



**République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

Université Dr Moulay-Tahar Saida

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Master en Biologie*

Option : Biochimie Appliquée

Présenté par : TEMER Fatima

KOUADRI Kheira

**Contribution à l'étude des traitements traditionnels de la
leishmaniose cutanée , à base d'extraits de plantes médicinales**

Jury

Président : Mr HACHEM Kadda
Université de Saida

Maitre de Conférences A

Examinatrice: Mme CHIKHI Amira
Université de Saida

Maitre de Conférences B

Encadreur : Mme BENABDESSLEM Yasmina
Université de Saida

Maitre de Conférences B

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et nos vifs remerciements à Mme BENABDESLEM Yasmina , maitre de conférence B pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous accordé nous ont permet de réaliser ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à HACHEM Kadda , maitre de conférence A à l'université de Saida d'avoir accepté de présider le jury.

Nous tenons également nos vifs remerciements à Mme CHIKHI Amira , maitre de conférence B à l'université de Saida l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.

Nous exprimons nos vifs remerciements à Melle Amari Asemaa, pour leur aide et ces conseils.

Aux personnels du laboratoire microbiologie et de biochimie d'université MOULEY Tahar-Saida- pour leur aide.

À tous nos amis.

À tous les étudiants de master .

À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail à :

Nos chers parents pour leur amour inestimable,

Leur confiance, leur soutien, Leurs sacrifices.

Et toutes les valeurs qu'ils ont su nous inculquer.

Nos très chers sœurs pour leur tendresse,

leurs complicité et leur présence,

Pour leurs précieux encouragements surtout,

Nos frères pour se tenir à côté de moi

jusqu'à la fin de ce travail,

Nos collègues pour leur aide et l'ambiance

chaleureuse qui nous a réuni dans ce travail

TEMER Fatima

KOUADRI Kheira

Liste des abréviations

EA : Extrait aqueux.

LC : Leishmaniose Cutanée LIPA114 MHOM/DZ/83/ LIPA114 : Genre *Leishmania infantum* typée à Montpellier.

L major : Leishmaniose Cutanée.

LMC: leishmaniose cutaneo-muqueuse.

LV : leishmaniose viscérale.

LCN : leishmaniose cutanée sporadique du Nord.

LPG : Lipophosphoglycan.

NNN : Nicolle Mac Neal Novy.

ADN: AcideDésoxyribose Nucléique.

EPH: Etablissement Public Hospitalier.

L: Leishmania.

LCD :Leishmaniose Cutanée Diffuse.

LCL: Lésion Cutanée Localisée.

LCN: Leishmaniose Cutanée du Nord.

LCZ: Leishmaniose Cutanée Zoonotique.

LPG: Lipophosphoglycan.

MGG: May Grund wald Giemsa.

MØ: Phagocytes.

OMS: Organisation Mondial de la Santé.

PCR : Réaction en chaîne par polymérase.

UI: Unité Internationale.

Liste des unités

% : Pourcentage.

µm : Micromètre.

Cm : Centimètre.

°C : Degré Celsius.

g : Gramme.

H : Heure.

Kda : Kilodalton.

Kg : Kilogramme.

l : Litre.

m : Mètre.

m² : Mètre carré.

mg : Milligramme.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm Hg : Millimètre de mercure.

mmol : Millimol par litre.

La leishmaniose cutanée est une maladie parasitaire qui constitue un véritable problème de santé publique dans plusieurs pays dont l'Algérie. Parasitose due à la multiplication dans le système réticulo-histiocytaire d'un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Elle est transmise par la pique d'un phlébotome femelle hématophage.

