

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère d'enseignement supérieure et de la recherche scientifique
Université Dr Moulay-Tahar Saida
Faculté des Sciences : Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de :

MASTER

Option : **Biotechnologie végétale**

Par :

- Mlle Chaib Hafida

-Mlle Hamida Souhila

Intitulée

**Evaluation in-vitro de l'activité anti-leishmanienne de
l'Artemisia herba alba**

Soutenu publiquement le : **08/09/2019** devant les jury compos é de :

Président	Mr. AMMAM ABDELKADER	Maitre assistant A	Université de Saida
Examineur	Mme HACHEM YASMINE	Maitre assistant A	Université de Saida
Promoteur	Mme HASSANI Maya Meriem	Maitre de Conférences B	Université de Saida

Année universitaire :

2018/2019

remerciment

Avant tout chose, nous remercions dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience .

A notre maître et président de thèse Monsieur AMMAM ABDELKADER , Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de ce travail. Nous avons pour vous l'estime et le respect qu'imposent votre compétence, votre sérieux et votre richesse d'enseignement. Veuillez trouver, cher maître, dans ce modeste travail, l'expression de notre très haute considération et notre profonde gratitude.

A notre maître et rapporteur de thèse Madame HASSANI MAYA Professeur de Microbiologie Vous nous avez fait le grand honneur d'accepter de nous diriger dans ce travail avec bienveillance et rigueur. Votre attachement au travail bien fait est l'objet de notre considération. Votre amabilité, Votre dynamisme, votre dévouement pour le travail et votre compétence ont suscité notre admiration. En espérant que cet humble travail saura combler vos attentes, veuillez recevoir cher maitre l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et juge de thèse Madame HACHEM YASMINE Professeur de Biologie moléculaire ,Nous sommes très sensibles par l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Nous avons admiré vos qualités scientifiques, humaines et pédagogiques. Veuillez trouver, cher maître, à travers ce modeste travail la manifestation de notre plus haute estime et de nos sentiments les plus respectueux.

Dédicace

A ma chère mère, mon chère père que dieu vous garde et vous protège , aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous, qu'ALLAH vous accorde le paradis.

A mes deux petits poussins ANAS et MERIOUMA que dieux vous protège .

A mes sœurs HOUDA et FOUZIA , mes frères AMINE et REDOUANE, je vous souhaite beaucoup de bonheur et de réussite.

A mon future mari inchaallah que dieu vous protège .A toute ma grande famille.

A mon binôme HAFIDA, je te souhaite un avenir à la hauteur de votre ambition.

A mon amie HALIMA ... A laborantin Mr.AHMED et son équipe, je vous remercie de nous aider dans notre travail .

A mes enseignants et mes amis d'étude, à Mr. KAID et toute l'équipe del'administration

Dédicace

Je dédie ce travail à : Mes chers parents pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien, leurs sacrifices et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

A mes sœurs SOUMIA , RANIA et IMENE ainsi pour leur tendresse, leurs complicités et leur présence, , Pour se tenir à côté de moi jusqu'à la fin de se travail .

A mes beaux frère MOHAMED et BOUMADIEN j'espère que la vie lui réserve le meilleur. A mes Petits poussins AMINO ,RAYEN ,ANAS , MARAME .

A mes tantes, pour leurs précieux encouragements , Mes Oncles, ainsi qu'à Tous mes proches de la famille.

A tous mes chers amis Pour leur soutien et leur amitié aussi mes collègues pour leur aide et l'ambiance Chaleureuse qui nous a réuni dans se travail.A mes enseignants et le groupe d'administration.

A ma chère binôme SOUHILA qui partagé avec moi les moments difficiles de se travail .

Liste des figures et des tableaux :

Figure 1: principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (A.Elhaib, 2011).

Figure 2: Montage d'hydrodistillation (**clevenger**) (**J.Smadja, 2009**).

Figure 3: photo *Artémisia herba alba*.

Figure 4 : Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'*Artémisia herba alba*.

Figure 5 : Structure des composés identifiés dans l'extrait d'*Artemisia herba alba*.

Figure 6: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (**Naczk et Shahidi, 2003**).

Figure 7: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

Figure 8: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles [Khebri, 2011] .

Figure 9: Les deux principaux stades morphologiques de *Leishmania* <http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm>).

Figure 10 : Ultrastructure de *Leishmania*.

Figure 11: : Phlébotome femelle gorgé de sang (ANOFEL 3)

Figure 12 : Cycle évolutif du *Phlebotomus* sp. (Bogitsh Burton et al, 2013).

Figure 13 : Cycle de vie et transmission de la leishmaniose (www.dpd.cdc.gov/dpdx).

Figure 14 : Aspect de quelques lésions de la leishmaniose cutanée zoonotique.

Figure 15 : Carte de la région de la Wilaya d'EL-BAYADH.

Figure16 : séchage de la plante dans l'étuve dans laboratoire d'université.

Figure 17: *Artemisia herba alba* cueillie de la région de Stitten (wilaya d'Elbayadh).

Figure 18 : Broyage manuel de la plante.

Figure19 : le mélange de macération.

Figure20 : filtration de mélange.

Figure21 : L'extrait de macération avant séchage.

Figure22 : L'extrait de macération après séchage.

Figure 23 : Le mélange de décoction.

Figure 24 : Filtration de mélange.

Figure 25 : Le pois de cristalliseur vide.

Figure 26 : L'extrait de décoction après séchage.

Figure 27 : Montage de soxhlet.

Figure 28 : Le protocole d'hydrodistillation.

Figure 29 : Les différents étapes de la préparation de gélose.

Figure 30 : Les tubes sur plan incliné.

Figure 31 : L'incubation des milieux à 37°C.

Figure 32 : Les différents constituants du milieu Bachi.

Figure 33 : Homogénéisation de mélange.

Figure 34 : Répartition de mélange dans des tubes à vis.

Figure 35 : Le prélèvement lésionnel.

Figure 36 : L'étalement du frotti sur des lames.

Figure 37 : La coloration Giemsa.

Figure 38 : Séchages des lames.

Figure 39 : Observation microscopique Gx40.

Figure 40 : Incubation des milieux NNN.

Figure 41 : Les étapes de repiquage.

Figure 42 : Les étapes de comptage des cellules.

Figure 43 : Le test réalisé sur trois tubes.

Figure 44 : Résultats négatif du teste direct.

Figure 45 : La forme promastigote sous le microscope optique Gx100.

Figure 46 : Exemple d'une cellule promastigote comptée Gx40.

Figure 47 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (*Artemisia herba alba*).

Figure 48 : Graphique représente l'effet leishmanicide de l'EA d'*Artemisia herba alba*.

Tableau 01 : classification de l'armoise blanche .

Tableau 02: Composition des huiles essentielles extraites d'*Artemisia herba alba* (en %) .

Tableau 03 : Liste des espèces de phlébotomes représentées en Algérie.

Tableau 04 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de l'*Artemisia herba alba*.

Tableau 05 : L'effet anti-leishmanienne de l'*Artemisia herba alba* .

Liste des abréviations :

H.E : Huiles Essentiels

ISO :Organisation internationale de normalisation

MS :Matière Sèche

OMS :Organisation Mondiale de la Santé

SRE :Système Réticulo-Endothéliale

LV :Leishmaniose Viscérale

LCM:Leishmaniose Cutanée Muqueuse

LC :Leishmaniose Cutanée

LCN :Leishmaniose Cutanée du Nord

LCZ :Leishmaniose Cutanée Zoonotique

ADN : Acide Désoxyribonucléique

GP63 :Glycoprotéine 63

LPG :Lipophosphoglycane

LCD :Leishmaniose Cutanée Diffuse

NNN : Novy,Mc Neal, Nicolle

R^z : Le rendement.

mi : La masse initiale de matière végétale.

mf : La masse finale (l'extrait en poudre après le séchage).

Introduction générale :

Les **plante médicinale** sont utilisées pour ses propriétés particulières bénéfiques pour la [santé humaine](#). L'Artemisia herba alba est une plante médicinale largement utilisée par la population algérienne, notamment dans la médecine traditionnelle. La valeur thérapeutique de cette plante est due à ses métabolites secondaires, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques. La concentration de ces molécules peut varier d'un organe à l'autre de la même plante. Les composés phénoliques (principalement flavonoïdes, acides phénoliques et tannins) constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Nkhili, 2009). L'extraction de principes actifs de ces métabolites est une étape très importante dans leur isolement, aussi bien que dans leur identification (Mahmoudi et al., 2013). La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé (Nkhili, 2009). Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par macération aqueuse et l'extraction par décoction. L'extraction par décoction est un procédé très utilisé traditionnellement par la population algérienne, soit dans la préparation des boissons les plus populaires comme le thé ou dans les préparations traditionnelles à base de plantes médicinales.

Les leishmanioses restent l'une des maladies les plus négligées dans le monde touchant principalement les pays en développement. Sous leur forme cutanée, elles constituent un problème de santé publique

La **leishmaniose** est une [maladie chronique](#) à manifestation cutanée et/ou viscérale; ils sont des maladies parasitaires de l'espèce humaine et de nombreuses autres espèces de mammifères. Réparties dans 88 pays, leur incidence est actuellement de 2 millions de nouveaux cas humains par an. La répartition géographique des leishmanioses dépend de celle des phlébotomes vecteurs et des mammifères réservoirs.

Dans notre travail nous avons éprouvé l'activité de l'extrait aqueux (EA) d'artemisia herba alba à différentes concentrations vis-à-vis des formes promastigotes de l'espèce responsable de leishmaniose cutanée L.major

Tables des matières

Liste des figures et des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

Première partie : Etude bibliographique

Premier chapitre : Les plantes aromatiques et médicinales

I. les plantes médicinales	01
I.1. La phytothérapie	01
I-2. 1-définition	01
I.2.2 – partie de plantes médicinales utilisées	02
I.2.3- Conseils et préparation des plantes médicinales	03
I. 2. 3. 1- La récolte des plantes	03
II-Les huiles essentielles :.....	04
I .II.1-Bref historique	04
I .II.2-Définition	04
I .II.3- Méthodes d'extractions des huiles essentielles:	04
I .II. 3.1-Entraînement à la vapeur	05
I. II .3.2 - L'hydrodistillation	05
I. II .3.3- L'expression à froid	06

Deuxième chapitre: Artemisia Herba Alba (Armoise blanche)

Π.1-Généralités :.....	07
Π.1.2Origine :.....	07
Π.1.3Répartition géographique :.....	07
Π.1.4-Description botanique.....	08
Π.1.4.1-Partie souterraine.....	08
Π.1.4-2- Partie aérienne.....	09
Π.1.4.2-1- La tige	09
Π.1.4.2.2- Les feuilles et les rameaux	09
Π.1.4.2.3- La fleur.....	09
Π.1.5 -Classification de l'Artemisia herba alba	10

П.1.6.1- Biologie	11
П.1.6.2Ecologie.....	12
П.1.6.2-Composition chimique.....	12
П.1.6.2.1- Terpènes de l'Artemisia herba alba.....	13
П.1.6.2.2-Flavonoïdes de l'Artemisia herba alba.....	14
П.1.6.3-Les métabolites secondaires.....	14
П.1.6.3.1- Les composés phénoliques de l'Artemisia herba alba	14
П.1.6.3.2- Biosynthèse des composés phénoliques de l'armoise blanche	15
П.1.6.4- Composition chimique de l'huile essentielle	16
П.1.6.5- L'huile essentielle d'Artemisia herba alba	17
П.2.6.5.1. Composition chimique des huiles essentielles du genre Artemisia	18
П.1.6.6-Intérêt de la plante	19
П.1.6.6-1. Industriel	19
П.1.6.6-2.Médicinale	19
П.1.6.6-3.Culinaire	20
П.1.6.6.4- Toxicité de la plante	20

troisième chapitre : leishmaniose ; leishmaniose cutanée

III- Les Leishmanioses ; Leishmaniose cutanée	21
III-1 Introduction générale	21
III- 2 Définition	21
III -3 Historique	22
III.3.1. Dans le monde	22
III.3.2 En Algérie	23
III.4. Epidémiologie Générale	25
III.4.1. Le parasite Leishmania	25
III.4.1.1. Taxonomie	25
III.4.1.2. Morphologie	26
III.4.1.2.1. Forme amastigote.....	26
III 4.1.2.2. Forme promastigote	26
III .4.1.3 Ultra structure	27
III.4.1.4. Biologie	28
III.4.1.4.1. Reproduction.....	28
III.4.2. Le vecteur.....	28
III.4.2.1. Taxonomie	29

III.4.2.2. Bio-écologie et reproduction	30
III.4.2.3. Les phlébotomes d'Algérie	31
III.4.3. Biologie	33
III.4.3.1. Le cycle biologique	33
III.5. Distribution géographique des leishmanioses	35
III.5.1. Dans le monde	35
III.5.2.les leishmanioses en Algérie	36
III.5.2.1 La Leishmaniose cutanée zoonotique	36
III.5.2.1.1. Formes cutanée sporadique à <i>L. infantum</i>	37
III.5.2.2. La leishmaniose cutanée chronique	38
III.6. Co-infection VIH/Leishmania	38
III.7. Formes cliniques des leishmanioses	38
III.7.1. La leishmaniose viscérale (LV)	38
III.7.2. La leishmaniose cutanée (LC)	38
III.7.3. La leishmaniose cutanée diffuse (LCD)	39
III.7.4. La leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM)	39
III.7.5. La leishmaniose canine	39
III.8. Le diagnostic des leishmanioses	40
III.8.1. Recherche de l'ADN parasitaire	40
III.8.2. Le diagnostic sérologique	40
II.9. Traitement	41
III.9.1. Vaccination	41
III.9.2. Prophylaxie	41
III.9.2.1. Lutte antivectorielle	42
III.9.2.1.1. Lutte physique	42
III.9.2.1.2. La lutte chimique	42
III.9.2.2. La lutte contre le réservoir	42
III.9.3. La prophylaxie individuelle	42
III.9.4. Lutte intégrée	43

partie
expérimentale

Quatrième chapitre : Partie expérimentale

Matériels et méthodes :

I- Partie 1.....	44
I-1- Objectif	44
I-2- Le choix de la plante	44
I-3- Carte de la région de la wilaya d'EL-BAYADH	44
I-4- La récolte de la matière végétale.....	45
II- Partie 2.....	46
II-1-Les matérielles utilisées.....	46
II-2- L'extraction.....	46
II-2-1- L'extraction par macération	46
II-2-2- L'extraction par décoction	48
II-2-3- L'extraction par soxhlet.....	49
II-2-4- L'extraction d'huile essentiel de l'armoise blanche.....	50
III- Préparation des milieux.....	51
III-1- Milieux NNN.....	51
III-2- Milieu à base de blanc d'œuf (Bachi).....	53
III-3-Milieu Harrat.....	55
III-4- Evaluation in-vitro de l'activité anti-leishmanienne de l'artemisia herba alba.....	55

Cinquième chapitre : résultats et interprétation

I-Préparation de la plante : Artemisia herba alba.....	62
I.1 Rendement de l'extrait aqueux.....	62
I.2 Extraction de l'huile essentielle	63
II- Prélèvement et mise en culture des leishmanies.....	63
III-Tests in vitro.....	64

IV.2.1.Résultats des tests de l'activité anti-leishmanienne d'Artemisia herba alba	64
---	-----------

V- Conclusion.....	67
---------------------------	-----------

Résumé :

La leishmaniose cutanée est la forme la plus commune de leishmaniose. C'est une infection cutanée provoquée par un parasite unicellulaire qui est transmis par des piqûres de phlébotome. Il y a environ 20 espèces de *Leishmania* qui peuvent causer une leishmaniose cutanée.

L'Algérie, compte parmi les pays les plus touchés du bassin méditerranéen, il est concerné aussi bien par la leishmaniose cutanée (LC) que viscérale, 54 145 cas de LC ont été rapportés entre 2000 et 2005 et selon une étude faite par ZAIT.H (Bilan de 389 cas diagnostiqués au Centre hospitalo-universitaire (CHU) Mustapha d'Alger de 1998-2007)

On a choisi *Artemisia herba alba* grâce à ses actions antifongiques, antiparasitaires et antibactériennes, cette médication naturelle présente la faculté de traiter les différentes infestations de parasites, telles que l'infection urinaire, le catarrhe nasal ou l'inflammation des voies aériennes, ainsi que l'infection bronchique.

Dans notre travail nous avons utilisé les extraits aqueux à trois concentrations de l'*Artemisia herba alba* pour voir son effets sur *Leishmania* cutanée .

Les souches de *Leishmania* utilisée appartenant à *L. major* (LIPA 32/06 : souches de référence de *Leishmania major* obtenue à partir du service éco épidémiologie parasitaire de l'institut Pasteur d'alger.

Les résultats obtenus sont dans la partie résultat et discussion.

Mots clés : Leishmaniose cutanée, parasite, phlébotome, *Artemisia herba alba*, antiparasitaires, les souches, *L. major*

المخلص:

الليشمانيا الجلدية هو النوع الأكثر انتشارا لليشمانيا ، هو التهاب جلدي يحفره طفيلي وحيد الخلية الذي ينتقل عن طريق لسعة ذبابة الرمل . هناك حوالي 20 نوع من الليشمانيا التي يمكن لها أن تسبب الليشمانيا الجلدية .

تعتبر الجزائر من أكثر مناطق البحر الأبيض المتوسط تعرضا لليشمانيا الجلدية أكثر منه الحشوية ، تم إحصاء حوالي 54145 حالة لليشمانيا الجلدية ما بين 2000 و 2005 بدراسة من طرف ZAIT.H (أكثر من 389 حالة تم تشخيصها على مستوى المستشفى الجامعي مصطفى باشا – الجزائر من 1998-2007).

لقد م اختيار نبات الشيح بسبب خصائصه المضادة للفطريات ، للطفيليات و البكتيريا . هذا العلاج الطبيعي يمثل الوحدة العلاجية لمختلف الإصابات الطفيلية مثل التهاب المسالك البولية ، نزلات الأنف ، أو التهابات المسالك الهوائية مثل التهاب القصبات الهوائية .

لقد قمنا خلال هذا البحث باستخدام المستخلصات المائية لنبات الشيح بثلاث تراكيز مختلفة من أجل معاينة مفعولها على الليشمانيا الجلدية .

الخلايا الجذعية المستعملة في هذا العمل هي من نوع : LIPA 32/06 L. major : لقد تم الحصول عليها من مصلحة علم الأوبئة الطفيلية من معهد باستور – الجزائر .

النتائج التي تحصلنا عليها سنتطرق إليها في فصل النتائج والمناقشة.

الكلمات المفتاحية : الليشمانيا الجلدية – طفيلي – ذبابة الرمل – نبات الشيح – مضاد للطفيليات – الخلايا الجذعية –

L. major

Abstract :

Cutaneous leishmaniasis is the most common form of leishmaniasis . It is a cutaneous infection parasite that is transmitted by phlebotomy bites . There are about 20 species of Leishmania that can cause cutaneous leishmaniasis .

Algeria , one of the most affected countries of the mediterranean basin, is concerned by both cutaneous (LC) and visceral leishmaniasis , 54,145 cases of LC were reported between 2000 and 2005 and according to a study by ZAIT.H (Assessment of 389 cases diagnosed at the University Hospital Center (CHU) Mustapha of Algiers from 1998-2007)

Artemisia herba alba has been chosen because of its anti-fungal , antiparasitic and antibacterial actions . This natural medicine has the ability to treat various parasite infestation, such as urinary tract infection, nasal catarrh or inflammation of the airways , bronchial infection .

Leishmania strains used belonging to L.major (LIPA 32/06 :reference strains of leishmania major obtained from the parasitic eco-epidemiological service of the Pasteur Institut of Algiers .

