les moyennes $\pm$ SD, (n=3).

On remarque que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes se diffèrent d'un extrait à un autre. L'extrait méthanolique contient la teneur la plus élevée en polyphénols : $115.38 \pm 5.98 \mu\text{g EAG/mg E}$ que l'extrait aqueux : $64.67 \pm 6.29 \mu\text{g EAG/mg E}$. en même chose, la teneur en flavonoïde dont la valeur 14.03 ± 1.01 et $8.91 \pm 0.29 \mu\text{g EQ/mg E}$ pour l'extrait méthanolique et aqueux respectivement.

Nos résultats s'accordent avec ceux trouvés par Khettaf qui ont montré que l'extrait méthanolique d'*Artemisia campestris* récoltée de la région de Barika ; contenait la plus grande quantité en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à l'extrait aqueux. Leurs résultats montrent des teneurs en polyphénols de 192.28 ± 8.59 et $280.4 \pm 5.46 \mu\text{g EAG /mg extract}$ pour l'extrait aqueux et méthanolique respectivement, ainsi que des teneurs en flavonoïdes de 17.21 ± 0.45 et $29.68 \pm 0.32 \mu\text{g Q E/mg extract}$ pour l'extrait aqueux et méthanolique respectivement. La différence en teneurs en flavonoïdes peut s'expliquer par la faible solubilité de ces composés dans l'eau (Khettaf et al., 2016).

Boudjourf et al (2018) ont travaillé sur la partie aérienne d'*Artemisia campestris* qui a été collecté dans la région de Boussaâda (80 kilomètres au sud-ouest d'Al-Ma'adid, Msila, Algérie). Ils ont constaté que l'extrait méthanolique a une teneur en flavonoïdes de $12,91 \pm 0,01 (\mu\text{gEQ/ mg d'extrait})$; dont la valeur est très proche de notre résultat. En revanche, concernant l'extrait aqueux, leurs résultats étaient loin de la nôtre, comme ils ont trouvé une teneur en flavonoïdes de $31,84 \pm 0,00 (\mu\text{g EQ/ mg d'extrait})$.

En outre, nos résultats se rapprochent de ceux trouvés par (Karabegović et al., 2011) et (Megdiche-Ksouri et al., 2015) dont les teneurs en polyphénols des extraits méthanolique sont 128.1 ± 5.4 et $158.75 \pm 12.5 (\mu\text{g EAG/mg E})$ respectivement.

Concernant l'extrait aqueux, nos résultats montrent une faible teneur en polyphénols par rapport à ceux trouvés par **Akrout et al., 2011** et **Ghissi et al., 2016** dont les valeurs sont 311.5 et 313.2 ± 5.4 ($\mu\text{g EAG/mg E}$) respectivement.

Cette variation des teneurs peut être attribuée à une gamme de facteurs, y compris les procédures et les circonstances d'extraction, les types de solvants utilisés, les facteurs ambiants, les doses de réactif et le type de spectrophotomètre utilisé (**Medini et al., 2014**).

IV.3. Activité scolicide

L'activité scolicide de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est évaluée par l'étude de l'effet scolicide de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux sur la viabilité de la forme protoscolex (PSC) du parasite *Echinococcus granulosus*.

La coloration à l'éosine permettra de distinguer entre les protoscolex morts qui se colorent en rouge et les protoscolex vivants qui apparaissent réfringentes (figure 16). L'effet de nos extraits est évalué par l'évaluation du pourcentage de mortalité pour chaque concentration et à différents intervalles de temps. Les résultats sont présentés dans les figures 15, 16 ; et le tableau 07.

Les valeurs d'IC₅₀ des extraits d'*Artemisia campestris* (figure 17), expriment la concentration de l'extrait nécessaire pour tuer 50% de protoscolex.

Tableau 7: pourcentage de mortalité des protoscolex traités par les deux extraits d'*Artemisia campestris* (Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ SD, (n=3).)

Extraits	Concentrat - ion (mg/ml)	Moyenne et écart-type des % de mortalité des protoscolex après (min)					
		10	20	40	60	80	120
Extrait Aqueux	12.5	1.550	3.500		3.886	5.888	8.44
		± 2.564	± 3.189		± 5.367	± 4.238	± 6.498
	25	2.63	3.212		4.016	5.95	8.870
		± 3.359	± 4.751		± 3.382	± 2.700	± 0.728
	50	6.432	7.357		8.928	14.285	19.047
		± 7.227	± 8.167		± 6.979	± 11.62	± 6.208

	75	8.064	10.710		15.870	18.645	22.615
		± 5.292	± 8.414		± 8.980	± 14.11	± 15.15
	100	9.304	13.66		20.115	22.085	26.820
		± 2.282	± 2.432		± 17.11	± 14.12	± 13.91
Extrait méthanolique	12.5	4.508	6	7.975	19.672		
		± 2.390	± 1.672	± 1.527	± 4.603		
	25	8.823	18.220	42	71.710		
		± 3.830	± 11.10	± 5.473	± 19.02		
	50	28.571	58.064	78	96.875		
		± 4.870	± 7.282	± 10.71	± 1.209		
	75	77.415	100	100	100		
		± 9.564	± 0.000	± 0.000	± 0.000		
	100	86.333 $\pm$	100	100	100		
		12.66	± 0.000	± 0.000	± 0.000		

