

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ - BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

AMARA Nour El Houda & AZOUZ Liza

Thème

**Etude de l'activité antioxydante, antibactérienne et antiparasitaire
de *Lawsonia inermis*.**

Soutenu le : 06 / 07 / 2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
<i>M. LAMINE Salim</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BOUTELDJA Razika</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M.LIBDIRI Farid</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>
<i>M. Salhi Omar</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ.de Blida</i>	<i>Invité donneur</i>

Année Universitaire : 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إننا أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية 31





Remerciements



Tout d'abord, nous tenons à remercier notre promotrice, Madame **ZEGHIR-BOUTELDJA Razika**, pour la confiance que vous nous avez accordée en acceptant d'encadrer ce travail, pour sa Gentillesse, sa disponibilité, pour ses nombreux conseils et pour toutes les heures qu'elle a Dédié à guider ce mémoire.

Merci à tous **les membres du jury** qui nous ont honorés en jugeant ce travail:

✚ A monsieur **LAMINE Salim** Qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, sincères remerciements.

✚ A monsieur **LIBDIRI FARID** qui a accepté de juger et d'examiner ce travail, sincères remerciements.

Nous espérons que vous allez accepter l'expression de nos considérations les plus distinguées.

Enfin, nous remercions tous nos amis que nous aimons **SELMA, AHLEM, ANIS, KOUSSEILA, YACINE, TARIK**, et un grand merci pour **ZOUHIR, MAIZ MOHAMED YACINE, HAMZA Et SAMIA** Pour leur sincère amitié et leur confiance, à qui nous devons notre gratitude et notre attachement. Pour tous ces intervenants, nous offrons nos remerciements, notre respect et notre gratitude

nous remercions infiniment nos amis, nos collègues universitaire de la faculté **SNVST** pour leur aide, leur soutien et encouragement merci pour vous tous d'être toujours là à nos coté.

À tous ceux qui nous sont chers Ce que nous avons involontairement omis de citer.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin Jusqu'à ce que ce travail soit terminé.

Nour El Houda /Liza



Dédicaces



A Allah

*L'Unique, le Tout-Puissant,
Qui Nous a inspiré, Qui Nous a guidés dans le
bon chemin*

On vous doit ce que Nous Sommes devenue

Louanges et remerciements

*Pour votre clémence et miséricorde Que la prière
et le salut*

Soit sur le prophète.



Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont

Chers :

A mes chères parents, pour tous les sacrifices et le soutien morale et matériel, dans les moments difficiles avec un tant d'amour et d'affection et m'éduquer afin que j'atteigne ce niveau.

A mes tendres sœurs : Chahra zed ,AYA et sarah .

A ma binôme (Liza) avec qui j'ai partagé tous les moments de stress et de fatigue, mais aussi de fous rires , et à toute sa famille.

A mes chères amies.

A tous ce que j'ai en l'honneur de connaitre tout au long de mon cursus universitaire.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Nour El Houda

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :

Mes chers parents qui m'ont soutenus, et grâce à eux je n'est jamais manqué de volonté, et qui ont fait des sacrifices pendant mon parcours d'études.

Mes frères et mes sœurs à savoir mazigh, salima, zakia, wissam, Hayet qui ont été une source de Motivation pour moi.

Mes neveux et nièces, mes adorables coucou MARISSA, ABD EL MOUNAIM, SLIMANE, ASSIL ET RAZANE.

À ma binôme (Nour el houda) et à toute sa famille.

Je tiens a remercier mes amis et camarades qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite une bonne réussite.

Liza

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
Chapitre I Généralité sur <i>Lawsonia inermis</i>	
I.1.Description botanique.....	2
I.2.Taxonomie	2
I.3. La répartition géographique	3
I.4.2. Utilisations médicinales et thérapeutiques	4
I.5. Les composés chimiques de <i>lawsonia inermis</i>	4
I.5.1. Les polyphénols	4
I.5.1.1.Les flavonoïdes	4
I.5.1.2. Les tannins.....	5
I.5.1.3. Les coumarines	5
I.5.2. Les terpénoïdes.....	6
II.5.3. Les alcaloïdes.....	6
I.6. Les activités biologiques des plantes médicinales.....	6
I.6.1. Activité antioxydante	6
I.6.2. Activité antibactérienne	6
I.6.3. Activité antiparasitaire	7
Chapitre II Le kyste hydatique	
II.1. Définition.....	8
II.2. Epidémiologie de kyste hydatique.....	8
II.3. Classification taxonomique	9
II.4. La morphologie des <i>Echinococcus granulosus</i>	9
II.4.1. La forme adulte	9
II.4.2. La forme ovulaire ou l'œuf	10
II.4.3. La forme larvaire (ou hydatide)	10
II.5. L'anatomopathologie du kyste hydatique	10
II.5.1. Coque ou adventice.....	11
II.5.2. La larve hydatique	11
II.5.2.1. La membrane proligère ou germinative (membrane Interne).....	11

II.5.2.2. La cuticule.....	11
II.5.2.3. Le liquide hydatique.....	11
II.5.2.4. Le sable hydatique.....	11
II.5.2.5. Les Protoscolex.....	12
II.5.3. Les vésicules proligères.....	12
II.6. Cycle de vie d’<i>Echinococcus granulosus</i>	14
II.7. L’aspect clinique de l’<i>échinococcus kystique</i>	15
II.7.1. Les symptômes.....	15
II.7.2. Diagnostic d’Echinococcose kystique	15
II.7.3. Traitement	15
II.7.3.1. Chez le chien.....	15
II.7.3.2. Chez les herbivores	16
II.7.3.3. chez l’homme.....	16
Chapitre III Matériels et méthodes	
III.1. Matériel Biologique.....	17
III.1.1. Matériel végétal	17
III.1.2. Souches bactériennes utilisées	17
III.1.3. Les kystes hydatiques.....	17
III.2. Matériel non Biologique	18
III.3. Méthode d’extraction	18
III.3.1. Macération à froid en milieu éthanolique	18
III.4. Détermination du rendement d’extraction	20
III.5. Contenu total phénolique (TPC).....	20
III.6. Activités biologique de <i>Lawsonia inermis</i>	21
III.6.1. Activité antioxydant	21
III.6.1.1. Test de DPPH	21
III.6.2. Activité Antibactérienne	22
III.6.3.1. Méthode de diffusion en puits	23
III.7. Évaluation de l’activité antiparasitaire	25
III.7.1. Test de fertilité du kyste hydatique	25
III.7.2. La viabilité des protoscolex	26
III.7.3. L’étude de l’effet de contact direct entre l’extrait et l’échantillon parasitaire.....	26

Chapitre IV Résultats et discussion

IV.1. Le Rendement d'extraction	27
IV.2. Détermination du contenu total en polyphénols.....	28
IV.3. Détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH	29
IV.5.L'évaluation de l'activité antiparasitaire	32
IV.5.1.Test de fertilité.....	32
IV.5.2.Test de viabilité des protoscolex	32
Conclusion	36
Références bibliographiques	38
Annexes	49

Liste des abréviations

OMS : organisation mondiale de la santé

°C : Degré Celsius.

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

L. inermis : *Lawsonia inermis*.

ml : millilitre.

µl : Microlitre.

g: Gramme.

Kg : kilogramme.

µg : microgramme.

mg : milligramme.

%: pourcentage.

KH : kyste hydatique.

E granulosus : *Echinococcus granulosus*.

MH : Mueller Hinton.

min: Minute.

DO : Densité Optique.

SM : Solution mère.

CI₅₀ : Concentration d'inhibition à 50%.

RE : rendement d'extraction en pourcentage.

BE : poids de boîte pleine après séchage en gramme.

PBV : poids de boîte vide en gramme.

PP : poids de plante sèche en gramme.

EK : *Echinococcose* kystique.

ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

OH : Groupe hydroxyle.

PAIR : Ponction-aspiration-injection-réaspiration.

PCR : Polymerase Chain Reaction.

PSC: Protoscolex.

FCR: Folin Ciocalteu.

BHT: Butylated hydroxy toluene.

Ag : Antigène

AC : Anticorps

.

Liste des figures

Figure 1: jeune feuilles de <i>Lawsonia inermis</i>	2
Figure 2: Répartition géographique des cultures de henné	3
Figure 3: structure de base des flavonoïdes.....	4
Figure 4: structure de l'acide gallique.	5
Figure 5: Structure d'une molécule de coumarine.	5
Figure 6: la forme adulte d' <i>E.granulosus</i>	9
Figure 7: Œuf d' <i>E.granulosus</i>	10
Figure 8: Sable hydatique.	12
Figure 9: Structure schématique du Protoscolex forme dévaginé d' <i>Echinococcus</i>	12
Figure 10: Structure de la larve hydatide.....	13
Figure 11: Cycle évolutif d' <i>Echinococcus granulosus</i>	14
Figure 12: Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation	19
Figure 13: les dilutions préparer pour l'acide gallique.	21
Figure 14: Test de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits.....	24
Figure 15: Protocole expérimentale de l'essai d'activité antibactérienne des extraits de <i>L. inermis</i>	25
Figure 16: foie d'un ovin infecté par le kyste hydatique	25
Figure 17: courbe de dosage d'acide gallique	28
Figure 18: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait. ..	30
Figure 19: Résultats de zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne.	31
Figure 20: Activité antibactérienne de l'extrait de <i>L.inermis</i> contre les souches bactériennes	32
Figure 21: Aspects morphologiques des protoscolex en présence de l'extrait des feuilles de <i>Lawsonia inermis</i> à des concentration déffirentes	33
Figure 22: Courbes représentent le taux de mortalité en fonction d'exposition au temps.	34

Liste des tableaux

Tableau 1: Taxonomie de <i>Lawsonia inermis</i>	2
Tableau 2: Classification taxonomique d' <i>échinococcus granulosus</i>	9
Tableau 3: Caractéristiques et rôles des constituants du kyste hydatique	13
Tableau 4: Liste du matériel et produits utilisé pendant l'expérimentation	18
Tableau 5: les dilutions préparées pour la solution étalon.	21
Tableau 6: Principales caractéristiques des souches microbiennes testées	23
Tableau 7: Rendement de l'extrait de la plante	27

Introduction

Introduction

L'échinococcose kystique est une zoonose parasitaire majeure provoquée par le stade larvaire d'un cestode dont le cycle biologique implique un hôte définitif carnivore (généralement un chien) et un hôte intermédiaire (l'être humain) (Zhang et al., 2008).

Cette parasitose hautement endémique sévit dans tous les continents et constitue un problème de santé publique et socio-économique notamment dans les pays d'élevage de moutons tels les pays de l'Afrique du Nord (Eckert et al., 2001 ; Shambesh, 1997 ; Dakkak, 2010).

Au cours des 20 dernières années, le traitement de la maladie hydatique repose essentiellement sur la chirurgie. En Algérie, le 27^{ème} congrès mondial de *l'échinococcose kystique* a été organisé conjointement avec l'organisation mondiale de la santé (OMS), à l'issue duquel le traitement médical (Albendazole) a été autorisé. Malgré plusieurs essais de lutte contre *l'échinococcose kystique*, elle demeure toujours une cause de morbidité et de mortalité dans de nombreuses régions du monde.

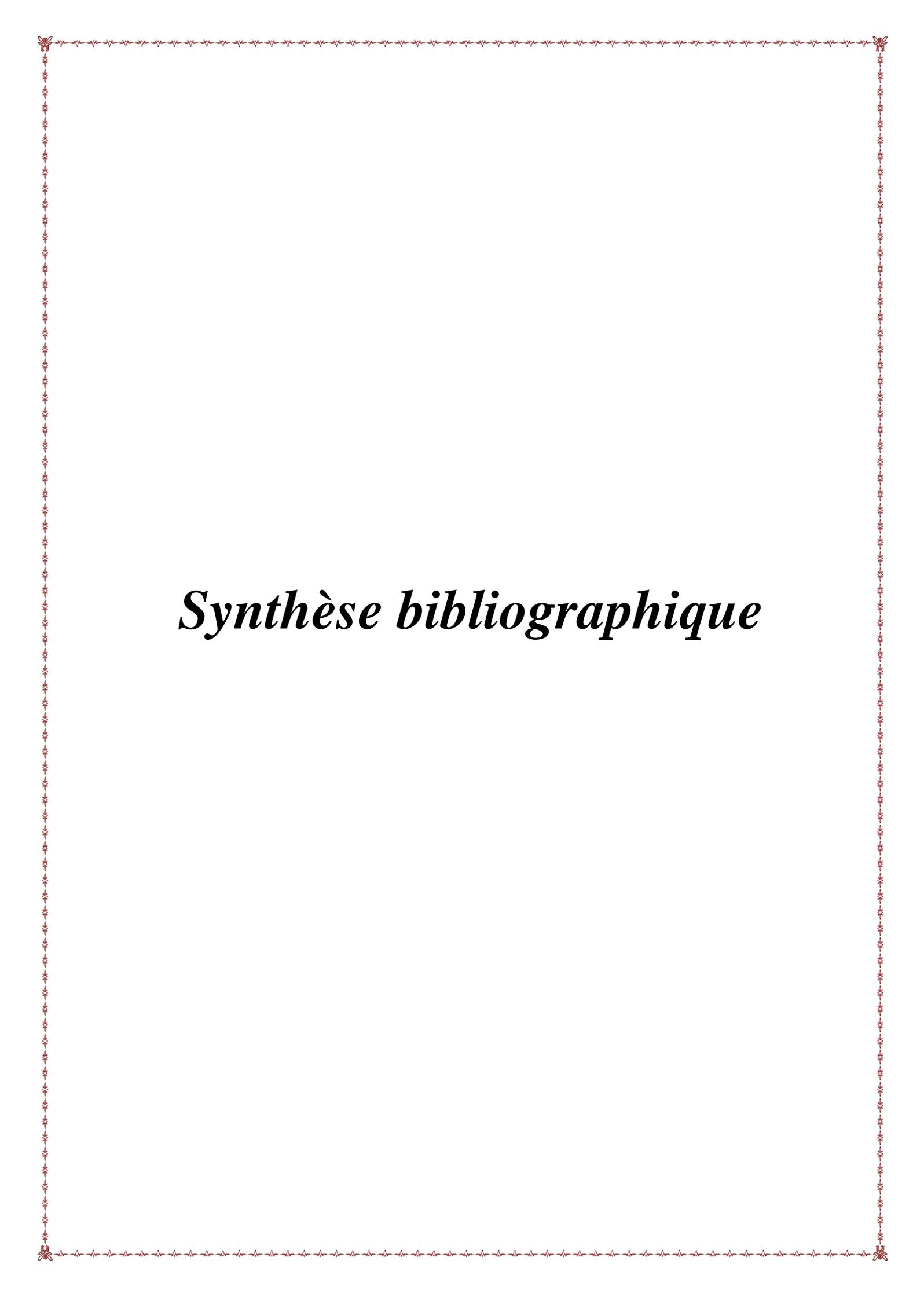
Aujourd'hui l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie suscite un grand intérêt dans la recherche médicale et devient aussi importante que la chimiothérapie (Quaino et al. 2017) présente une source de substances et composés naturels bioactifs et d'autre part, des besoins d'une meilleure médication accessible à tous, pour une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Au sein de cette multitude de plantes figure le henné, espèce répertoriée sous le nom latin de *Lawsonia inermis*, qui est riche en composés phénoliques (coumarines, flavonoïdes et les dérivés d'acide gallique) dans ses feuilles (Hsouna et al., 2011).

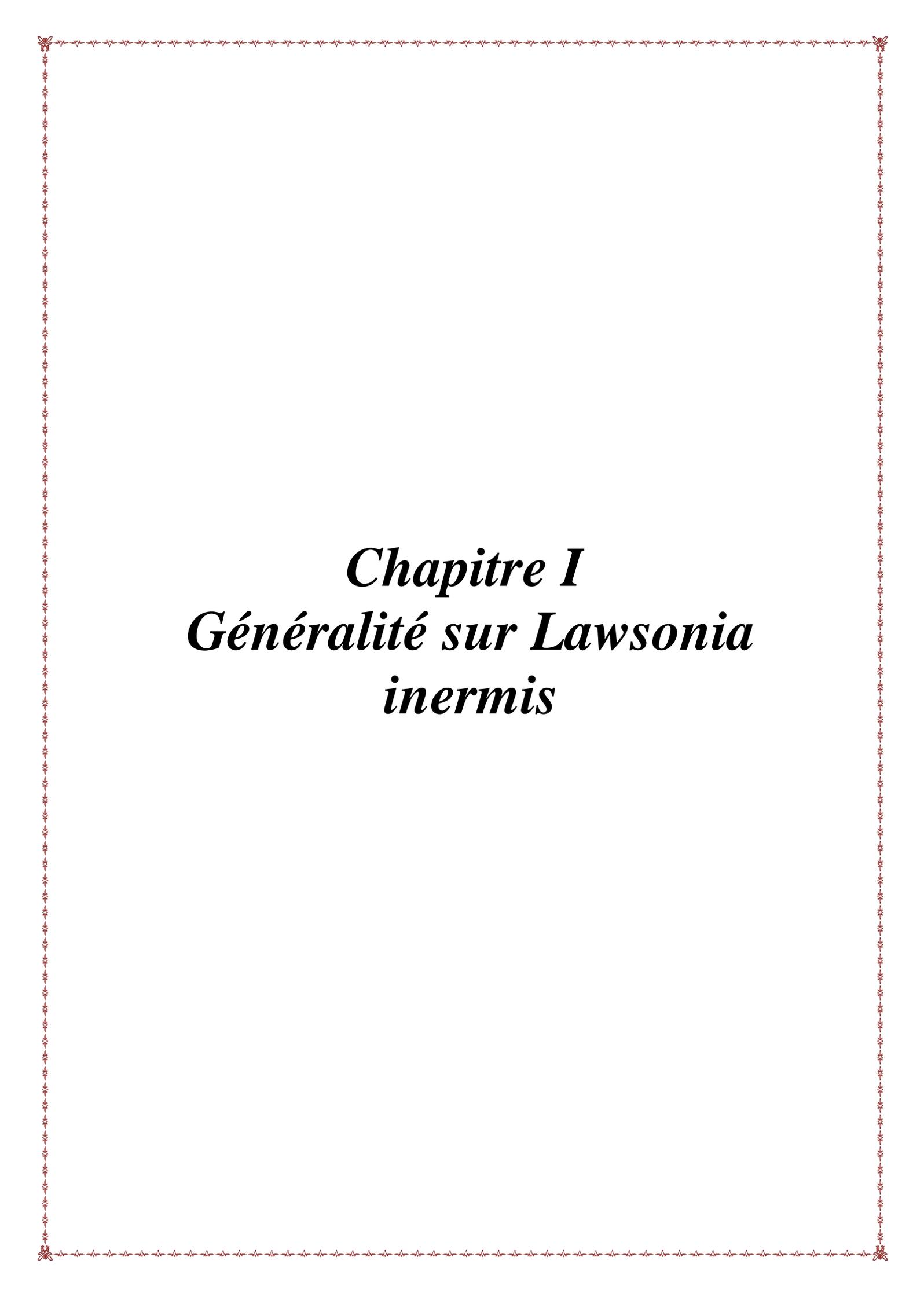
Les extraits de cette plante sont largement employés, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre une multitude de maux et notamment dans les maladies des ulcères de gastro-intestinaux. Les études récentes soulignent des propriétés extraordinaire de cette plante (anti-tumorale, antibactérienne, antifongique, antioxydante ...) (Kallo et al., 2018; Prosen et al., 2005).