The results obtained are in the result and death part .

Keywords : Cutaneous leishmaniasis , parasite , phlebotomy bites , Artemisia herba alba, antiparasitic, Leishmania strains , L.major .

PARTIE

bibliographique

Partie

Exérimentale

PREMIER CHAPITRE

I. les plantes médicinales :

I. 1- La phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes » ([www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé_au_naturel/thérapies)). C'est un traitement ou prévention des maladies par l'usage de certaines parties de plantes médicinales telles que les racines, les tiges ou les feuilles. Elle fait partie des médecines parallèles ou des médecines douces (Zeghad, 2008)

D'après (Zeghad, 2008) il y'a différents types de phytothérapie :

-Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plantes (essences et ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

-emmothérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits alcooliques des tissus embryonnaires végétaux en croissance tel que jeunes pousses, bourgeons et les radicules.

-Herboristerie : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantes médicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.

-Homéopathie : elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminés par la maladie elle-même.

(<http://sante.lefigaro.fr/sante/specialite/homeopathie/quest-ce-que-cest> consulter le 11/04/2015).

-Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.

Après transformation chimique, les plantes sont vendues sous forme de tisanes, de liquide, de gélules ([www.passeportsante.net/santé au naturel/théaies](http://www.passeportsante.net/santé_au_naturel/théaies))

I. 2 - Les plantes médicinales :

I. 2. 1-Définition :

Les plantes médicinales regroupent toutes les plantes dont l'un de leurs organes contient une ou des substances chimiques qui sont destinées à produire une activité pharmacologique. Elles représentent la forme la plus ancienne et la plus répandue de médication (HALBERSTEIN, 2005)

Actuellement grâce ou progrès scientifique considérables enregistrés depuis la fin du XIX^{ème} siècle (technique d'analyse et extraction... etc.) les plantes médicinales constituent des ressources inestimables qui ont été utilisées pour trouver de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Gurib-Fakim, 2006 ; Harrar, 2012**).

D'après **Odile et Daniel (2007)**, environ plus de 30% des médicaments contiennent des principes actifs d'origine naturelle.

I.2- Parties de plantes médicinales utilisées :

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée.

Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont celles qui ont été décrites par **Gurib-Fakim, 2006** :

Racine: Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues

Rhizome: Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.

Bulbe : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.

Tubercule: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse.

Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille Hypoxidaceae) est un exemple bien connu.

Écorce: L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp., Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).

Bois: Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae

Feuilles : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple : *Ginkgo biloba* de la famille Ginkgoaceae

Gommes : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains. Exemple (Acacia Senegal; Terminalia bentzoe).

Les parties aériennes: Toutes les parties de la plante qui se trouvent au dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : Hypericum perforatum de la famille Hypericaceae.

Fleurs : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.

Fruits : Exemple (Punica granatum ; Citrus sp).

Graines : Exemple (Ricinus communis; Foeniculum vulgare).

I. 2. 3 - Conseils et préparation des plantes médicinales :

I. 2. 3. 1- La récolte des plantes :

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle. Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs.

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les auteurs de cette référence (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) ont proposés quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr.
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles.
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures.
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer.
- Dans la nature, un sac à dos (évitez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique.
- Récolter uniquement des plantes saines.
- Récolter les plantes par temps sec, plutôt par une matinée bien ensoleillée,

II.-Les huiles essentielles :

II.1.-Bref historique sur les H.E (B. Weniger, 2011):

- Egypte (4ème millénaire av. J.C) : petites amorphes ayant contenues des essences et parfums retrouvées dans les sarcophages des rois.
- Civilisation arabe (Bagdad, Damas): commerce des épices et des aromates, et perfectionnement dans l'art de la distillation.
- Deux noms à retenir: l'alambic et incontestablement associé à Avicenne (930-1037), tout comme le vase florentin est associé à Giovanni Baptistadella porta (1540-1615).
- Hermann Boerhave (1668-1738) fut l'un des premiers à décrire les H.E d'un point de vue chimique.

II.2-Définition :

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

[Afnor, 1986 et Afssaps, 2008]

II.3 - Méthodes d'extractions des huiles essentielles:

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première: son état originel et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Le rendement « HE/matière première végétale » peut être extrêmement variable selon les plantes (C. Desmares et al, 2008).

Les huiles essentielles sont extraites principalement par deux méthodes de distillation et une méthode d'expression à froid (L. Lagunez Rivera, 2006) :

- **L'entraînement à la vapeur de l'eau.**
- **L'hydrodistillation.**
- **L'expression à froid (cas particulier des agrumes).**

II.3 .1-Entraînement à la vapeur :

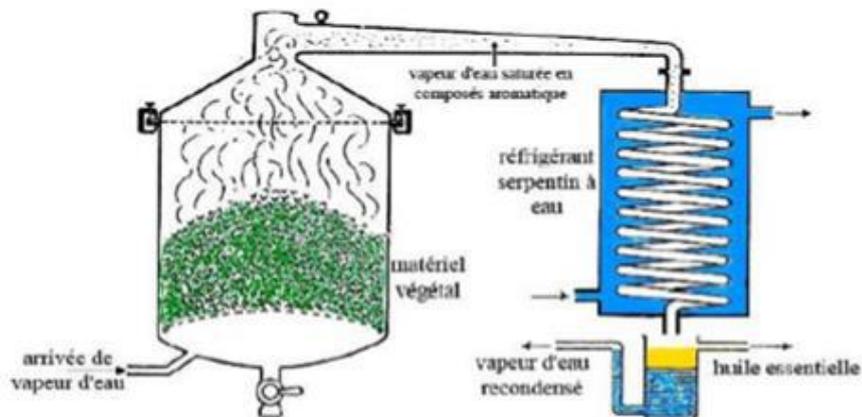


Figure 1: principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (A.Elhaib, 2011)

Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable, qui traverse les végétaux et emporte avec elle les molécules aromatiques. La vapeur chargée de l'arôme se condense alors en traversant une cuve réfrigérante pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier) où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation (J. Smadja, 2009).

II.3 .2 - L'hydrodistillation :



Figure 2: Montage d'hydrodistillation (cleverger) (J.Smadja, 2009)

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors la décantation (**L. Lagunez Rivera, 2006**).

II.3 .3 - L'expression à froid :

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (Citrus sp.) par des procédés mécaniques à température ambiante. L'expression à froid consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique (**C. Desmares et al, 2008**).

II - Armoise blanche (*Artemisia herba alba*)

II.1-Généralités :

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Astéracées: c'est l'un des genres le plus répandu et le plus étudié de cette famille; il contient un nombre variable d'espèces allant jusqu'à 400 espèces (**Mucciarelli and Maffei., 2002**).

Il a été rapporté que le genre *Artemisia* est riche en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les acides cafféoylquinic, les coumarines, les huiles essentielles, les stérols et les acétylènes (**Kundan et Anupam., 2010**).

Les espèces qui appartiennent au genre *Artemisia* possèdent des propriétés thérapeutiques, elles sont non seulement utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique (**Mirjalili et al ., 2007**).

II.1.2-Origine:

L'Artémisia est le nom de guerre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis, la diane des romains, patronne des vierges à cause des bienfaits de cette herbe. Herba alba signifie herbe blanche.

Plusieurs noms sont attribués à l'armoise blanche tels le thym des steppes, absinthe du désert. En Afrique du nord et en moyen orient, on l'appelle communément Shih"ou "Chih".

II.1.3-Répartition géographique:

- **Local:** les Hauts plateaux et le Sahara septentrional
- **Régional:** Afrique du Nord
- **Mondial :** Espagne, Afrique du Nord et Asie occidentale

L'artémisia herba alba est une plante spontanée très répandue en Afrique du nord et au moyen orient, elle affectionne les climats secs et chauds, et existe sous forme de peuplements importants dans les zones désertiques (**Hurabielle. M.,et al 1981**).

C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sinäi (**Segal.R et al.,1987**).

Au Maroc, l'artémisia herba alba se rencontre à l'état spontané, il n'est pas rare de trouver des zones de plusieurs dizaines de kilomètres de rayon où seule l'armoise blanche règne dans un paysage quasi-désertique. Le Maroc attache beaucoup d'importance à cette plante qui constitue un excellent moyen naturel de lutte contre l'érosion et la désertification.

(**Bendjilali.B.,1980**)

En Algérie, l'artémisia herba alba, connue sous le nom de « chih » ou encore appelé semen-contra de barbarie, couvre près de six millions d'hectares dans les steppes, elle se présente sous forme de buissons blancs, laineux et espacés **(Boutekjenet.C.,1987)**.

Le genre *Artemisia* (les armoises) regroupe des herbacées, des arbrisseaux et des arbustes, généralement aromatiques, densément tomenteux, pubescents ou glabres, de la famille des Astéracées.



Figure 3: photo d'Artémisia herba alba

II.1.4-Description botanique :

L'artémisia herba alba est une plante vivace qui forme des buissons de 30 à 50 cm, blanche et laineuse, à tiges nombreuses, tomenteuses.

Les feuilles sont courtes, généralement pubescentes argentées avec des capitules sessiles de 2-5 fleurs. Ces derniers sont hermaphrodites alors que le fruit est akène.

Le réceptacle est nu et la corolle est insérée très obliquement sur l'ovaire

(Besanger-beauquesne et al. 1975 Quezel et santa, 1963).

II.1.4.1-Partie souterraine :

L'artémisia herba alba présente une racine principale, épaisse et ligneuse, bien distincte des racines secondaires, qui s'enfoncent dans le sol comme un pivot.

Le système racinaire a une extension peu profonde avec un grand nombre de ramifications latérales particulièrement abondantes entre 2 à 5 cm de profondeur mettant en relation cette forme de racine avec l'existence d'un court calcaire superficiel.

Quand l'armoise se développe dans une région plus humide, ses racines pénètrent profondément jusqu'à 40 à 50 cm et ne se ramifient qu'à cette profondeur. **(Pourrat.1974)**

La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm (Aidoud, 1983).

II.1.4-2- Partie aérienne :

Elle est représentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs

II.1.4.2-1- La tige :

L'artémisia herba alba présente une tige principale très épaisse, rougeâtre, qui se ramifie et se prolonge par de nombreuses tiges de plus en plus fines. Chaque tige se distingue par une taille allant de 30 à 50 cm (Bendahou, 1991).

II.1.4.2.2- Les feuilles et les rameaux :

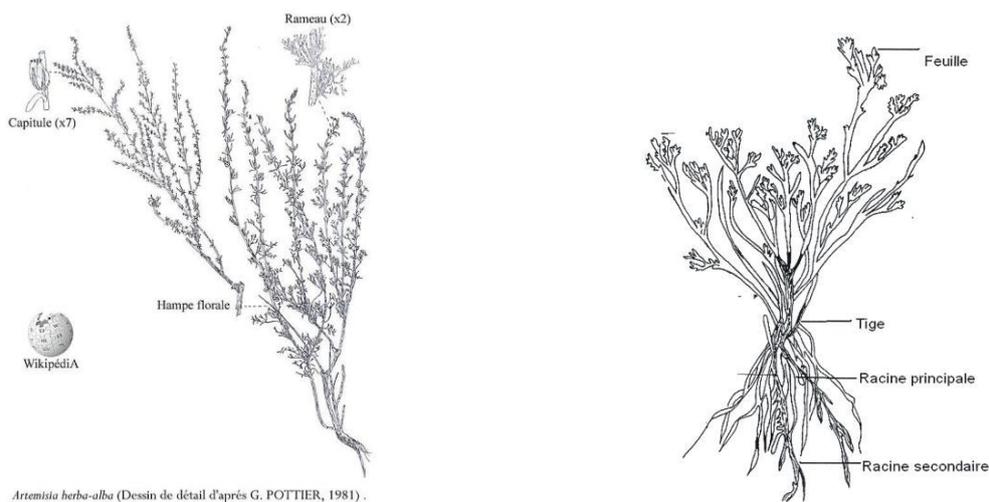
Les feuilles sont courtes, blanches laineuses, et argentés. Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse (Pourrat, 1974).

II.1.4.2.3- La fleur :

La floraison s'effectue en automne à partir du mois de septembre. La fleur est formée d'inflorescences en capitules.

Ces derniers sont très petits, étroits (12 à 5 mm) ovoïdes à involucre scarieux de contenant que 3 à 8 fleurs, tous hermaphrodites.

Ces capitules pauciflores, en général homogames sont insérés directement sur l'axe et sans aucun support.(Ozenda ,1985).



Artemisia herba-alba (Dessin de détail d'après G. POTTER, 1981).

Figure 4 : Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'Artémisia herba alba

II.1.5 -Classification de l'artémisia herba alba :

Le genre Artémisia appartient à la famille des composés, il comprend environ 400 espèces regroupées en quatre sections : Abrotanum, Absinthium, Seriphidium et dracunculus.

La classification de l'artémisia herba alba la plus utilisée dans la systématique du genre Artémisia est celle donnée par Quenzel et Santa et que nous pouvons résumer comme suit dans le tableau suivant:

Tableau 01 : classification de l'armoise blanche

Règne	Végétal
EMBRANCHEMENT	Phanérogames
SOUS EMBRANCHEMENT	Angiospermes
CLASSE	Dicotylédones gamopétales
SOUS CLASSE	Gamopétal épiqueyne isosternes
ORDRE	Asterales
FAMILLE	Synanthérées ou composées
SOUS FAMILLE	Tubuliflores
TRIBU	Anthemidées
GENRE	Artémisia
ESPECE	Artémisia herba alba

II.1.6.1- Biologie

L'artémisia herba alba est une plante ligneuse basse et toujours verte. Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques arides.

Le dimorphisme saisonnier de son feuillage lui permet de réduire la surface transpirante et d'éviter ainsi les pertes d'eau. (Ourcival J M, 1992).

Grâce à son système racinaire très dense à la surface, l'armoise herbe blanche est capable de valoriser toute humidité superficielle occasionnée par des petites pluies. (Le Floc'h E, 1989)

Cette espèce est également capable d'exploiter l'humidité du sol jusqu'à 50 cm de profondeur **(Floret CH, et Pontannier R, 1982)** et peut profiter des fractures de la croûte, pour atteindre les poches d'humidité, notamment dans les sols à encroûtement calcaire.

EVENARI et coll. (1976), ont rapporté que chez les plantes âgées d'Artemisia herba-alba, la tige principale se divise en « branches » physiologiquement indépendantes les unes des autres et susceptibles de mourir sans entraîner la mort de la plante entière. **(Evenari M et al., 1980)**

La floraison de cette espèce débute le plus souvent en juin mais les fleurs se développent essentiellement à la fin de l'été.

Lors des années pluvieuses et dans les sols qui lui conviennent, l'armoise herbe blanche présente une forte production de graines et un pouvoir de régénération élevé. **(Nabli M A, 1989).**

II.1.6.2-Ecologie :

L'artemisia herba alba existe dans les bioclimats allant du semi-aride jusqu'au saharien. Elle semble indifférente aux altitudes et peut vivre dans les régions d'hiver chaud à frais.

Dans le sud, cette plante pousse sur les sols bruns steppiques de texture moyenne et en extrême sud sur les sols sableux. Elle résiste à la sécheresse, supporte le gypse et des niveaux de salinité modérément élevés. **.(Nabli M A, 1989).**

Elle se développe dans les steppes argileuses où les précipitations sont de l'ordre de 200mm/an. Son développement est lié à la nature du sol. En effet, il faut qu'il soit peu perméable, tassé et colmaté **(Celles. J.1980).**

Accompagnée de l'alfa « stipa tenassima », elle couvre souvent de très grandes superficies dans les hauts plateaux. Sa présence est plus fréquente en bordure des oueds et dans les dayas (dépression de la steppe à sol imperméable qui sont des secteurs plus ou moins humides) **(Pouget. M.1989).**

En Algérie l'armoise blanche présente une vaste répartition géographique couvrant, environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humides. Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification **[Ayad et al., 2013].**

II.1.6.2-Composition chimique :

Au Maghreb, l'armoise herbe blanche constitue un fourrage particulièrement intéressant.

En effet, la plante présente un taux de cellulose beaucoup moins élevé que ne laisse préjuger son aspect (17 à 33 %).

La matière sèche (MS) apporte entre 6 et 11 % de matière protéique brute dont 72 % est constituée d'acides aminés.

Le taux de β -carotène varie entre 1,3 et 7 mg/kg selon les saisons. La valeur énergétique de l'armoise herbe blanche, très faible en hiver (0,2 à 0,4UF/kg MS), augmente rapidement au printemps (0,92 UF/kg MS) pour diminuer de nouveau en été (0,6 UF/kg MS).

En automne, les pluies de septembre provoquent une nouvelle période de croissance et la valeur énergétique augmente de nouveau (0,8 UF/kg MS)

Les plantes de la famille des Astéracées, à laquelle appartient l'armoise herbe blanche, ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques par intérêt économique surtout pour leurs huiles essentielles.

Les molécules identifiées sont les sesquiterpènes lactones, les coumarines et les hydrocarbures Acétyléniques. (Da Silva J A, 2004).

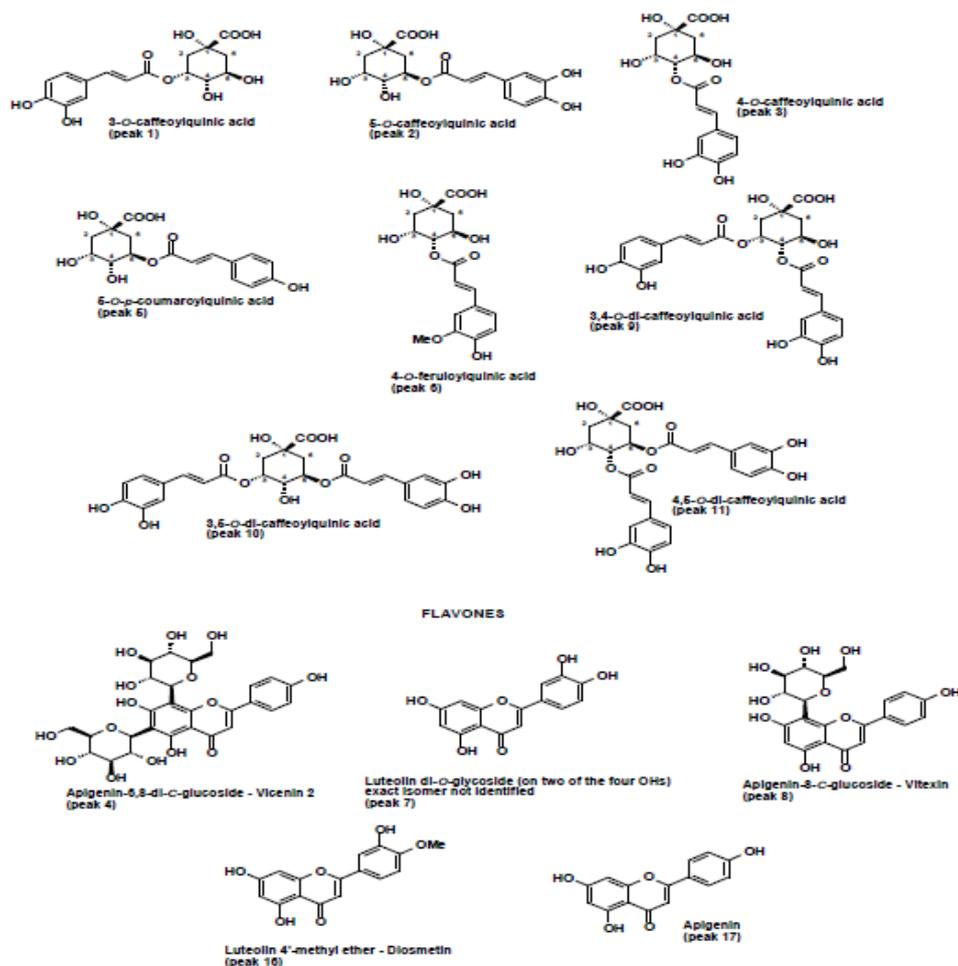


Figure 5 : Structure des composés identifiés dans l'extrait d'*Artemisia herba alba*.