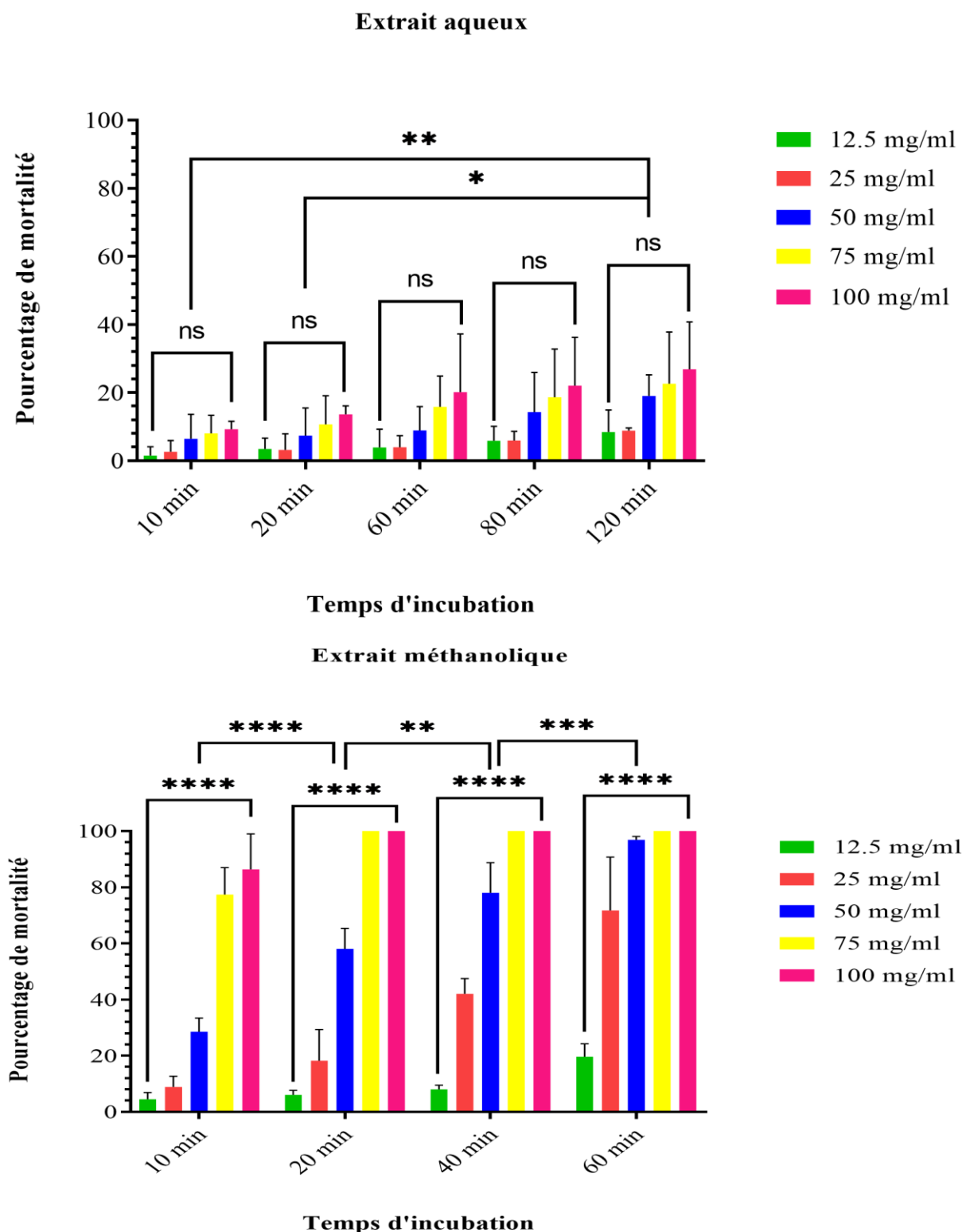


Figure 15: L'activité scolicide de l'extrait aqueux et méthanolique d'*Artemisia campestris*, * : différence significative ($p < 0,05$), ** : différence hautement significative ($p < 0,01$), *** : différence très hautement significative ($p < 0,001$) et **** : différence très très hautement significative ($p < 0,0001$), ns : différence non significative ($p > 0,05$). (Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ SD, (n=3))