Notre travail s'articule essentiellement autour des points suivants:

- L'extraction des polyphénols à partir des feuilles de *lawsonia inermis*.
- Dosage des polyphénols et l'évaluation des activités antioxydante,
- L'évaluation d'activité antibactérienne.
- L'étude de l'activité antiparasitaire



Synthèse bibliographique



Chapitre I
Généralité sur Lawsonia
inermis

I. Généralité sur *Lawsonia inermis*

I.1. Description botanique

Le Henné est un arbuste odoriférant de la famille des Lythraceae très ramifié ou petit arbre de 2 à 6 mètres (Singh et al., 2005). Présentant des feuilles persistantes, étroites et effilées (Lattab, 2012) et de petites fleurs de couleur variable blanches ou roses pâle (Ghedira et Goetz, 2017) parfumées à odeur de rose.



Figure 1: jeune feuilles de *Lawsonia inermis* (Lebert, 2005)

I.2. Taxonomie

Le henné appartient à la famille des Lythracées, ordre des Myrtales. En botanique *Lawsonia* est classée comme suit :

Tableau 1: Taxonomie de *Lawsonia inermis* (Wonget Teng., 1995).

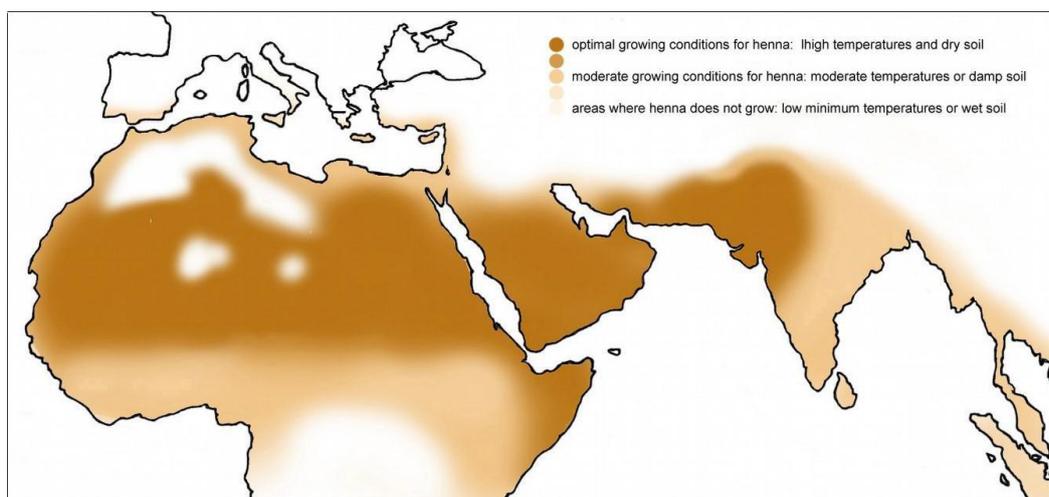
Embranchement	SPERMAPHYTES
Sous-embranchement	ANGIOSPERMES
Classe	DICOTYLEDONES
Sous classe	ARCHICHLAMYDEAE
Ordre	MYRTIFLORAE
Famille	LYTHRACEAE
Genre	LAWSONIA
Espèce	INERMIS L

I.3. La répartition géographique

Largement cultivée dans les régions tempérées de l'Afrique, au Moyen Orient et surtout en Inde comme une plante ornementale et de colorant (**Grieve, 2005**). Elle est généralement considérée comme originaire d'Afrique et d'Asie et largement cultivé dans les régions tropicales du monde.

La plante *L. inermis* s'est répandue aussi bien vers l'Ouest que vers l'Est au point qu'on la trouve maintenant cultivée dans la plupart des régions tropicales et subtropicales du monde.

La zone de notre étude c'est la wilaya de d'Adrar qui se situe géographiquement dans le sud-ouest Algérien.



Map of henna growth range during present climate

Figure 2: Répartition géographique des cultures de henné (Lemordant et Forestier, 1983).

I.4.1. Utilisation en cosmétique

- Le henné est considéré comme étant le cosmétique le plus employé utilisé par les hébreux, les assyriens, les chinois, les perses, les musulmans.
- Servait à composer une préparation destinée à teindre la paume des mains, les ongles, les doigts, les pieds, les cheveux et le corps particulièrement lors de festivités.
- Connue dans le monde entier pour son utilisation en cosmétique comme colorant naturel.
- D'autres utilisations du henné comme les tatouages provisoires, aussi il est utilisé comme ingrédient dans certains produits de shampoings.

I.4.2. Utilisations médicinales et thérapeutiques

Lawsonia inermis est une plante médicinale et aromatique bien connue utilisée dans le domaine médicale et thérapeutique. Les soins au henné s'appliquent à des diverses pathologies L'application du henné permettait de protéger la peau contre plusieurs affections (Talaat et Hanke, 1961 ; Jain, 1973).

Par contre, l'utilisation interne de l'extrait de la plante sert contre la dysenterie amibienne, les ulcères gastro-intestinaux et comme anti diarrhéique (Pousset , 2004).

I.5. Les composés chimiques de *lawsonia inermis*

Les métabolites secondaires sont des substances essentielles à la vie des plantes, on distingue plusieurs classes des métabolites secondaires, a savoir les composés phénoliques.

I.5.1. Les polyphénols

Sont des substances chimiques ayant au moins un noyau aromatique et un ou plusieurs groupes hydroxyles et d'autres constituants, se présentant sous forme des monomères, des polymères ou des complexes (Chira et al., 2008).

Ils sont divisés en différentes catégories : anthocyanes, coumarines, flavonoïdes, tannins ... etc. (Bruneton, 1993).

I.5.1.1. Les flavonoïdes

Sont des pigments qui donnent la coloration aux fleurs et dans certains cas aux feuilles. Touts les flavonoïdes possèdent la même structure de base (figure 02).

Le noyau est constitué de 15 atomes de Carbone qui sont assemblés en 3 cycles : A et B sont des noyaux aromatiques, le C est un hétérocycle oxygéné central (Lobestein, 2010).

Les flavonoïdes sont aussi connus par leur action antioxydante qui sert à combattre les radicaux libres de l'oxygène et de l'azote

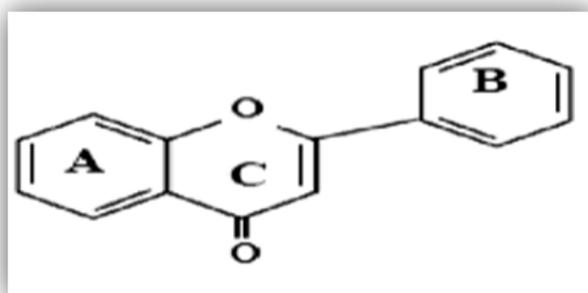


Figure 3: structure de base des flavonoïdes (Lobestein, 2010).

I.5.1.2. Les tannins

Sont des substances d'origine végétale de structure polyphénolique, non azotés, soluble dans l'eau et l'alcool... Elle a une capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines (Frutos et al. 2004 ; Sahpaz, 2013).

Les tannins sont utilisés dans l'usage externe comme les blessures, interne comme la diarrhée (Boudjouref, 2011), mais aussi comme des antioxydants, antibactériens, anti-infectieuse et parfois comme calmants.

On distingue deux groupes de tannin de structure différents:

- les tannins hydrolysables : comme l'acide gallique
- les tannins condensés : se différent des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucres dans leur molécule et leur structure.

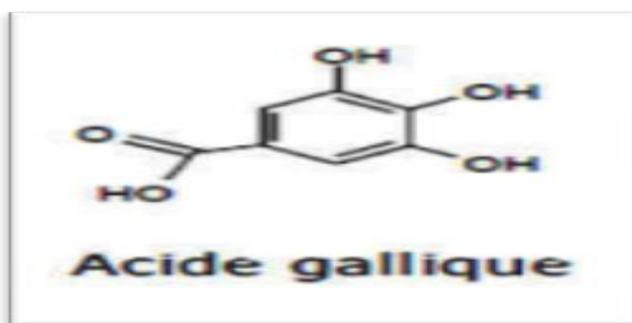


Figure 4: structure de l'acide gallique (Brunet, 2008).

I.5.1.3. Les coumarines

Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (Ford et al., 2001). Elle constitue une classe importante de produits naturels.

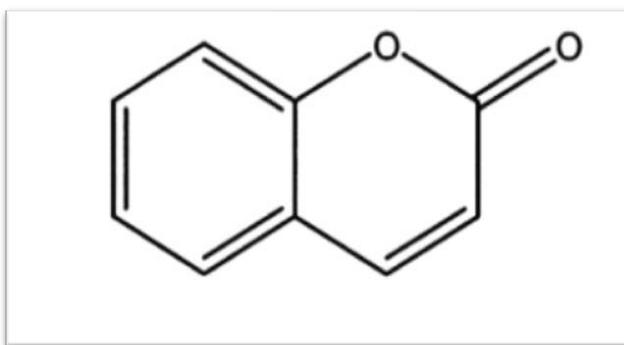


Figure 5: Structure d'une molécule de coumarine (Ford et al., 2001).

I.5.2. Les terpénoïdes

Sont des composés majoritairement d'origine végétale (**Malecky, 2005**), synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons mais aussi les animaux (**Benaïssa, 2011**) qui possèdent une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones.

II.5.3. Les alcaloïdes

Est des composés azoté présentant une structure moléculaire hétérocyclique complexe (**Badiaga, 2011**). Constitue une réserve de substances capable de fournir de l'azote et certains fragments nécessaires au développement de la plante.

I.6. Les activités biologiques des plantes médicinales

I.6.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante indique la capacité d'un composé bioactifs à maintenir la structure et la fonction des cellules en éliminant les radicaux libres, en inhibant les réactions de peroxydation lipidiques, et prévenir d'autres dommages oxydatifs (**Zou et al., 2016**).

Un antioxydant est une molécule capable d'inhiber, de ralentir ou d'empêcher l'oxydation d'autres molécules qui se produisent d'une espèce réactive oxygénée ou sous l'influence de l'oxygène atmosphérique (**Pisoschi et Negulescu, 2011**).

La majorité des antioxydants naturels sont des composés phénoliques tels que les tocophérols, les flavonoïdes et les acides phénoliques (**Gülçin, 2012**).

✓ Stress oxydatif

Se définit par un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires de l'oxygène et les capacités antioxydantes cellulaires (**Migdal et serres, 2011**).

I.6.2. Activité antibactérienne

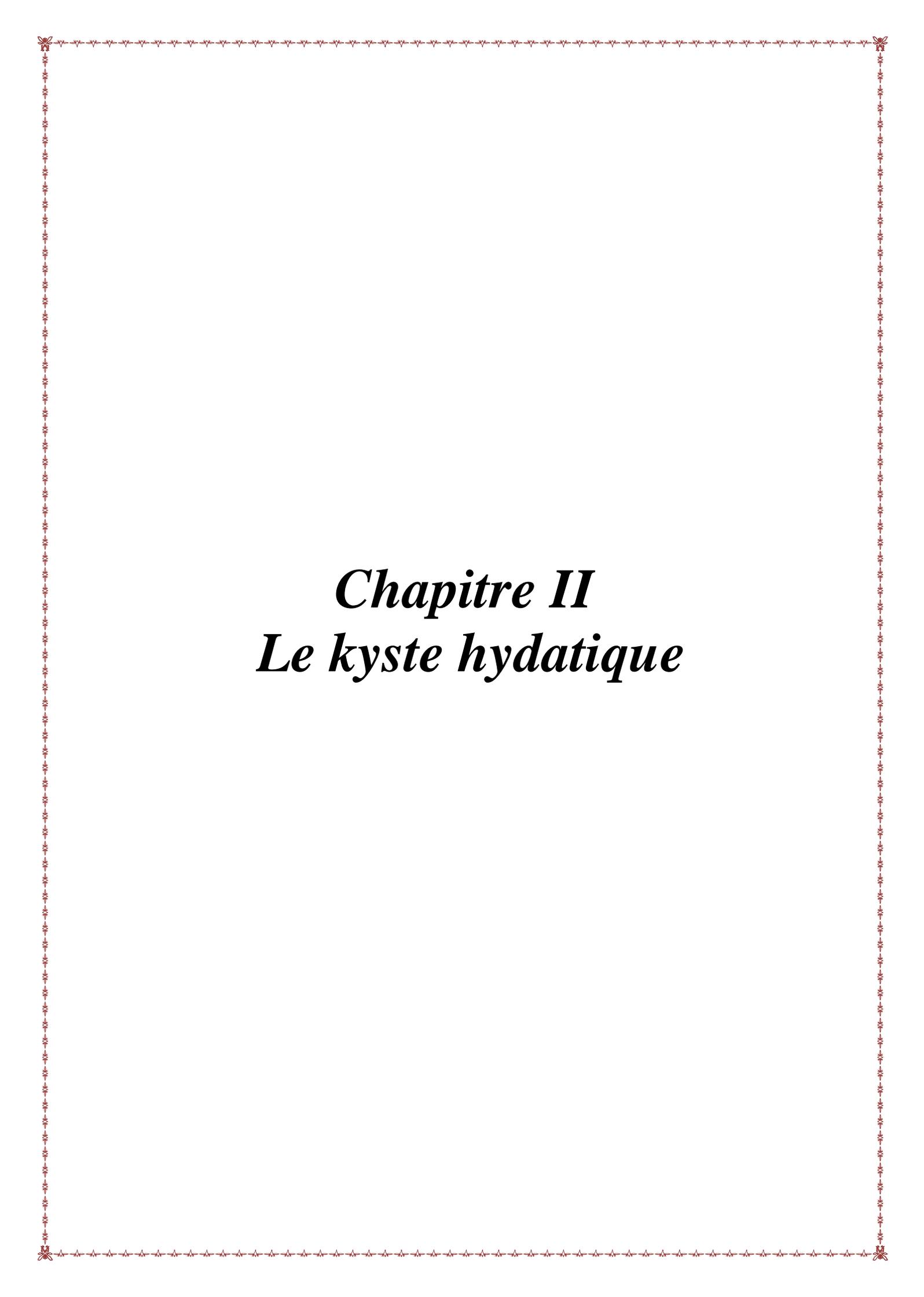
Les composés phénoliques sont souvent des molécules de défense contre les organismes pathogènes, il n'est donc pas surprenant que certains de ces composés possèdent un potentiel thérapeutique contre les microorganismes (bactéries, virus, champignons et parasites) (**Crozier et al., 2009**).

Est une activité d'une molécule ou composé présent au sein d'un végétal qui à très faible concentration, inhibe le développement d'une bactérie ou la tue. La sensibilité d'une bactérie peut être différente selon la souche d'appartenance (**Nicole et Daniel, 1998**).

I.6.3. Activité antiparasitaire

De nombreux composés phénoliques en particulier les flavonoïdes possèdent des propriétés antiparasitaires. Plusieurs travaux ont bien confirmé cette propriété.

Dans cette recherche on s'intéresse à l'étude de l'effet de notre plante sur la viabilité des protozoaires.



Chapitre II
Le kyste hydatique

Chapitre II : Le kyste hydatique

II.1. Définition

L'échinococcose kystique ou l'hydatidose est une parasitose cosmopolite causée par la forme larvaire d'un cestode appelé *Echinococcus granulosus* (Zeghir-Bouteldja, 2018) due au développement dans l'organisme, foie et poumons qui vivent à l'état adulte dans l'intestin grêle du chien. L'hydatidose est une affection cosmopolite dont leur prévalence est très variable en fonction des régions et des modes d'élevage. Cette affection est en général asymptomatique chez les bovins, ovins, caprin, voire porcins, camélidés et équins (Gourreau et al., 2008).

II.2. Epidémiologie de kyste hydatique

En Algérie, l'EK humaine sévit à l'état endémique et représente un problème majeur de santé publique, elle est fréquente dans les hauts plateaux, en particulier dans les villages non contrôlés par les services vétérinaires. Le mode d'élevage dispensé dans ces régions expose le mouton à un poly parasitisme certain.

Lors de l'abattage du mouton, les réservoirs du parasite (abats infectés par le kyste) laissé à la portée des chiens errants augmentent le degré de contamination et de dispersion des éléments de dissémination parasite dans l'environnement (Blibek, 2009).

Le tableau ci-dessous montre les régions les plus touchés en Algérie (Yennek et al., 2017).

Année	Nombre de cas	Wilaya les plus touchés
2000	771	Saida- Mascra- Médéa- Oum el Bouagui- M'sila
2001	654	Sidi Bel Abbas- Msila- Batna- Biskra
2002	644	Médéa- M'sila- Batna- Biskra
2003	686	Tiaret- Médéa- Relizen- M'sila
2004	573	Relizen- Mascra- Tiaret- M'sila

II.3. Classification taxonomique

Ce parasite est le seul responsable de la maladie du kyste hydatique et il appartient au : (Thompson et al., 1995; Ito et al., 2006; Yang et al., 2006; Craig, 2006).

Tableau 2: Classification taxonomique d'*Echinococcus granulosus* (Yang et al., 2006)

Règne	animal
Sous règne	métazoaires
Embranchement	plathelminthes
Classe	cecestodes
Sous classe	eucestodes
Ordre	tetracestodes
Famille	taeniidae
Genre	<i>Echinococcus</i>
Espèce	<i>Echinococcus granulosus</i>

II.4. La morphologie des *Echinococcus granulosus*

E. granulosus est présent sous trois (03) formes : le ver adulte, l'œuf, et le kyste hydatique (la larve hydatique).

II.4.1. La forme adulte

Elle se présente sous la forme d'un vers plat, mesurant 3 à 6 mm de long (Eckert, 2004). La partie antérieure qui est le scolex, Elle est constituée de quatre ventouses et d'un rostre. Les éléments du scolex permettent au parasite de s'accrocher à la paroi intestinale de l'hôte.

Un corps ou strobile : Elle est constituée de trois anneaux et Le dernier anneau qui représente un utérus gravide présente des branches latérales bien développées (Eckert, 2004).



Figure 6: la forme adulte d'*E.granulosus* (Lausier, 1987).

II.4.2. La forme ovulaire ou l'œuf

Les œufs d'*E.granulosus* sont de forme sphérique à ellipsoïde, 35 µm (Thompson et al., 1995). Ils sont entourés d'une coque épaisse, ou embryophore, striée transversalement, contenant à l'intérieur un embryon hexacanthé pourvu de six crochets disposés par paires, appelé encore oncosphère.

Ils sont très résistants en milieu naturel humide mais ils sont rapidement détruits par la dessiccation. Les agents chimiques, engrais ou désinfectants n'altèrent pas sa vitalité.

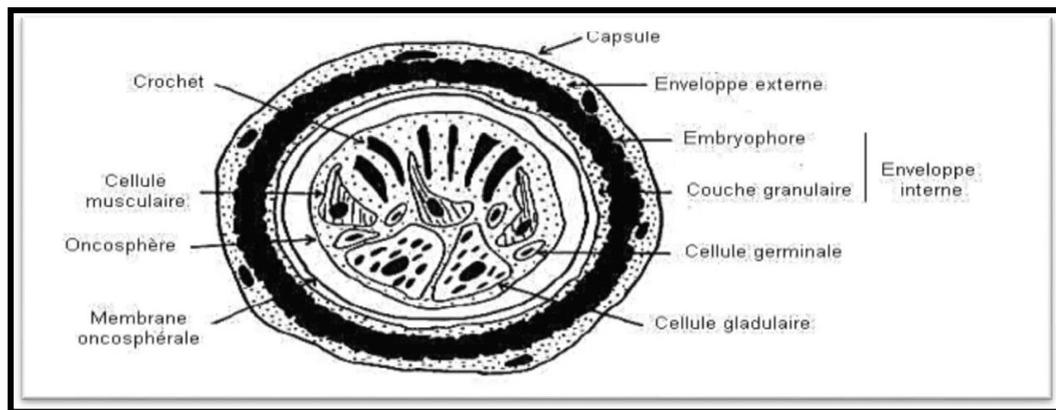


Figure 7: Œuf d'*E.granulosus* (Imane et Amina.,2018).