II.1.6.2.1- Terpènes de L'artemisia herba alba:

Les terpènes sont des polymères constitués d'unités en C₅ (isopentylpyrophosphate).

Les monoterpènes en (C₁₀) sont des substances légèrement volatiles qui forment les huiles essentielles.

Ils protègent les végétaux contre les parasites, inhibent la croissance bactérienne et attirent les animaux pollinisateurs.

Les principaux monoterpènes identifiés dans l'Armoise herbe blanche sont le thuyone (monoterpène lactone), le 1,8-cinéol et le thymol¹⁴.

Des monoterpènes alcooliques (yomogi alcool, santoline alcool) ont été mis en évidence.

On a aussi identifié des sesquiterpènes (3 unités en C₅) et des sesquiterpènes lactones dans plusieurs chémotypes du Moyen-Orient.

La thuyone est probablement l'un des constituants terpéniques les plus bioactifs de l'Armoise. Son nom provient de Thuya (*Thuja occidentalis*) plante de laquelle il a été extrait pour la première fois.

On identifie également dans d'autres espèces, comme l'Absinthe (*Artemisia absinthium*) et l'Armoise romaine (*Artemisia pontica*).

Structurellement lié au menthol, il est constitué d'un cycle en C₆ (cyclohexane) avec en plus un groupement exocyclique isopropyl et un groupement lactone.

La thuyone est un composé chiral présent à l'état naturel sous forme de deux stéréoisomères : l'alpha-thuyone et le bêta-thuyon. **(Patocka J, Plucar B, 2003).**

II.1.6.2.2-Flavonoïdes de L'artemisia herba alba:

Ce sont des composés phénoliques qui contribuent à la pigmentation de la plante.

Très ubiquitaires, certains d'entre eux jouent le rôle de phytoalexines, métabolites synthétisés par la plante pour lutter contre diverses parasitoses.

Les flavonoïdes sont rencontrés à l'état libre (soluble) ou liés à un sucre (glycosides) dans le liquide vacuolaire.

La coloration des dérivés dépend des différentes substitutions de l'atome d'hydrogène sur divers cycles, de la formation de complexes avec les ions métalliques (Fe³⁺, Al³⁺) et du pH.

Les principaux flavonoïdes isolés à partir de l'Armoise herbe blanche sont l'hispiduline, la cirsimaritrine.

Des flavones glycosides comme la 3-rutinoside-quercétine et l'isovitexine ont été mis en évidence chez des chémotypes du Sinaï. **(Saleh N et al.,1985).**

II .1.6.3-Les métabolites secondaires :

II.1.6.3.1- Les composés phénoliques de L'artemisia herba alba:

Les composés phénoliques sont des substances présentes dans tous les végétaux et dans tous les organes de la plante, ils possèdent un noyau aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Naczk et Shahidi, 2003 ; Barboni, 2006 ; Sun et al., 2011).

Leur présence dans les tissus animaux est généralement due à l'ingestion d'aliments d'origine végétale (Naczk et Shahidi, 2003).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes

(Naczk et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun et al., 2011).

Le terme "composés phénoliques végétaux» englobe les phénols simples, les acides phénoliques, les coumarines, les flavonoïdes, les stilbènes, les tannins, les lignines et les lignanes (Stalikas, 2007).

II.1.6.3.2- Biosynthèse des composés phénoliques de l'armoise blanche :

Les composés phénoliques des végétaux sont biosynthétisés par trois voies différentes (Thayumanavan et Sadasivam, 2003) : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate.

La **figure 06** représente la voie métabolique de la production de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine.

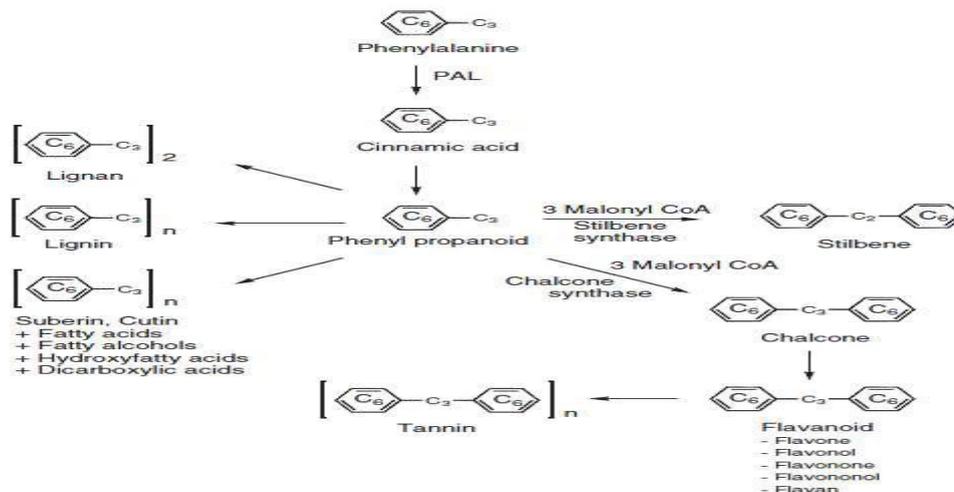


Figure 6: Biosynthèse de certains composés phénoliques à partir de la phénylalanine (Naczk et Shahidi, 2003)

II.1.6.4- Composition chimique de l'huile essentielle :

Diverses études relatives à la composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Artemisia herba alba*, ont été décrites (**Salido, S et al., 2004**) Ces travaux mettent en évidence une grande variabilité chimique. A titre d'exemple une étude concernant la composition chimique pour les échantillons des huiles essentielles originaire de l'Espagne (plusieurs sites de récolte) (**Salido, S et al., 2004**) : a révélé l'existence de plusieurs chemotypes :

Une huile essentielle riche en p-cymène (19.9 %), elle renferme aussi l' α pinène (17.2%), myrcène (10.9%), 1,8-cinéole (8.6%) et le camphre (8.5%).

Un deuxième chémotype caractérisé par la prédominance du cis-chrysanthénol (28.8%), elle renferme également le 1,8-cinéole, p-cymène, et le camphre.

Un autre échantillon est dominé par le 1,8-cinéole (18.8%), camphre (10.2%), et p-cymène (6.7%).

Une huile essentielle renfermant la davanone (29.1%), le p-cymène (9.2-18.4%), le γ terpinène, et le myrcène.

Le 1,8-cinéole (50%) est le produit majoritaire de l'échantillon provenant du désert Palestinien. Cet échantillon renferme aussi les thujones α et β (27%) et d'autres monoterpènes oxygénés; terpinène-4-ol (3.3%), le camphre (3%), et le bornéol (3%). (**Feuerstein, I et al., 2006**).

Une étude montre la richesse de l'huile essentielle d'*A. herba alba* originaire de la Jordanie en α , β -thujone (16.2 %) et (8.5%) respectivement, cette essence renferme aussi l'alcool santolina (13%), et la cétone d' *artemisia* (12.4%). Elle renferme également des traces du 1,8-cinéole, du camphre, et l'acétate du chrysanthényl (**Hudaib, M et al., 2006**).

Une autre étude a montré que le cis β -terpinéol est le composant majoritaire (11.3%) de l'échantillon provenant d'Iran. Le camphre, sabinène, et camphène, étant présents avec des teneurs appréciables (16.11, 5.18, 4.8%) Nezhadali, (**A et al., 2009**).

L'huile essentielle d'*A. herba alba* Tunisienne est riche en α -thujone (43-85%), trans-acétate de sabinyle (17-46%), et la β -thujone (10.10%), elle renferme également: le 1,8- cinéole (3.3%) et la chrysanthénone (2.32%) en faible quantité. Ce profil chimique est différent par rapport au profil chimique d'échantillons Algériens (provenant de différentes régions : Boussaâda, Batna, Djelfa et Khenchela) qui renferment une forte quantité de camphre (19.4%) Dob, T. (**Benabdelkader, 2006**)

Le tableau qui suit nous donne des détails sur la composition de ces huiles :

Tableau 2: Composition des huiles essentielles extraites d'A. herba-alba (en %)

Composés	AKROUT et al. (2010) Région de Beni-Khedache (Sud de Tunisie)	MIGHRI et al. (2006) Région de Kirchaou (sud-est tunisien)	BENMANSOUR (1999) Région de Tlemcen	BENDAHOU (2007) Région de Mechria
α -thujène	-	0,1	-	tr
α -pinène	-	0,3	3,21	0,1
camphène	0,8	1,5	0,73	3,2
β -pinène	-	0,7	-	0,2
myrcène	-	0,2	-	0,5
α -terpinène	-	0,9	-	0,3
<i>p</i> -cymène	1,5	2,2	-	0,8
1,8-cineole	6,0	12,2	-	3,7
γ -terpinène	1,1	1,7	-	0,2
lyratol	-	-	-	0,5
α -terpinéol	-	0,5	0,48	0,4
α -thujone	25,7	19,2	12,80	2,9
β -thujone	30	14,3	29,43	41,2
camphre	4,5	9,4	13,71	22,2
Terpinène-4-ol	2,8	-	-	0,2
thymol	-	0,2	-	0,1
sabinène	1,4	0,5	0,96	1,5

II.1.6.5- L'huile essentielle L'artemisia herba alba:

Au cours des dernières décennies, l'huile essentielle de l'armoise blanche a été soigneusement étudiée et la diversité dans la composition de cette huile recueillie dans différents pays a conduit à de nombreux chemotypes. Généralement, l'huile a été en grande partie rapporté être composée de monoterpénoïdes, principalement oxygénés tels que le 1-8 cinéole, chrysanthenone, α et β thujones et le camphre comme composants majeurs [Mohamed et al., 2010].

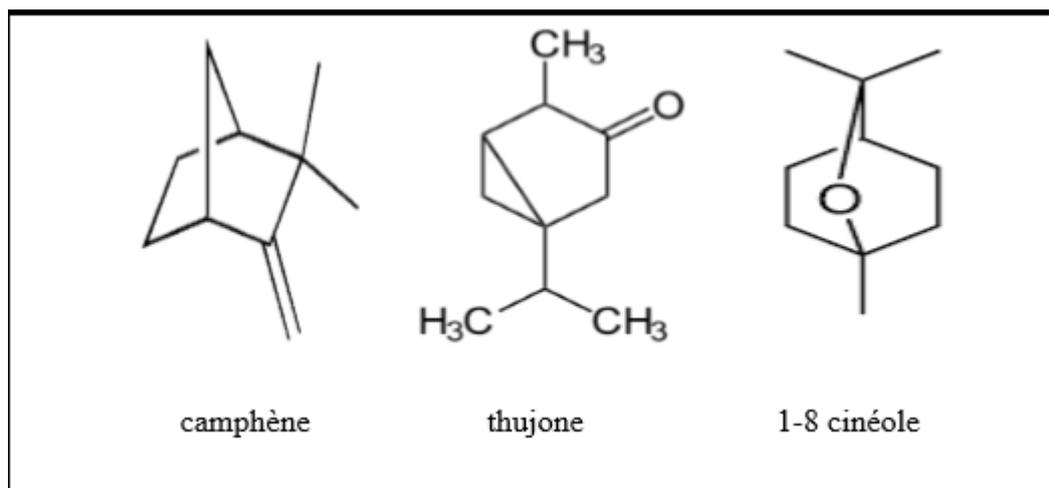


Figure 7: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*

Le Maroc détient 90% du marché mondial de l'huile essentielle extraite de l'armoise blanche [Mounni et al., 2013].

L'examen de la littérature scientifique disponible publiée sur *A. herba alba* a montré que l'effet antidiabétique de cette plante était similaire à celle de répaglinide et l'insuline ordinaire [Ribnicky et al., 2004; Tastekin et al., 2006].

Des essais sur les propriétés insecticides de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sont menés dans le cadre de la lutte biologique contre *Euchorthippus albolineatus*, un grand ravageur des cultures agricoles [Zaim et al., 2012].

Les résultats obtenus ont montré que cette huile a manifesté une bonne activité acridicide. Ainsi, Sharifian et al. (2012) ont suggéré que l'huile essentielle de l'armoise blanche pourrait avoir un effet potentiel comme agent de contrôle contre *Callosobruchus maculatus* et *Rhyzopertha domonica*.

II.2.6.5.1 Composition chimique des huiles essentielles du genre *Artemisia* :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir plusieurs composés à des concentrations différentes. Elles sont caractérisées par 2 à 3 composants principaux à des concentrations assez élevées (20 – 70%).

La composition chimique des huiles essentielles extraites à partir de genre *Artemisia* a été largement étudiée dans plusieurs espèces partout dans le monde. L'odeur forte et aromatique de certaines espèces de ce genre est due principalement à la haute concentration de terpènes volatiles.

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre *Artemisia* affichent des variations intra-spécifiques significatives dans les constituants terpéniques de leurs huiles essentielles. Dans certains cas, la variation dans les composés volatiles de ces plantes peut se produire lors de la croissance de la plante aux différentes altitudes [Abad et al., 2012].

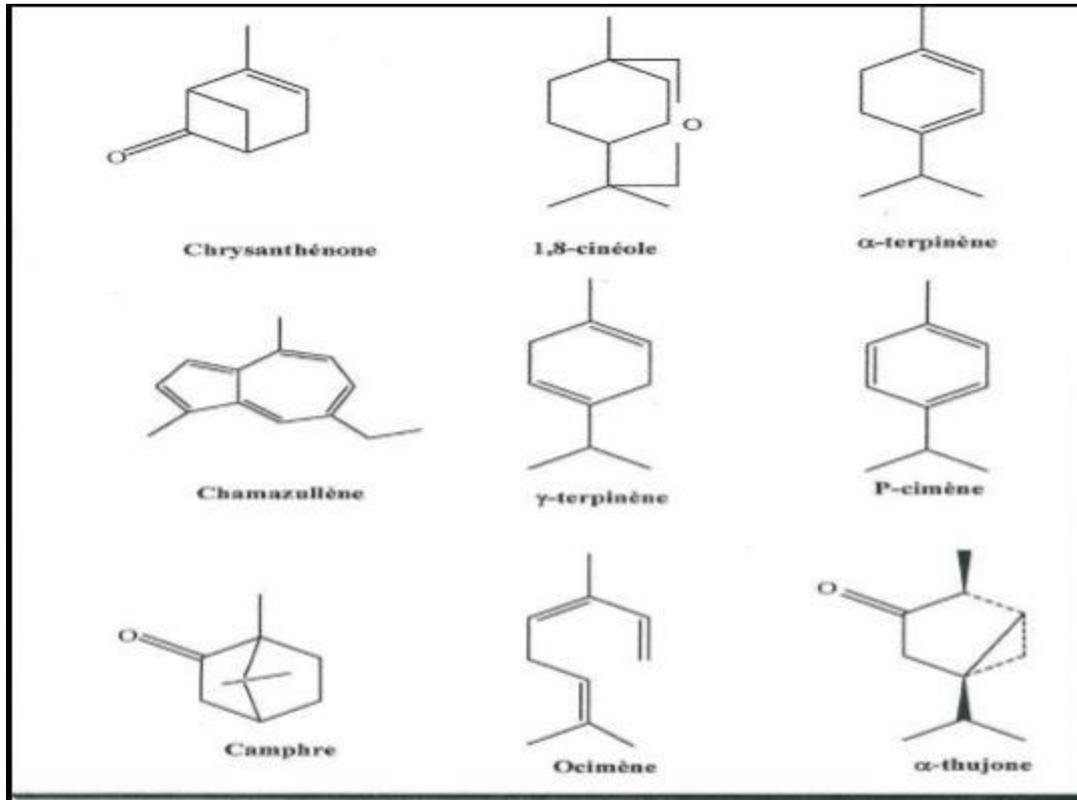


Figure 8: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles [Khebri,]

II.1.6.6-Intérêt de la plante :

II.1.6.6-1. Industriel :

Les extraits de ses huiles essentielles sont utilisés comme aromes, son intérêt économique c'est un pâturage permanent de certaines zones désertiques, son odeur caractéristique la rend très prisée par le cheptel ovin.(Aidoud, 1984).

II.1.6.6-2.Médicinale :

Les racines d'Armoise blanche ont été employées avec succès en Allemagne contre l'épilepsie. (Hatier, 1989).

L'*artemisia herba alba* est utilisée comme une plante amère, aromatique, digestive et anticonvulsive, mais son action est un peu plus faible que celle des autres armoises (Grund, 1983).

La médecine populaire l'utilise contre les troubles nerveux, les insomnies et dans les soins des maladies féminines.

Elle est considérée Comme une plante antidiabétique adjuvant dans les soins du diabète. **(Grund,1983).**

II.1.6.6-3.Culinaire :

A la maison l'armoise blanche est utilisée comme un remède pour calmer les douleurs abdominales, le foie sous forme de tisane.

Elle est vermifuge (élimine le vers : oxyures et ascaris). Elle facilite la digestion, elle est aussi utilisée comme remède contre les troubles intestinaux, la rougeole et les faiblesses musculaires (**institut National Agronomique El Harrach,1988**).

II.1.6.6.4- Toxicité de la plante :

L'armoise blanche est peu broutée au printemps, elle est comme légèrement toxique à cette époque.

L'armoise à forte dose est abortive, neurotoxique et hémorragique la tuyone constitue la substance toxique et bioactive dans l'armoise et sa forme la plus toxique est l'alpha-tuyone. Elle a des effets convulsivantes (**Aidoud,1983**).

Elle est Interdite aux femmes enceintes car elle est toxique à dose élevée on doit respecter les doses. Son pollen provoque des diarrhées. (**Hatier, 1989**).

III- Les Leishmanioses ; Leishmaniose cutanée:

III-1 Introduction générale :

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires posant un réel problème de santé publique à l'échelle mondiale avec près de 98 pays touchés.

Nombreux sont les défis lancés par l'organisation mondiale de la santé (OMS) concernant les leishmanioses en matière de prise en charge et de lutte contre ces maladies.

Elles font partie des affections prioritaires dans la liste des maladies tropicales négligées établie par l'OMS, où elles occupent la 6ème place.

La forme cutanée est la plus fréquente avec 50 à 70% des cas de leishmanioses dans le monde et près de 310 millions de personnes exposées: 1 million à 1,5 million de cas de leishmaniose cutanée sont enregistrés dans le monde dont 90% répartis dans 8 pays (6 pays de l'ancien monde: Afghanistan, **Algérie**, Arabie Saoudite, Iran, Iraq et la Syrie et 2 pays du nouveau monde: Brésil et Pérou.

L'Algérie, compte parmi les pays les plus touchés par la leishmaniose cutanée qui évolue selon un mode endémo-épidémique, plusieurs recensements ont été faits par le ministère de santé: 4347 cas ont été enregistrés en 2000, 7716 cas en 2002, 16368 cas en 2004, pour enfin atteindre un pic d'alerte en 2005 avec 30227 cas déclarés à l'échelle nationale dont **8375** uniquement dans la wilaya de Biskra, foyer historique de la leishmaniose cutanée.

Une lutte efficace et durable contre cette parasitose passe inévitablement par une meilleure connaissance des acteurs de la maladie : parasite, vecteur, réservoirs

III- 2Définition:

Les leishmanioses sont des zoonoses parasitaires dues à un protozoaire flagellé, [ayant un tropisme pour les cellules du système réticulo-endothélial (SRE)] du genre *Leishmania* et transmises à l'homme par la pique infectante d'un petit moucheron, le phlébotome femelle.