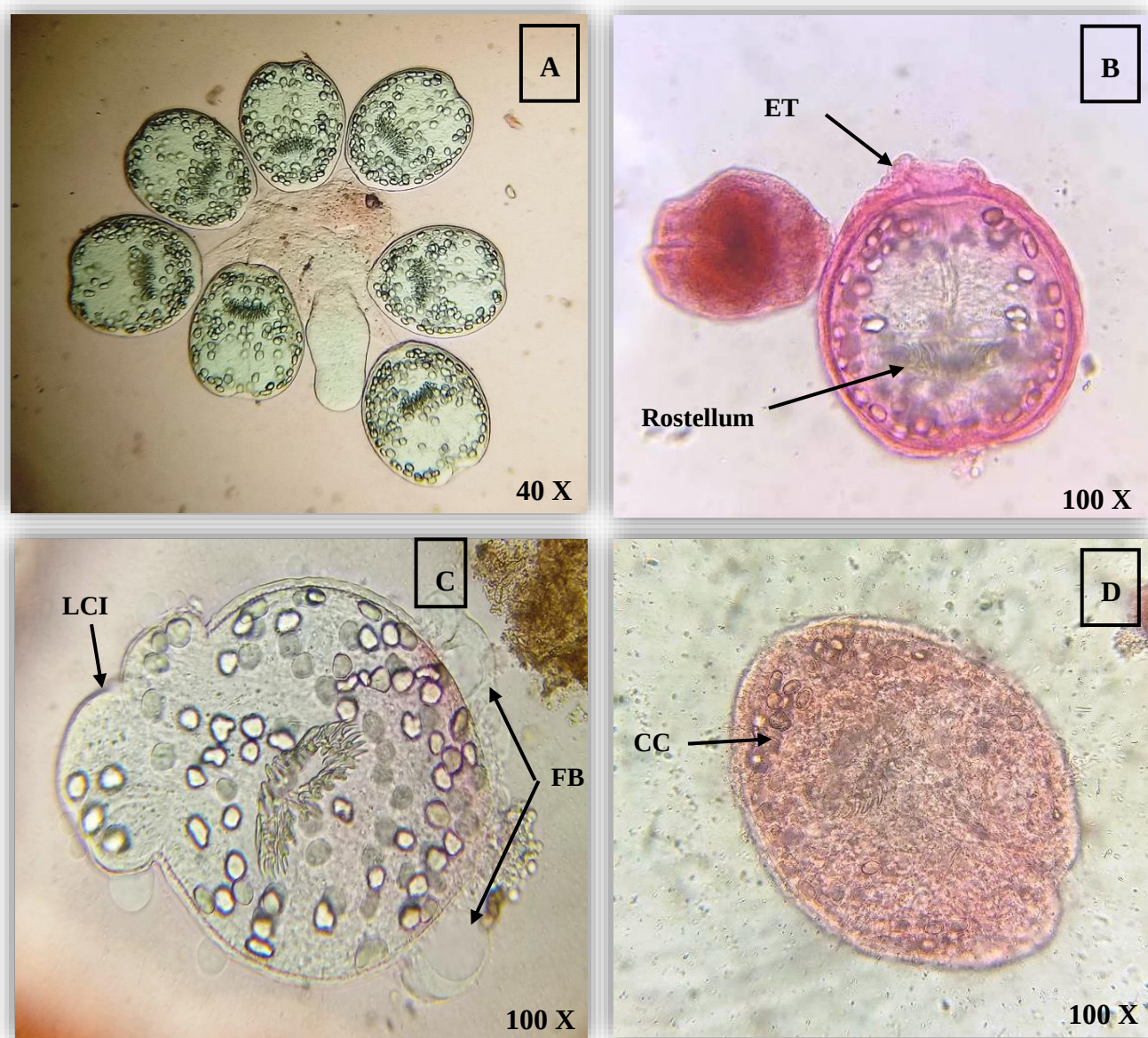


Figure 16: Microscopie optique montrant les altérations morphologiques d'*E. granulosus* PSC après traitement par les extraits *l'Artemisia campestris* (**photos originales**). La viabilité de protoscolex a été évaluée par une méthode de coloration de l'éosine de 0,1 %. A : PSC vivants non traités, B-C-D : PSC traités mort, A-B-D : PSC invaginée, C : PSC évaginée, (CC) : corpuscules calcaires, (ET) : Les extensions tégumentaires, (FB) : formation de bulles, (LCI) : libération du contenu interne.

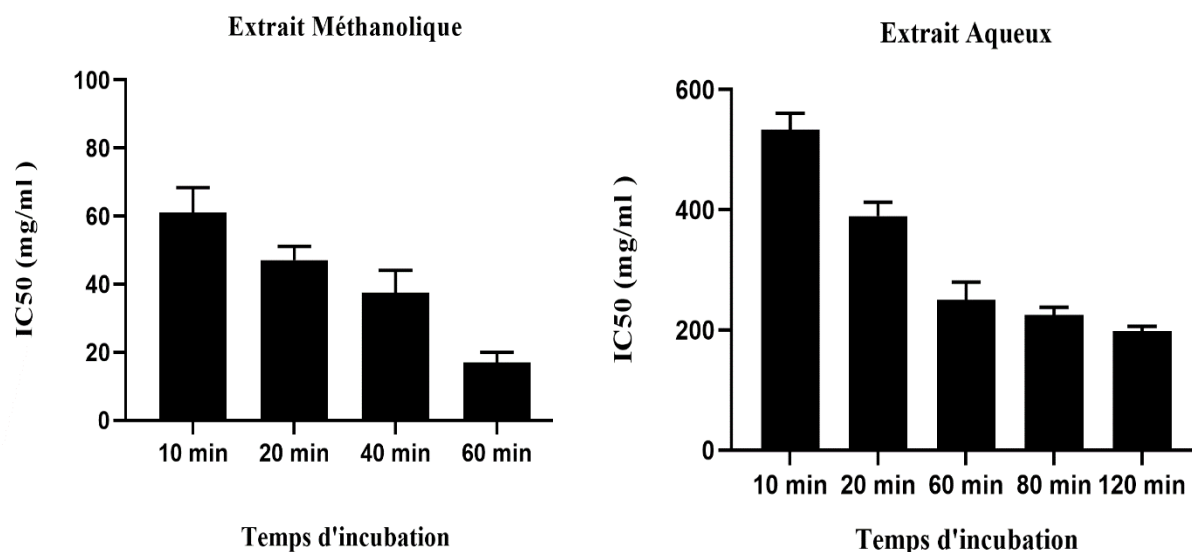


Figure 17: Les valeurs d'IC₅₀ de l'extrait aqueux et méthanolique d'*Artemisia campestris* (Les valeurs représentent les moyennes $\pm$ SD, (n=3)).