II.4.3. La forme larvaire (ou hydatide)

La larve d'*E. granulosus* ou l'hydatide, possède des dimensions très variables, mais elle a habituellement le volume d'une noix et atteint souvent celui d'une orange, parfois celui de la tête d'un enfant (Euzéby., 1998). Elle est de couleur blanche, globuleuse et de taille variable sous forme d'une vésicule opaque, sphérique, blanchâtre, tendu et élastique, rempli d'un liquide (Thompson et Lymbery, 1995).

Une fois l'embryon hexacanthé arrivé dans les viscères de l'hôte intermédiaire ou accidentel il perd ses crochets, se vacuolise, il développe une vésiculisation centrale et prend alors une forme kystique. La vitesse de maturation est lente dépendante de l'espèce hôte et du viscère parasité. Elle varie chez l'être humain de 1 à 30 mm par an.

II.5. L'anatomopathologie du kyste hydatique

C'est une sphère creuse contenant un liquide sous tension et des vésicules, sa structure est identique chez l'homme et chez l'animal. (Denis gallot, 1998). Il est constitué par l'ensemble de deux structures différentes :

L'hydatide ou le kyste hydatique proprement dit, élément parasitaire.

L'adventice ou périkyte qui appartient à l'organe hôte.

II.5.1. Coque ou adventice

Se compose de trois couches une couche interne, qui est lisse et brillante, semblable à une membrane séreuse, avec peu de fibres et de cellules, une couche intermédiaire, qui est de nature fibreuse et une couche externe, avec une inflammation active. (**Ramos. G et al ., 2007 ; Bruno Gotstein.,2002**). Elle correspond à la réaction inflammatoire de l'organe dans lequel le parasite s'installe.

II.5.2. La larve hydatique

Elle est constituée de :

II.5.2.1. La membrane prolifère ou germinative (membrane Interne)

Elle est très fine, de 10 à 25 microns d'épaisseur, comporte de nombreuses cellules chargées de lipides et d'autres de glycogène et est riche en acides aminés.

Constituée de trois couches, très riche en noyaux cellulaires, elle régule la totalité des échanges du kyste. Elle est à l'origine des vésicules prolifères et des protoscolex (**Houin et al., 1994; Klotz et al., 2000**).

II.5.2.2. La cuticule

Formée de lamelles concentriques, leur épaisseur est variable (200µm à 1mm) (**Euzeby, 1971**). Elle joue le rôle d'un filtre d'échange avec l'hôte, laissant passer l'eau, électrolytes, des petites molécules de glucides et de protides du plasma de l'hôte. (**Houin et al., 1994**).

II.5.2.3. Le liquide hydatique

Le liquide sous tension dans les kystes fertiles, à un aspect aqueux, majoritairement il est constitué d'eau (99,9 %) (**Klotz et al., 2000**). Le reste est composé de sels de sodium, de calcium, des phospholipides, de glucose et de protéines ainsi que des d'enzymes glycolytiques et protéolytiques (**Euzeby, 1971**). Contient de :

II.5.2.4. Le sable hydatique

Formé par le détachement entre les capsules et la paroi kystique pouvant sédimenter au fond de l'hydatide et avoir un aspect granuleux et blanchâtre.

Le sable hydatique sédimente au fond du kyste (**Denis, 1998 ; Zaouche et Haouet, 2006**).

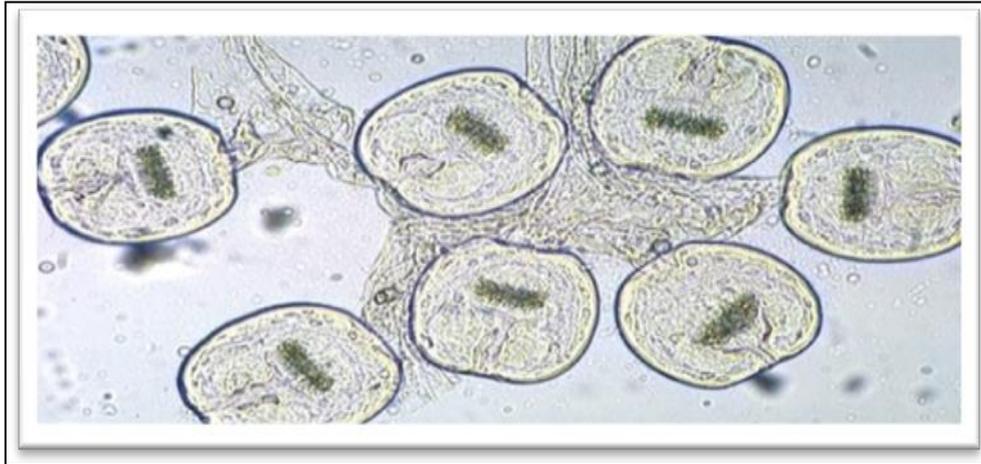


Figure 8: Sable hydatique (Anofel, 1996).

II.5.2.5. Les Protoscolex

Ce sont les futurs parasites adultes, de forme ovoïde de 190 à 120 μm possédant une paroi portant des microtriches (**Diaz et al., 2011**).

Un protoscolex est une tête de ténia invaginée, il est composé de quatre ventouses et les 36 à 42 crochets. On retrouve aussi, des corpuscules calcaires et des cellules sécrétrices à flammes vibratiles (**Euzeby., 1966**).

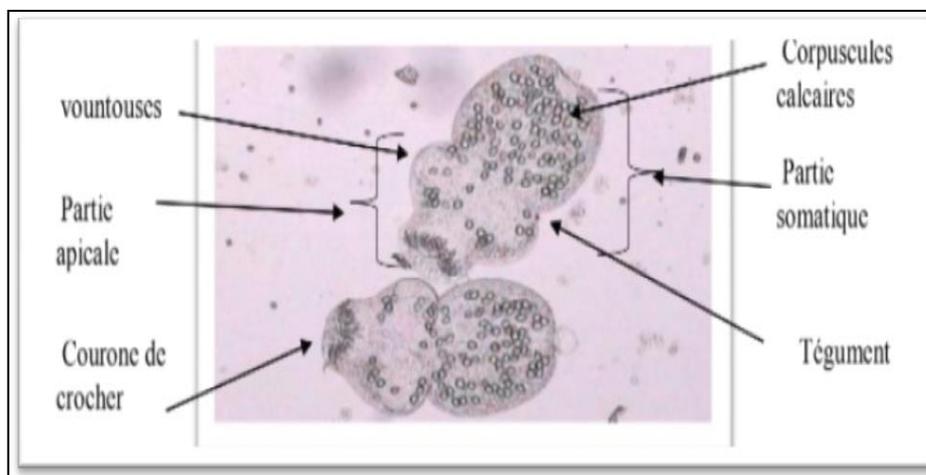


Figure 9: Structure schématique du Protoscolex forme dévaginé d'Echinococcus

II.5.3. Les vésicules proligères

Les capsules proligères ont une forme sphérique, translucide de 300 à 500 μm . microtriches est semblable à celle de la membrane germinative (**Diaz et al., 2011**). Ces vésicules produites à partir des cellules indifférenciées de la membrane proligère restent appendus par un fin pédicule: ce sont les capsules ou vésicules proligères. Elles tapissent cette paroi lui donnant le terme « échinocoque ».

1-Adventice, 2- Cuticule, 3- Membrane proligère, 4- Liquide hydatique, 5- Sable hydatique, 6- Vésicule fille exogène 7- Vésicule proligère 8- Protoscolex, 9- Vésicule fille endogène, 10- Vésicule fille petite.

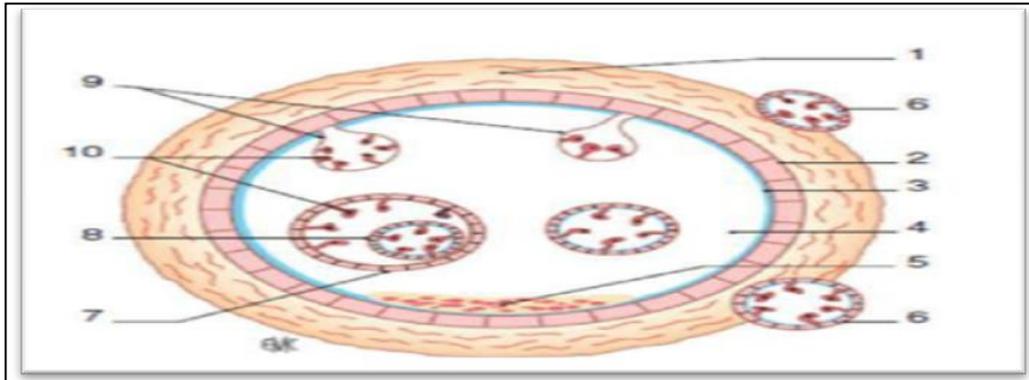


Figure 10: Structure de la larve hydatide (Lausier, 1987; Koltz et al., 2000)

Tableau 3: Caractéristiques et rôles des constituants du kyste hydatique (Bouhaoualaal.,2007 ; Hoeffel et al., 2002).

Constituants du KH	Caractéristiques et rôles
Adventice	<ul style="list-style-type: none"> - Siège d'une réaction granulocléreuse et d'une riche néovascularisation. - Plate-forme des échanges hôte-parasite.
Cuticule	<ul style="list-style-type: none"> - Membre hyaline très résistante de couleur blanc nacré. -Imperméable aux bactéries et aux grosses molécules. -Laisse filtrer des éléments minéraux et organiques dans les deux sens. -Facilement clivable du périkyste dès que la pression intrakystique diminue.
Membrane proligère ou germinative	<ul style="list-style-type: none"> -Fine couche cellulaire de 20 µm d'épaisseur. -Production de la cuticule, des vésicules proligères et du liquide hydatique. -Rôle dans la régulation des échanges et de la croissance du kyste.
Liquide hydatique	<ul style="list-style-type: none"> Limpide et aseptique. Densité : 1,007-1,015. PH neutre. Activité toxique, hyperéosinophile et réaction anaphylactiques. Riche en protoscolex : 400 000/ cm³ (forment le sable hydatique).

II.6. Cycle de vie d'*Echinococcus granulosus*

Echinococcus granulosus adulte mesure entre 3 à 7 mm de long (Eckert, 2004). Les adultes résident dans l'intestin grêle de l'hôte définitif qui peut être un chien ou un canidé. Les œufs sont libérés par les segments ovigères gravides. Les œufs libérés passent dans les fèces. Après ingestion par un hôte intermédiaire sensible (dans les conditions naturelles : ovins, caprins, porcins, bovins, chevaux et camélidés), les œufs sont acheminés dans l'intestin grêle et libèrent des oncosphères.

Les oncosphères traversent la barrière intestinale. Elles migrent via la voie sanguine vers divers organes, particulièrement le foie et les poumons. Dans ces organes l'oncosphère se développe dans un kyste. Il se développe graduellement, produit des protoscolex et des vésicules filles qui emplissent l'intérieur du kyste. L'hôte définitif s'infeste en ingérant le contenu des kystes provenant d'organes infectés. Après ingestion des protoscolex, ils s'attachent à la muqueuse intestinale, et se développent jusqu'à l'âge adulte en 32 à 80 jours (Figure 11)

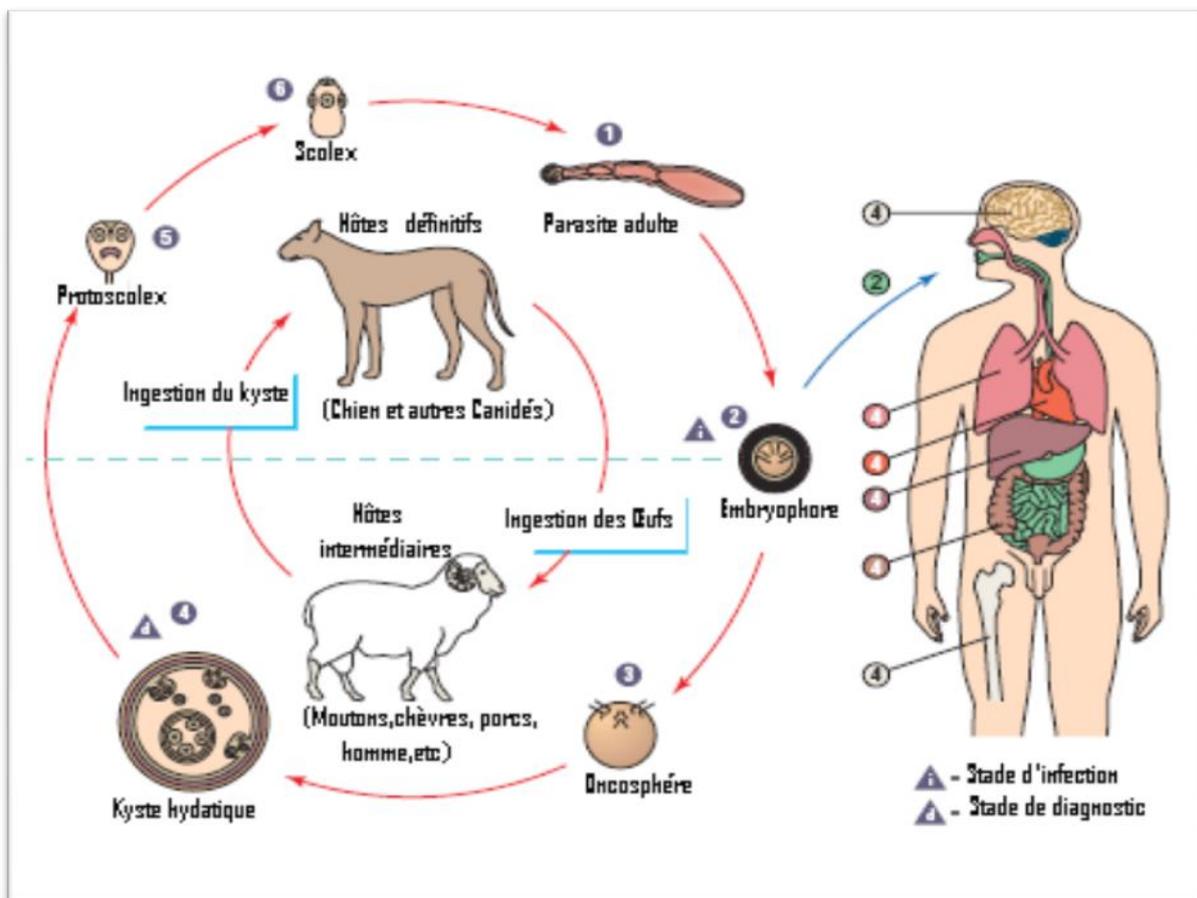


Figure 11: Cycle évolutif d'*Echinococcus granulosus* (Kayoueche et al., 2009).

II.7. L'aspect clinique de l'*Echinococcus kystique*

II.7.1. Les symptômes

Les symptômes cliniques de l'EK sont variables et dépendent de l'organe impliqué, de la taille des kystes, et à l'infection bactérienne. L'EK impliquant le foie peut rester asymptomatique pendant plus de dix ans. Les symptômes associés aux kystes de foie incluent

Les complications affectant les voies biliaires et incluent la rupture kystique dans les voies biliaires.

D'autres complications sont l'infection bactérienne du kyste, la rupture intra péritonéale et l'atteinte pulmonaire (**Frider et al., 1999**).

Ils entraînent des signes cliniques divers : une augmentation de volume du foie (hépatomégalie), des abcès pulmonaires, des difficultés respiratoires, des signes liés à une compression du tube digestif (estomac, intestin, voies biliaires...) ou des gros vaisseaux sanguins...

La pire éventualité est la rupture dans l'abdomen causant une urgence médicale (**Bahija et al., 2016**).

II.7.2. Diagnostic d'Echinococcose kystique

Le diagnostic de l'hydatidose est principalement basé sur des méthodes radiologiques et sérologiques à savoir l'imagerie médicale : la radiographie, l'échographie, le scanner, l'IRM (**Pinel et al., 1989**). Il permet d'identifier les kystes, définir leur stade d'évolution et préciser exactement la localisation, la taille et le nombre avant toute intervention chirurgicale (**Eckert et Deplazes., 2004 ; Teggia, 2004**). Le diagnostic clinique est confirmé par des tests immunologiques qui consistent à détecter des AC spécifiques ou des Ag circulants par des :

- **Méthodes qualitatives:** immunoélectrophorèse, western blot.
- **Méthodes quantitatives:** comme ELISA (**Ortona et al., 2003**).

II.7.3. Traitement

II.7.3.1. Chez le chien

Le traitement anti-parasitaire se fait classiquement au praziquantel qui est efficace à 100% contre l'*Echinococcus Granulosus* adulte chez les chiens. Le chlorhydrate de bunamidine inhibe l'infectivité des œufs d'*Echinococcus Granulosus*. à l'extérieur des proglottis lorsqu'ils sont incubés avec le médicament à 37 ° C pendant 2 heures, mais aucune information n'est disponible sur ses effets sur les proglottis (**Thakur et al., 1979**).

II.7.3.2. Chez les herbivores

Il n'existe actuellement aucun traitement de routine contre *Echinococcus Granulosus*. L'utilisation des antiparasitaires faut qu'il soit avec des doses très élevée par exemple : 50g/kg PV (kilogramme de poids vif) de Mebendazole pour un mouton pour trois mois, ce qui revient très couteux. Les recherches parent à la fâveur de l'amélioration des vaccins pour cette catégorie d'animaux (**Ripoche, 2009**).