Selon le tropisme des leishmanies, on distingue différentes formes cliniques :

- La leishmaniose viscérale (LV)
- La leishmaniose cutanée muqueuse (LCM)
- La leishmaniose cutanée (LC)

En Algérie, deux formes cliniques sévissent à l'état endémique :

* La leishmaniose viscérale due à *Leishmania infantum*.

*La leishmaniose cutanée qui se divise en trois entités

noso-épidémiologiques :

* Leishmaniose cutanée du nord (LCN) due à *Leishmania infantum* , qui sévit le long du littoral et du Tell Algérien.

* Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) ou « clou de Biskra »due à *Leishmania major* MON 25, qui sévit aux étages bioclimatiques aride et semi aride.

*Leishmaniose cutanée à *Leishmania killicki* qui sévit à Ghardaïa, Annaba, Skikda

III -3Historique :

III.3.1. Dans le monde :

Parmi toutes les parasitoses, les leishmanioses sont une des premières décrites au moins dans leurs formes cutanées. La constatation des lésions remonte à la plus haute antiquité aussi bien dans l'ancien que dans le nouveau monde, alors que l'individualisation des formes viscérales et la mise en évidence des agents pathogènes n'ont pu se faire qu'au XIX^{ème} siècle (**Dedet, 1999**).

Ainsi, les leishmanioses tégumentaires de l'ancien monde, sont des affections dermatologiques connues depuis très longtemps. Al Boukhari, médecin arabe du X^{ème} siècle décrivit cette affection cutanée, et Avicenne l'attribuait à une piqûre de moustique. La première description clinique moderne est celle de Mc Naught en 1882 et c'est Cunnigham en 1885 qui découvrit les parasites dans un prélèvement de bouton d'Orient (**Dedet, 1999**).

En 1903 William Leishman, médecin anglais observa le premier des leishmanies dans un frottis de rate d'un soldat mort à Calcutta en Inde.

Durant la même année, un médecin Irlandais, Donovan observe ces mêmes formes provenant de ponctions de rate d'un malade.

Sir Ronald Ross créa le genre *Leishmania* et c'est en leur honneur que se distingua le taxon *Leishmania donovani* (**Dedet, 1999**).

En 1908, Nicolle et Comte, à l'institut Pasteur de Tunis observent les mêmes parasites chez le chien. Ils font de cette affection une maladie commune à l'homme et à d'autres mammifères ouvrant ainsi la voie aux recherches épidémiologiques.

En 1921 le rôle vecteur des phlébotomes est découvert, grâce aux travaux des frères Sergent à l'Institut Pasteur d'Algérie.

III.3.2 En Algérie :

Leishmaniose cutanée fût signalée pour la première fois en 1860 à Biskra par le docteur Hamel. Une seconde observation de la maladie dénommée alors « clou de Biskra » fût publiée deux années plus tard à Laghouat

Après la création de l'Institut Pasteur d'Algérie en 1905 et la mise en place de ces différentes antennes, plusieurs autres cas de Bouton d'orient furent publiés.

Dès lors qu'on pensait que la maladie était inféodée au Sahara, des cas autochtones de leishmaniose cutanée sont signalés au Nord du pays, dans le littoral algérien à Ténès et Boumerdes en 1909.

Les frères Sergent, qui ont diagnostiqué de nombreux cas à Mila en 1923, ont remarqué la petite taille du parasite, ils attribuèrent le nom de « Clou de Mila » à cette forme clinique, juste pour la différencier de celle du Sud, caractérisée par la grande taille des parasites.

Sergent affirmait en 1927 « Le bouton d'orient plus communément désigné en Algérie sous l'appellation du clou de Biskra, est loin de sévir uniquement dans la région des Zibans, on sait qu'au contraire, la leishmaniose cutanée, existe sur tout le territoire de la colonie, depuis le bord même de la mer jusqu'aux Oasis sahariennes »

Le nombre de cas de bouton d'orient reconnus, que ce soit dans les régions sahariennes ou dans le Tell augmentait au fur des années, comme si la leishmaniose essaimait peu à peu à travers tout le pays.

Au Sahara les recherches systématiques des médecins des territoires du Sud, guidés en cela par l'Institut Pasteur d'Alger, ont établi la répartition géographique du bouton d'Orient dans le Sud de l'Algérie suivant une chaîne, qui partant de Bou Anane (Maroc orientale), aboutit à Gafsa dans le Sud tunisien. Elle passe à la limite méridionale des Hauts Plateaux, au pied des derniers contreforts de l'Atlas, en bordure du désert et est jalonnée le long de ce trajet par les foyers algériens de Colomb- Béchar, Figuig, Laghouat, Ouled Djellal, Biskra et El Oued. (Sergent et al., 1926).

Le premier recensement de cas de LC effectué en 1926 dénombrait 112 cas en dix ans (1915-1925), les deux tiers étaient localisés au Sud. Parallèlement au dépistage de la maladie de nombreux travaux concernant le parasite et son mode de transmission, furent entrepris à l'IPA. C'est ainsi qu'en 1926 fût découvert pour la première fois le vecteur de la maladie. Les frères sergent et quelques volontaires en expérimentant sur eux même le développement de la

maladie en faisant inoculer dans leur peau le broyat de quelques femelles de *P. papatasi* capturées vivantes à Biskra, ont pu reproduire la lésion chez l'homme (Sergent et al., 1926). A cette époque, le réservoir du Bouton d'orient était inconnu, par contre pour la forme cutanée du Nord plusieurs auteurs ont suspecté le chien suite aux observations de quelques individus canins porteurs de lésion cutanées et vivant dans les habitations où des cas de la maladie furent diagnostiqués.

A partir de 1955, le pays entier paraissait comme un immense foyer de LC dont la limite Sud de l'aire de distribution, s'étendait jusqu'à Tamanrasset, où de rares cas furent rapportés. Cependant l'affection évoluait sous un mode endémique avec quelques pics épidémiques bien circonscrits dans les Oasis de Biskra, du Souf et de Béni Abbas.

La première épidémie fût rapportée dans les garnisons militaires à Biskra en 1960 où plus de 200 cas ont été enregistrés. Après l'indépendance, l'affection n'était qu'occasionnellement signalée.

La régression importante du nombre de cas à cette époque et jusqu'au début des années soixante-dix, était indirectement liée aux opérations de désinsectisation, rentrant dans le cadre de la campagne nationale de lutte antipaludique, lancées à travers tout le territoire national.

Quelques années plus tard, vers 1974, les grands travaux d'aménagement des périmètres agricoles (construction des barrages, mise en valeur des terres dans la vallée d'Abadla à l'Ouest et à M'sila au centre du pays), ont entraîné le déplacement de milliers de personnes vers ces régions en pleine croissance et développement agricole. Le rapprochement de ces sujets « neufs », du rongeur sauvage réservoir de la maladie, était suivi d'une explosion de LC touchant des centaines de cas à Abadla en 1976, surtout de jeunes appelés au service militaire, et près d'un millier de cas à M'sila (1981) (**Belazzoug, 1982**).

En deux ans (1982-1983), près de 8000 cas ont été recensés dans la seule Wilaya de M'sila.

Durant l'hiver de l'année 1986, l'extension de la maladie a touché la localité de Ksar Chellala (Wilaya de Tiaret) où plus de 600 cas ont été rapportés.

Au décours de ces épidémies, l'identité du parasite et la nature de l'hôte réservoir furent établis (*L. major*, *P. obesus*, *M. shawi*) (Belazzoug, 1983 et 1986)

Après 1986, d'autres foyers nouveaux ont émergé : Oued Souf (400 cas, 1994), Bordj Bou Arredj (1000 cas en 1995), Saida (500 cas en 1999), Djelfa (750 cas, 2002) ; Hassi Behbah, nouveau foyer avec près de 1000 cas en 2006 INSP.

En l'absence d'un véritable programme national de recherche et de lutte contre les

zoonoses, la liste de nouveaux foyers ne cessera malheureusement de s'allonger

III.4. Epidémiologie Générale :

III.4.1. Le parasite Leishmania :

Les parasites Leishmania dont il existe environ 17 espèces pathogènes chez l'homme sont des protozoaires flagellés appartenant à l'ordre des kinétoplastidés et à la famille des trypanosomatidés (**Dedet, 2009**).

III.4.1.1. Taxonomie :

La classification du genre Leishmania d'après Levine et al, (1980) est la suivante :

Règne :Protista (**Haeckel, 1866**)

Sous-règne :Protozoa (**Gold FUSS 1817 ET Enend Siebold 1848**)

Phylum :Sarcomastigophora (**Honigberg Et Balanuth, 1963**)

Sous-Phylum :Mastigophora (**Diesting, 1866**)

Classe :Zoomastigophora (**Calkins, 1999**)

Ordre :Kinetoplastida (**Honigberg 1963 et Enend Vickerman 1976**)

Sous-Ordre :Trypanosomastina (**Kent, 1880**)

Famille :Trypanosomatidea (**Doflein Enend, Grobben 1905**)

Genr : Leishmania (**Ross, 1903**)

Dans le genre Leishmania, on distingue deux sous-genres en fonction de leur site de développement chez le vecteur :

- Le sous-genre Leishmania : caractérisé par un développement supra pylorique (jonction intestin moyen-intestin postérieur du vecteur).

- Le sous-genre Viannia : caractérisé par un développement péri-pylorique (n'importe quel point de l'intestin).

La classification était autrefois établie sur des données cliniques et épidémiologiques, ainsi que sur les caractéristiques biologiques des parasites chez les animaux de laboratoire et chez les vecteurs , alors que la classification actuelle repose sur des critères intrinsèques non modifiés par des facteurs environnementaux, essentiellement l'électrophorèse des iso-enzymes . Grâce à cette technique, une vingtaine d'espèces ont été identifiées et regroupées dans des complexes distincts : infantum, donovani, tropica, aethiopica et major dans l'ancien monde mexicana, braziliensis et guyanensis dans le nouveau monde.

Cette technique biochimique a également permis de définir des zymodèmes qui constituent l'ensemble des souches présentant le même profil enzymatique.

III.4.1.2. Morphologie :

Les Leishmania se présentent chez leurs hôtes successifs (mammifères et insectes) sous deux stades morphologiques distincts : les amastigotes et les promastigotes

III.4.1.2.1. Forme amastigote :

Petit corpuscule arrondi ou ovalaire de 2 à 6 µm de diamètre possédant un noyau, un kinétoplaste et un flagelle interne. On l'observe chez l'homme et les mammifères vertébrés. Le cytoplasme renferme un volumineux noyau arrondi et un kinétoplaste bacilliforme très visible après coloration au M.G.G qui donne une couleur bleu azur au cytoplasme et rouge violet au kinétoplaste. A ce stade, les Leishmania sont immobiles et situées à l'intérieur des cellules du système de phagocytes mononuclés du vertébré mammifère. Cette forme se retrouve dans les histiocytes, macrophages et les cellules de Küpffer, au sein d'une vacuole parasitophore. On retrouve donc ces parasites dans la peau, les noeuds lymphatiques, les cellules souches de la moelle osseuse et divers organes tels que le foie ou la rate (**Nozais, 1999**)

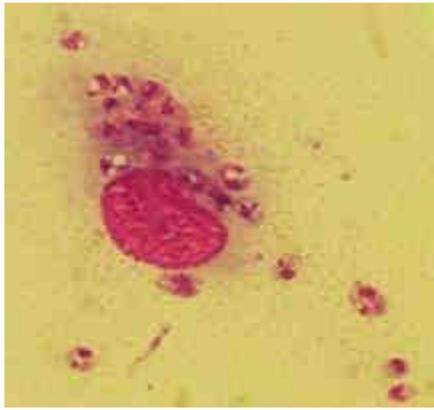
III 4.1.2.2. Forme promastigote :

Rencontré dans le tube digestif de la femelle phlébotome et dans les milieux de culture. Cette forme se présente sous l'aspect d'élément fusiforme mesurant entre 15 et 20 µm, avec un flagelle libre antérieur. Le noyau est approximativement central, le kinétoplaste est situé en position antérieure .

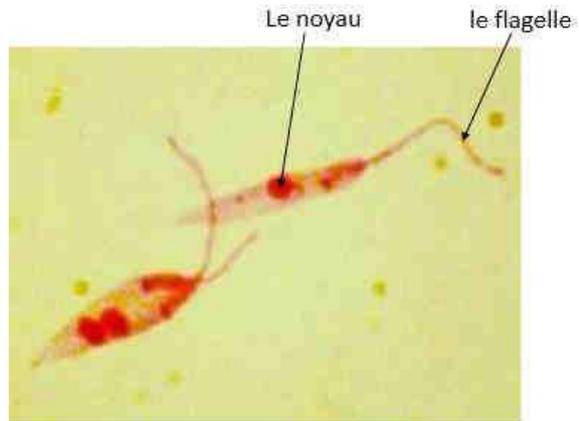
La coloration au Giemsa montre en Microscopie optique un cytoplasme bleu pâle, un noyau rouge violacé et un kinétoplaste en forme de bâtonnet de la même couleur ou parfois plus foncé que le noyau près duquel s'insère le flagelle (**Antoine et al., 1999**).

La paroi des leishmanies est constituée d'une membrane externe et d'une membrane interne et renferme des composants jouant un rôle important dans l'endocytose des parasites et dans les phénomènes immunologiques accompagnant les infections leishmaniennes.

(**Dedet, 2009**)



Forme amastigote

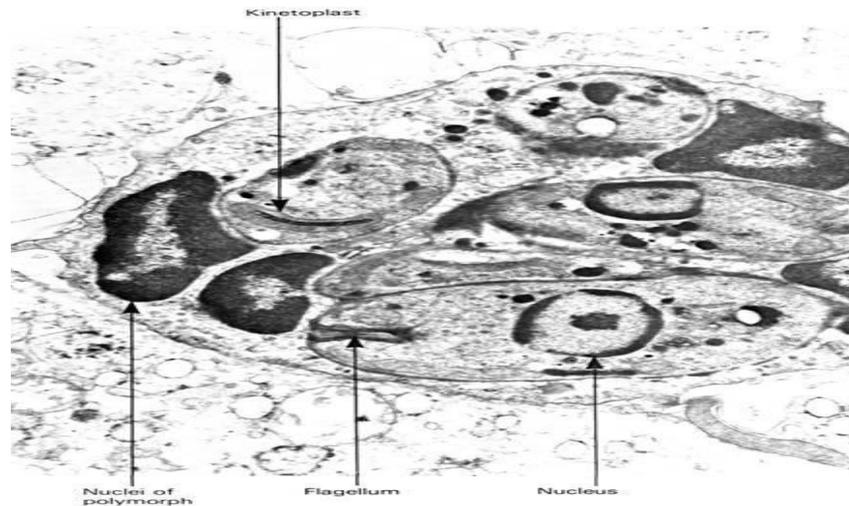


Forme promastigote

Figure 9: Les deux principaux stades morphologiques de *Leishmania*
(<http://www.parasitologie.univ-montp1.fr/leish2.htm>)

III.5.1.3 Ultra structure :

Les *Leishmania* sont des protozoaires relativement évolués chez lesquels on peut observer la plupart des organites caractéristiques des cellules eucaryotes supérieures. Comme chez toutes les trypanosomatidés, la membrane plasmique est bordée sur sa face interne par un corset des microtubules stables, arrangées en spirales et qui assurent le maintien de la forme cellulaires. Le flagelle qui émane de la partie antérieure des parasites est également riche en microtubules stables (fig.9). On note également la présence d'un organite caractéristique des kinétoplastidés, le kinétoplaste, une portion particulière de l'unique mitochondrie. Comme dans toutes les cellules eucaryotes complexes, on a pu identifier dans les *Leishmania*, de nombreux organites bordés par une membrane et participant soit à la biosynthèse des constituants parasitaires comme le réticulum endoplasmique rugueux, soit à la dégradation des composants parasitaires ou exogènes (organites de type lysosomal). A noter enfin la présence d'un autre organite caractéristique des kinétoplastidés : le glycosome. Ces compartiments sont de petites tailles, sphériques ou allongés au nombre de 10 à 15/cellules sont apparentées aux peroxysomes et aux glyoxysomes des cellules eucaryotes supérieures. Ils jouent un rôle important dans le métabolisme parasitaire (Killick-Kendrick, 1988).



<http://dna.kdna.ucla.edu/parasite>

Figure 10 : Ultrastructure de Leishmania.

III.4.1.4. Biologie :

Les leishmanies vivent au sein des macrophages, en particulier dans la lymphe dermique, les noeuds lymphatiques, la rate, le foie et la moelle osseuse. Pour leur métabolisme, les leishmanies utilisent les protéines des cellules-hôtes et leur ADN est synthétisé à partir des précurseurs de l'ARN de ces cellules.

Elles survivent à la phagocytose et à l'agression oxydative du macrophage et se multiplient par division binaire longitudinale. Cette multiplication peut engendrer la lyse du macrophage ; les parasites sont alors libérés puis phagocytés par d'autres macrophages. Ceci conduit à la diffusion des leishmanies dans l'organisme (**Bussieras et Chermette, 1992**)

III.4.1.4.1. Reproduction:

C'est principalement par reproduction asexuée que se multiplient les Leishmania. Les leishmanies se multiplient aux deux stades (promastigote et amastigote) par division binaire simple.

Toutefois, des échanges génétiques rares ont pu être observés et semblent participer de façon significative à la structuration des populations par l'apparition de nouveaux hybrides (**Akopyants, 2009**).

III.4.2. Le vecteur :

Les phlébotomes sont des diptères hématophages de petite taille (2 à 5mm) qui constituent au sein de la famille des Psychodidae (Bigot, 1845), la sous-famille des

Phlebotominae (**Kertész, 1904**), et renferme environ 700 espèces actuellement décrites (Tab.1). Ils sont les vecteurs exclusifs dans la transmission des leishmanioses, mais peuvent également transmettre à l'homme les arbovirus responsables du groupe des fièvres à phlébotomes, les toxanavirus et Bartonella bacilliformis, agent de la verruga péruvienne et de la fièvre d'Oroya (**Leger et Depaquit., 2001**).



Figure 11: Phlébotome femelle gorgé de sang

(ANOFEL 3)

Seule la femelle est hématophage, elle se nourrit sur les mammifères, les oiseaux, les reptiles, ou les batraciens. Certaines espèces sont très éclectiques, d'autres plus ou moins spécialisées dans l'exploitation d'un ou de plusieurs hôtes. Les espèces qui piquent l'homme sont généralement également zoophiles, ce qui explique le rôle des phlébotomes dans la transmission de ces zoonoses que sont les leishmanioses

III. 4.2.1. Taxonomie :

Les phlébotomes appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, classe des insectes, ordre des diptères, sous-ordre des Nématocères, familles des Psychodidae et à la sous-famille des Phlebotominae.

La classification des phlébotomes ne fait pas l'unanimité parmi les spécialistes. Selon la vision minimaliste essentiellement biogéographique et adoptée par commodité, la sous-famille des Phlebotominae comprend cinq genres : Phlebotomus et Sergentomyia pour

l'Ancien Monde et *Lutzomyia*, *Warileya* et *Brumptomyia* pour le Nouveau Monde (**Abonnencet Leger, 1976 ; Locksley et Louis, 1992**). Postérieurement, le genre *Chinius* est décrit par

Leng en 1987. Artemiev a proposé 24 genres, élevant certains sous-genres au rang de genres et créant de nouveaux. Leger et Depaquit (1999) en retiennent 13, en se basant sur des arguments morphologiques et biogéographiques.

Deux genres, *Phlebotomus* dans l'Ancien Monde et *Lutzomyia* dans le Nouveau Monde, présentent un intérêt médical. Dans l'Ancien Monde, le genre *Sergentomyia* comprend quelques espèces qui peuvent piquer l'Homme et dans certains cas incriminées dans la transmission des leishmanioses (**Leger et al., 1974**).