Dans ce travail, nous avons d'abord préparé deux milieux de culture pour le diagnostic de la leishmaniose cutanée. La mise en évidence du parasite *Leishmania* passe par l'examen direct comme il représente un remarquable outil pour le diagnostic, mais il reste lié à certaines contraintes. Donc on ensemence la souche de *Leishmania* dans deux milieux de culture spécifiques l'un est à base de sang de lapin, le milieu NNN, et l'autre est à base d'œufs, le milieu Blanc d'œufs, auxquels on rajoute des antibiotiques, les milieux ainsi préparés doivent être de qualité, et donner des résultats concluants, en vue d'en évaluer la qualité (le rendement). En suite on étudie les plantes de chih et remth en tant qu'anti anti Leishmaniose cutanée à travers des tests de son activité antiparasitaire *in vitro*. Les extraits méthanoïques bruts et l'huile essentielle ont été obtenus par une méthode d'extraction : macération (EM) En parallèle et hydro distillation.

Mots clés : *Hammada scoparia* « Remth », *Artemisia herba alaba*; activité antileishmanienne *in vitro*, Milieu NNN, Milieu Blanc d'œuf.

Cutaneous leishmaniasis is a parasitic disease which constitutes a real public health problem in several countries including Algeria. Parasitosis caused by the multiplication in the reticulohistiocytic system of a flagellated protozoan of the genus *Leishmania*. It is transmitted by the bite of a hematophagous female sandfly.

In this work, we first prepared two culture media for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. The detection of the *Leishmania* parasite requires direct examination as it represents a remarkable diagnostic tool, but it remains linked to certain constraints. So we inoculate the strain of *Leishmania* in two specific culture media, one is based on rabbit blood, the NNN medium, and the other is based on eggs, the egg white medium, to which we add antibiotics, the media thus prepared must be of high quality, and give conclusive results, with a view to evaluating their quality (yield). Next, we study the chih and remth plants as anti cutaneous leishmaniasis through tests of their antiparasitic activity in vitro. The crude methanoic extracts and essential oil were obtained by an extraction method: maceration (EM) In parallel and hydro distillation.

Key words: *Hammada scoparia* "Remth", *Artemisia herba alaba*; antileishmanial activity in vitro, NNN medium, Egg white medium.

داء الليشمانيات الجلدي هو مرض طفيلي يشكل مشكلة صحية عامة حقيقية في العديد من البلدان بما في ذلك الجزائر. الطفيل الناجم عن التكاثر في نظام الخلايا الشبكية للخلية من طفيليات سوطية من جنس الليشمانيا وينتقل عن طريق لدغة أنثى ذبابة الرمل.

في هذا العمل ، قمنا أولاً بإعداد وسطين ثقافيتين لتشخيص داء الليشمانيات الجلدي. يتطلب الكشف عن طفيلي الليشمانيا فحصاً مباشراً لأنه يمثل أداة تشخيصية رائعة ، لكنه يظل مرتبطاً ببعض القيود. لذلك يتم تلقيح سلالة الليشمانيا في وسطين مستنبتين محددتين ، أحدهما يعتمد على دم الأرانب ، وسيط NNN ، والآخر يعتمد على البيض ، وسط بياض البيض ، الذي نضيف إليه المضادات الحيوية ، يجب أن تكون الوسائط المعدة على هذا النحو عالية الجودة ، وأن تعطي نتائج قاطعة ، بهدف تقييم جودتها (العائد). ثم ندرس نباتات chih و remth كمضاد لداء الليشمانيات الجلدي من خلال اختبارات نشاطها المضاد للطفيليات في المختبر. تم الحصول على مستخلصات الميثانوي الخام والزيوت الأساسية بطريقة الاستخراج: التعطين (EM) بالتوازي والتقطير المائي.

كلمات مفتاحية : وسط بياض البيض ، NNN ، متوسط ، مضاد الشمانيا الجلدي ، الرمث ، الشيح .