II.7.3.3. chez l'homme

II.7.3.3.1. Traitement percutané PAIR

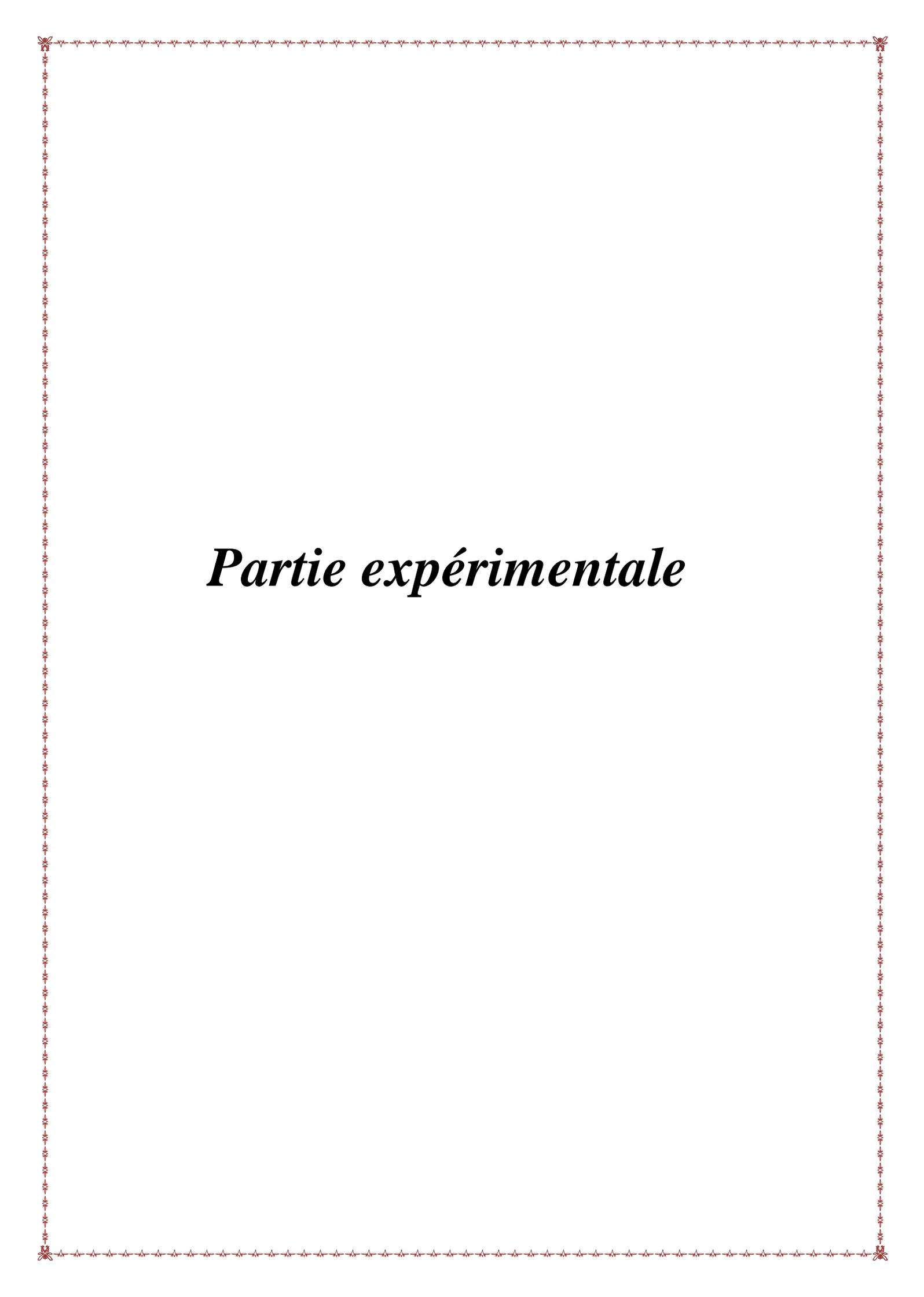
Le traitement percutané (PAIR) comprend la ponction percutanée des kystes moyennant un contrôle échographique ou scannographique, l'aspiration du liquide kystique, l'injection d'un agent scolicide pour une durée de 10 à 15 min et le réaspiration du liquide. C'est une technique peu invasive, moins risquée et souvent moins coûteuse que la chirurgie. Les agents scolicides les plus utilisés sont les solutions de chlorure de sodium à 25 % et l'alcool à 95 % (**Wejih et al.,2017**).

II.7.3.3.2. Traitement médical

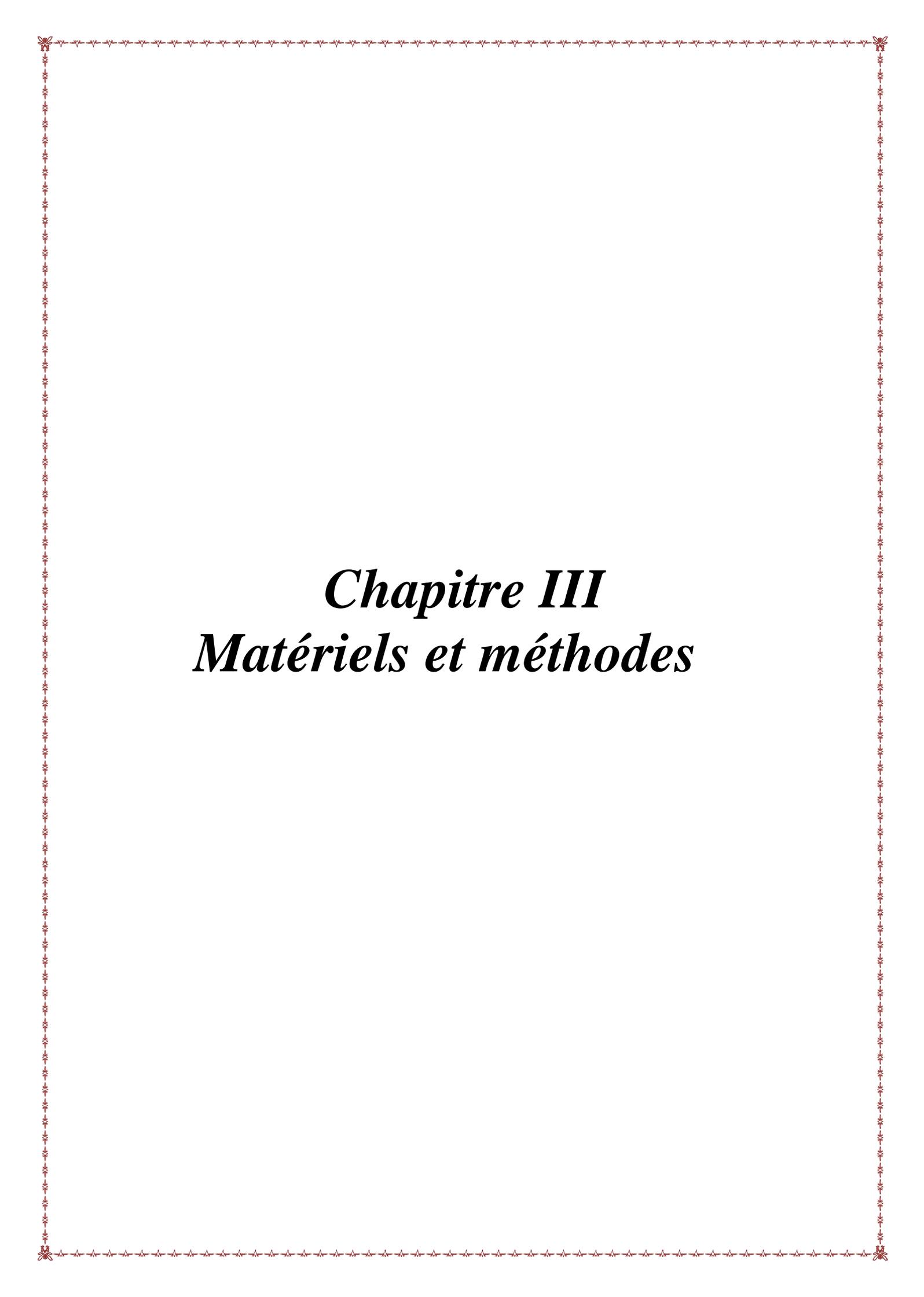
L'albendazole et le mébendazole sont les deux benzimidazolés carbamates bien étudiés chez l'homme. Leur capacité d'entraver l'absorption du glucose par le parasite représente leur mécanisme d'action commun (**Noomen et al., 2013**).

II.7.3.3.3. Traitement chirurgical

Largement employée dans les pays d'endémie, la chirurgie demeure encore la meilleure alternative dans les formes compliquées. Cette chirurgie du kyste hydatique a bénéficié ces dernières années des progrès de la réanimation et de la chirurgie hépatique en général, ainsi que de l'apport des nouvelles techniques d'exploration (échographie préopératoire) ou de section parenchymateuse qu'ont accru l'efficacité et la sécurité des techniques radicales en particulier (**Klotz et al., 2000**).



Partie expérimentale



Chapitre III
Matériels et méthodes

III. Matériels et Méthodes

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biochimie et de microbiologie de département de Biologie faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de l'université de Bouira.

III.1. Matériel Biologique

III.1.1. Matériel végétal

La plante de *Lawsonia inermis* a été obtenue chez un herboriste sous forme de feuilles séchées, ces feuilles ont été nettoyées la poudre obtenue a été tamisée afin d'obtenir une poudre fine et homogène.

III.1.2. Souches bactériennes utilisées

Dans cette étude l'activité antimicrobienne du *Lawsonia inermis* a été réalisé contre les souches bactériennes tel que (*Klebsiella pneumoniae* , *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (Gram+)

III.1.3. Les kystes hydatiques

Les kystes hydatiques ont été obtenus au niveau de l'abattoir : ma mère Haja fatima (Ain Bessem) wilaya du Bouira. La recherche des kystes hydatiques a été effectuée principalement sur le foie et les poumons d'ovins, après l'abattage par l'examen macroscopique et par la palpation et l'incision. Les organes parasités sont transportés dans une glacière et acheminés jusqu'au laboratoire de biochimie au niveau de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV).

III.2. Matériel non Biologique

Tableau 4: Liste du matériel et produits utilisé pendant l'expérimentation

Appareillage	Verreries et petit matériel	Solvants et réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Spectrophotométrie UV-Visible (OPTIMA sp-3000naR) - Etuve (Mettler) - Balance de précision (PIONEER OHAUS) - Agitateur (Jlab Tech R) - Réfrigérateur (Maxipower R) - Microscope optique (KERN) - Rotavapor (Stuart40°C) - Bec bunsen 	<ul style="list-style-type: none"> - Flacons - Bêchers - Erlenmeyers - Fioles de jauges - Entonneurs - Boîtes de pétrie - Spatule - éprouvette - Ecouvillon stérile - Papier Filtre - Micropipette avec des embouts - Tube à essai 	<ul style="list-style-type: none"> Ethanol comme solvant Eau distillée Eau physiologique Bicarbonate de sodium Na₂CO₃ (7,5 %) Butylated hydroxy toluen (BHT) Folin-Ciocalteu Acide gallique DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) Muller hinton (Gélose) Eosine à (0,1 %)

III.3. Méthode d'extraction

III.3.1. Macération à froid en milieu éthanolique

L'extrait Éthanolique est préparé par macération à froid de 25 g de la poudre végétale dans 100 ml de solution à 70% d'éthanol (**Rahmoun, 2013**).

On laisse macérer pendant 3 jours, Le résidu obtenu est repris pour une deuxième d'extraction avec le même volume d'éthanol 70% pendant 48 Heures.

Les deux filtrats (filtrat 1 et filtrat 2) sont réunis et concentrés sous pression réduite dans un rota-vapeur à 40°C.

L'extraits sec obtenu a été ensuite conservé au réfrigérateur à +4 °C jusqu'à leur utilisation.

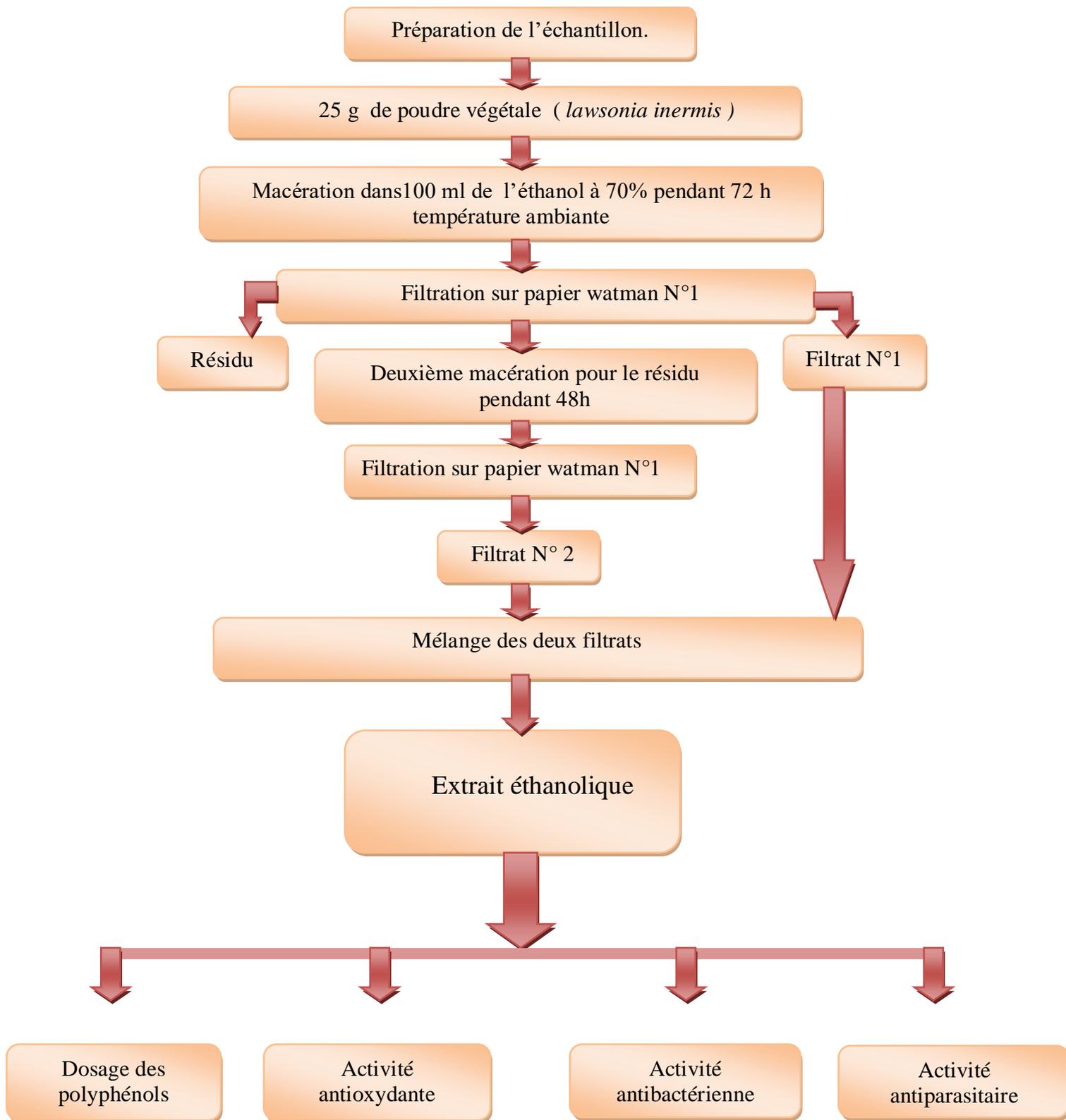


Figure 12: Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation.

III.4. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction a été estimé par rapport au poids de l'extrait brut et de la masse de la matière végétale sèche. Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{RE(\%)} = \frac{\mathbf{PBE - PBV}}{\mathbf{PP}} \times \mathbf{100}$$

RE : Rendement d'extraction en pourcentage.

PBE : poids des boîtes pleines après séchage (contient l'extrait brut) en gramme.

PBV : poids des boîtes vides en gramme.

PP : poids de la plante sèche en gramme

III.5. Contenu total phénolique (TPC)

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965), Ce dernier est un acide de couleur jaune réagit avec les résidus phénoliques et conduit à la formation d'un complexe coloré en bleu dont l'intensité de la coloration est proportionnelle avec la concentration des polyphénols dans l'extrait.

➤ *Le protocole*

Un volume de 20 µl d'extrait de plante (1 mg d'extrait dissout dans 1 ml de méthanol) est ajouté à 100 µl de FCR dilué. Ensuite, un volume de 75 µl de carbonate de sodium est ajouté après 5 minutes, tout ça c'est selon l'équation suivante :

20 µl d'extrait de plante + 100 µl de FCR dilué (1 :10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%).

Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Ethanol).

Le mélange est incubé dans l'obscurité pendant 30 min à l'abri de lumière. La lecture est réalisée à 765 nm. Trois répétitions ont été constituées.

➤ *Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique*

On prend une quantité de 0,2 mg de l'acide gallique qui est dissoute dans 1 ml d'éthanol Pour obtenir la solution S1.



Figure 13: les dilutions préparer pour l'acide gallique (photos original).

Les dilutions sont préparées dans des tubes à essai comme la suite :

Tableau 5: les dilutions préparées pour la solution étalon.

Dilutions	20µg/ml	40µg/ml	60µg/ml	80µg/ml	100µg/ml
SM (µl)	20	40	60	80	100
ethanol (µl) (70%)	180	160	140	120	100

Un volume de 20 µl de chaque dilution sont transférés dans des tubes à essai avec 100 µl FCR (1:10) après 5 minutes on ajoute 75µl de Na₂CO₃ (7,5%). L'incubation dure 30 min à l'abri de lumière la lecture sur Spectrophotométrie UV-Visible (OPTIMA sp-3000nano R) à 765nm.

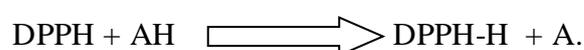
III.6. Activités biologique de *Lawsonia inermis*

III.6.1. Activité antioxydant

III.6.1.1. Test de DPPH

➤ Principe

Le test au 2,2- diphenyl-2- picryl-hydrazyle (DPPH.) est réalisé par la méthode décrite par (Ammar et al., 2009) qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la IC₅₀ des substances antioxydants contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H⁺.



Où AH est un composé capable de céder un H⁺ au radical DPPH.

➤ **Mode opératoire**

Une solution éthanolique préparé (4mg de DPPH dans 100ml de l'éthanol pur) , est mélangée avec différentes concentrations des extraits de *L. inermis* (0,25 – 0,5 – 0,75 - 1 – 1,25 – 1,5 – 1,75 mg/ml), Mettre 50 µl de chaque dilution de ces extraits dans un tube à essai, ajouter 1950 µl de solution éthanolique de DPPH, puis laisser incuber pendant 30 min à l'abri de la lumière à température ambiante. Lire l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol pur (**Zbadi et al., 2018 avec quelques modifications**).

Répéter les mêmes opérations, en remplaçant l'extrait de *L.inermis* par le BHT (control positif) et l'éthanol pur (control négatif). Toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

L'évaluation de l'activité anti-oxydante en utilisant la méthode DIPPH est exprimée en pourcentage selon la relation suivante :

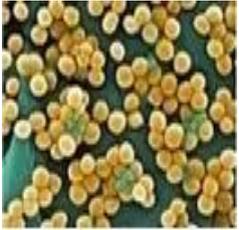
$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{Abs Control} - \text{Abs Extrait})}{\text{Abs Extrait}}$$

Le pourcentage d'inhibition est exprimé ensuite par la valeur de la CI₅₀, sachant que CI₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH (**Boudjouref et al., 2014**).

III.6.2. Activité Antibactérienne

L'activité antibactérienne a été étudiée en utilisant la méthode de diffusion en puits Pour cela on a utilisés, milieu Muller Hinton. Cette activité est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant l'extrait de *L. inermis* à tester vis- à-vis de quatre souches bactériennes (*Klebsiella pneumoniae* , *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (Gram+) (**Celiktas et al., 2007**).

Tableau 6: Principales caractéristiques des souches microbiennes testées

L'espèce	Origine	Gram	Forme et Mobilité	Caractères biochimiques	Habitat	Pouvoir pathogène
<i>Les staphylocoques</i>	ATCC 25923	+	Cocci immobile 	Aérobie facultatif Catalase+ Oxydase- Coagulase+	Peau muqueuses	-Infection pyogène grave. -les infections nosocomiales. -les infections cutanées.
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 21332	+	Bacille mobile 	Aéro-anaérobie facultatif Oxydase- Catalase+	Sol, poussière, eau, air et plantes	non pathogène mais elle peut entraîner des intoxications alimentaires.
<i>Klebsilla pneumoniae</i>	ATCC 700603	-	Bacille mobile 	Aérobie facultatif oxydase- Uréase+	Eau, sol, commensal de tube digestif	Des angines, des infections pulmonaires des infections urinaires.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	-	Bacille mobile 	Aérobie facultatif oxydase Glucose- Uréase+	Les sols et en milieu humide, fréquent en milieu hospitalier	Infection oculaires et des poumons, septicémie.