III.4.2.2. Bio-écologie et reproduction :

Le cycle de vie holométabole des phlébotomes comprend obligatoirement 4 stades : embryonnaire, larvaire, nymphal et imaginaire (fig. 12). La femelle prend un repas sanguin pour se procurer les éléments nutritifs nécessaires à la maturation de ses oeufs (**Euzeby, 1980**).

Chaque cycle gonotrophique se divise en trois phases : (1) recherche de l'hôte pour le repas sanguin, (2) digestion et maturation des oeufs et (3) l'oviposition. Ainsi, un cycle gonotrophique se déroule depuis le moment de l'absorption du sang jusqu'à l'oviposition. Après la ponte des oeufs, la femelle recommence un nouveau cycle et se met à la recherche de l'hôte. La copulation peut avoir lieu deux jours après émergence, avant ou après le repas de sang ; elle dure de 2 à 4 minutes et parfois plus longtemps). Entre 80 et 100 oeufs sont pondus un par un sur différents types de substrats dans des endroits humides qui constituent les gîtes larvaires. La durée entre la fin de la maturation des oeufs et la ponte, dans les conditions naturelles reste inconnue, cependant, la maturation des oeufs des femelles en élevages variait entre 4 à 8 jours pour certaines espèces tropicales (**Abonnenc, 1972**).

Les larves sont terricoles, sédentaires, saprophages et phytophages, leurs gîtes varient selon les espèces mais tous ces gîtes ont en commun de constituer des micro habitats caractérisés par des conditions constantes : lieux calmes, abrités de courants d'air, humides et sombres (**Rodhain et Perez, 1985**). Les 4 stades larvaires sont entrecoupés par des mues. La nymphe est fixée en position verticale par son extrémité postérieure et se trouve dans le même gîte que celui de la larve. Elle ne se nourrit pas et la durée des 4 stades larvaires successifs et du stade nymphal ultérieur est très variable en fonction des données climatique (repos

hivernal en pays tempéré).

Les habitats des phlébotomes adultes sont caractérisés par : le calme et la tranquillité, proximité d'hôtes vertébrés nécessaires au repas de sang de la femelle, l'existence de gîtes de ponte propices à la vie des larves. D'une manière générale l'activité des phlébotomes début le soir au crépuscule et durant la nuit (**Abonnenc, 1972**). L'attraction des phlébotomes vers l'homme semble dépendre de la production de CO₂ mais également de l'odeur (**Pinto et al., 2001**).

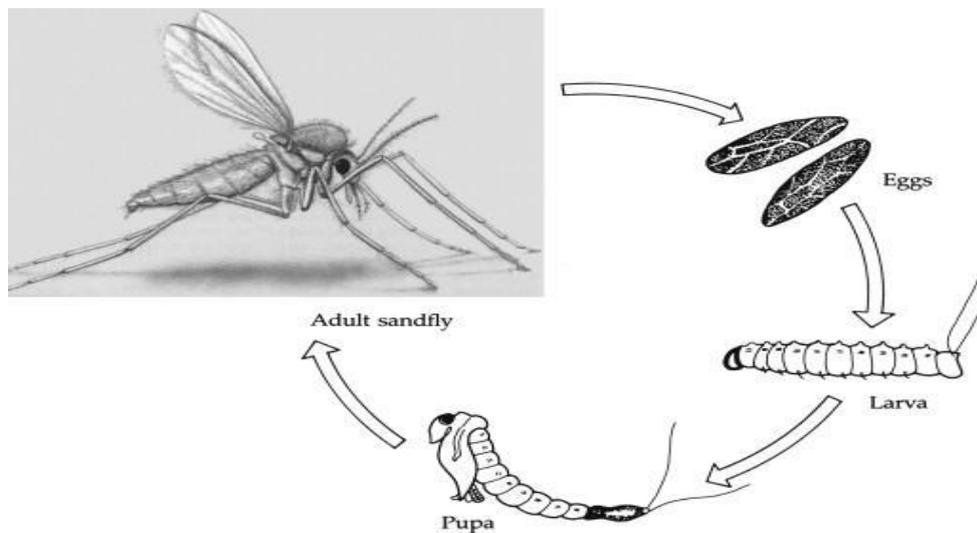


Figure 12: Cycle évolutif du *Phlebotomus* sp. (**Bogitsh Burton et al, 2013**)

III.4.2.3. Les phlébotomes d'Algérie :

Signalés pour la première fois en Algérie en 1912 par Foley et Leduc, les phlébotomes ont fait l'objet de très importants travaux menés à l'Institut Pasteur d'Algérie par les frères Sergent. Aujourd'hui 24 espèces sont connues en Algérie, 14 du genre *Phlebotomus* et 10 du genre *Sergentomyia*, La liste des espèces de phlébotomes d'Algérie est présentée dans le tableau 3.

Tableau 3 : Liste des espèces de phlébotomes représentées en Algérie

Sous-famille Phlebotominae	
Genre Phlebotomus	Genre Sergentomyia
Phlebotomus (phlebotomus) papatasi (Scopoli, 1786)	Sergentomyia (Sergentomyia) minuta parroti (Adler et Theodor, 1927)
Phlebotomus (Phlebotomus) bergeroti (Parrot, 1934)(*)	Sergentomyia (Sergentomyia) fallax (Parrot, 1921)
Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti (Parrot, 1917)	Sergentomyia (Sergentomyia) antennata (Newstead, 1912)
Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri (Sinton, 1928)	Sergentomyia (Sergentomyia) schwetzi (Adler, Theodor et Parrot, 1929) (*)
Phlebotomus (Paraphlebotomus) riouxi Depaquit, Killick-Kendrick & Léger, 1998	Sergentomyia (Parrotomyia) africana (Newstead, 1912)
Phlebotomus (Paraphlebotomus) chabaudi (Croset, Abonnenc et Rioux, 1970)	Sergentomyia (Parrotomyia) eremitis (Parrot et de Jolinière, 1945) (*)
Phlebotomus (Paraphlebotomus) kazeruni (Theodor et Mesghali, 1964) (**)	Sergentomyia (Grassomyia) dreyfussi (Parrot, 1933)
Phlebotomus (Larrousius) ariasi (Tonnoir, 1921)	Sergentomyia (Sintonius) clydei (Sinton, 1928)
Phlebotomus (Larrousius) chadlii (Rioux, Juminer et Gibily 1966)	Sergentomyia (Sintonius) christophersi (Sinton, 1927)
Phlebotomus (Larrousius) perniciosus (Newstead, 1911)	Sergentomyia (Sintonius) hirta (Parrot et de Jolinière, 1945) (*)
Phlebotomus (Larrousius) longicuspis (Nitzulescu, 1911)	
Phlebotomus (Larrousius) langeroni (Nitzulescu, 1930)	
Phlebotomus (Larrousius) perfiliewi (Parrot, 1930)	
Phlebotomus (transphlebotomus) mascittii	

(*) Espèces exclusivement localisées au Sahara central.

(**) Un spécimen rapporté de Mila (Nord-est Algérien) par **Berchi et al, (1986)**

Récemment *Phlebotomus (transphlebotomus) mascittii* a été rapportée en Kabylie (**Berdjane-Brouk et al., 2011**).

III.4.3. Biologie :

Les leishmanies vivent au sein des macrophages, en particulier dans la lymphe dermique, les noeuds lymphatiques, la rate, le foie et la moelle osseuse. Elles sont rencontrées dans les monocytes sanguins. Elles survivent à la phagocytose et à l'agression oxydative du macrophage. Se multiplient à l'intérieur des macrophages. Cette multiplication peut engendrer la lyse du macrophage : les parasites sont alors libérés puis phagocytés par d'autres macrophages. Ceci conduit à la diffusion des leishmanies dans l'organisme (**Bussiéras et al., 1992 ; Slappendel et al., 1998**).

III.4.3.1. Le cycle biologique :

La transmission du parasite se fait exclusivement par piqûre de phlébotomes femelles. Par ailleurs les cas de contamination humaine à partir d'aiguilles souillées utilisées par les toxicomanes ont été rapportés (Cruz, 2002). Le phlébotome ingère des phagocytes infestés par les leishmanies lors d'un repas sanguin. Ces cellules sont dégradées dans le tube digestif de l'insecte et les formes amastigotes se transforment en 12 à 18 heures en formes flagellées. La multiplication des promastigotes à l'intérieur de l'intestin du vecteur varie en fonction de l'espèce (fig. 13).

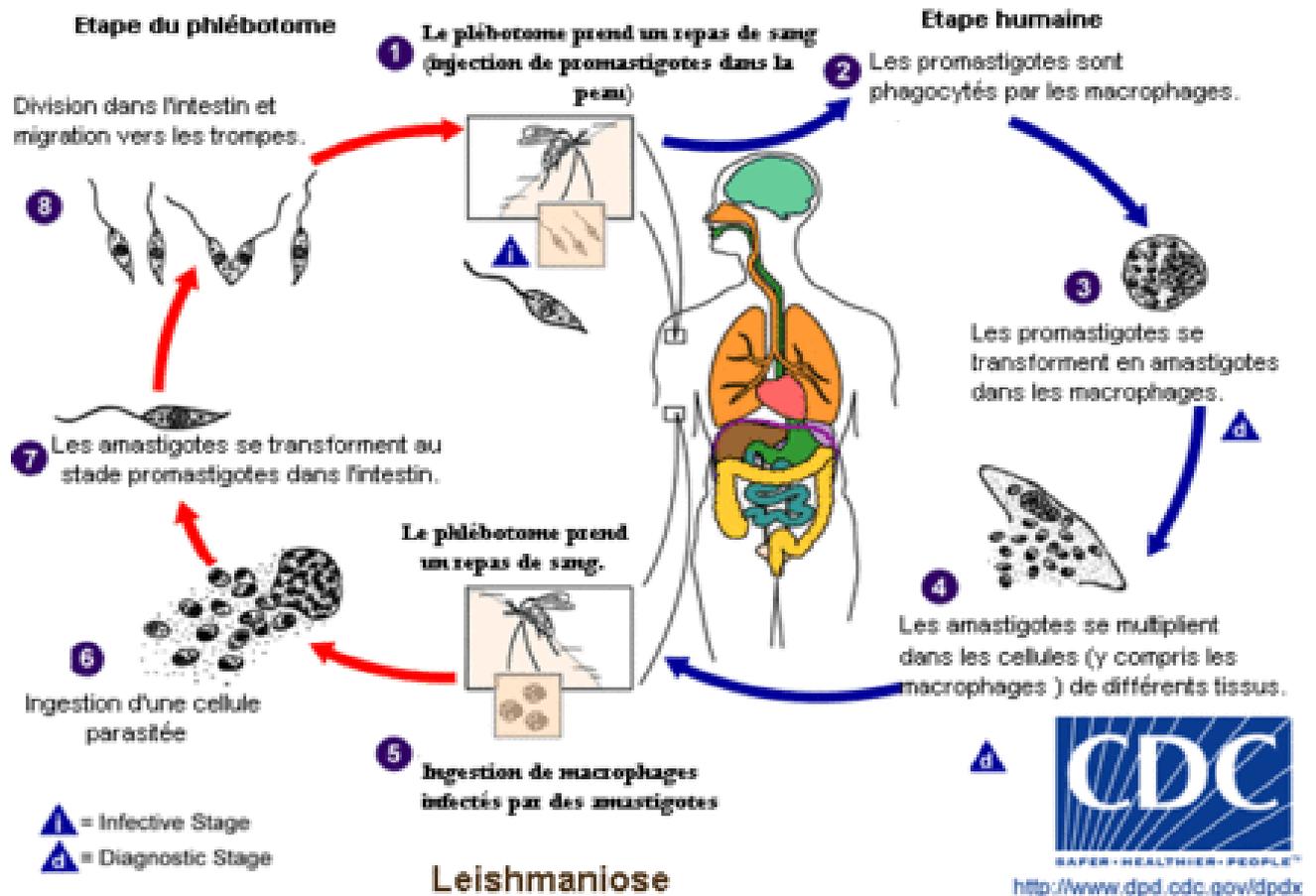


Figure 13 : Cycle de vie et transmission de la leishmaniose (www.dpd.cdc.gov/dpdx)

Le cycle de la leishmaniose est hétérozoïque et comporte deux phases :

- Phase intracellulaire chez l'hôte mammifère.
- Phase extracellulaire chez l'insecte.

Après un repas sanguin sur un mammifère infecté le phlébotome femelle ingère les leishmanies sous leur forme amastigote et les transforme après plusieurs cycles de multiplication et de maturation dans le tube digestif en promastigotes métacycliques infectantes au bout de 5 à 7 jours.

Ce phénomène est appelé la métacyclogénèse qui consiste en l'acquisition à la surface des promastigotes de deux protéines la Glycoprotéine 63 (GP63) et le Lipophosphoglycane (LPG) membranaires et s'accompagne de la migration des parasites vers les parties antérieures du tube digestif de phlébotome.

Lors d'un repas sanguin ultérieur, le vecteur transmet à l'homme par régurgitation les promastigotes métacycliques infectantes avec la salive. Grâce aux deux protéines membranaires, la forme promastigote métacyclique infectante inoculée se fixe sur les

récepteurs macrophagiques, perd son flagelle et pénètre dans le macrophage pour se transformer en formes amastigotes.

Ces dernières vivent dans des vacuoles parasitophores, formées par la membrane du macrophage, protégées des moyens de défense de l'hôte où elles se multiplient par scissiparité.

Une fois, les macrophages bourrés, ils éclatent libérant les amastigotes qui infectent à leur tour d'autres macrophages sains.

Lors d'un repas sanguin sur un hôte parasité, le phlébotome femelle ingère les amastigotes et le cycle reprend.

III.5. Distribution géographique des leishmanioses :

III.5.1. Dans le monde :

Largement répandues à la surface du globe, les leishmanioses connaissent une aire géographique circumterrestre, globalement intertropicale, mais débordant fortement sur des zones tempérées d'Afrique du Nord, du Sud de l'Europe et de l'Asie (Dedet, 2001).

Les foyers de leishmaniose sont nombreux et dispersés. D'après leur distribution géographique on distingue deux grandes situations géographiques, l'Ancien monde (Sud de l'Europe, Afrique, Proche-Orient et Asie) et le Nouveau monde (Amériques du Nord, du Sud et Centrale)

-Les foyers de l'ancien Monde sont le foyer indien qui comprend l'Inde, le Pakistan, le Bengladesh, le Sri Lanka, la Birmanie accessoirement l'Indochine et l'Indonésie,
- le foyer méditerranéen qui concerne les pays du pourtour du bassin méditerranéen.

-Le foyer chinois s'étend au Nord-Est de ce pays. Il s'agit surtout de Kala-azar.

- Le foyer d'Asie centrale recouvre l'Anatolie, les plateaux iraniens, l'Afghanistan, l'Asie centrale et méridionale russe. Les formes cutanées y prédominent

- Le foyer d'Afrique tropicale est plus important qu'on ne le pensait : des leishmanioses viscérales ou cutanées ont été rapportées en Afrique centrale, sur les rives du lac Tchad, au Congo, en Afrique orientale (Soudan, Ethiopie, Kenya, République de Djibouti) et en Afrique occidentale (Sénégal, Mali).

Dans le nouveau monde, coexistent des espèces à aire de distribution restreinte comme *L. peruviana* (Pérou), *L. mexicana* (Sud du Mexique et Amérique centrale). Des espèces à aire plus étendue telles *L. guyanensis* (Nord du bassin amazonien), *L. panamensis* (Colombie et

Amérique centrale) et des espèces à répartition très vaste comme *L. braziliensis* qui s'étend du Nord de l'Argentine au Sud du Mexique (OMS, 1990 ; Gentilini, 1972).

III.5.2.les leishmanioses en Algérie :

En Algérie, deux formes cliniques de leishmanioses sévissent à l'état endémique (1) la leishmaniose viscérale due à *L. infantum*, qui a pour réservoir principal, le chien; (2) les leishmanioses cutanées qui sont dues à trois espèces de leishmanies :

- L. infantum*, responsable de la leishmaniose cutanée du nord encore appelée leishmaniose cutanée sporadique qui a pour réservoir le chien (Benikhlef et al., 2004),
- L. major* responsable de la leishmaniose cutanée zoonotique qui a pour réservoir des rongeurs sauvages *P. obesus* et *M. shawi* (Rongeur, Gerbillidés) (Belazzoug, 1983 et 1986).
- L. killicki* responsable de la leishmaniose cutanée anthroponotique (Harrat et al., 2009).

III.5.2.1 La Leishmaniose cutanée zoonotique :

Appelée également « clou de Biskra », on la retrouve à l'étage bioclimatique aride et semi-aride. Elle sévit à l'état endémo épidémique dans les régions steppiques des Hauts plateaux. Cette zoonose connaît actuellement une recrudescence et une extension géographique inquiétantes. Les foyers les plus classiques sont ceux de Biskra, M'sila et Batna. Ils constituent à eux seuls près de 70 % des cas déclarés dans le pays. En 2005, environ 31000 cas ont été recensés. L'affection s'est déclarée dans de nouvelles régions auparavant indemnes, telles que Saida, Ouargla et Médéa. La mise en valeur des terres agricoles et l'afflux de sujets neufs dans les régions à risque a favorisé l'apparition de nouveaux foyers. L'affection se caractérise chez l'homme par des lésions ulcéro-croûteuses généralement surinfectées recouvertes d'une croûte épaisse qui adhère fortement au fond sanieux de l'ulcère. Ces boutons apparaissent aux parties du corps exposées aux piqûres du phlébotome femelle (Fig. 11).

Elles évoluent entre six mois et un an et guérissent spontanément en laissant une cicatrice indélébile et une immunité protectrice durable.

L'évolution spatiotemporelle de la maladie a connu des fluctuations avec des épidémies qui apparaissent plus ou moins de façon régulière tous les quatre à cinq ans (Boudrissa, 2005). Ces flambées sont directement liées aux conditions climatiques

Environnementales et activités humaines. Les pics épidémiques coïncident généralement avec la prolifération des rongeurs gerbillidés et l'augmentation de la densité du vecteur.

- L'agent pathogène : correspond à *L. major* Zymodème MON-25.

-Le Vecteur : *P. papatasi* est le principal vecteur de cette forme.

- Le réservoir : Il est représenté essentiellement par deux espèces sauvages de rongeurs gerbillidés : *P. obesus* et *M. shawi*.



Figure 14 : Aspect de quelques lésions de la leishmaniose cutanée zoonotique

III.5.2.1.1. Formes cutanée sporadique à *L. infantum* :

Elle est synonyme de la leishmaniose cutanée du Nord (Belazzoug et al., 1985). Elle est caractérisée par des lésions cutanées localisées au site d'inoculation du parasite par le phlébotome ; elles siègent de préférence sur les parties découvertes du corps. La lésion typique est un nodule inflammatoire mal délimité d'environ un centimètre de diamètre, bordé d'un bourrelet périphérique riche en parasites.

Les variant enzymatiques de *L. infantum* responsables de la forme cutanée du nord sont : les zymodèmes MON-24, MON-80 et MON-1. Les vecteurs prouvés sont *P. perfiliewi* et *P. perniciosus*, (Izri et al., 1990, Izri et al., 1992).

III.6.2.2. La leishmaniose cutanée chronique :

C'est une forme récemment décrite à Ghardaïa, elle sévit de façon endémique et coexiste avec la LCZ à *L. major* dans le même foyer. L'agent causal est *L. killicki* et le vecteur prouvé est *P. sergenti* (Harrat et al., 2009 ; Boubidi et al., 2011). Le réservoir suspecté est *Massoutierra mzabi* rongeur assez abondant dans les collines entourant la vallée du M'zab.