Nos résultats montrent un effet scolicide important dose et temps dépendant des extraits aqueux et méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* sur le parasite *Echinococcus granulosus*.

Nos résultats montrent aussi que le temps d'incubation constitue un facteur significativement important pour les deux extraits ($P < 0.0001$).

On remarque que l'extrait méthanolique possède un effet scolicide très important avec un pourcentage de mortalité de 100% après 15 à 20 min d'incubation pour la concentration 100 mg/ml. En outre, l'extrait aqueux, montre à effet moins important avec un pourcentage de mortalité de 26 % après 2 heures d'incubation pour les concentrations 100mg/ml.

L'évaluation la concentration inhibitrice qui élimine 50% de la concentration initiale du parasite reflète le pouvoir scolicide de chaque plante.

Nos résultats montrent que les IC₅₀ diffèrent pour chaque temps (Figure 17), plus le temps d'incubation augmente plus la IC₅₀ diminue.

Nous remarquons que pour 60 min d'incubation l'extrait aqueux montre une IC₅₀ de 249.775 mg/ml par contre que l'extrait méthanolique montre une IC₅₀ la plus efficace est d'une valeur importante de 17.061 mg/ml qui est nettement plus scolicide après le même temps. Cette valeur est proche de celle trouvée par Cheraghipour et al qui ont rapporté une l'IC 50 de 20 mg/ml de l'extrait méthanolique de *pipper longum*. (Cheraghipour et al., 2021).

D'après Ranjbar et al, l'IC₅₀ de l'extrait méthanolique d'*Iranian mentha* est 200 mg/ml dans 30 min (**Ranjbar et al., 2020**).

Pour l'extrait aqueux, l'IC₅₀ de l'*Atriplex halimus* est de 40 mg/ml dans 90 min. (**Bouaziz et al., 2021**).

La variation des valeurs d'IC₅₀ est due à plusieurs facteurs dont la nature d'extrait (méthanolique, aqueux ...) ou bien à la plante elle-même (**Alvi et al., 2022**).

La coloration à l'éosine a également mis en évidence la formation de bulles avec des extensions tégumentaires. Selon Verma et al, ces extensions entraînent de graves altérations morphologiques ainsi que la perte de viabilité du protoscolex (**Verma et al., 2014**).

La libération de contenu interne des protoscolex d'*E.granulosus* a également été observée avec une perturbation de l'intégrité de la membrane plasmique. Ce qui permettra après de prévenir l'établissement d'une échinococcose secondaire et la formation des nouveaux kystes (**Pensel et al., 2014**).

Selon plusieurs études, l'extraction méthanolique est la méthode la plus couramment employée dans l'étude des effets scolicide des plantes sur les protoscolex du kyste hydatique *in vitro* (**Alvi et al., 2022**).

Nos résultats s'accordent avec ceux trouvés par Faizi et ses collaborateurs (2018) qui ont travaillé sur l'étude des effets scolicide d'un mélange d'extraits d'*Artemisia campestris*, d'*Eucalyptus* et de gingembre sur les protoscolex du kyste hydatique *in vitro*. Ces derniers ont montré une activité scolicide de 100% après une incubation à 100 mg/ml pendant 15 min (**Faizi et al., 2018**).

En plus, plusieurs travaux ont mis en évidence l'activité antihydatique *in vitro* et *in vivo* des plantes médicinales dans les plus importants : *Zataria multiflora* (**Moazeni, et Roozitalab., 2012**), *Allium sativum* (**Moazeni, et Nazer, 2010**), *Nigella sativa* (**Mahmoudvand et al., 2014**) et etc. Ces travaux n'ont pas encore élucidé le mécanisme exact de l'activité scolicide des plantes médicinales, mais on suggère l'implication de plusieurs facteurs, dont :

- l'effet de la plante sur l'inhibition de la synthèse d'ADN par l'inhibition de l'enzyme de acétylase histone.
- L'interaction avec le métabolisme du parasite en diminuant les activités biologiques de protoscolex (**Mahmoudvand, 2014**).

• L'implication des constituants comme les terpènes sur la perméabilité de la membrane plasmique et l'interaction avec des sites intracellulaires importante (Mahmoudvand,2014). Le mécanisme exact de l'activité scolicide des extraits des plantes n'est pas encore élucidé mais plusieurs travaux.

A notre connaissance aucune étude n'a été faite sur l'activité scolicide de *l'Artémisia campestris*. Néanmoins, plusieurs études montrent l'activité antimicrobienne et différents extraits de cette plante.

Vakili et al. ont constaté que la concentration de 75 mg.ml⁻¹ d'*Artémisia sieberi* en 2, 5 et 10 min entraînait des taux de mortalité de $80 \pm 2,73$, $90 \pm 0,79$ et $92,6 \pm 1,27$ % respectivement (**Vakili et al., 2019**).

Alvi et al, mentionnent que 17 composés phytochimiques ont été testés sur *E. granulosus* dont flavonoïdes, thymol, carvacrol, phénol, alcaloïdes, acide gallique et. polyphénol, sont les plus couramment utilisés dans les études *in vitro* et *in vivo*.

Les études montrent que les Flavonoïdes, le thymol et le carvacrol possèdent l'activité scolicide la plus élevée et ceci à des concentrations de 0,49, 1 et 10 mg/ml et ceci après une incubation de 0,5, 5 et 10 min. Les flavonoïdes et le thymol ont également présenté une activité antihydrique significative dans les études *in vivo* (**Alvi et al., 2022**).