III.6.3.1. Méthode de diffusion en puits

La méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie. Elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien à tester en milieu gélosé. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche du microorganisme a été qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion, il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit à tester (Shi et al., 2015).

L'activité antimicrobienne de l'extrait préparé a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton (milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens **(Celiktas et al., 2007)**).

La préparation de l'inoculum se fait par prélèvement de deux colonies bien isolées et parfaitement identiques, à l'aide d'une pipette pasteur et les suspendre dans 9 ml d'eau dans un tube à essai.

Après préparation et stérilisation du milieu Mueller Hinton, 20 ml du milieu sont coulés dans des boîtes de pétri. Le milieu est laissé se solidifier sur une surface froide dans des conditions aseptiques.

L'étape de l'ensemencement est fait par écouvillonnage en stries sur toute la surface du milieu en 3 reprises en faisant tourner la boîte de pétri de 60° après chaque application. L'inoculum doit être bien réparti sur la surface de la gélose afin d'obtenir une bonne reproductibilité des diamètres de la zone d'inhibition **(Yusuf., 2016)**.

Après la réalisation des puits, On émerge chaque puits par 50µl d'extrait éthanolique (100 mg / ml). Avec un témoin éthanol 70% **(Kouadri, F. 2018)**.



Figure 14: Test de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits

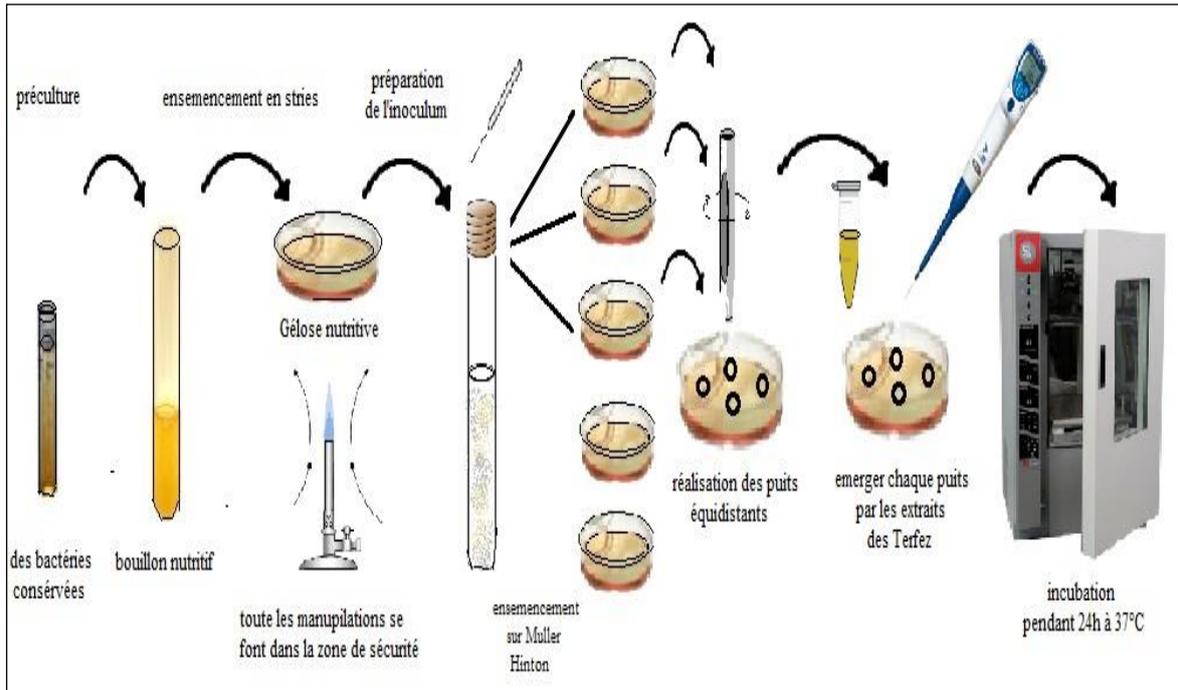


Figure 15: Protocole expérimentale de l'essai d'activité antibactérienne des extraits de *L. inermis*.

III.7. Évaluation de l'activité antiparasitaire

III.7.1. Test de fertilité du kyste hydatique

Un kyste hydatique est dit fertile si :

Il produit des capsules proligères avec formation de protoscolex, Il a une couleur blanchâtre du liquide hydatique et l'épaisseur de la membrane germinative qui est de 20 à 25 μm .

Selon (Salem et al., 2011). Une goutte de liquide hydatique a été prélevée et observée sous microscope optique pour vérifier la présence de protoscolex. Les kystes hydatiques contenant protoscolex sont considérés comme fertiles, en revanche, ceux qui n'en contiennent pas sont considérés non fertiles. (Dalimi et al., 2001 ; Zeghir-Bouteldja et al., 2009).



Figure 16: foie d'ovin infecté par le kyste hydatique (original)

III.7.2. La viabilité des protoscolex

La viabilité des protoscolex des kystes fertiles a été testée par la méthode d'exclusion aux colorants vitaux. Une goutte de liquide hydatique fertile mélangée avec une goutte d'éosine à 0,1% en solution dans l'eau distillée est placée entre lame et lamelle. Après quelques minutes, le mélange a été observé au microscope optique. Tous les protoscolex qui ont retenu la coloration ont été considérés comme morts, et ceux qui ne l'ont pas retenue comme viables, (Salem et al., 2010). Le taux de protoscolex morts et taux de viabilité ont été calculés par les formules suivantes

$$\text{Taux de protoscolex morts} = n \times 100 / N$$

Avec :

N : nombre total de protoscolex

n : nombre de protoscolex morts

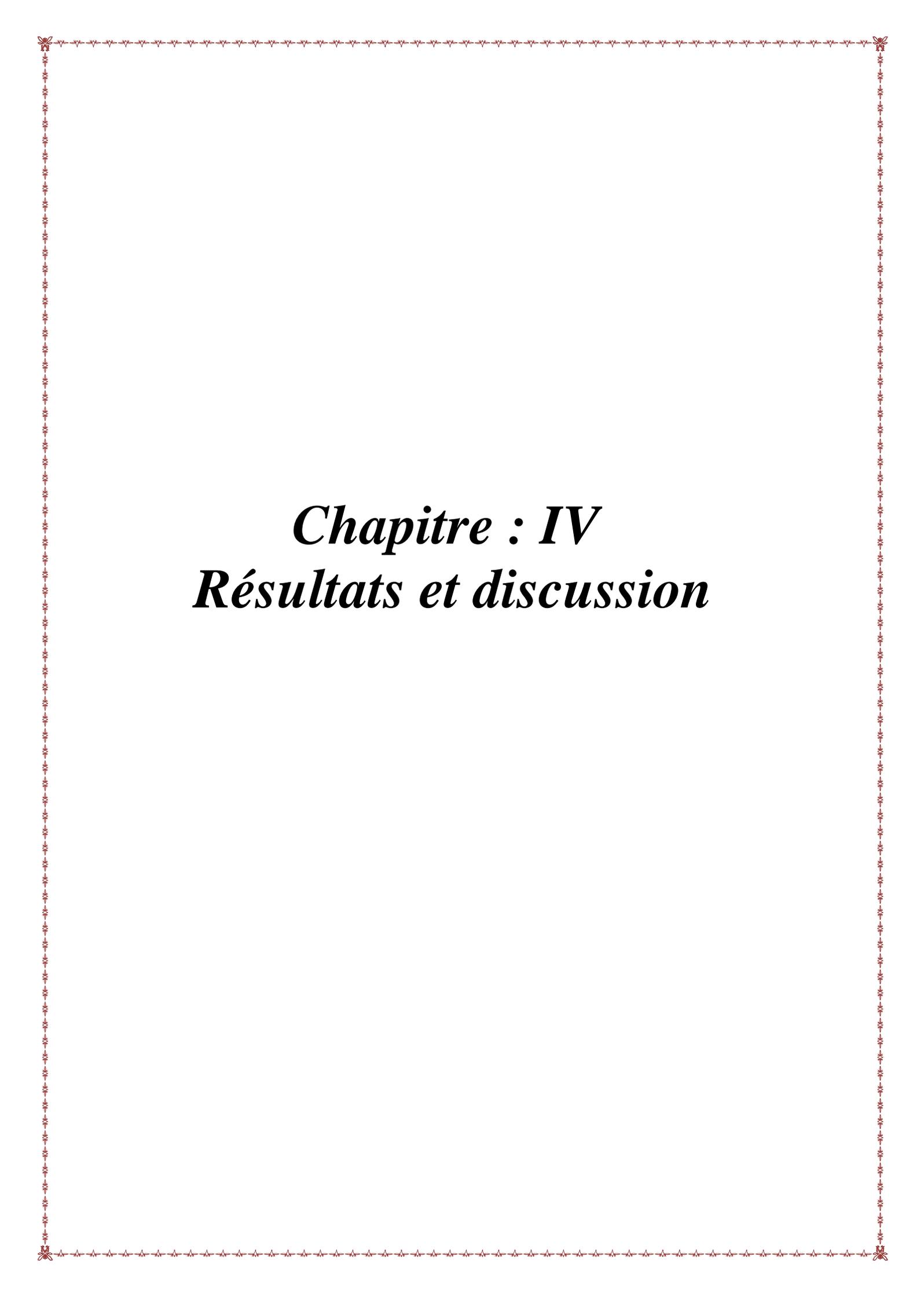
$$\text{Taux de viabilité (\%)} = 100\% - \text{taux de protoscolex mort}$$

III.7.3. L'étude de l'effet de contact direct entre l'extrait et l'échantillon parasitaire

Cinq concentrations du L'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis* (1000, 500, 250, 125, 62.5 µg/ml) ont été préparées.

D'abord, un volume de 50 µl de la suspension de protoscolex a été ajouté à 1 ml de chaque solution du L, inermis et mélangées doucement puis incubé à 37 °C pendant 5, 10, 20 et 30 minutes. Ensuite, 50µl d'éosine à 0.1% ont été ajoutés aux protoscolex, puis examiné sous un microscope optique .

Le pourcentage de protoscolex morts a été déterminé selon la formule décrite dans le test de viabilité.



Chapitre : IV
Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

Il s'agit de l'étude de différentes activités :(l'activité antioxydante, antibactérienne et antiparasitaire).

IV.1. Le Rendement d'extraction

La mesure d'un rendement de l'extrait est une étape importante dans le but de déterminer la quantité et le pourcentage d'extrait obtenu par une extraction.

Donc le résultat de rendement est calculé à partir de la matière végétale sèche de feuilles de *L. inermis*, sont représentés dans le tableau suivant:

Tableau 7: Rendement de l'extrait de la plante

<i>Lawsonia Inermis</i>	
poids des boîtes pleines (g)	213 ,83
poids des boîtes vides (g)	206,12
poids des plantes sèches (g)	25
Rondement (%)	30,84

Après la macération à froid, le calcul du rendement de notre plante *L. inermis* originaire de la wilaya de Adrar a donné un rendement de **30,84 %** (25g), le travail obtenu par **Hettab, (2018)** qui a ciblé les extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *L.inermis* d'origine de la wilaya de Tamanrasset sont de l'ordre **29,08% , 26,68%** (25g) respectivement , ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus dans notre étude.

Par ailleurs, de nombreuses études ont montré l'influence de différentes conditions d'extraction sur le rendement d'extraction des composés phénoliques comme l'origine de la plante, le temps, la température d'extraction, la polarité du solvant et la méthode d'extraction (**Halmi, 2015**).

En effet, Les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant ainsi l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (**Seidel, 2012**).

Les composants de la cellule se dissolvent plus efficacement dans le solvant. Cependant lorsque le temps d'extraction est prolongé, il favorise la diminution du rendement d'extraction car la

température élevée entraîne l'oxydation, l'épidémisation et la dégradation des composés désirés (Seidel, 2012).

L'origine géographique de la plante, notamment la région d'échantillonnage, est un facteur extrinsèque qui influence directement sur son développement, donc sur la composition quantitative et qualitative ainsi que sur le rendement en composants brut donc toute espèce végétale a des exigences vis-à-vis du climat au sein duquel elle évolue. Le facteur de compensation de l'humidité peut jouer, un rôle important dans le maintien du couvert végétal. La sécheresse peut aussi influencer significativement la performance et la survie de la plante et peut conduire à des contraintes majeures dans son fonctionnement notamment sur son développement morphologique, physiologique ainsi que sur les changements métaboliques (Claeys et Inze, 2013 ; Khan, 2012), (Khan et al., 2012, Jamal et al., 2014).

IV.2. Détermination du contenu total en polyphénols

Les polyphénols sont des molécules bioactives très recherchées car, ils sont réputés pour leurs excellentes propriétés biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes, etc...).

Le dosage quantitatif en polyphénols de l'extrait éthanolique obtenu à partir des feuilles de *Lawsonia inermis* a été réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (FCR) (Singleton et Rossi, 1965).

Nous avons utilisé comme standard l'acide gallique (GAE). les résultats sont représentés dans la (figure 17).

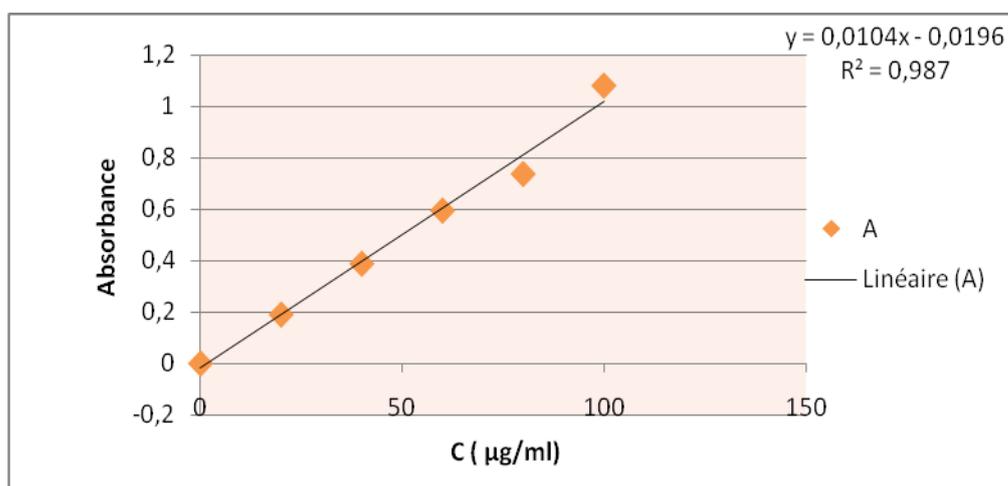


Figure 17: courbe de dosage d'acide gallique

L'équation suivante détermine la teneur en polyphénols totaux (exprimée en (µg) équivalent d'acide gallique par mg du d'extrait éthanolique (µg EAG/ mg d'extrait)

la teneur a détectée c'est de (151,25 ±0,05 µg EAG/ mg)

En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une autre étude réalisée sur la même plante originaires de différentes régions du Moyen Atlas (Maroc), il a été rapporté dans ce contexte que l'extrait éthanolique des feuilles de *Lawsonia inermis* récolté au niveau de la région du Maroc renferme plus de polyphénols ($174 \pm 0,005 \mu\text{g EAG/ mg}$), par rapport à la teneur détectée dans la présente étude ($151,25 \pm 0,05 \mu\text{g EAG/ mg}$) (Zbadi et al ; 2018).

Dans d'autres études travaillant sur l'extrait Méthanolique de *Lawsonia inermis*, le taux de polyphénols a été évalué à une teneur de ($146,25 \pm 5,18 \mu\text{g EAG/ mg}$) qui semble proche de celle détecté dans notre études (Abire et Amina, 2017).

Cela signifie que la teneur en polyphénols change avec le changement de solvant d'extraction et la région de la récolte.

Selon Macheix et al., (2005), la méthode de Folin-Ciocalteu peut présenter des interférences en présence d'autres composés réducteurs que les composés phénoliques. D'après Zapata et al, (2013), la teneur en composés phénoliques totaux est influencée par les saisons de l'année, où ces composés prennent leurs valeurs maximales en été, et minimales en printemps, la température élevée induit l'accumulation des produits phénoliques comme réponse de stress de la plante.

La température d'extraction peut également influencer le taux de polyphénols, les études faites par Hamissa et al., (2012), ont démontré que l'absence de l'oxygène dans le milieu réactionnel réduit la teneur en polyphénols.

IV.3. Détermination de l'activité anti-radicalaire au radical DPPH

Le test au DPPH (1,1 -diphényle-2-picrylhydrazyle) choisi dans cette étude est basé sur le piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule anti-radicalaire, ce qui entraîne la décoloration de ce dernier (Molyneux ., 2004). La couleur violette foncée de DPPH se transforme en jaune, ce qui est remarqué au cours de réalisation de ce teste. La méthode est rapide et commode à mettre en œuvre, elle s'effectue à température ambiante, permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules testées.

Ce test consiste à mettre le radical DPPH en présence de molécules dites «antioxydants» afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. La forme réduite n'absorbe plus à 517 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance à cette longueur d'onde.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire au DPPH sont comparés au standard de l'antioxydant BHT.

L'extraits de la plante de *Lawsonia inermis* présentent une faible activité anti-radicalaire ($0,892 \pm 0,006 \text{ mg/ml}$) comparativement à celle donnée par le BHT. les résultats sont présenté da la (figure 18)

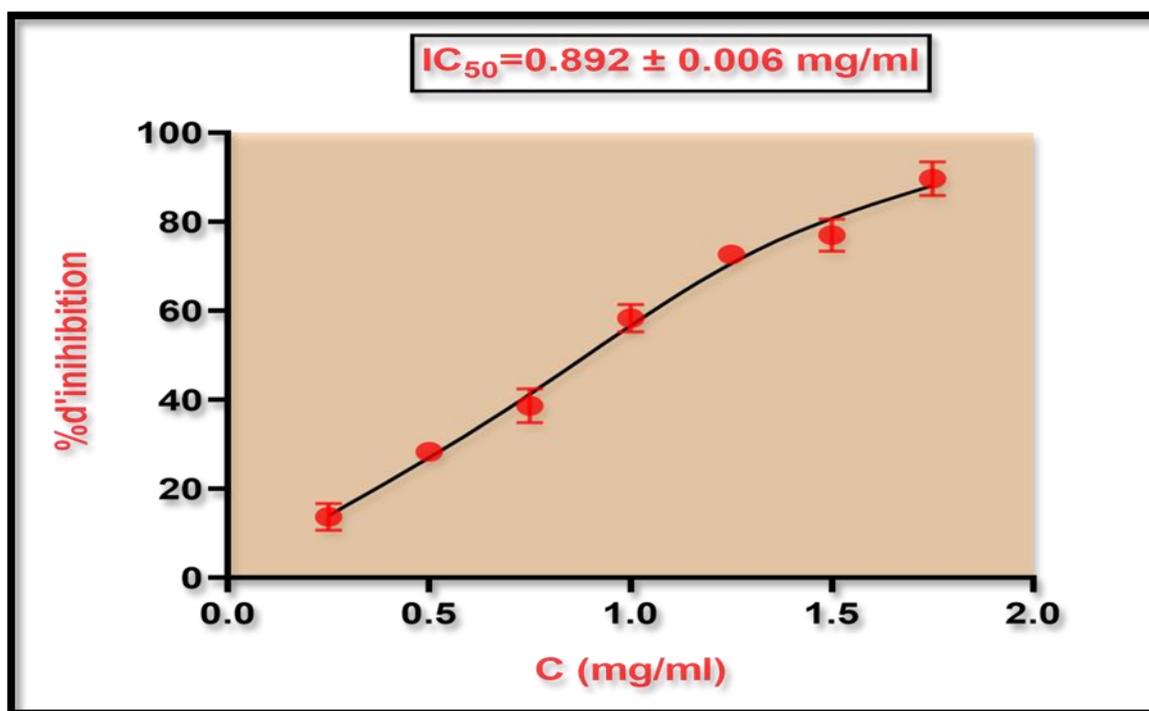


Figure 18: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait.