III.6. Co-infection VIH/Leishmania :

La co-infection *Leishmania*/VIH est une maladie émergente extrêmement grave et de plus en plus fréquente contre laquelle il faut agir de toute urgence, avec toutes les conséquences que cela implique en clinique, au niveau du diagnostic et de la chimiothérapie, et sur le plan épidémiologique et économique. Même avec un traitement correct, les malades atteints des deux infections à la fois font des rechutes à répétition et l'issue est souvent fatale. Ces deux affections conjuguées provoquent une double immunodéficience car les leishmanies et le VIH détruisent les mêmes cellules, de sorte que la gravité de la maladie et ses conséquences augmentent de façon exponentielle. La LV est considérée comme un facteur majeur de décès chez les sujets co-infectés. Toutefois, l'utilisation de la trithérapie, lorsque les malades y ont accès, a amélioré le pronostic pour les cas de co-infection. (OMS, 2000)

III.7. Formes cliniques des leishmanioses :

III.7.1 La leishmaniose viscérale (LV) :

Appelée également kala azar c'est la forme la plus grave de la maladie, avec une mortalité de presque 100% en l'absence de traitement. Elle se caractérise par des poussées de fièvre irrégulière, une perte de poids importante, une hépato-splénomégalie (augmentation du volume de la rate et du foie) et de l'anémie. Il existe deux formes cliniques de leishmaniose viscérale : la LV infantile et la LV de l'adulte, l'agent causal étant *Leishmania infantum*.

III.8.2. La leishmaniose cutanée (LC) :

En général, les caractéristiques cliniques de la leishmaniose cutanée ne sont pas uniformes dans toutes les régions ni même à l'intérieur d'une région donnée, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire ou aux types zoonotiques en cause. La lésion classique débute sous forme d'un nodule au point d'inoculation. Une croûte se forme au centre et, si elle est arrachée, elle révèle une ulcération qui évolue vers la guérison au prix d'une cicatrice profonde présentant une altération de la pigmentation. Les nodules satellites au bord de la lésion sont caractéristiques (Mihoubi, 2006). Il existe deux formes distinctes de la

LC : la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ), appelé aussi « clou de Biskra » et la leishmaniose cutanée du nord (LCN), connue sous l'appellation de « clou de Mila). Elles admettent, respectivement, comme agent causal *L. major* et *L. infantum* (Harrat et al., 1996) et aussi *L. tropica*. L'Algérie, comme d'autres pays méditerranéens, est fortement concernée par ces zoonoses qui sont classées dans notre pays parmi les maladies à déclaration obligatoire (Harrat et al., 1995) De part sa situation géographique bioclimatiques (Stewart, 1974), caractérisée par plusieurs étages allant du climat méditerranéen au nord au climat saharien au sud, en passant par de vastes zones semi arides et arides, et d'autre part, par sa forte population rurale, présente un terrain favorable à l'émergence de plusieurs formes cliniques de la maladie. En Algérie, les espèces responsables des deux formes cliniques de leishmaniose appartiennent à deux complexes distincts : le complexe *L. infantum* et le complexe *L. major*.

III.7.3. La leishmaniose cutanée diffuse (LCD) :

Cette forme produit des lésions cutanées étendues nodulaires, non ulcérées, pseudolépromateuses, anergiques et particulièrement difficiles à traiter. Cette forme de la maladie est attribuée aux espèces *L. aethiopica* et *L. amazonensis*.

III.7.4. La leishmaniose cutanée-muqueuse (LCM) :

Limitée géographiquement au continent sud-américain, la LCM, appelée Espundia, est due à *L. braziliensis* (Mihoubi, 2006). C'est une atteinte cutanée initiale classique, puis 1 à 40 ans plus tard, apparaissent des métastases muqueuses de la sphère ORL (nez, bouche), entraînant une perforation de la cloison nasale (Sacks et al., 2001).

III.7.5. La leishmaniose canine :

La leishmaniose canine est une atteinte assez commune du chien dans des foyers où sévit la leishmaniose viscérale humaine. Des études portant sur des chiens soumis à des conditions d'infestation en milieu naturel ont permis de démontrer que l'affection débute par un chancre d'inoculation, surviennent ensuite des lésions qui peuvent apparaître après 1 à 6 mois d'incubation (Kilicki, 1999).

III.8.Le diagnostic des leishmanioses :

L'examen le plus spécifique pour le diagnostic de la leishmaniose est la mise en évidence du parasite par l'examen direct. Les amastigotes sont observés libre ou intracellulaires dans les monocytes, macrophages et neutrophiles. Plusieurs types de prélèvement peuvent être effectués : grattage des lésions, biopsie ou ponction d'organes du système des phagocytes mononucléés tels que la moelle osseuse, la rate.

La culture est indispensable pour rendre plus sensible le diagnostic parasitologique, d'identifier précisément le parasite grâce à l'étude du profil enzymatique et du génotypage et de tester éventuellement la sensibilité des souches isolées aux médicaments utilisées.

Pour la culture on utilise classiquement le milieu NNN milieu diphasique avec une phase solide faite d'un culot de gélose salée avec 10% de sang de lapin défibriné et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose au sang ; c'est dans cette phase liquide que se développent les promastigotes.

D'autres milieux plus riches sont utilisés pour l'isolement de souches de Leishmania, milieu RPMI 1640 supplémenté de sérum de veau foetal, milieu de Schneider, milieu d'Evans...etc. L'incubation se déroule entre 24°C et 27°C.

III.8.1. Recherche de l'ADN parasitaire :

Les techniques basées sur la PCR qui sont actuellement les plus utilisées. En effet leurs avantages résident dans leur très grande sensibilité et leur spécificité théoriquement quasi absolue. En outre, elles permettent de détecter l'ADN parasitaire dans des échantillons ou des cultures contaminées par des bactéries ou des champignons, elles assurent un résultat rapide, et offrent la possibilité de réaliser, sur le même échantillon, une identification de l'espèce de Leishmania en cause.

III.8.2. Le diagnostic sérologique :

La sérologie est très utilisée dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale et a un intérêt limité dans le diagnostic de la leishmaniose cutanée ; Parmi les techniques sérologiques, l'immunofluorescence indirecte est considérée comme la méthode sérologique de référence, d'autres techniques utilisant des antigènes figurés peuvent être utilisés comme le test d'agglutination direct.

III.9.Traitement :

Le traitement des leishmanioses est dominé, depuis le début du siècle, par les dérivés antimoniés pentavalents qui demeurent encore de nos jours les médicaments de première intention dans plusieurs pays endémiques, vu leur toxicité et l'émergence de souches résistantes, l'amphotéricine B (Fungizone) est de plus en plus utilisée, particulièrement pour la forme liposomale (Ambisome). Diverses molécules font l'objet d'essais thérapeutiques, des formulations particulières ou des associations nouvelles sont en cours d'expérimentation clinique (Croft, 2006).

Le traitement de la LC est indiqué en cas de lésions multiples unique et fait appel aux dérivés pentavalents de l'antimoine. De nombreux moyens physiques ont été proposés tel que la cryothérapie. Les infiltrations péri-lésionnelles d'antimoniées associées à la cryothérapie représentent le mode de traitement local le plus pratiqué. Le traitement général par antimoniés est indiqué dans les formes à lésions multiples (OMS, 2010).

Un nouveau médicament à base de paromomoycine et de Gentamycine testé en Tunisie semble avoir donné des résultats très prometteurs (Ben Salah et al., 2013).

III.9.1.Vaccination :

Pour l'instant, le seul mode de vaccination contre la leishmaniose ayant démontré son efficacité consiste en l'inoculation de parasites virulents, technique appelée leishmanisation. Cependant, l'OMS ne recommande pas cette stratégie de manière courante pour des raisons évidentes (problèmes logistiques, difficultés de maintenir la virulence du parasite, risques de lésions induites inacceptables dans certaines circonstances...etc.). Son utilisation est limitée à quelques pays comme l'Ouzbékistan, l'Iran.

L'OMS participe aussi au développement d'une stratégie vaccinale : certains vaccins ont montré leur immunogénicité et leur sécurité, mais une protection durable n'a pas été démontrée pour l'instant (Kedzierski et al., 2006 ; Derancourt et Bolac, 2007).

Le seul vaccin contre la leishmaniose commercialisé en Europe est le vaccin contre la leishmaniose canine (CaniLeish), mais qui reste très onéreux pour son utilisation à grande échelle.

III.9.2. Prophylaxie :

Elle consiste à protéger la population vivant en zone d'endémie du risque d'attraper la leishmaniose. Plusieurs actions peuvent être menées.

III.9.2.1. Lutte antivectorielle :

Elle consiste à lutter contre les phlébotomes, vecteurs de la maladie, par :

III.9.2.1.1. Lutte physique :

L'obturation des fissures des murs des vieilles maisons, élimination des ordures autour des maisons. Elimination des amas de pierres.

III.9.2.1.2. La lutte chimique :

Elle consiste à éliminer les phlébotomes par l'utilisation des insecticides à l'intérieur et au pourtour des maisons.

III.9.2.2. La lutte contre le réservoir :

Elle consiste en la destruction des terriers de rongeurs réservoirs ou leur empoisonnement, les chiens qui sont le réservoir de la forme viscérale seront systématiquement éliminés s'ils sont malades.

Dans le cas de la LCZ, la lutte physique a l'avantage d'agir simultanément sur le vecteur et le réservoir (Cherif et al., 2012). Elle englobe les actions suivantes :

- enlèvement des plantes chénopodiacées, nourriture exclusive du rongeur réservoir principal de la maladie, *P. obesus*, qui construit son terrier sous ces arbustes. Cette action doit toucher uniquement le périmètre proche des habitations pour créer une zone tampon de 300 m autour des hameaux (Shaden, 2003).
- éradication des dépotoirs sauvages (déchets organiques et inertes) entreposés dans l'espace péri domiciliaire, car ces derniers sont souvent colonisés par les phlébotomes et les rongeurs, leur coexistence simultanée dans la même niche écologique constituant un véritable microfoyer de la maladie (Izri, 2006).
- les chénopodiacées arrachées sont substituées par d'autres espèces de plantes utiles, supportant le climat aride et saharien telles, *Acacia* sp. Et *Olea europaea* (olivier). L'opération d'arrachage doit être renouvelée annuellement. Les arbres plantés à la place des chénopodiacées formeront un écran vert qui jouera un rempart contre l'ensablement, phénomène fréquent dans les zones steppiques

III.9.3. La prophylaxie individuelle :

Les personnes se rendant en zone d'endémie ou les habitants vivants dans ces régions, peuvent se protéger, par l'utilisation de bombes insecticides (pulvérisateur), ou des diffuseurs à l'aide de pastilles imbibées d'un répulsif.

Ils peuvent également utiliser les moustiquaires pour se protéger des piqûres des phlébotomes.

III.9.4. Lutte intégrée :

Dans la plupart des cas, il n'existe aucune mesure efficace qui permette, à elle seule, de réduire la transmission. Le plus souvent, il faut associer diverses méthodes, traitement des malades, la lutte antivectorielle, et la destruction des hôtes réservoirs, l'aménagement de l'environnement et la protection individuel

Quatrième chapitre

I. Matériels et Méthodes :

Cette étude est réalisée au niveau du laboratoire d' université dr Moulay-Tahar Saida Faculté des Sciences Département de Biologie. menée avec l'extrait de les feuilles de de l'armoise blanche vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie, ayant comme objectifs d'étudier l'activité anti-leishmanienne d'artimisia herba-alba dont elle pourrait être dotée.

I.1 Objectif :

C'est l'étude de l'évaluation de l'activité anti-leishmanienne d'extrait de la plante Artemisia Herba Alba « CHIH » (feuilles).

Partie 1 :

I.1.1 Le choix de la plante :

L'artémisia herba alba (Armoise blanche) a été choisie comme support naturel en vue de tester son effet anti-leishmanienne

En effet, Parmi tant d'autres cette plante a été utilisé par la population des régions steppiques à des fins médicinales pour lutter contre les diarrhées, les vomissements, certaines formes d'intoxication, et même utilisé pour améliorer la saveur du café.

I.1.2 Localisation géographique de la station d'étude :

La récolte de la plante de Artémisia herba alba a été effectué dans la région de Stitten situé à le sud d'El Bayadh, très reconnue par son climat qui est aride et froid (carte googleMap, ci-dessous)

I.1.3 Carte de la région de la Wilaya d'EL-BAYADH :

Latitude	33° 40' 59 N
Longitude	1° 1' 9 E



Figure 15 : Carte de la région de la Wilaya d'EL-BAYADH

I.1.4 La Récolte de la matière végétale :

La récolte a été faite sans souci cette année (2019) à partir du début du Mois de mars où cette plante a poussé en abondance dans la région.

Après cueillette d'une quantité suffisante pour les analyses, les échantillons ont été séchés dans un étuve



Figure16 : séchage de la plante dans l'étuve dans laboratoire d'université

Après un séchage de 7 jours les feuilles sont broyées jusqu'à obtention d'une poudre de couleur vert foncé ensuite conservée dans des boites hermétique en plastiques, pour qu'elle soit utilisée ultérieurement pour l'extraction (les feuilles séchées et non broyées).



Figure 17: Artemisia herba alba cueillie de la région de Stitten (wilaya d'Elbayadh)

Partie 2 :

II.1.les matérielles utilisé :

- 1. des béchers -2. des agitateurs magnétiques -3. Barreau aimanté -4. Erlenmeyer
- 5. papier filtre -6. Entonnoir -7.eau distillé -8. verre de montre -9.mortier et pilon
- 10.pisette -11.balance -12.flacon -13.étuve -14 cristallisoir
- 15.cuillère

II.2. L'extraction :

II.2.1 Extraction par macération :

On a procédé d'abord au broyage et tamisage de la plante ce qui nous a donné une poudre qui nous permis d'avoir une plus grande surface de contact avec l'eau, permettant d'améliorer le rendement à l'extraction..



Figure 18 : Broyage manuel de la plante

II.2.1.1 protocole de macération :

La première étape on utilise 10 grammes de poudre de feuilles et on ajoute 100 ml d'eau distillé on met le mélange sur un agitateur pendant 24h, puis on filtre avec du papier filtre.



Figure19 :le mélange de macération

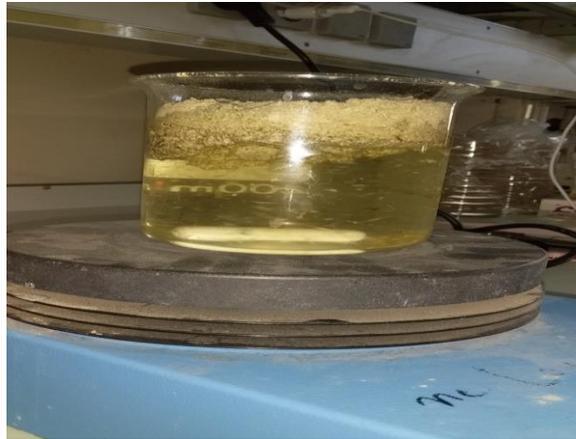


Figure20 : filtration de mélange

Et la 2ème étape c'est le séchage pour calculer le rendement :

On prend 1/3 de la quantité d'extrait liquide par macération et on la sèche dans l'étuve :

La quantité totale de l'extrait aqueux par macération c'est : 180g poudre+1800ML → 920ML après filtration ;on a utilisé 230ml d'extrait et on le met dans un cristalliseur dans l'étuve pour sécher.

Pour calculer le rendement il faut peser le cristalliseur avant d'ajouter l'extrait et après.

Enfin ;après séchage nous pesons le cristalliseur pour obtenir la quantité sec de l'extrait.

-Le poid de cristalliseur avant d'ajouter l'extraite est 147.95g et avec l'extrait liquide est 309.24g



Figure21 : l'extrait de macération avant séchage



Figure22 : l'extrait de macération après séchage

II.2.2 Extraction par décoction :

II.2.2.1. Le protocole de décoction :

La première étape : on utilise 10 grammes de poudre de feuilles et on ajoute 100 ml d'eau distillé on met le mélange sur un agitateur pendant 1h30min avec température de 100°, puis on filtre avec du papier filtre.

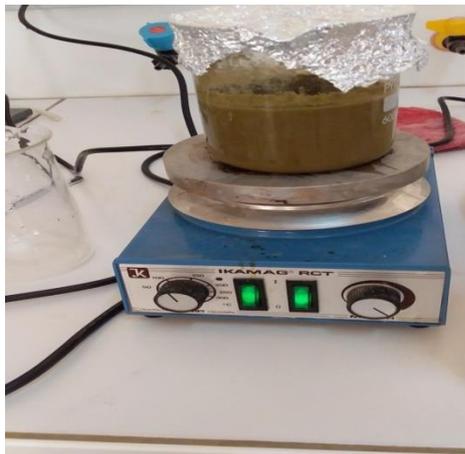


Figure23 : le mélange de décoction



Figure24 : filtration de mélange

Et la 2ème étape c'est le séchage pour calculer le rendement :

Nous prenons 1/3 la quantité de l'extrait liquide par décoction et on la sèche dans l'étuve :

La quantité totale de l'extrait aqueux par décoction est : 225g poudre + 2L et 250ML → 960ML après filtration ; on prend 230ml d'extrait et on la met dans un cristalliseur et entrez le dans l'étuve pour sécher.

Pour calculer le rendement il faut peser le cristalliseur avant d'ajouter l'extrait et après.

Enfin ; après séchage nous pesons le cristalliseur pour obtenir la quantité sec de l'extrait.

-Le poids de cristalliseur avant d'ajouter l'extrait c'est 147.95g et avec l'extrait liquide c'est 309.24g



Figure 25 : le poids de cristalliseur vide



Figure 26 : l'extrait de décoction après séchage

II.2.3 Extraction par soxhlet :

II.2.3.1. les matériels utilisés :

1. Chauffe ballon
2. ballon a col rodé
3. retour de distillation (tube d'adduction)
4. corps en verre
5. filtre
6. haut du siphon
7. sortie du siphon
8. adaptateur d'expansion
9. condenseur
10. sortie de l'eau de refroidissement
11. entrée de l'eau de refroidissement
12. réfrigérant
13. Cartouche

II.2.3.2. le protocole de soxhlet : on prend 10 grammes de poudre de feuille et 100 ml d'eau distillé et laissez a fini 2 cycle.



Figure27 :montage de soxhlet

Nous prenons 20 grammes de poudre et la mettons dans la cartouche et mettons le cartouche dans le corps en verre et mettons 200ml d'eau distillée

Le début de 1^{er} cycle a 09 :20h jusqu'a 10 :50h et la 2^{ème} cycle 10 :50h jusqu'à 11 :12h

La 2^{ème} foi nous prenons la même quantité le début de 1^{er} cycle 11 :42h jusqu'a 12 :58h

Et la 2^{ème} cycle 12 :58h jusqu'à 13 :20h

II.2.4-L'extraction d'huile essensiel de armoise blanche (hydrodistillation) :

II.2.4-1 :Materiels utilisé :

1-chauffe ballon 2-ballon 500ml 3-refrégerant 4-ampoule à décompter
 5-pierre pance 6-becher 7-support 8-l'eau distillé
 9-les feuilles de l'armoise blanche 10-eter de pétrol

II.2.4-2-Le protocole de l'hydrodistillation :

On a utilisé 10grammes de feuilles sèches dans 100ml de l'eau distillé pendant 2h à une température maximale en ajoutant quelque gouttes de l'étert de pétrole.. on a répété cette opération plusieurs fois



Figure28 :le protocole d'hydrodistillation

III.Préparation des milieux :

III.1-Milieu NNN :(Novy,Mc Neal, Nicolle)

-composition :

Bacto-agar-difco.....10g

Nacl...6g

Eau distillée....1L

Sang de lapin.....1 ml/tube

-Préparation de la gélose :

Mettre le chlorure de sodium(Nacl) dans l'eau froide et chauffer sur un agitateur magnétique .