Dans une autre étude, Bouaziz et ses collaborateurs ont montré que l'extrait d'*Atriplex halimus* tuait 100% des protoscolex après 60 min à la concentration de 50 mg/ml (**Bouaziz et al., 2021**).

Dans le but de chercher le principe actif clé ; les composés dérivés des plantes ont été également testés pour leur activité protoscolicide. L'efficacité du carvacrol, du thymol et du bêta-myrcène contre protoscolex *Echinococcus granulosus* a été révélée (**Elisondo et coll., 2008 ; Fabbri et al., 2016, 2018**).

Le 6-Gingérol extrait du gingembre a montré un effet scolicide important *in vitro* (Amri et Touil-Boukoffa, 2016). En outre, l'acide ursolique ; est un composé chimique à base de triterpène pentacyclique présent dans différentes plantes médicinales ; a montré une activité antihydrique *in vitro* et *in vivo* (**Yin et al., 2018**).

De même, Larki et al. démontrent l'effet scolicide de l'acide gallique ; l'un des plus importants acides phénoliques des plantes (Larki et al., 2017). Berberine a une importante activité scolicide *in vitro* contre les protoscolex *Echinococcus granulosus* (**Mahmoudvand et al., 2014**).

CONCLUSION

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine la plus répandue à travers le monde. Elle est considérée comme une source des matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point des futurs médicaments. Parmi ces plantes *Artemisia campestris* L. qui est une plante vivante dans région de wilaya de M'sila et qui utilisée dans la médecine traditionnelle. L'étude de cette plante permis d'avoir des résultats importants.

Analyse quantitative de l'extrait aqueux et méthanolique de cette plante montre que l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est plus riche en polyphénols et flavonoïdes par rapport à l'extrait aqueux

L'activité scolicidale de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Artemisia campestris* est très importante par rapport à l'extrait aqueux, ceci nous amené à rechercher ultérieurement l'activité scolicidale in vivo sur le modèle expérimental ainsi qu'à la recherche du principe actif clé responsable de cette activité. L'étude comparative des effets des polyphénols, des flavonoïdes et des différents constituants d'*Artemisia campestris* sur la mortalité du protoscolex reste à exploitée.

Enfin, l'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche et l'exploitation des activités biologiques de cette plante.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Aloui, Z., Messaoud, C., Haoues, M., Neffati, N., Bassoumi Jamoussi, I., Essafi-Benkhadir, K., ... & Karoui, H. (2016). Asteraceae *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba* essential oils trigger apoptosis and cell cycle arrest in *Leishmania infantum* promastigotes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.

Al-Snafi, A. E. (2015). The pharmacological importance of *Artemisia campestris*-A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 5(2), 88-92

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.

Amel Abidi, Essia Sebai, Mokhtar Dhibi, Dhouha Alimi, Mourad Rekik, Fatma B'chir, R.M. Maizels, Hafidh Akka. Chemical analyses and anthelmintic effects of *Artemisia campestris* essential oil (2018)

Al-Qaisi GHJ. The effect of immune activation in reducing the pathogenicity *Echinococcus granulosus* in mice [master thesis]. Faculty of Education, University of Diyala

Al-Shahwani TA. The effect of some plant extracts on the vitality of protoscoleces of *E. granulosus* of sheep origin and its growth within vivo [master thesis]. University of Mosul; 2010. 160 p

Akassa, H., Ondele R., Peneme, B.M.L., Etou Ossibi, A.W., Morabandza, C.J., Tamboura, Abena,H.H., (2019). Activité aphrodisiaque et étude du mécanisme d'action de l'extrait aqueux des écorces de tronc de *Pausinystalia yohimbe Kschum* (Rubiaceae) chez le rat wistar .*Journal of Animal & Plant Sciences*, 39 (1) : 6372-6383 .

Amri, M., & Touil-Boukoffa, C. (2016). In vitro anti-hydatic and immunomodulatory effects of ginger and [6]-gingerol. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(8), 749-756

Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaeahirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.

Alvi, M. A., Khan, S., Ali, R. M. A., Qamar, W., Saqib, M., Faridi, N. Y., ... & Jia, W. Z. (2022). Herbal Medicines against Hydatid Disease: A Systematic Review (2000–2021). *Life*, 12(5), 676.

Bentounsi, M., (2011). Parasitologie (A4). Université de Constantine, Kusanagl, p93.

- Brozova A, Jankovska I, Bejcek V, Nechybova S, Perinkova P, Horakova B, et al. Echinococcus spp.: Tapeworms that pose a danger to both animals and humans—A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*. 2017;48(8):193-201
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.
- Badley AD, Steckelberg JM, Wilson WR. Cestodes. In: Wilson WR, Sande MA, editors. *Current Diagnostics and Treatment in Infectious Diseases*. United States: McGraw Hill; 2001
- Benslama, A., & Harrar, A. (2016). Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. *International Journal of Herbal Medicine*, 4(6), 158-161.
- Benslama, A., Harrar, A., Gul, F., & Demirtas, I. (2017). Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Zizyphus lotus* L. leaves extracts. *The natural products journal*, 7(4), 316-322.
- Ben Othmen, M., Salah-Fatnassi, K.B.H., Ncibi, S., Elaissi, A., & Zourgui. L., (2017). Antimicrobial activity of essential oil and aqueous and ethanol extracts of *Tercium polium* L subsp. *gabesianum* (LH) from Tunisia. *Physiologie and molecular biology of plants*, 23 (3): 723-729.
- Boizot N., and Charpentier.J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. Pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
- Bouaziz, S., Amri, M., Taibi, N., Zeghir-Bouteldja, R., Benkhaled, A., Mezioug, D., & Touil-Boukoffa, C. (2021). Protoscolicidal activity of *Atriplex halimus* leaves extract against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. *Experimental Parasitology*, 229, 108155.
- Budke CM, White Jr AC, Garcia HH (2009) Zoonotic Larval Cestode Infections: Neglected, Neglected Tropical Diseases? *PLoS neglected tropical diseases* 3: e319
- Chalchat, J. C., Cabassu, P., Petrovic, S. D., Maksimovic, Z. A., & Gorunovic, M. S. (2003). Composition of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Serbia. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 251-253.
- Cheraghipour, K., Beiranvand, M., Zivdari, M., Amiri, S., Masoori, L., Nourmohammadi, M., ... & Marzban, A. (2021). In vitro potential effect of *Piper longum* methanolic extract against protoscolices of hydatid cysts. *Experimental Parasitology*, 221, 108051.