L'antioxydant BHT a révélé une très bonne activité ($0,037 \text{ mg/ml}$). En revanche, dans l'étude de **Zbadi, (2018)** l'activité anti-radicalaire est assez importante de l'extrait éthanolique, méthanolique et aqueux avec des IC_{50} de l'ordre ($0,18 \pm 0,09 \text{ mg/ml}$), ($0,10 \pm 0,01 \text{ mg/ml}$) et de ($0,12 \pm 0,06 \text{ mg/ml}$) respectivement .

Cependant, l'activité anti-radicalaire change avec le changement de l'espèce, la région de récolte et même avec le solvant d'extraction.

Il a été rapporté par **Turkmen, (2007)** et **Guha, (2011)**, que les polyphénols semblent être d'efficaces donneurs d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale, sans toutefois négliger les autres composés phénoliques mineurs, parce que la synergie entre les différents produits chimiques devrait être prise en considération.

Les résultats obtenus révèlent que l'extraits est doté d'un pouvoir antioxydant , et ce pouvoir varie d'une plante à une autre, et pour une même plante, d'un extrait à un autre.

IV.4.L'évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de L'extrait de feuilles de *L. inermis* ont été évalués pour leur potentiel antibactérien contre les souches bactériennes Gram négatives et Gram positives utilisant le solvant de L'éthanol (Yusuf, 2016).

Les résultats ont montré que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif vis-à-vis de l'action du *Lawsonia inermis*. Cette dernière possède une activité inhibitrice sur les souches (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (Gram+) qui sont marquées par un diamètre d'inhibition important de l'ordre de $9,67 \pm 2,08$ mm, $9,93 \pm 0,31$ mm, $12,33 \pm 2,52$ mm, 12 ± 1 mm, respectivement.

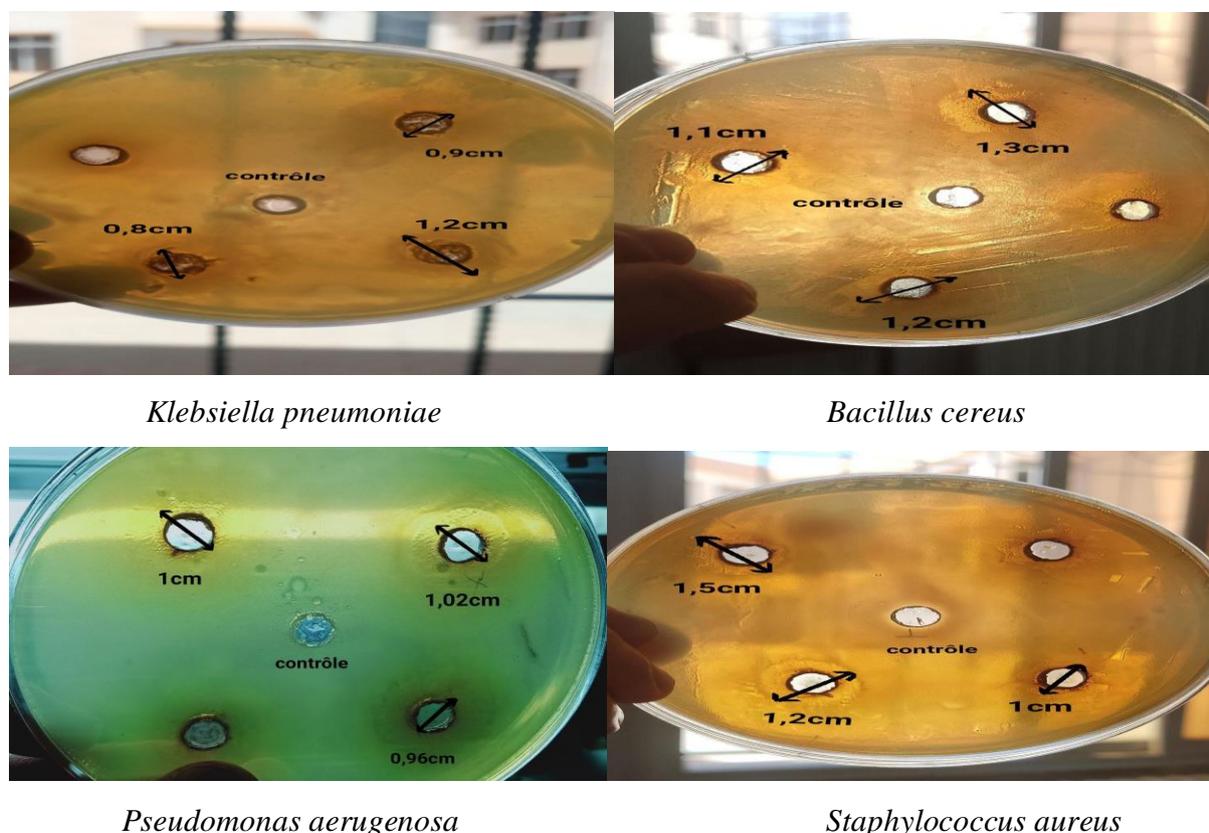


Figure 19: Résultats des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne.

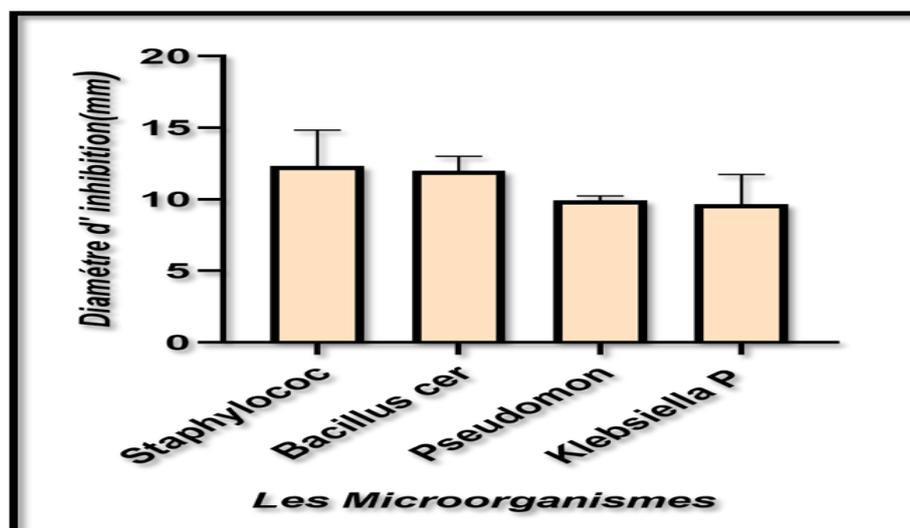


Figure 20: Activité antibactérienne de l'extrait de *L.inermis* contre les souches bactériennes.

Par conséquent, il semblerait que la plante de henné a une activité antibactérienne contre les souches bactériennes testées.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Ihsan, 2014). En effet l'activité antibactérienne a été observée pour les mêmes bactéries testées. D'après l'étude de Hattab, Les feuilles de henné issues du Tamanrasset présentaient une activité antibactérienne plus élevée à une concentration inférieure de celle testée au cours de notre étude. (hettab, 2018).

Les résultats ont montrée que l'extrait éthanolique des feuilles de *L. inermis* est parmi les solvants les plus efficaces (Yusuf, 2016).

IV.5.L'évaluation de l'activité antiparasitaire

IV.5.1.Test de fertilité

✓ Kyste hydatique ovin

Les liquides hydatiques obtenus ont été examinés sous microscope optique objectif (Gx4), (Gx10).

Les résultats montrent la présence de protoscolex dans le liquide hydatique donc les kystes sont considérés comme fertiles.

IV.5.2.Test de viabilité des protoscolex

Selon l'étude de Blibek, (2009), l'éosine à 0.1% a la propriété de se diffuser à travers la membrane du protoscolex mort qui devient ainsi coloré en rose. Par contre, lorsque le protoscolex est vivant, sa membrane est imperméable au colorant et apparait réfringente au microscope photonique. De même, les protoscolex vivants sont mobiles et présentent une

double couronne de crochets, des corpuscules calcaires et une régularité de la structure du tégument et de la double couronne de crochets par rapport au protoscolex morts qui sont immobiles et montrent une altération de la double couronne de crochets et une irrégularité du tégument (Zeghir-Bouteldja et al., 2009 ; Amri et al., 2015).

IV.5.3. L'étude de l'effet de contact direct entre l'extrait de *Lawsonia inermis* et l'échantillon parasitaire

L'effet de L'extrait des Feuilles de *L.inermis*, a été testé sur les protoscolex viables, les changements morphologiques ont été observés sous microscope optique.

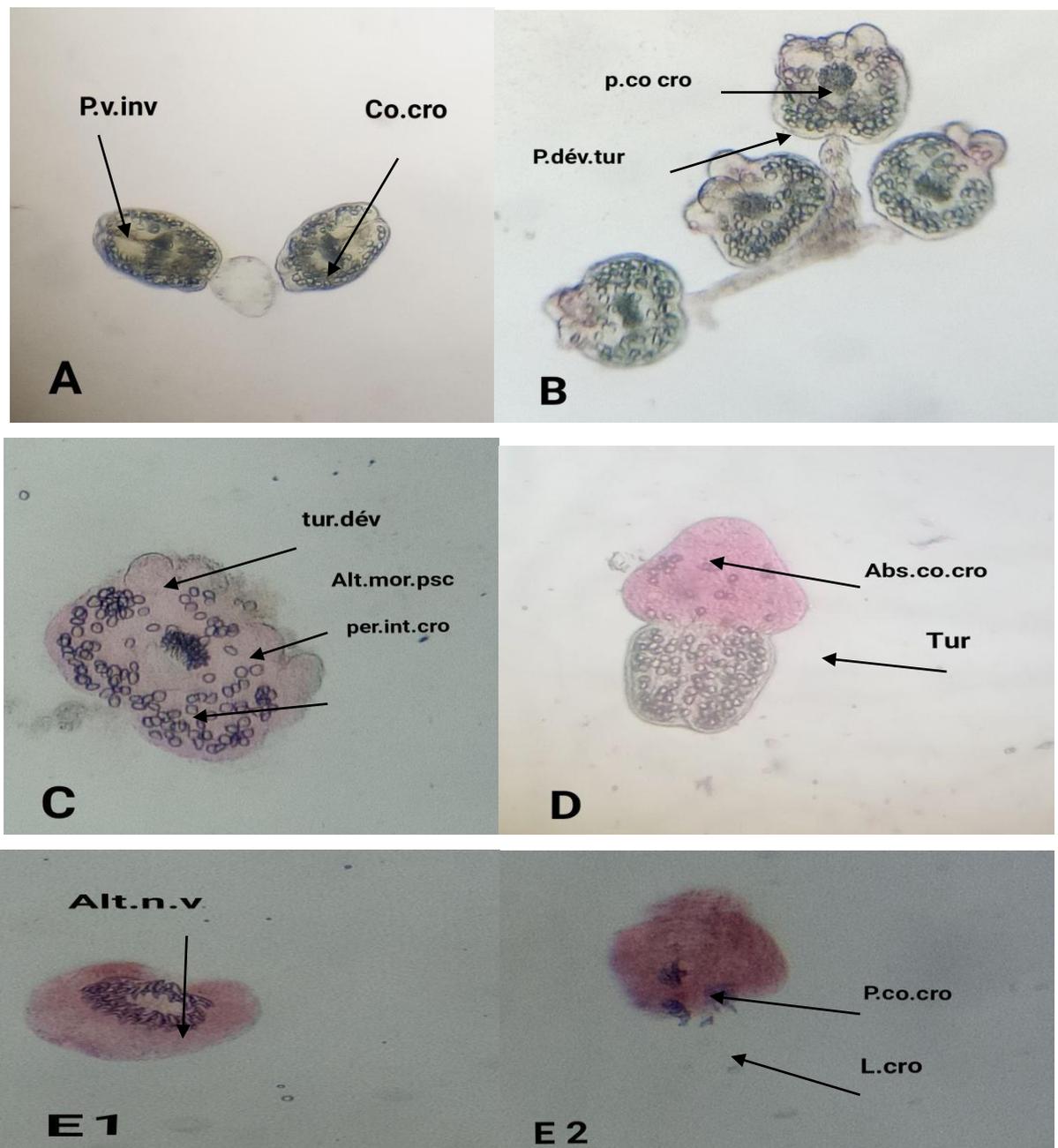


Figure 21: Aspects morphologiques des protoscolex en présence de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis* à des concentrations différentes (Gx 10).(Original)

A : Témoin : protoscolex vivants forme invaginé (P.v.inv), présence double couronne de crochets (Co.cro).

B : 1000 µg/mL: protoscolex dévaginée turgescence (P.dév.tur), perturbation de la couronne de crochets (P.co. cro).

C : 500 µg /mL : Turgescence dévaginée (Tur.dév), Altération de la morphologie des protoscolex (Alt. mor.psc), perturbation de l'intégrité des crochets (Per.int.cro).

D : 250 µg /mL : protoscolex dévaginée turgescence (Tur), absence des couronnes de crochets.

E1, E2 :125µg/mL : Altération au niveau des ventouses (Alt,n,v) , libération des crochets (L.Cro), Perte des crochets (P.cro).

Les résultats obtenus après le contact direct de notre extrait avec les protoscolex induisent la mort des protoscolex en fonction du temps à différentes concentrations, les résultats ont été enregistrés dans les courbes suivantes qui présentent le taux de mortalité en fonction de l'exposition au temps.

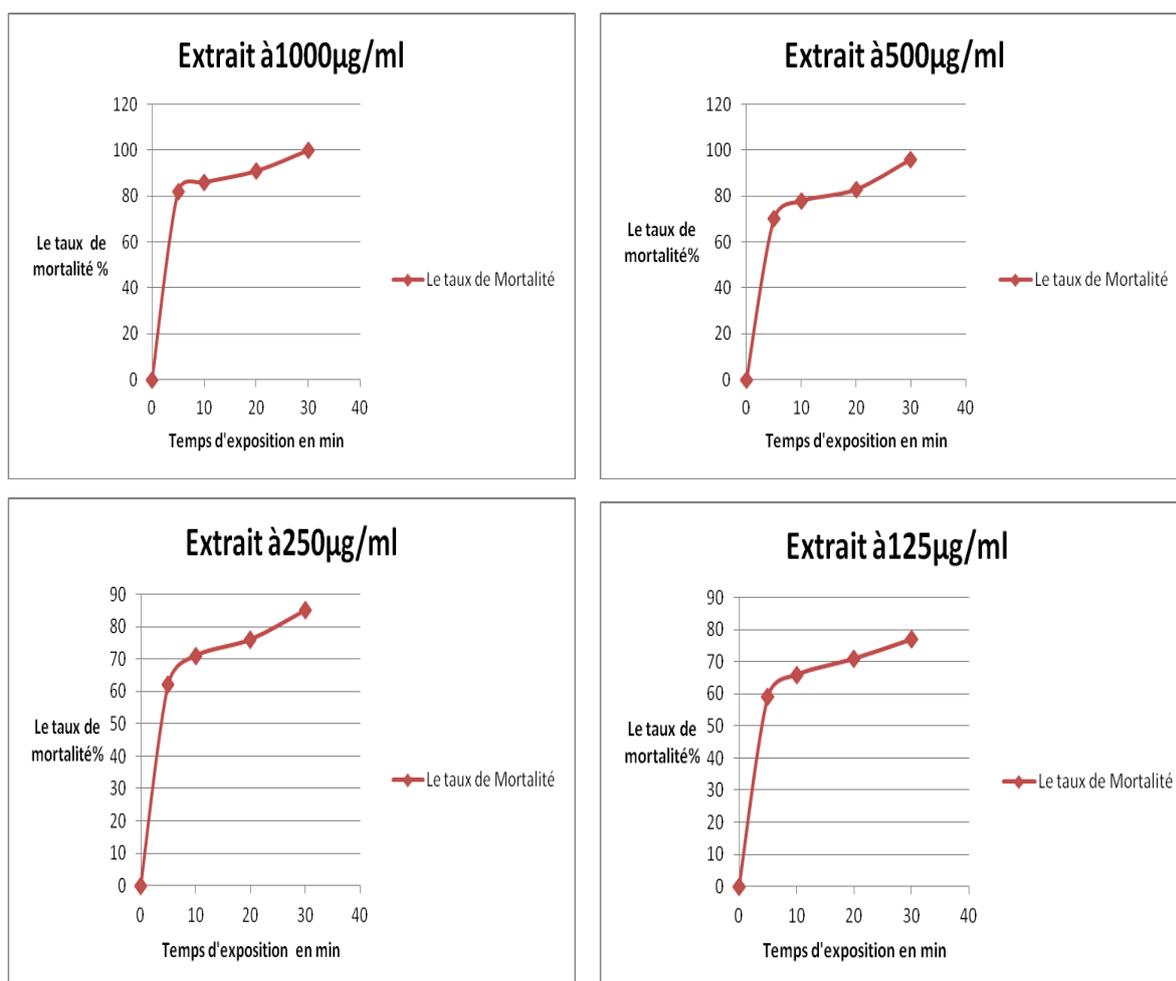


Figure 22: Courbes représentent le taux de mortalité en fonction d'exposition au temps.

✚ A une concentration de 1000µg/ml, on a enregistré un taux de mortalité élevé qui est à 82% après 5 minutes d'exposition à l'extrait des feuilles, alors qu' après 30 min d'incubation ,cette valeur a augmenté jusque 100%

✚ A une concentration de 500 µg/ml, on a enregistré un taux de mortalité de 70 % après 5 min, alors qu'on a observé un taux de 96% après 30 minutes. A une concentration de 250 µg/ml, 62% mortalité a été marqué dans les premier 5min, et 85% dans 30min.