Quand l'eau frémit ,ajouter le Bacto-agar et remuer avec un agitateur magnétique jusqu'à dissolution complète .

Laisser bouillir 5 minutes .

-Répartir en tubes à vis à raison de 8 ml de gélose par tube



Figure 29 :Les différentes étapes de la préparation de gélose .

-L'autoclavage à 120°C pendant 20 min

-Conserver les tubes à +4°C

-Prélever du sang de lapin (adulte et en bonne santé) par ponction cardiaque

-Placer l'animal sur le dos

-Stériliser la peau à l'alcool iodé

-Repérer la zone de forts battements cardiaques et piquer l'aiguille

-Enfoncer en inclinant à 30°C environ

-Lorsque le sang arrive , aspirer lentement sans bouger la seringue

-Retirer l'aiguille d'un seul coup après avoir fonctionné 40 ml de sang

-Refouler immédiatement le sang devant une flamme , dans un flacon stérile contenant 3 ml de citrate de sodium à 10 % et 250 000 U de pénicilline

-bien agiter le flacon d'un mouvement circulaire pour mélanger l'anticoagulant au sang

-Conserver le sang à +4°C

-Mélanger le sang de lapin et la gélose :

-Placer les tubes de gélose dans un bain marie et chauffer pour faire fondre la gélose

-Laisser refroidir jusqu'à 45°C et ajouter 1 ml de sang par tube

-Agiter sans faire des bulles

-Incline sur un portoir et laisser refroidir



Figure 30 :les tubes sur plan incliné

-Placer ensuite à l'étuve à 37°C pendant 24h pour contrôle de stérilité et exsudation de l'eau.



Figure 31 :L'incubation des milieux à 37°C

-Conserver le milieu au réfrigérateur à +4°C pendant un mois au maximum

-Le milieu NNN ainsi préparé est biphasique , la phase solide est représentée par le mélange solidifié à température ambiante et celle de liquide ,où vont se multiplier les leishmanies correspond aux quelques gouttes condensées lors du refroidissement du milieu

III.2-Milieu à base de blanc d'œuf :(Bachi,2001)

-Composition :

- 04 blancs d'œuf

-300 microlitres d'urine

-Pénicilline à 250 000 UI

-Préparation :

-Mettre les blancs d'œuf dans un erlenmeyer avec 250 000 UI de pénicilline et 300µl d'urine filtrée non contaminée



Figure 32 :les différents constituants du milieu Bachi

-Soumettre ce mélange à une agitation magnétique pendant quelques minutes jusqu'à homogénéisation,

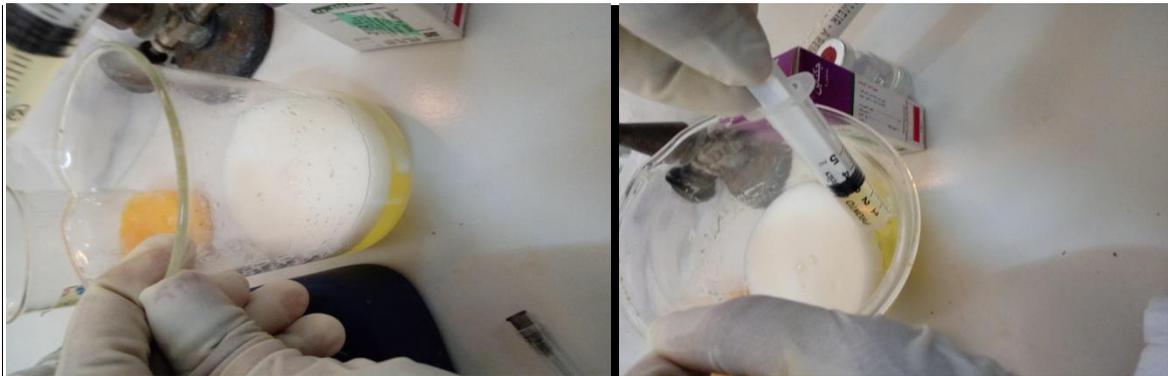


Figure 33 : Homogénéisation de mélange

-Répartir le mélange dans des tubes à vis stérile à raison de 3 ml par tube



Figure 34 : Répartition de mélange dans des tubes à vis

-Réaliser la coagulation dans un bain-marie bouillant en plan incliné

-Conserver le milieu à + 4°C.

III.3-Milieu Harrat :

-Il est constitué uniquement de sérum de lapin. Le sang de lapin est recueilli stérilement par ponction cardiaque dans un récipient contenant 250 000 unités de pénicilline G. On laisse décanter une nuit à la température ambiante .Le sérum est ensuite réparti dans des tubes à vis stériles à raison de 3 ml par tube . Les tubes sont mis, inclinés, dans une casserole d'eau. Après chauffage de quelques minutes, le sérum se coagule. Les tubes sont mis à refroidir puis stockés à +4°C ; ils sont alors prêts à l'emploi. Au moment de l'ensemencement, ajouter quelques gouttes d'eau physiologique à 9 pour 1000 stérile. Le milieu peut se conserver jusqu'à trois mois. Le milieu NNN utilisé en comparaison emploie du sang total de lapin.

III -4 :Evaluation in vitro de l'activité anti-leishmanienne de l'Artemisia herba alba :

Cette étude a été réalisée au laboratoire d'hygiène à l'aide du dr. BELAHMAR

1-Pour faire un prélèvement lésionnel, on va premièrement enlever la croûte , de préférence on fait le prélèvement dans une zone purifié car le parasite est plus actif et sa croissance d'une façon centrifuge



Figure 35 : Le prélèvement lésionnel

2-Faire le frottis ,et prendre des lésions ;etfaireunétalement de la sérosité sur des lames

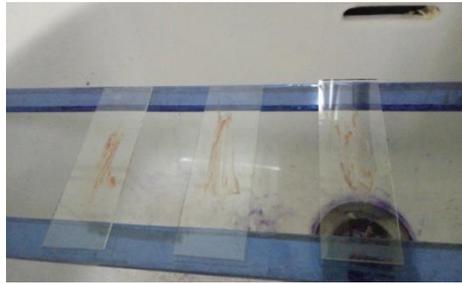


Figure 36 : L'étalement du frotti sur des lames

3-La coloration de May-Grunwald-Giemsa(MGG) :

1-Recouvrir le frottis avec la solution de May-Grunwald

2-Laisser agir 3 min

3- Ajouter autant de gouttes d'eau neutre (ou de tampon phosphate) que de gouttes du colorant .

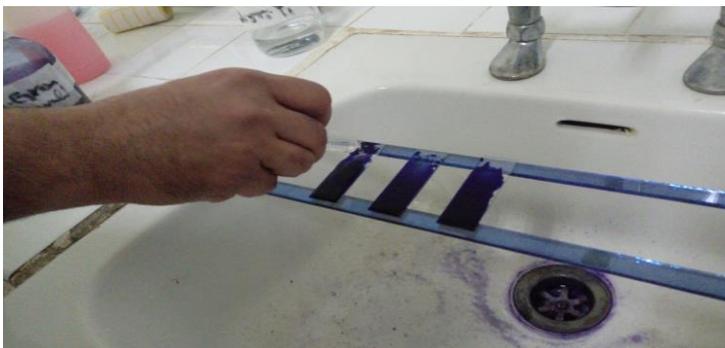


Figure 37 : La coloration Giemsa

4- Laisser agir 2 min

5-Rejeter le May-Grunwald et ; sans laver verser du Giemsa dilué à1/10

6-Laisser agir pendant 20min

7- Rincer la lame inclinée avec de l'eau du robinet

8- Sécher la lame



Figure 38 : Séchage des lames

9-Examiner la lame au microscope.



Figure 39 : Observation microscopique Gx40

4-La culture in vitro :

Dans une zone stérile on prends l'eau physiologique et on fait l'indistillation au niveau de la lésion ; on prends les milieu NNN qu'on a préparé et on injecte le sang dans les tubes à vis après les faire flamber ; et on va les laisser dans l'étuve pendant 7 jours



Figure 40 : Incubation des milieux NNN .

5- REPIQUAGE :

Le repiquage est l'action de prélever une petite partie d'une parasite, puis de la transplanter sur un milieu neuf où elle continue à croître.

Dans notre travail on a réalisé un repiquage à partir de cellules souches de léishmania sur milieu Bachi - ensemencé à partir d'un prélèvement distal protégé et transplanter sur un milieu Bachi dont le but d'avoir notre parasite bien isoler pour qu'on puisse travailler sur elle.



1



2



3



4



5



6



7



8



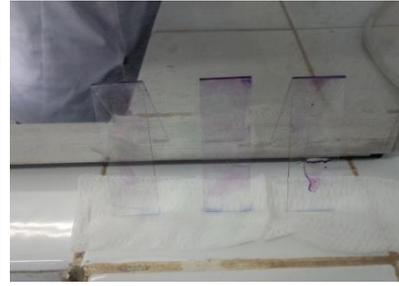
9



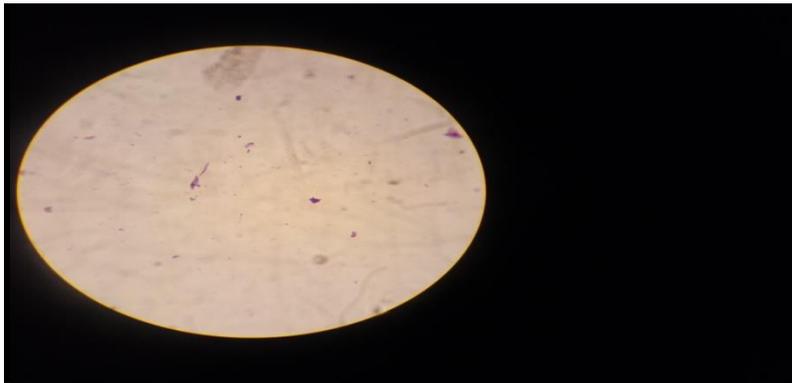
10



11



12



13

Figure 41 : Les étapes de repiquage

5-1-les étapes du repiquage :

1,2- avec une micropipette pasteur on a pris des quantités de liquide qui contient les souches de leishmania

3,4- l'ensemencement des souches prélevés sur les milieux Bachi

5- l'autoclavage les milieux pendant 48h à 26°C.

6-On a pris des gouttes de liquide qui contient les souches et les étalait sur trois lames

7,8-on a ajouté du méthanol aux lames et laisser pendant 3 min

9- rinçages des lames

10-on a ajouté le Giemsa et laisser pendant 20 min

11,12- rinçage des lames

13-observation sous microscope optique Gx40

6- comptage des cellules parasite(L. major) :

La cellule de Neubauer est un hématicimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution, elle est principalement utilisée pour la numération de leucocytes.

On a utilisé cette chambre dans notre travail pour compter le nombre des cellules parasites de leishmania



1



2



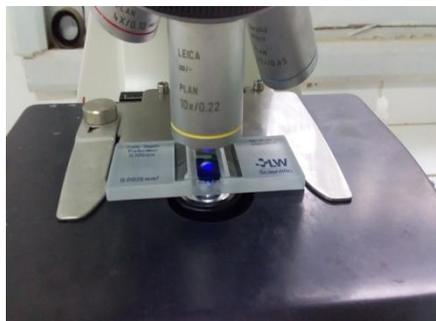
3



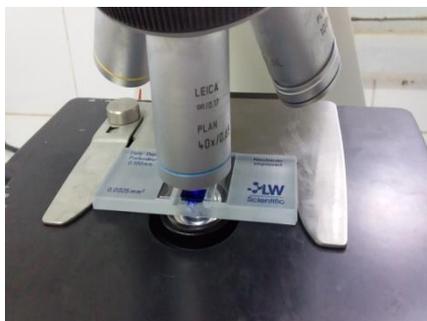
4



5



6



7

Figure 42 : Les étapes de comptage des cellules

1,2,3- Avec une micropipette on a pris une quantité de liquide contenant les souches parasitaires afin de la mettre sur la chambre de Neubauer.

4,5- La coloration de notre souche par le bleu de méthylène.

6,7- Observation microscopique Gx10/Gx40

7-Test in vitro :

Pour étudier la sensibilité des leishmanies aux extraits testés.

Les tests ont été réalisés sur trois tubes pour trois concentrations : 2% , 6% , 10%

Les numérations des promastigotes ont été effectuées quotidiennement sur cellule Neubauer .

Le comptage a été réalisé en présence de bleu de méthylène servant d'indicateur de la viabilité des cellules

avec une pipette Pasteur on a mis les souches dans trois tubes et on a ajouté les extraits à trois concentrations on a mis les tubes à l'étuve pendant 24h .

Après l'incubation des tubes pendant 24h on a fait l'observation sous le microscope optique Gx10\Gx40 sur chambre Neubauer .



Figure 43 : Le test réalisé sur les trois tubes

Cinquième chapitre :

I. Préparation de la plante : *Artemisia herba alba*

I.1 Rendement de l'extrait aqueux:

Nous avons procédé à l'extraction des solutions aqueuses à partir de **Artemisia herba alba** par trois méthodes différentes : la macération, la décoction et la méthode de soxhlet. Afin de comparer les rendements de chacune d'entre elles, nous avons à cet égard standardisé les quantités concernant macération et décoction : 10 g d'*Artemisia herba alba*+ 100 ml d'eau distillée mais dans la méthode soxhlet 12.5 g +250 ml d'eau distillée. On a calculé le rendement ($R^{\%}$) après l'évaporation de l'extrait résultant de chaque méthode utilisée par l'équation suivante :

$$R^{\%} = \frac{mf}{mi} \times 100$$

Soit :

$R^{\%}$: Le rendement.

mi : La masse initiale de matière végétale.

mf : La masse finale (l'extrait en poudre après le séchage).

Méthode de l'extraction	mi (g)	mf (g)	Rendement %
Macération	180	5.29	2.93
Décoction	180	5	2.77

Tableau 04 : Résultats du rendement de l'extrait aqueux de *Artemisia herba alba* .

Parmi les deux méthodes d'extraction , le meilleur rendement est obtenu par macération ($R^{\%} = 2.93 \%$) par rapport à la méthode de décoction , c'est normale car nous remarquons dans des plusieurs expérimentations dans des articles scientifiques que la méthode de macération donne généralement le meilleur rendement par à port aux deux autres méthodes utilisés (**décoction et méthode de soxhlet**) , pour cette raison les pluparts des manipulateurs préfèrent l'extraction par macération , c'est généralement une extraction à froid , elle limite la libération et la perte de substances chimiques volatiles dans l'air et permet aussi d'éviter l'altération de substances organiques fragiles qui peuvent réagir à température plus élevée et se degrader. Elle nécessite également moins de dispositif spécial de chauffage, alors c'est une

méthode simple et moins chère . Cependant, il existe souvent un risque de contamination et de prolifération bactérienne par rapport aux autres méthodes, et ceci à cause de sa durée relativement longue nécessitant souvent plusieurs heures.

La décoction est une très ancienne méthode, mais on peut la utiliser comme même car elle nous donne aussi un bon rendement, ($R\% = 2.77\%$). Concernant la dernière méthode de Soxhlet nous n'avons pas calculé le rendement car elle n'a été pas toujours disponible pour nous .

I.2 Extraction de l'huile essentielle :

L'hydrodistillation est une méthode classique ,généralement elle nécessite de l'éthanol , nous avons essayé plusieurs fois d'obtenir l'huile essentielle par utilisation de cette méthode mais le rendement a été presque nul sauf si on utilise des solvants comme l'éther de pétrole et ça ne nous donnera pas l'extrait naturel à 100% et cela affecte négativement les résultats de l'évaluation in-vitro de l'activité anti-leishmanienne de notre plante (*Artemisia herba alba*).

II-Prélèvement et mise en culture des Leishmanies :

Après la fixation et coloration MGG la lecture se fait sous microscope optique (**Gx100**) avec quelques gouttes d'huile d'immersion. Les résultats de l'examen direct des frottis prélevés sur notre patient se sont révélés être négatifs et nous avons pas observé de forme amastigote (**figure44**) nous allons toujours préparer trois lames pour le patient pour plus de certitude.

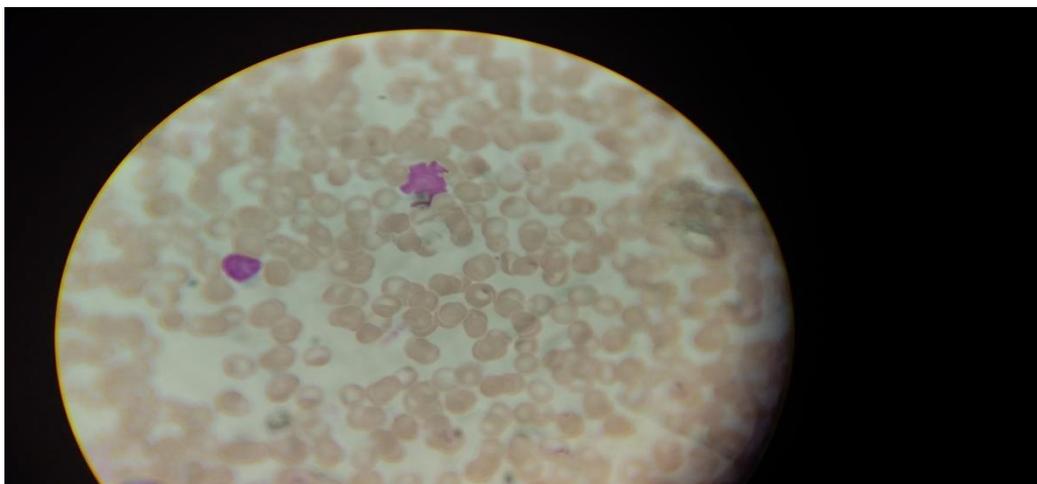


Figure 44 : Résultats négatif du teste direct

Les cultures des prélèvements lésionnelles dans les milieux NNN et Bâchi, ne nous ont malheureusement pas permis d'observer la forme promastigote normalement présente à ce stade malgré les repiquages hebdomadaires sur de nouveaux milieux et examens directs (figure). Nous expliquons ces résultats par le fait que notre patient aient déjà été mis sous traitement (antiparasitaire et anti-inflammatoires) ou bien que les lésions soient causées par d'autres microorganismes.

III. Tests in vitro

Le fait de n'être pas arrivé à obtenir la forme promastigote du parasite afin de réaliser nos essais in vitro nous avons eu recours à l'Institut Pstaur d'Alger afin d'obtenir une souche de *L.major*, il s'agit de la souche LIPA 32/06 : souche de référence de *leishmania major* obtenue à partir du service éco épidémiologie parasitaire. Nous avons confirmé la présence de promastigotes vivant par un examen direct avec et sans coloration au MGG (le MGG ne permet pas d'apprécier la mobilité des parasites) (figure 45).

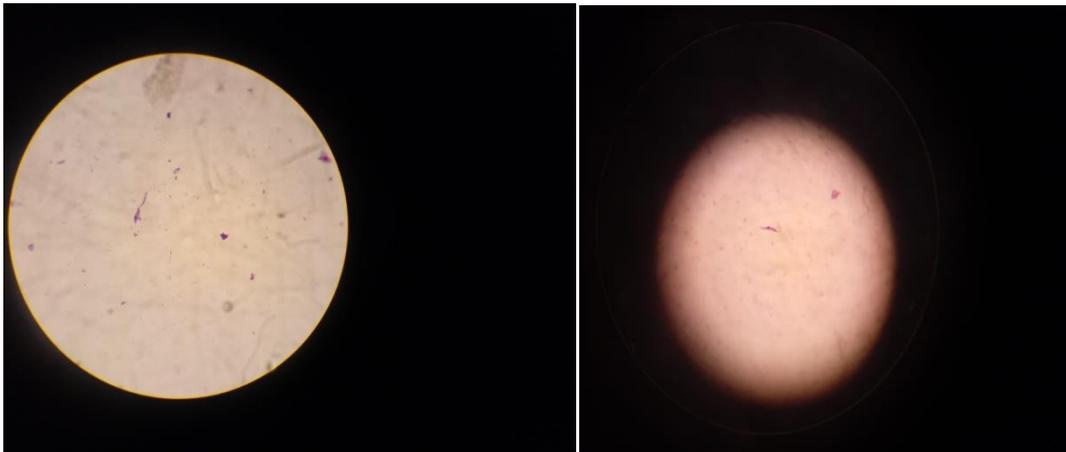


Figure 45 : La forme promastigote sous le microscope optique Gx100.