Castagna, F., Piras, C., Palma, E., Musolino, V., Lupia, C., Bosco, A., ... & Britti, D. (2021). Green veterinary pharmacology applied to parasite control: evaluation of Punica granatum, Artemisia campestris, Salix caprea aqueous macerates against gastrointestinal nematodes of sheep. *Veterinary Sciences*, 8(10), 237.

Craig PS, Hegglinx D, Lightowlers MW, Torgerson P, Wang Q. Echinococcosis: Control and Prevention, *Advances in Parasitology*. Vol. 95. Netherlands: Elsevier Ltd; 2017.

Craig PS, Li T, Qiu J, Zhen R, Wang Q, Giraudoux P, et al. Echinococcosis and Tibetan communities. *Emerging Infectious Disease*. 2008;14(10):1674-1675

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.

Dib, I., Angenot, L., Mihamou, A., Ziyyat, A., & Tits, M. (2016). Artemisia campestris L.: Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological review. *Journal of Herbal Medicine*, 7, 1-10.

Dibong, S. D., Mpondo, E. M., Ngoye, A., & Kwin, M. F. (2011). Plantes médicinales utilisées par les populations bassas de la région de Douala au Cameroun. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(3).

Elazzouzi, H., Khabbal, Y., Bouachrine, M., Zair, T., & Alaoui El Belghiti, M. (2018). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of Artemisia ifranensis J. Didier essential oil Growing Wild in Middle Moroccan Atlas. *Journal of EssEntial oil rEsEarch*, 30(2), 142-151.

Elissondo, M. C., Albani, C. M., Gende, L., Eguaras, M., & Denegri, G. (2008). Efficacy of thymol against Echinococcus granulosus protoscoleces. *Parasitology international*, 57(2), 185-190

FERCHICHI, Loubna, MERZA, Joumaa, LANDREAU, Anne, et al. Occurrence of isocoumarinic and phenolic derivatives in Artemisia campestris L. subsp. Campestris. *Biochemical systematics and ecology*, 2006, vol. 34, no 11, p. 829-832

Faizi, F.; Parandin, F.; Moradkhani, S.; Rezaee, N.; Roushan, A.; Fallah, M. Scolicidal effects of mixture of Aartemisia, Eucalyptus and ginger extracts on hydatid cyst protoscolices. *J. Maz. Univ. Med. Sci.* **2018**, 27, 83–91.

Fabbri, J., Maggiore, M. A., Pensel, P. E., Denegri, G. M., Gende, L. B., & Elissondo, M. C. (2016). In vitro and in vivo efficacy of carvacrol against Echinococcus granulosus. *Acta tropica*, 164, 272-279.

Gauci C, Heath D, Chow C, Lightowers MW. Hydatid disease: Vaccinology and development of the EG95 recombinant vaccine. *Expert Rev Vaccines* 2005; 4:103-12.

Ganímedes - Own work 2015, https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page

Ghlissi, Z., Sayari, N., Kallel, R., Bougatef, A., & Sahnoun, Z. (2016). Antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory and wound healing effects of *Artemisia campestris* aqueous extract in rat. *Biomedicine&Pharmacotherapy*, 84, 115-122.

Galindo M, Schadebrodt G, Galanti N (2008) *Echinococcus Granulosus: Cellular Territories and Morphological Regions in Mature Protoscoleces* *Experimental parasitology* 119:524-533

Gholami S, Rahimi-Esboei B, Ebrahimzadeh M, Pourhajibagher M (2013) In Vitro Effect of *Sambucus Ebulus* on Scolices of Hydatid Cysts *European review for medical and pharmacological sciences* 17:1760-1765

Harrar, A., (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse pour l'obtention du diplôme du Magister en sciences, spécialité : Biochimie et physiologie expérimentale, Setif, Université Farhat Abbas, P 67.3

Higuaita NIA, Brunetti E, McCloskey C. Cystic echinococcosis (Review). *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54(3):518-523

Herenda, D. C., Chambers, P. G., & Ettriqui, A. (1994). Manual on meat inspection for developing countries (No. 119). Food & Agriculture Org..

Hendel, N., Djamel, S., Madani, S., Selloum, M., Boussakra, F., & Driche, O. Screening for in vitro antioxidant activity and antifungal effect of *Artemisia campestris* L. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 5(3), 251-259.