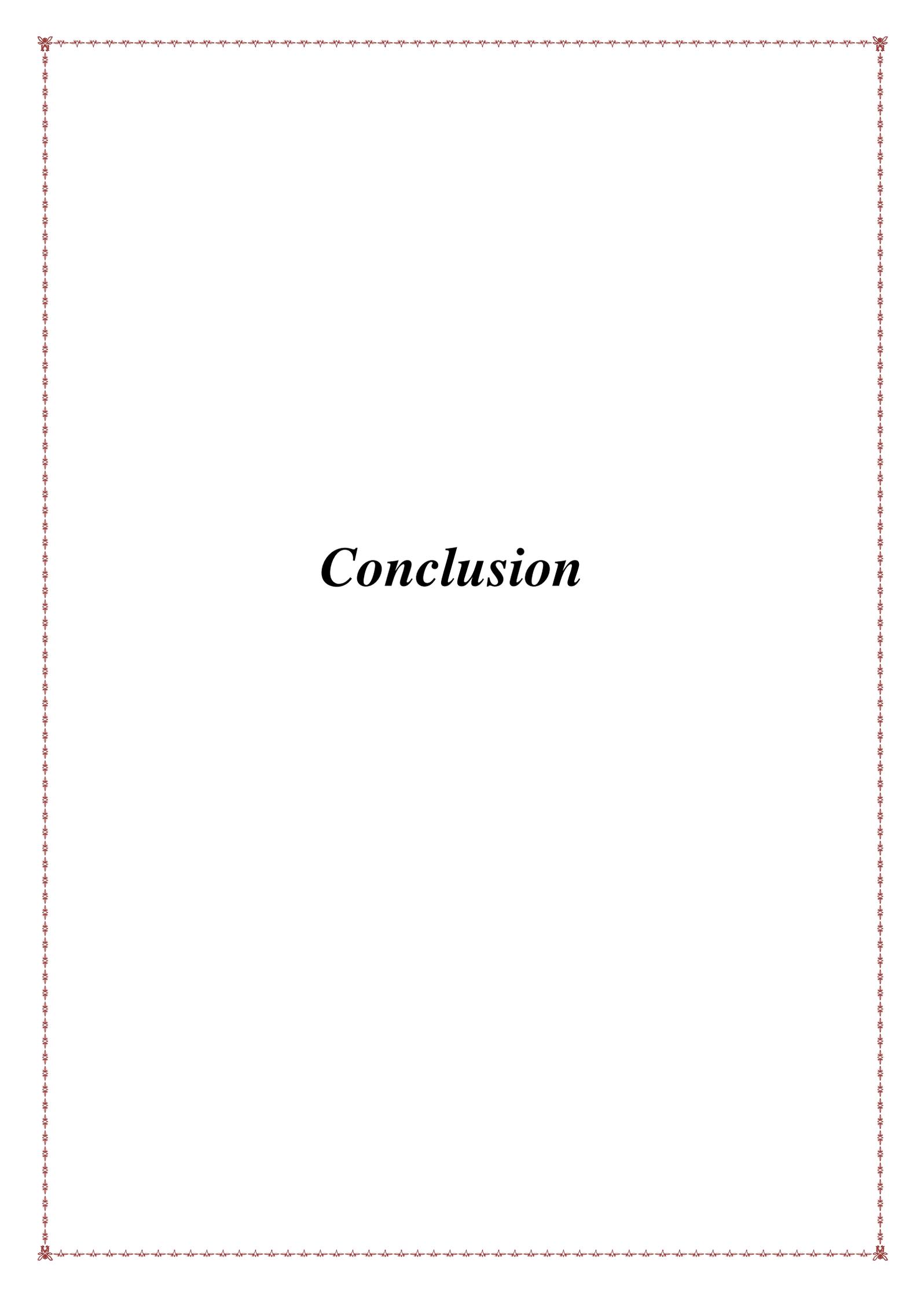
✚ A une concentration de 125µg/ml, on a marqué un taux de mortalité est diminué par rapport à la concentration de 1000 µg/ml , dont à 5 minutes le taux est arrivé au 59%

Mais à 30 min

Les résultats ont démontré une augmentation significative de la perméabilité à l'éosine donc, l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis* a une forte activité scolicide des protoscolexes à une courte durée d'exposition le mécanisme antiparasitaire.

Il a été rapporté que l'extrait aqueux a une activité scolicidal sur les protoscolex d'*Echinococcus granulosus*, les scolex morts ont adopté la coloration du pigment de *Lawsonia inermis* de plus l'activité antihelminthique a été testé sur *Strongyloides spp* (Elowni et al.,2020),(Ismail et al.,2016)

le mécanisme d'action de cette plante n'est pas encore élucidé notamment le mode de diffusion des molécules bioactives à travers le tégument.



Conclusion

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus au cours de notre étude, nous pouvons conclure que les extraits aqueux des feuilles de *Lawsonia inermis* constituent une bonne source d'antioxydants. Cela est observé lors des résultats obtenus par l'évaluation de test de piégeage du radical libre DPPH.

Dans cette étude, il ressort que l'extrait de plante *lawsonia inermis* a présenté une action antibactérienne variable contre les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebseilla pneumoniae*.

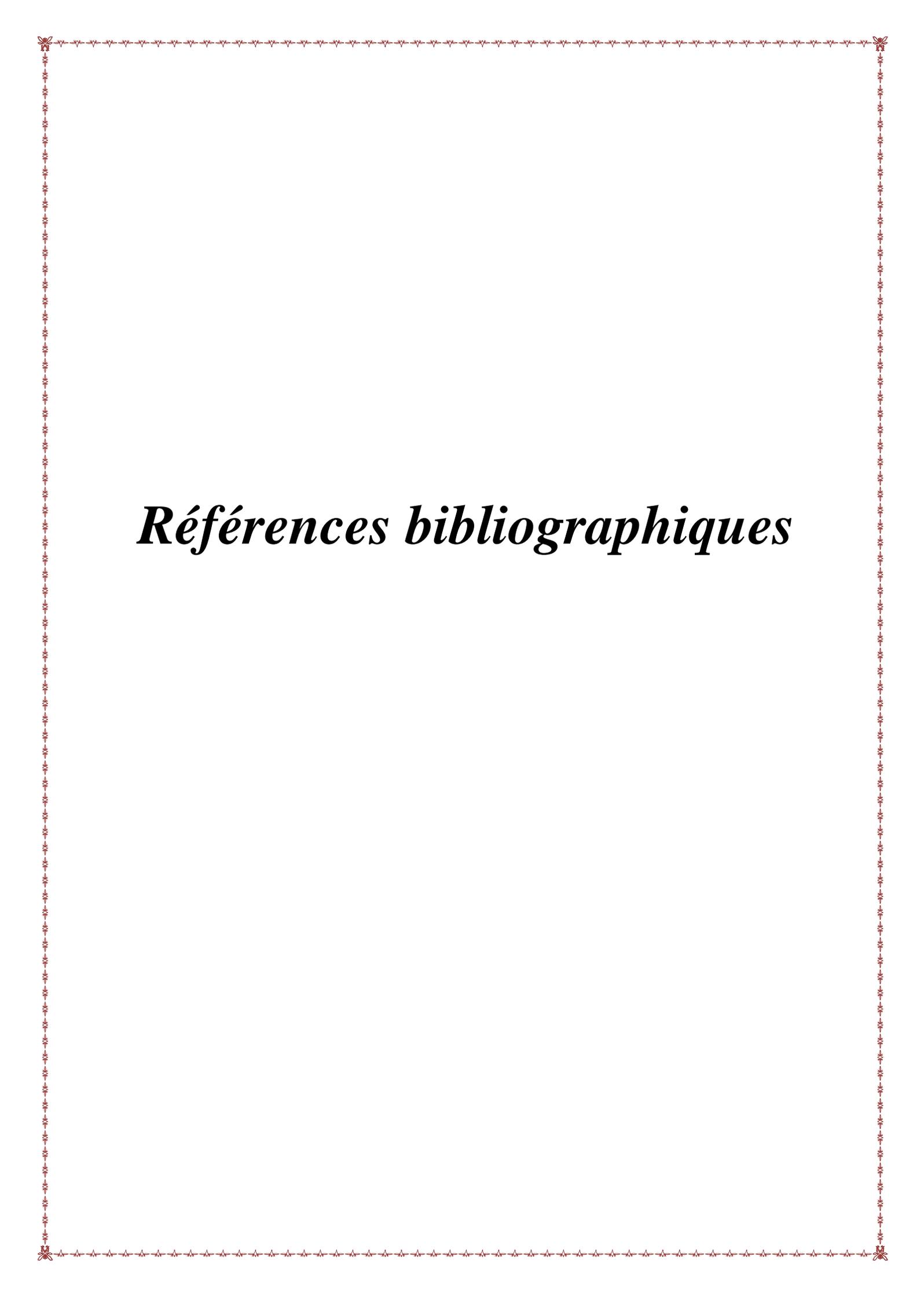
Nos résultats ont également montré que l'activité antibactérienne de notre plante par la méthode de diffusion en puits ont montré que les bactéries à Gram positif ont été plus sensibles que celles à Gram négatif.

L'évaluation de l'activité antiparasitaire de *Lawsonia inermis* sur le parasite *Echinococcus granulosus* a montré un effet scolidale qui est traduit par des changement structurels avec altération de la forme invaginée et dévaginée du parasite, ainsi que la mort des parasites après traitement par l'extrait des feuilles de *lawsonia inermis* à différentes concentrations.

Notre étude a également montré que les différents antioxydants (polyphénols, et flavonoïdes) contenus dans *lawsoni inermis* jouent un rôle principal dans l'inhibition de l'activité parasitaire, Cette inhibition est proportionnelle au temps ainsi que la concentration de l'extrait.

Au terme de cette étude nous pouvons conclure que l'utilisation des plantes médicinales dans les domaines pharmaceutiques est d'un grand intérêt dans la recherche des molécules bioactives qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques telles que l'activité antibactérienne et antioxydante.

D'après nos résultats, nous pouvons conclure que *Lawsonia inermis* est riche en substances biologiquement actives, qui lui confèrent un grand intérêt pharmacologique.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abire, B. R. B., & Amina, B. (2017).** Etude phytochimique et évaluation in vivo et in vitro de l'activité anti-inflammatoire de certains extraits de la plante médicinale *Inula viscosa*.
- **Ammar, R. B., Bhourri, W., Sghaier, M. B., Boubaker, J., Skandrani, I., Neffati, A., ... & Ghedira, K. (2009).** Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of *Rhamnus alaternus* L.(Rhamnaceae): A structure-activity relationship study. *Food Chemistry*, 116(1), 258-264.
- **Amri, M., & Touil-Boukoffa, C. (2015).** A protective effect of the laminated layer on *Echinococcus granulosus* survival dependent on upregulation of host arginase. *Acta tropica*, 149, 186-194.

B

- **Babili, F. E., Valentin, A., & Chatelain, C. (2013).** *Lawsonia inermis*: its anatomy and its antimalarial, antioxidant and human breast cancer cells MCF7 activities. *Pharmaceut Anal Acta*, 4(203), 2.
- **Babili, F. E., Valentin, A., & Chatelain, C. (2013).** *Lawsonia inermis*: its anatomy and its antimalarial, antioxidant and human breast cancer cells MCF7 activities. *Pharmaceut Anal Acta*, 4(203), 2.
- **Badiaga, M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
- **Benaissa, O. (2011).** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *chrysanthemum* et *rhantherium*.
- **Bhardwaj, D. K., Jain, R. K., Jain, B. C., & Mehta, C. K. (1978).** 1-Hydroxy-3, 7-dimethoxy-6-acetoxanthone, a new xanthone from *Lawsonia inermis*. *Phytochemistry*.

- **Blibek, K. (2009).** Etude de la modulation de la NO synthase 2 par l'extrait de pépins de raisin, au cours de l'hydatidose humaine: Impact sur la production du monoxyde d'azote (NO).
- **Boudjouref, M. (2018).** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L (Doctoral dissertation).
- **Bouhaouala, M. H., Hendaoui, L., Charfi, M. R., Drissi, C., Tlili-Graies, K., Mechmèche, R., & Kilani, T. (2007).** Hydatidose thoracique. *Radiol Imagerie Med*, 32, 470-A.
- **Bouteldja, R. (2018).** Etude des effets du monoxyde d'azote in vivo, in vitro et in situ au cours des localisations fréquentes et rares de l'hydatidose" apport de l'analyse protéomique du liquide hydatique" (Doctoral dissertation).
- **Brunet, S. (2008).** Analyse des mécanismes d'action antiparasitaire de plantes riches en substances polyphénoliques sur les nématodes du tube digestif des ruminants (Doctoral dissertation, Toulouse 3).
- **Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales (No. 581.634 B7).

C

- **Celiktas, O. Y., Kocabas, E. H., Bedir, E., Sukan, F. V., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007).** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100(2), 553-559.
- **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.
- **Chira, k., suh, j.-h., saucier, c., et al.** les polyphénols du raisin. *phytothérapie*, 2008, vol. 6, no 2, p. 75-82.
- **Claeys, H., & Inzé, D. (2013).** The agony of choice: how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. *Plant physiology*, 162(4), 1768-1779.
- **Craig, P. S., & Larrieu, E. (2006).** Control of cystic echinococcosis/hydatidosis: 1863–2002. *Advances in parasitology*, 61, 443-508.
- **Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009).** Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural product reports*, 26(8), 1001-1043.

D

- **Dalimi, R. (2001).** The calculation method and potential of energy saving in energy labeling program for Indonesia. In *Energy Efficiency in Household Appliances and Lighting* (pp. 679-684). Springer, Berlin, Heidelberg.
- **De Pooter, H. L., & Schamp, N. (1986).** Comparison of the volatile composition of some *Calamintha/Satureja* species. *Progress in essential oil research*. Berlin, 139-50.

E

- **Eckert, J., & Deplazes, P. (2004).** Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clinical microbiology reviews*, 17(1), 107-135.
- **Elowni, E. E., Abdelnabi, G. H., Ahmad, M. F., & Badawi, R. M. (2020).** Potential Application of *Lawsonia inermis* L.(Lythraceae) Aqueous Extract as an Objectively Quantifiable Assay for Assessment of Viability of Protoscolices from Hydatid Cysts. *Open Access Library Journal*, 7(6), 1-7.
- **Ernst, E. (2000).** Adverse effects of herbal drugs in dermatology. *British Journal of Dermatology*, 143(5), 923-929.
- **Euzeby, J. (1998).** Analyses-Les parasites des viandes: epidemiologie, physiopathologie, incidences zoonosiques: analyse de G Luffau. *Parasite-Journal de la Societe Francaise de Parasitologie*, 5(3), 295.

F

- **Ford, R. A., Hawkins, D. R., Mayo, B. C., & Api, A. M. (2001).** The in vivo dermal absorption and metabolism of [4-14C] coumarin by rats and by human volunteers under simulated conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, 39(2), 153-162.
- **Frutos, P., Hervas, G., Giráldez, F. J., & Mantecón, A. R. (2004).** Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202.

G

- **Guha, G., Rajkumar, V., Kumar, R. A., & Mathew, L. (2011).** Antioxidant activity of Lawsonia inermis extracts inhibits chromium (VI)-induced cellular and DNA toxicity. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011.
- **Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** Introduction à la phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 3-14). Springer, Paris.
- **Gülcin, I. (2012).** Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.

H

- **Halmi, S. (2015).** Etude botanique et phytochimique: Approche biologique et pharmacologique d'Opuntia ficus indica (Doctoral dissertation, PhD thesis. University of Constantine 1, Constantine).
- **Hamissa, A et al ;2012.** Phenolics extraction from Agave americana (L.) leaves using high-temperature, high-pressure reactor. *Food and bioproducts processing*, 90(1), 17-21.
- **Hettab benhassane, h. a. f. i. z. a., & HN adef, k. z. (2018).** Evaluation du potentiel antimicrobien de Lawsonia inermis récoltés dans les régions de Touat et du Tidikelt (Doctoral dissertation, Université Ahmed Draia-ADRAR).
- **Hoeffel.jc, biava.mf, claudon.m, hoeffel.c.** Parasitoses pulmonaires. *Encycl Méd Chir* (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris) Radiodiagnostic - Cœur-Poumon, 32-470-A-10, 2002, 35 p.
- **Husnain, T. (2014).** Water stress mediated changes in morphology and physiology of Gossypium arboreum (var FDH-786). *Journal of Plant Sciences*, 2(5), 179-186.

I

- **Imane, B., & Amina, O. S. (2018).** Prévalence des kystes hydatiques fertiles dans la région de Guelma.
- **Ismail, K. A., Ibrahim, A. N., Ahmed, M. A. F., & Hetta, M. H. (2016).** Comparison between the effect of *Lawsonia inermis* and flubendazole on *Strongyloides* species using scanning electron microscopy. *Journal of Parasitic Diseases*, 40(2), 415-422.
- **Ito, A., Wandra, T., Sato, M. O., Mamuti, W., Xiao, N., Sako, Y., ... & Craig, P. S. (2006).** Towards the international collaboration for detection, surveillance and control of taeniasis/cysticercosis and echinococcosis in Asia and the Pacific. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 37, 82.

J

- **Jamal, A., Shahid, M. N., Aftab, B., Rashid, B., Sarwar, M. B., Mohamed, B. B., ... & Husnain, T. (2014).** Water stress mediated changes in morphology and physiology of *Gossypium arboreum* (var FDH-786). *Journal of Plant Sciences*, 2(5), 179-186.

K

- **Kallo, M. S., Adamou, R., Sawadogo, J., Mahamane, A. A., Maarouhi, I. M., & Ikhiri, K. (2018).** Enquête ethnobotanique et criblage phytochimique de quelques plantes tinctoriales du Niger en vue d'une valorisation en énergie solaire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(2), 867-883.
- **Kayoueche, F. Z., Benlatreche, C., & Barnouin, J. (2009).** Epidémiologie de l'hydatidose et de la fasciolose chez l'animal et l'homme dans l'Est algérien.
- **Khan, M. A. I., Hoque, M. A., Farooque, A. M., Habiba, U., & Rahim, M. A. (2012).** Physio-morphological features of chilli accessions under moisture stress conditions. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 37(2), 263-269.
- **Klotz, F., Nicolas, X., Debonne, J. M., Garcia, J. F., & Andreu, J. M. (2000).** Kystes hydatiques du foie. *Encycl Méd Chir*.

- **Kouadri, F. (2018).** In vitro antibacterial and antifungal activities of the saudi *Lawsonia inermis* extracts against some nosocomial infection pathogens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(1), 281-6.

L

- **Lattab, a. (2012).** utilisation des extraits de quelques plantes locales pour lutter contre la résistance de *pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques (doctoral dissertation, université de mostaganem-abdelhamid ibn badis).
- **Lausier, P. (1987).** Echinococcose à *Echinococcus granulosus* en France: rappels épidémiologiques. Enquête dans un foyer des Hautes-Alpes. *Th: Med. Vet.:* Lyon, 47, 131p..
- **Lemordant, D., & Forestier, J. P. (1983).** Commerce et henné. Identification, contrôle, fraudes, additifs. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 30(3), 283-310.
- **Lobstein, A. (2010).** Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes.

M

- **Macheix, J. J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR presses polytechniques.
- **Mahmoud, Z. F., Abdel Salam, N. A., & Khafagy, S. M. (1980).** Constituents of henna leaves (*Lawsonia inermis* L.) growing in Egypt. *Fitoterapia*.
- **Malecky, M. (2008).** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins (Doctoral dissertation, Paris, AgroParisTech).
- **Migdal, C., & Serres, M. (2011).** Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- **Molyneux, P. 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. sci. technol*, 26(2), 211-219.

N

- **Nakhla, A. M., Zaki, N., Mahrous, T. S., Ghali, Y., & Youssef, A. M. (1980).** Isolation and identification of four aromatic compounds from henna leaves. *Chemie, Mikrobiologie, Technologie der Lebensmittel* (Germany, FR).
- **Noomen, F., Mahmoudi, A., Fodha Md, B. M., Hamdi, A., & Fodha, M. (2013).** Traitement chirurgical des kystes hydatiques du foie. *EMC-Tech Chir–Appar Dig*, 8, 1-18.

P

- **Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011).** Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106.
- **Pousset, J. L. (2004).** Plantes médicinales d'Afrique: Comment les reconnaître et les utiliser: Ouvrage publié avec le soutien du Conseil général des Bouches-du-Rhône. Secum/Edisud.
- **Prosen, H., Antonić, J., & Klobučar, A. (2005).** Determination of some organochlorine compounds in herbal colouring agent henna (*Lawsonia inermis*) and in tea (*Thea sinensis*). *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, 56(1), 1-7.

Q

- **Quainoo, A. K., Gali, N. M., & Mahunu, G. K. (2016).** Henna (*Lawsonia inermis*): A neglected plant in Ghana.