IV.2.1. Résultats des tests de l'activité anti-leishmanienne d'*Artemisia herba alba* :

Etant donné que les repiquages aient été négatifs après 7 jours d'incubation, nous avons réalisé nos tests sur la souche de référence (LIPA 32/06) :

En absence de l'extrait aqueux on a compté 2 cellules promastigotes sous l'hématimètre Neubauer dans le quadrillage (figure 46).

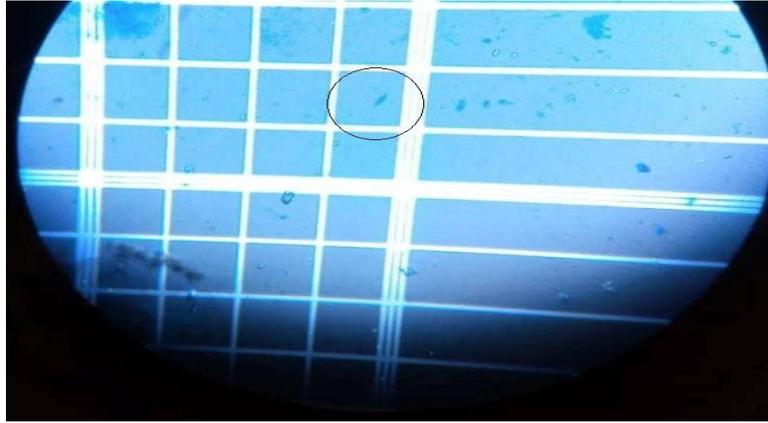


Figure 46 : Exemple d'une cellule promastigote comptée Gx40.

par l'ajout de l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* avec les concentrations (2%, 6% et 10%) et l'incubation du 24 heures on obtient 00 promastigotes présents dans la culture (**figure 47 :A B et C**).

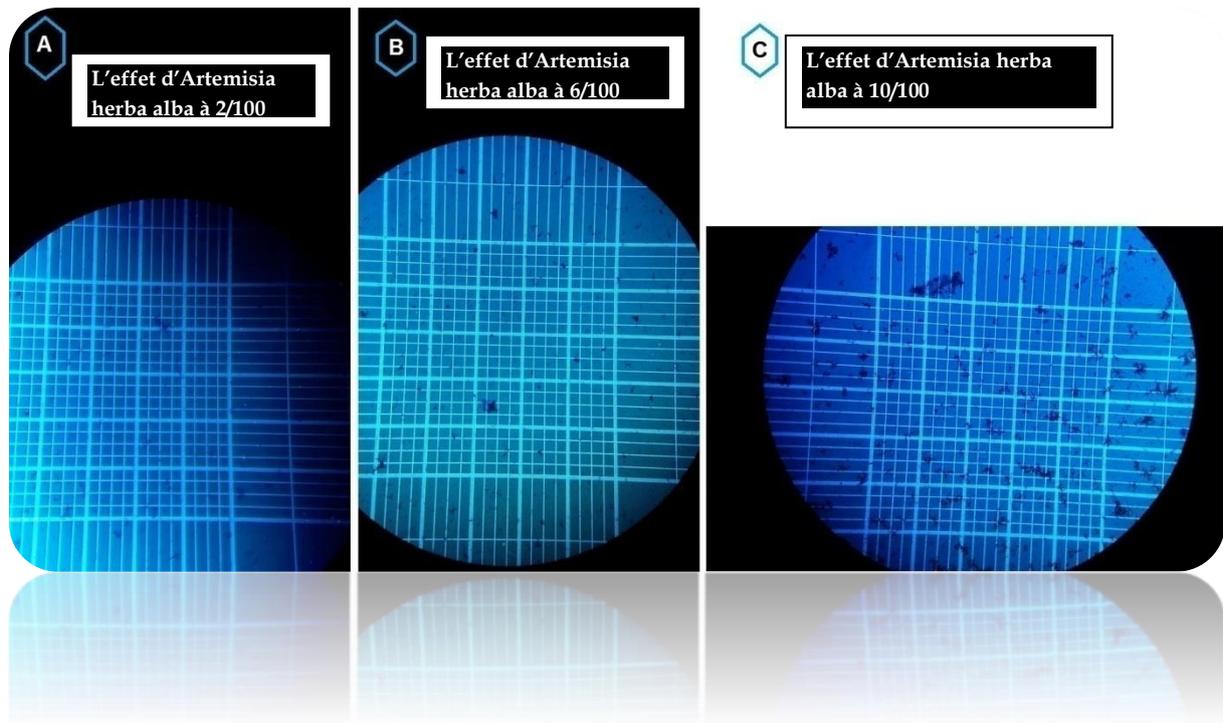


Figure 47 : Résultats de l'effet de l'extrait aqueux (*Artemisia herba alba*).

Le tableau suivant résume les résultats in vitro (**Tableau 05**)(Figure 48).

	Nombre de cellules comptées
Sans extrait	02
EA à 2%	00
EA à 6%	00
EA à 10%	00

Tableau 05 : l'effet anti-leishmanienne de l'EA d'*Artemisia herba alba*.

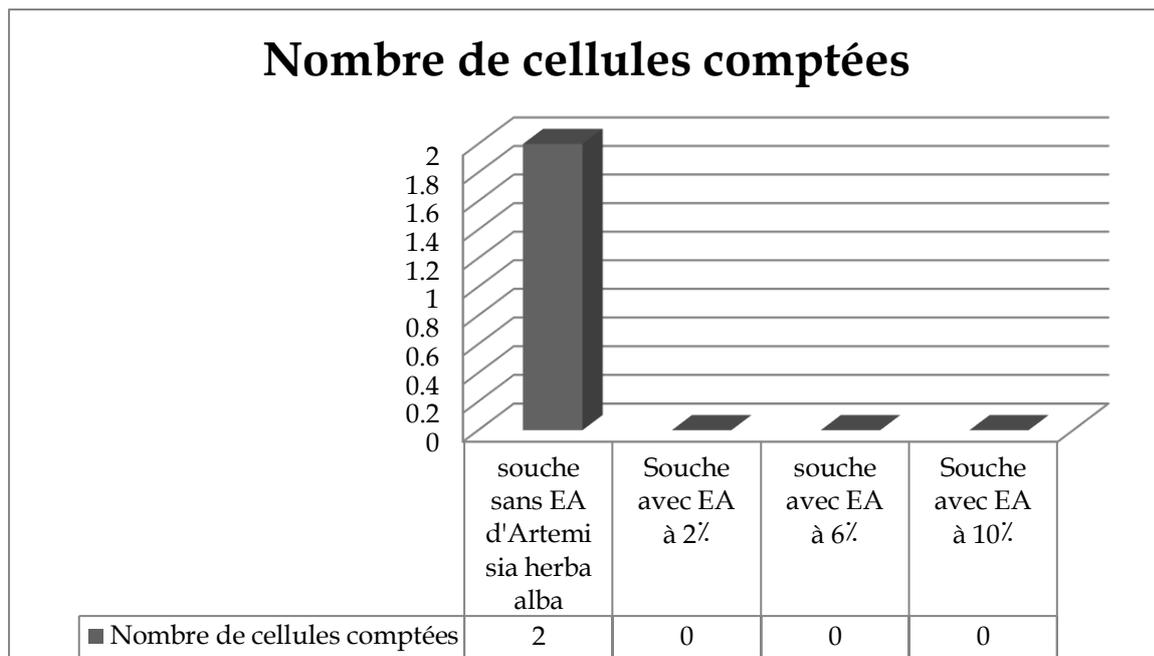


Figure 48 : graphique représente l'effet leishmanicide de l'EA d'Artemisia herba alba.

Ces résultats ne confirment pas l'activité leishmanicide de l'extrait aqueux de l'Artemisia herba alba, la courte durée des tests, la négativité des repiquage ainsi que le nombre limité des échantillons sont assez de facteurs limitant le fait de ne pas pouvoir tirer de conclusion même si la littérature indique que l'activité anti-leishmanienne de l'Artemisia herba alba, a été testée avec succès en Maroc.

CONCLUSION

La leishmaniose cutanée est un problème de santé publique majeur ;qui représente un préjudice esthétique, même Il n'existe pas de vaccin, ni de médicament préventif contre les leishmanioses. Il est donc essentiel de **se protéger contre les piqûres** des phlébotome.

Dons notre travaille nous avons esseyé d'inventer un traitement naturel à base de l'extrait d'Artemisia herba alba afin de contribuer à réduire la propagation de leishmaniose cutanée.

Enfin, Pour éviter les piqûres de phlébotomes, d'adopter les mesures de protection individuelle et collective suivantes:

- Mettre en place des grillages à mailles serrées aux fenêtres et aux portes
- Utiliser des moustiquaires et de rideaux imprégnés d'insecticides
- Faire des pulvérisations intra-domiciliaires à l'aide d'insecticides.
- Porter des vêtements recouvrant les membres dès la tombée du jour.
- Eviter le sommeil à la belle étoile surtout lors de la période de transmission (saison Pluvieuse : de Mai à Octobre).

Références Bibliographiques :

(A)

Akroum S. (2011) Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels.
Thèse

de doctorat en sciences. Université Mentouri Constantine.

Athamena S. (2009) Etude quantitative des flavonoïdes des grains de
Cuminum

cuminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité
biologique. *Thèse de magister.* Université Batna.

(B)

Barboni T. (2006) Contribution de méthodes de la chimie analytique à
l'amélioration

de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de
risques

d'incendie. *Thèse de doctorat.* Université de Corse Pascal Paoli.

Bassole H.N., kabore Z.I., Traore A.S. (2001) Etude des profils
bactériostatiques et

bactéricides d'extraits végétaux vis-à-vis de germes pathogènes impliqués
dans

la contamination des denrées alimentaires d'origine animale. *Pharm Méd
Trad* : 113-122.

Békro Y.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E. (2007)
Etude

ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinia benthamiana
(baill.)

herend et zarucchi (caesalpinaceae). *Sciences & nature.* vol 4 n° 2: 217 –
225

Bencheqroun H.K., Ghanmi.M.,Satrani B.,Aafi A et Chaouch A. (2012)
Activité

antimicrobienne des huiles essentielles d'Artemisia mesatlantica, plante
endémique du Maroc.Antimicrobial activity of the essential oil of an
endemic

plant in Morocco, Artemisia mesatlantica. *Bulletin de la Société Royale des
Sciences de Liège.* 81: 4 - 21.

Berton H. (2001) Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine
magiques

et traditionnelles. *Editions De Borée (Clermont-Ferrand),* France : 288

Bezza.L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou I., Haji., Mingllou F.,
Kalloustian J. (2010) Composition chimique de huile essentielle

d'Artemisia

herba alba provenant de la region de Biskra(Algerie), *Phytothérapie.* 8 :277-
281.

Bouldjadj R. (2009) Étude de l'effet antidiabétique et antioxydant de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Artemisia herba alba* Asso chez des rats sains et des rats rendus diabétiques par streptozotocine. *Thèse de magister*. Université Mentouri Constantine.

Bouquet A., Fouret A. (1975) Recherches chimiques préliminaires sur les plantes médicinales du Congo-Brazzaville. *FITOTERAPIA*. 46(4)

Références bibliographiques

Boriky D., Berrada m., Talbi m., Keravls g. and Rouessac f. (1996) eudesmanolides from artemisia herba-alba. *Phytochemistry*, vol. 43, no 1 : 309-311.

(D)

Dohou. N., Yamni .K., Tahrouch. S., Idrissi hassani L. M., Badoc A et Gmira N.

(2003) Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, thymelaea lythroides. *Bull soc pharm Bordeaux*. 142 : 61-78.

Djebaili S, Djellouli Y et Daget P(1989) Les steppes pâturées des Hauts Plateaux algériens. *Fourrages*. 120 : 393-400.

(E)

Ebadi M. (2001) Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. *CRC Pres LLC*.

El kalamouni C. (2010) Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. *Thèse doctorat*. Université de Toulouse.

Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition). (2001), Dorling Kindersiey Limited, Londres. Traduction française, par Pierre Vican. *Larousse / VUEF*.

(F)

Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D and Guo Z (1986) place

des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation de la sante* .64 (2), pp 159-175.

Fathiazad F., Matlobi A., Khorrami A., Hamedeyazdan S., Soraya H., Hammami

M., Maleki-Dizaji N., Garjani A. (2012) Phytochemical screening and evaluation of

cardioprotective activity of ethanolic extract of *Ocimum basilicum* L. (basil) against isoproterenol induced myocardial infarction in rat. *Journal of*

(G)

Gengmao Z., Yu H., Xing S., Shihui L., Quanmei S., Changhai W. (2015) Salinity

stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Industrial Crops and Products. 64 : 175-181.*

Ghedira k. (2005) Les flavonoïdes: Structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie. 3(4): 162-169.*

Ghrabi Z S and R L. (2008). *Artemisia herba alba* Asso. *A Guide to Medicinal*

Plants in North Africa: 49 - 49.

Références bibliographiques

Gurib-Fakim A. (2006) Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of

tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine. 27: 1-93.*

(H)

Hamia C., Guergab A., Rennane N., Birache M., Haddad M., Saidi M et yousfi

M. (2014) Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. *Annales des sciences et technologie. Vol 6. N° 1.*

Heller W and Forkmann G. (1993) Biosynthesis of flavonoids. *In: The Flavonoids:*

Advances in research since 1986. Chapman and Hall. London: 499-535.

Hussain A.I., Anwar F., Hussain Sherazi S.T., Przybylski R. (2008) Chemical

Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Basil. *Food Chemistry. 108: 986-995*

(J)

Jafari A., Aslani M.M., Bouzari S. (2011) *Escherichia coli*: a brief review of diarrheagenic pathotypes and their role in diarrheal diseases in Iran. 4: 102-

117.

(K)

Kaper J. B., Nataro J. P et Mobley H L T. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*;Nat.

Rev. Microbiol. 2:123-140.

Kebière M., Lakroun Z., Mraïhi Z et Soulimani R. (2011) Effet antidiabétogène

et cytoprotecteur de l'extrait butanolique de *Ranunculus repens* L. et de la quercétine sur un modèle expérimental de diabète alloxanique.

Phytothérapie.

9: 274-282.

Kémajou A., Mba L., Bagda A .A (2012) Effet du séchage sur les principes actifs

des plantes médicinales: cas des alcaloïdes totaux des écorces de *Alstonia boonei* Wild, plante antipaludéenne. *Nature & Technologie*. N° 07 .

Khelifa L.H., Brada M., Brahmi F, Achour D., Fauconnier M.L and Lognay G.

(2012) Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* Leaves from the Northern Region of Algeria, *Topclass Journal of Herbal Medicine*. Vol. 1(2) : 53-58.

Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006) Etude phytochimique de

mitragyna inermis (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique»,

Pharm Méd Trad Afr. Vol. 14 , pp 73-80.

Références bibliographiques

(M)

Mahajan N., Rawal S., Verma M., Poddar M and Alok S. (2012) A phytopharmacological overview on *Ocimum species* with special emphasis on

Ocimum sanctum. *Biomedicine & Preventive Nutrition* : 1-8.

Mahmoudi S., Khali M et Mahmoudi N. (2013) Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*cynara scolymus* l.). *Nature & technologie*. b- sciences agronomiques et biologiques, N° 09 : 35-40.

Mamyrbekova-Bekro J., Boua B B ., Kouassi K C and Békro Y A. (2012) Sur

l'analyse qualitative et pharmacologique de 2 plantes anti-hypertensives utilisées à N'gramanssabo en Côte d'Ivoire. *Nature & Technologie*.

BSciences

Agronomiques et Biologiques. N° 08 : 02-12.

Merghem R. (2009) Eléments de biochimie végétale. *Bahaeddine Editions*: 95-121

Messai L. (2011) Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien

(*Artémisia herba alba*). *Thèse de doctorat en sciences*. Université Mentouri Constantine.

Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H and Neffati M (2010)

Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil

cultivated in Tunisian arid zone. *C. R. Chimie* , 13 ,pp 380–386.

Mohamed A., El-Sayed M., Hegazy M., Helaly S., Esmail A and Mohamed M.

Les sites internet :

- [www.passeportsante.net/santé au naturel/thérapies](http://www.passeportsante.net/santé%20au%20naturel/thérapies)
- <http://sante.lefigaro.fr/sante/specialite/homeopathie/quest-ce-que-cest>
- [htt](#)

- 1. Abonnenc E., (1972). Les phlébotomes de la région Ethiopienne, Ed ORSTOM (France).**
- 2. Aït-Oudhia K., Gazanion E., Vergnes B., Oury B. & Sereno D. (2011). Leishmania antimony resistance: what we know what we can learn from the field. Parasitology research, 109 (5), 1225-1232.**
- 3. Akopyants N.S., Kimblin N., Secundino N., Patrick R., Peters N., Lawyer P & Sacks D. L. (2009). Demonstration of genetic exchange during cyclical development of Leishmania in the sand fly vector. Science, 324 (5924), 265-268.**
- 4. Alencar, R. B., De Queiroz, R. G., & Barrett, T. V. (2011). Breeding sites of phlebotominae sand flies (Diptera: Psychodidae) and efficiency of extraction techniques for immature stages in terra-firme forest in Amazonas State, Brazil. Acta tropica, 118 (3), 204-208.**
- 5. Alvar J., Cañavate C., Gutiérrez-Solar B., Jimenez M., Laguna F., Lopez-Velez R., Molina R. & Moreno J. (1997). Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection. The first 10 years. Clinical Microbiology Review, 10: 298-319.**
- 6. Ashford R.W. (2000). The leishmaniasis as emerging and reemerging Zoonoses. International journal for parasitology, 30(12), 1269-1281.**
- 7. Ashford R.W., Desjeux P. & Derradt P. (1992). Estimation of population at risk of infection and number of ca of leishmaniasis. Parasitology Today; 8. 337**
- 8. Banuls A.L., Hide M. & Prugnolle F. (2007). Leishmania and the Leishmaniasis: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. Advances in parasitology, 64, 1-458.**
- 9. Belazzoug S. (1982). Une épidémie de leishmaniose cutanée dans la région de M'sila (Algérie). Bull. Soc. Pathol. Exot .75, 497-504.**

10. Belazzoug S. (1983). Isolation of Leishmania major Yakimoff & Schokhor, 1914 from Psammomys obesus Gretzschmar, 1828 (Rodentia: Gerbillidae) in Algeria. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg., 77(6) : 876-881.

Belazzoug S. (1986). Découverte d'un Meriones shawi (Rongeur, Gerbillidé) naturellement infesté par Leishmania dans le nouveau foyer de leishmaniose cutanée de Ksar Chellala (Algérie). Bull Soc Pathol Exot Filiales 79 (5) :630–633

12. Belazzoug S. Khodja A. & Belkaid M. (1985). La leishmaniose cutanée du nord de l'Algérie. Bull Soc Pathol Exot; 78 : 615-622. [p://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php](http://www.lachimie.fr/materiel/evaporateur.php)