John DT, Petri WA. Markell and Voge's Medical Parasitology. 9th ed. United States of America: Elsevier; 2006. 468p

Jiang B, Zhou XN, Zhang HB, Tao Y, Huo LL, Liu N, et al. Slowrelease praziquantel for dogs: Presentation of a new formulation for echinococcosis control. *Infect Dis Poverty* 2017; 6:140

J.D. Smyth, N.J. Barrett, Procedures for testing the viability of human hydatid cysts following surgical removal, especially after chemotherapy, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 74 (5) (1980) 649–652.

Khuroo MS, Dar MY, Yattoo GN, Zargar SA, Javaid G, Khan BA, et al. Percutaneous drainage versus albendazole therapy in hepatic hydatidosis: a prospective, randomized study. *Gastroenterology* 1993;104(5):1452-1459.

Krauss H, Weber A, Appel M, Enders B, Isenberg H, Schiefer HG, et al. Parasitic zoonoses. In: Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animals to Humans. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2003. pp. 334-343

Koné, K. P. F. O., Soro, Y., & Siaka, S., (2017). Détermination des paramètres influençant le rendement d'extraction hydro-alcoolique des métabolites secondaires de *Alchorneacordifolia* (Euphorbiaceae) et *Tridaxprocumbens* (Asteraceae). *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, **44** : 15-22.

Khanbabaee, K., & Van Ree, T. (2001). Tannins : classification and definition. *Natural product reports*, 18(6), 641-649.

Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., & Lazić, M. (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.

Khettaf, A., Belloula, N., & Dridi, S. (2016). Antioxidant activity, phenolic and flavonoid contents of some wild medicinal plants in southeastern Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 15(13), 524-530.

Li, M., Cha, D. J., Lai, Y., Villaruz, A. E., Sturdevant, D. E., & Otto, M. (2007). The antimicrobial peptide sensing system of *Staphylococcus aureus*. *Molecular microbiology*, 66(5), 1136-114.

Loi, F., Berchialla, P., Masu, G., Masala, G., Scaramozzino, P., Carvelli, A., ... & Piseddu, T. (2019). Prevalence estimation of Italian ovine cystic echinococcosis in slaughterhouses: A retrospective Bayesian data analysis, 2010–2015. *PloS one*, 14(4), e0214224

Lesschaeve, I., & Noble, A. C. (2005). Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 330S-335S.

Larki, S., Jalali, M. H. R., & Goodarzi, S. (2017). Scolicidal effects of gallic acid, one of the major compounds of plants, on protoscolices of hydatid cyst. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 19(5).

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

- Mandal S, Mandal MD. Human cystic echinococcosis: Epidemiologic, zoonotic, clinical, diagnostic and therapeutic aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2012;5(4):253-260
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- Mehrdad, M., Messripour, M., & Ghobadipour, M. (2007). The effect of ginger extract on blood urea nitrogen and creatinine in mice. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 10(17), 2968-2971.
- Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: A review. *International Journal of Infectious Diseases*. 2009;13(2):125-133
- Mohamed M, Wafa I, Kawther I, Annajar BB. Incidence and the history of *Echinococcus granulosus* infection in dogs within the past few decades in Libya: A review. *J Vet Med Anim Health* 2017; 9:1-10
- Ministry of Health. Ministry of Health and Long-Term Care, Appendix A: Disease-Specific Chapters. New Delhi: Ministry of Health; 2019.
- Morariu S, Lightowlers MW, Cosoroabă I, Dărăbuș G, Bart JM, Ilie M, et al, Utilization of EG95 vaccine for sheep immunization against cystic echinococcosis in Romania. *Sci Parasitol* 2010; 11:29-34.
- Mahmoudvand, H.; Asadi, A.; Harandi, M.F.; Sharififar, F.; Jahanbakhsh, S.; Dezaki, E.S. In vitro lethal effects of various extracts of *Nigella sativa* seed on hydatid cyst protoscoleces. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 2014, 17, 1001.
- Mahmoudvand H, Taei N, Kheirandish F, Nadri S, Goudarzi MF, Shahkarami S. Seroprevalence and risk factors of cystic echinococcosis among children in Lorestan province, Western Iran. *J Res Med Dent Sci* 2018 ;6 :88-92
- McManus DP, Gray DJ, Zhang W, Yang Y. Diagnosis, treatment, and management of Echinococcosis. *British Medical Journal*. 2012;344(7861):39-44
- Muniyandi, K., George, E., Sthyanarayanan, S., George, B. P., Abrahamse, H., Thamburaj, S., & Thangaraj, P., (2019). Phenolic, tannins, flavonoids and anthocyanins contents influenced antioxidant and anticancer activities of *Rubus* fruits from Western Ghats, India. *Food Science and Humanwellness*, 8 (1) : 73-81.

Mourad, B., Rachid, B., & Sihem, B. (2018). Antioxidant activity and phenolic content of *Artemisia campestris* from two regions of Algeria. *World Journal of Environmental Biosciences*, 7(2), 61-66.

Megdiche-Ksouri, W., Trabelsi, N., Mkadmini, K., Bourgou, S., Noumi, A., Snoussi, M., ... & Ksouri, R. (2015). *Artemisia campestris* phenolic compounds have antioxidant and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 63, 104-113.

Medini, F., Fellah, H., Ksouri, R., Abdelly, C., (2014). Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoot of the plant *Limonium delicatulum*. *Journal of Taibah University for Science* (2014).