R

- **Rahiman, F. A., Mahmud, N., Taha, R. M., Elias, H., & Zaman, F. H. (2013).** Antimicrobial properties of *Lawsonia inermis* syn. *Lawsonia alba* in vivo and in vitro. *J Food Agric Environ*, 11, 502-504.
- **Rahmoun, N., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Benabdallah, M., & Choukchou-Braham, N. (2013).** Antifungal activity of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Pharmaceutical biology*, 51(1), 131-135.

- **Ray, P. G., & Majumdar, S. K. (1976).** Antimicrobial activity of some Indian plants. *Economic Botany*, 30(4), 317-320.
- **Ripoche, M. (2009).** La lutte contre l'hydatidose en Sardaigne (Doctoral dissertation).

S

- **Salem, C. O. A., Schneegans, F., Chollet, J. Y., & Jemli, M. H. (2010).** Prévalence et aspects lésionnels de l'hydatidose chez les dromadaires et les petits ruminants au nord de la Mauritanie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 63(1-2), 23-28.
- **Salem, C. O. A., Schneegans, F., Chollet, J. Y., & et Jemli, M. H. (2011).** Epidemiological studies on echinococcosis and characterization of human and livestock hydatid cysts in Mauritania. *Iranian Journal of Parasitology*, 6(1), 49.
- **Seidel, V. (2012).** Initial and bulk extraction of natural products isolation. *Natural products isolation*, 27-41.
- **Shambesh, M. K. (1997).** Human cystic echinococcosis in North Africa (excluding Morocco). *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*.
- **Singh, M., Jindal, S., Kavia, Z., Jangid, B., & Khem, C. (2005).** Traditional methods of cultivation and processing of henna. *Henna, cultivation, improvement and trade*, 21-34.
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- **Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

T

- **Tan MC, Tan CP, & Ho CW (2013).** Effects of extraction solvent system, time and temperature on total phenolic content of henna (*Lawsonia inermis*) stems. *International food research journal*, 20: 3117-3123
- **Thakur, A. S., Prezioso, U., & Marchevsky, N. (1979).** Echinococcus granulosus: ovicidal activity of praziquantel and bunamidine hydrochloride. *Experimental parasitology*, 47(2), 131-133.

- **Thompson, R. A., & Lymbery, A. J. (1995).** Echinococcus and hydatid disease. Cab International.
- **Thompson, R. C. A. (1995).** Biology and systematics of Echinococcus. Echinococcus and hydatid disease.
- **Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F., & Polat, G. (2007).** Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12(3), 484-496.

W

- **Wejih, D., Ramzi, N., Karim, A., & Chadli, D. (2017).** Le kyste hydatique du foie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2017(491), 31-37.
- **Wong, K. C., & Teng, Y. E. (1995).** Volatile components of *Lawsonia inermis* L. flowers. *Journal of essential oil research*, 7(4), 425-428.

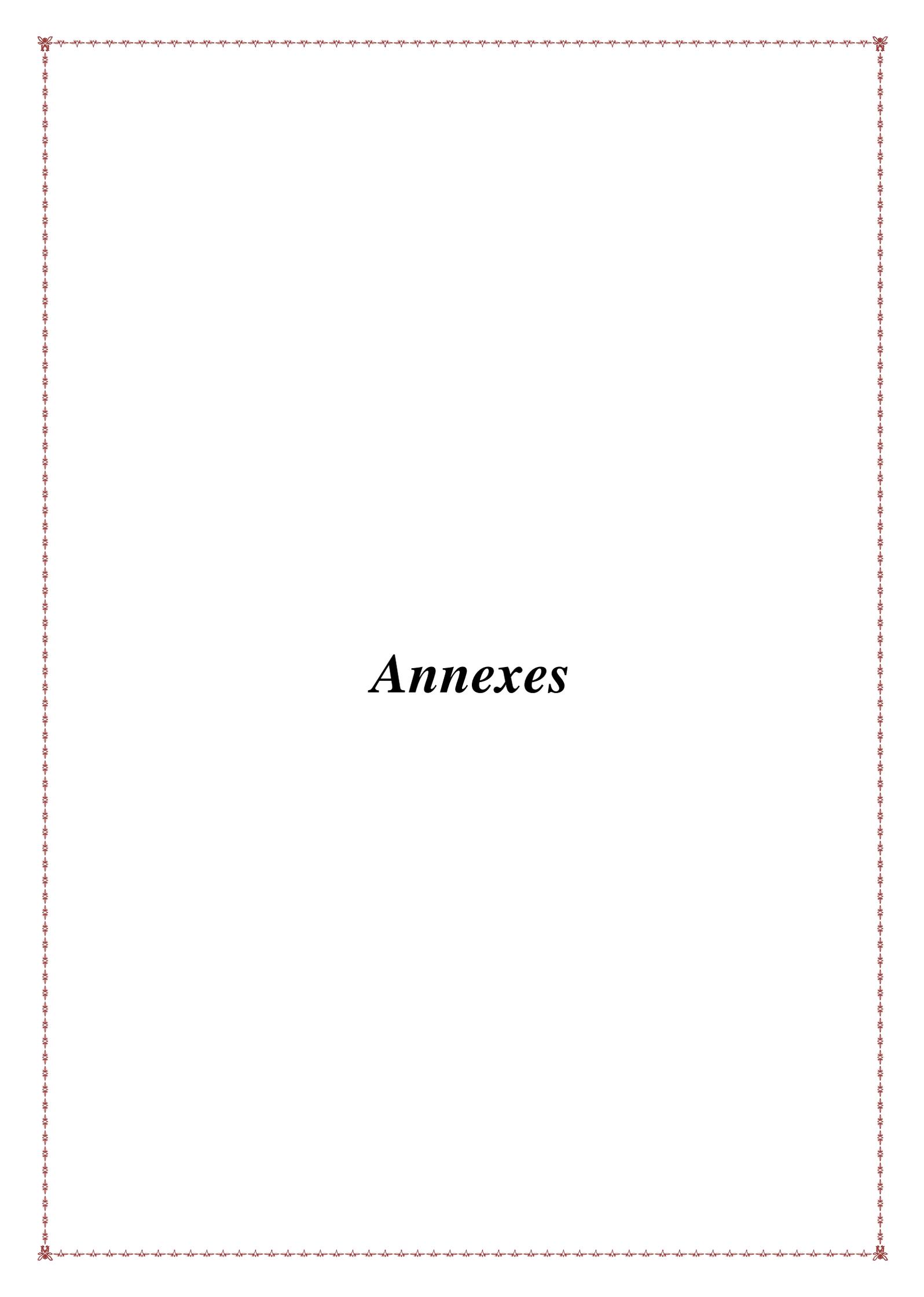
Y

- **Yang, Y. R., Ellis, M., Sun, T., Li, Z., Liu, X., Vuitton, D. A., ... & McMANUS, D. P. (2006).** Unique family clustering of human echinococcosis cases in a Chinese community. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 74(3), 487-494.
- **Yennek, S., & Yennek, S. (2017).** Etude rétrospective sur le kyste hydatique dans la région de Dellys (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- **Yusuf, M. (2016).** Phytochemical analysis and antibacterial studies of *Lawsonia inermis* leaves extract. *J Chem Pharm Res*, 8, 571-5.

Z

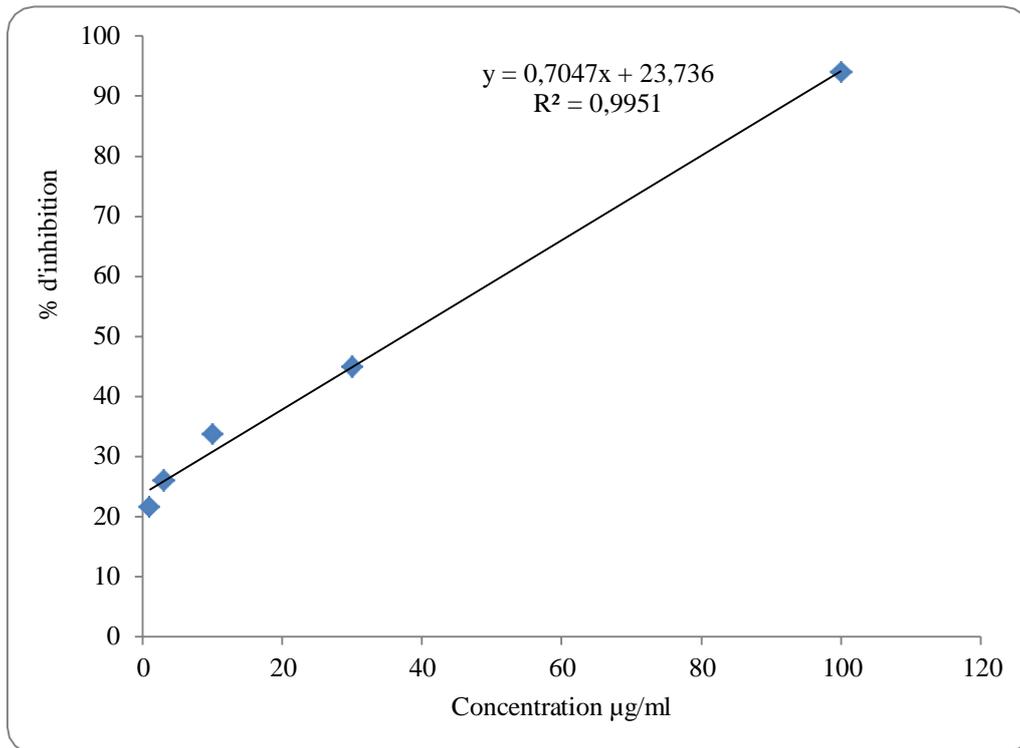
- **Zapata, P. J., Navarro, D., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Valero, D., & Serrano, M. (2013).** Characterisation of gels from different *Aloe* spp. as antifungal treatment: Potential crops for industrial applications. *Industrial Crops and Products*, 42, 223-230.

- **Zbadi, R., Mohti, H., & Moussaoui, F. (2018).** Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine thérapeutique*, 24(2), 134-141.
- **Zhang, W., Ross, A. G., & McManus, D. P. (2008).** Mechanisms of immunity in hydatid disease: implications for vaccine development. *The Journal of Immunology*, 181(10), 6679-6685.
- **Zou, Z., Xi, W., Hu, Y., Nie, C., & Zhou, Z. (2016).** Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food chemistry*, 196, 885-896.

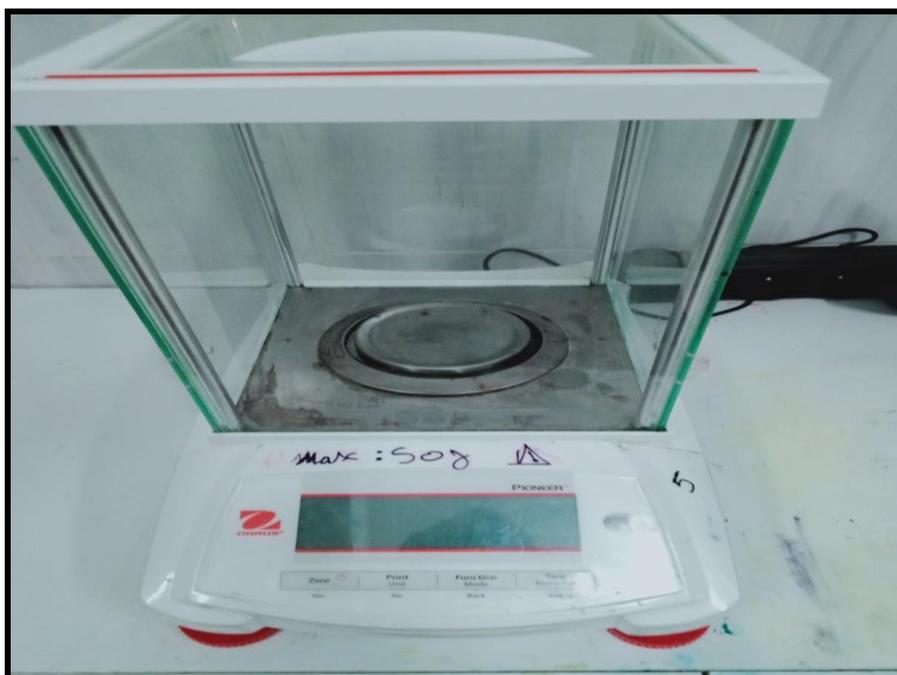


Annexes

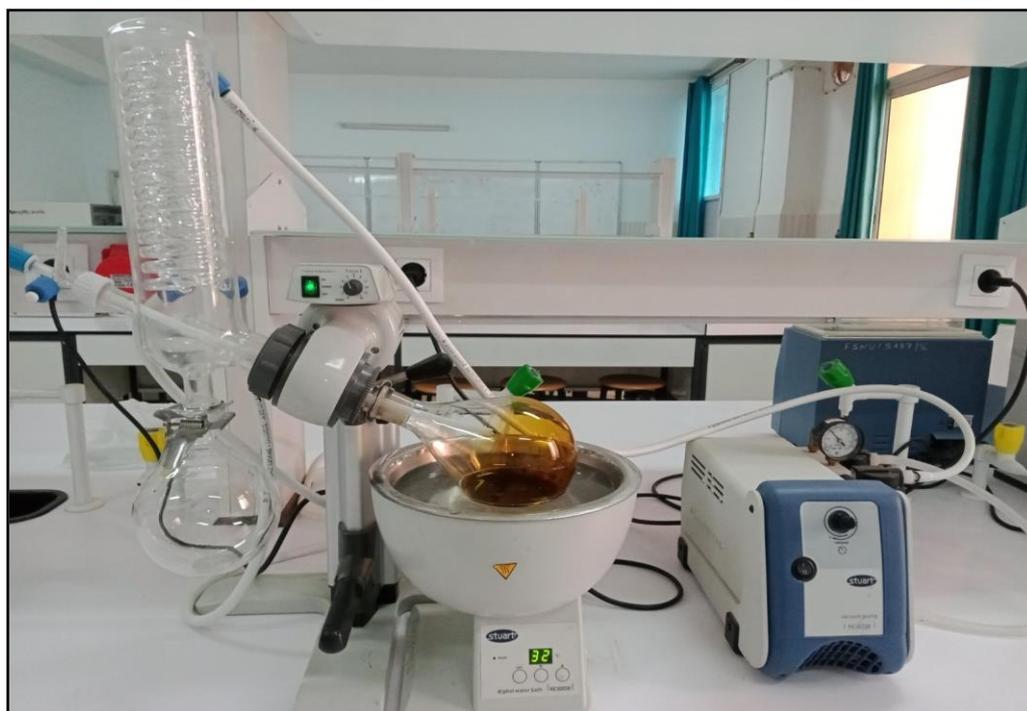
Annexes



Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration du BHT.



Balance analytique



Rotavapeur



Spectrophotomètre



Les tubes de dosage de DPPH

Résumé

L'utilisation des plantes médicinales dans les domaines pharmaceutiques, agroalimentaires et biotechnologiques a reçu un grand intérêt dans la recherche des molécules bioactives.

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des feuilles de *Lawsonia inermis* et leur viabilité sur les protoscolex pour cela une extraction par macération à froid a été réalisée et le dosage des polyphénols a montré une teneur élevée dans les feuilles ($151,25 \pm 0,05 \mu\text{g GAE/mg}$) avec un rendement de 30,84% , une faible activité antioxydante a été obtenue avec IC50 de ($0,892 \pm 0,006 \text{mg/ml}$) comparativement à celle donnée par le BHT ($0,037 \text{mg/ml}$), le résultat obtenu de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion en puits a montré que les feuilles de *lawsonia inermis* ont une activité inhibitrice sur la croissance des souches de Gram positive et négative étudiées

L'hydatidose est une infection parasitaire due à *Echinococcus granulosus*, Cette maladie est endémique dans plusieurs pays y compris l'Algérie.

en effet après 5min de contact entre l'extrait éthanolique de *L.inermis* et les porotoscolex , on signalant un taux de mortalité qui arrive à 70 % à une concentration de ($500 \mu\text{g/ml}$), d'après les résultats, nous avons confirmé que l'extrait éthanolique de *L.inermis* a une forte activité antiparasitaire à une courte durée d'exposition.

Mots clés: *Lawsonia inermis*, Extrait éthanolique , activitéantioxydante ,activité antibactérienne ,hydatidose, *Echinococcus granulosu* ,, activité antiparasitaire.

Abstract

The use of medicinal plants in the pharmaceutical, agri-food and biotechnological fields has received great interest in the search for bioactive molecules.

In this work, we are interested in studying the antioxidant and antibacterial activity of *Lawsonia inermis* leaves and their viability on protoscolex for this purpose an extraction by cold maceration was carried out and the determination of polyphenols showed a high content in the leaves ($151.25 \pm 0.05 \mu\text{g GAE/mg}$) with a yield of 30.84%, a low antioxidant activity was obtained with IC50 of ($0.892 \pm 0.006 \text{mg/ml}$) compared to that given by BHT (0.037mg/ml), the result obtained from the antibacterial activity by the well diffusion method showed that the leaves of *lawsonia inermis* have an inhibitory activity on the growth of the Gram positive and negative strains studied

Hydatidosis is a parasitic infection due to *Echinococcus granulosus*, this disease is endemic in several countries including Algeria.

Indeed after 5min of contact between ethanolic extract of *L.inermis* and porotoscolex, we reported a mortality rate that reaches 70% at a concentration of ($500 \mu\text{g/ml}$), according to the results, we confirmed that the ethanolic extract of *L.inermis* has a strong antiparasitic activity at a short duration of exposure

Key words: *Lawsonia inermis*, Ethanolic extract, antioxidant activity, antibacterial activity , Hydatidosis, *Echinococcus granulosus* , antiparasitic activity.

المخلص

حظي استخدام النباتات الطبية في مجالات الأدوية والغذاء والتكنولوجيا الحيوية باهتمام كبير في البحث عن الجزيئات النشطة بيولوجيًا. في هذا العمل ، نحن مهتمون بدراسة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا لأوراق نبات *Lawsonia inermis* وقدرتها على القضاء على protisocolex لهذا تم إجراء الاستخلاص بالنقع البارد وأظهرت جرعة البوليفينول نسبة عالية في الأوراق ($151.25 \pm 0.05 \mu\text{g GAE/mg}$) معادلة لاسيد غاليك/ملغ (بانتاجية 30.84%) ، تم الحصول على نشاط منخفض لمضادات الأكسدة باستخدام IC50 بمقدار ($0.892 \pm 0.006 \text{mg/ml}$) مقارنة مع BHT (0.037 ملغ / مل) ، النتيجة التي تم الحصول عليها من مضاد الجراثيم أظهر النشاط بطريقة الانتشار الجيد أن أوراق نبات *L.inermis* لها نشاط مثبط على سلالات الجرام الموجبة والسالبة المدروسة.

داء المشوكات هو عدوى طفيلية تسببها المشوكة الحبيبية ، وهذا المرض مستوطن في العديد من البلدان بما في ذلك الجزائر. بالفعل بعد 5 دقائق من التلامس بين المستخلص الإيثانولي لـ *L. inermis* و protoscolex ، معدل وفيات يصل إلى 70% بتركيز ($500 \mu\text{g/ml}$) ، وفقاً للنتائج ، تأكدنا من أن المستخلص الإيثانولي من *L. inermis* له نشاط مضاد للطفيليات قوي في وقت تعرض قصير.

الكلمات المفتاحية :

Lawsonia inermis, المستخلص الإيثانولي , نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للجراثيم. داء المشوكات، *Echinococcus granulosus* ، نشاط مضاد للطفيليات.