Moazeni, M.; Nazer, A. In vitro effectiveness of garlic (*Allium sativum*) extract on scoleces of hydatid cyst. *World J. Surg.* 2010, 34, 2677–2681. [CrossRef]

Moazeni, M.; Roozitalab, A. High scolical effect of *Zataria multiflora* on protoscoleces of hydatid cyst: An in vitro study. *Comp. Clin. Path.* 2012, 21, 99–104. [CrossRef]

Moazeni M, Mohseni M (2012) Sumac (*Rhus Coriaria* L.): Scolical Activity on Hydatid Cyst Protoscolices *Surgical Science* 3:452

Nasrieh MA, Abdel-Hafez SK, Kamhawi SA. Cystic echinococcosis in Jordan: Socioeconomic evaluation and risk factors. *Parasitology Research*. 2003; 90:456-466

Patkowski W, Krasnodebski M, Grat M, Masiar L, Krawczyk M. Surgical treatment of hepatic *Echinococcus granulosus*. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2017;12(3):199-202

Pakala T, Molina M, Wu GY. Hepatic echinococcal cysts. *Journal of Clinical and Translational Hepatology*. 2016;4(1):39-48

Pensel, P.E., Maggiore, M.A., Gende, L.B., Eguaras, M.J., Denegri, M.G., Elisondo, M.C., 2014. Efficacy of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on *Echinococcus granulosus*. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2014, 693289.

Quézel, Pierre et SANTA, Sébastien. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. 1963.

Rajabloo M, Hosseini SH, Jalousian F (2012) Morphological and Molecular Characterisation of *Echinococcus Granulosus* from Goat Isolates in Iran *Acta tropica* 123:67-71

Ranjbar, M., Kiani, M., & Nikpay, A. (2020). Antioxidant and scolical activities of four Iranian *Mentha* species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 9(3), 200-208.

Slimane NN, Taieb M, Khiali R, Rabehi H, Bekhouche R, Bendjaballah A. A huge primary hydatid cyst of uterus: A case report and review of literature. *J Univer Surg* 2018; 6:12.

Siles-Lucas, M., & Hemphill, A. (2002). Cestode parasites: application of in vivo and in vitro models for studies on the host-parasite relationship.

Siles-Lucas, M., Casulli, A., Conraths, F.J. and Müller, N., 2017. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. In *Advances in Parasitology* (Vol. 96, pp. 159–257). Academic Press

Siracusano A, Delunardo F, Teggi A, Ortona E. Cystic echinococcosis: Aspects of immune response, immunopathogenesis and immune evasion from the human host. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders—Drug Targets*. 2012;12(1):1Lucas and Hemphill6-23

Sun, B., conceição, L., Ricardo, da silva, J. M., Spranger I. 1998. *Journal of Agricultural and Food chemistry*46(4), 1390-1396.

Singleton V.L., Orthofer R., and Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of FolinCiocalteu reagent. *Method.Enzymol.* 299: 152-178.

Siles-Lucas M, Hemphill A (2002) Cestode Parasites: Application of in Vivo and in Vitro Models for

Studies on the Host-Parasite Relationship *Advances in Parasitology* 51:133-230

Thompson RC, Deplazes P, Lymbery AJ. *Advances in Parasitology*. Amsterdam: Elsevier Ltd; 2017.

Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.

Thompson RCA, McManus DP. In: Eckert J, Gemmell MA, Keslin FX, Pawlawski S, editors. *Aetiology: Parasite and Live-cycles*. 2001

Thatte S, Thatte S. Ocular hydatid cyst. *Annals of Clinical Pathology*. 2016;4(5):1-5

Torgerson PR. Helminth-cestode: *Echinococcus granulosus* and *Echinococcus multilocularis*, Zurich open repository and archive. In: Motarjemi Y, editors. *Encyclopedia of Food Safety*. Waltham, MA: Elsevier; 2014

Urquiaga, I. N. E. S., & Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2), 55-64.

Velasco-Tirado V, Romero-Alegría Á, Belhassen-García M, AlonsoSardón M, Esteban-Velasco C, López-Bernús A, et al. Recurrence of cystic echinococcosis in an endemic area: A retrospective study. BMC Infect Dis 2017; 17:455.

Vakili, Z., Radfar, M. H., Bakhshaei, F., & Sakhaee, E. (2019). In vitro effects of *Artemisia sieberi* on *Echinococcus granulosus* protoscolices. Experimental parasitology, 197, 65-67.

Verma, Vijay C.; Gangwar, Mayank; Nath, Gopal (2014). Osmoregulatory and tegumental ultrastructural damages to protoscoleces of hydatid cysts *Echinococcus granulosus* induced by fungal endophytes. Journal of Parasitic Diseases, 38(4), 432–439.

Watson, Linda E., BATES, Paul L., EVANS, Timothy M., et al. Molecular phylogeny of subtribe *Artemisiinae* (Asteraceae), including *Artemisia* and its allied and segregate genera. BMC evolutionary Biology, 2002, vol. 2, no 1, p. 17.

Won Yun, K., Kil, B. S., & Han, D. M. (1993). Phytotoxic and antimicrobial activity of volatile constituents of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. Journal of chemical ecology, 19(11), 2757-2766.

Yang S, Zhao Y, McManus DP, Yang Y. Current research advance on Echinococcosis. In: Echinococcosis. IntechOpen; 2017. pp. 9-23

Yin, J., Liu, C., Shen, Y., Zhang, H., & Cao, J. (2018). Efficacy of ursolic acid against *Echinococcus granulosus* in vitro and in a murine infection model. Parasites & Vectors, 11(1), 1-9