Liste des tableaux

Tableau I-1 Taxonomie des espèces de leishmaniose dont le parasite chez l'homme est connu.	5
Tableau I-2 Types de leishmaniose cutanée , parasite , réservoirs et vecteur en Algérie	13
Tableau I-3 Molécules principales	23
Tableau II-2 Composition des huiles essentielles extraites d'A. herba-alba (en %)	34

Liste des figures

Figure I-1 Photographie de promastigote (LeishRisk. Bridging Research and Leishmaniasis Control).....	6
Figure I-2 Photographie d'amastigote.....	6
Figure I-3 réservoir de LC du nord à Leishmania infantum (le chien)Le réservoir de LC du nord à Leishmania infantum (le chien)	7
Figure I-4 Cycle évolutif de la leishmanios	8
Figure I-5 Morphologie de l'adulte	8
Figure I-6 Photographie de phlébotome.....	9
Figure I-7 Cycle de développement de phlébotome.....	10
Figure I-8 Répartition géographie de leishmania dans le monde	13
Figure I-9 Distrubition de leishmaniose cutanéé dans le monde	14
Figure I-10 Différents foyers de Leishmaniose cutanée en Algérie.....	18
Figure II-1 Principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	29
Figure II-2 Montage d'hydrodistillation	29
Figure II-3 Schéma du montage de l'expression à froid.....	30
Figure II-4 Haloxylon scoparium.....	30
Figure II-5 Haloxylon scoparjum (ORIGINALE)	32
Figure II-6 Artemisia herba-alba Arabic name : chih	36
Figure II-7 Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'Artémisia herba alba.....	38
Figure II-8 Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles	40
Figure III-1 (a) appareillages de Laboratoire (b) Bain marie (c) Etuve Pasteur à 121°C	45
Figure III-2 Appareillages (a) Etuve d'incubation (b) Hotte à flux laminaire (c) Microscope optique.....	45
Figure III-3 Verrerie utilisée	45
Figure III-4 (a) Préparation de la gélose. (b) Gélose préparée	46
Figure III-5 Milieux gélosés solidifiés	47
Figure III-6 Rasage et désinfection de la partie thoracique du lapin.....	47
Figure III-7 Paillasse préparée pour la ponction du lapin	48
Figure III-8 Ponction du Lapin.....	48
Figure III-9 Tube citraté.....	49
Figure III-10 Mise en solution des milieux solidifiés.	49
Figure III-11 Mélange de sang à la gélose	50
Figure III-12 Inclination des tubes préparés	50
Figure III-13 Milieux NNN dans l'étuve d'incubation à 37°C	50
Figure III-14 Conservation des milieux à +4°C	51
Figure III-15 Matériels utilisées pour la préparation des blancs d'œufs.....	51
Figure III-16 Agitation des blancs d'œufs	52
Figure III-17 Répartition du blanc d'œufs sur les tubes stériles	52
Figure III-18Coagulation des milieux blancs d'œufs au bain Marie à 100°C	53
Figure III-19 Conservation des milieux à + 4°C	53
Figure III-20 Lésion cutanée	54
Figure III-21 Repiquage de la souche	54

Liste des figures

Figure III-22 Etapes de la coloration.....	55
Figure III-23 Formes promastigotes observés au (G×40). Résultat négative	55
Figure III-24 Agitateur magnétique	57
Figure III-25 Filtration sous vide	57
Figure III-26 Etuve de séchage	57
Figure III-27 Extrait aqueux de romthé	58
Figure III-28 Appareil de Clevenger modifié	59
Figure III-29 Formation d'huile essentielle dans la colonne	59

Table des matières

Remerciement	i
Dédicace	ii
Liste des abréviations	iii
Liste des unités	iv
Résumé	v
Abstract	vi
ملخص	vii
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	ix
Table des matières	xi
Introduction générale.....	xv
Partie I : partie bibliographie.....	2
I. chapitre I : Leishmanioses	3
I.1 Définition.....	4
I.2 Rappel historique	4
I.3 Importance en santé publique	4
I.4 Epidémiologie.....	5
I.4.1 Parasites	5
I.4.1.1 Classification	5
I.4.1.2 Caractères morphologiques	6
I.4.1.3 Nutrition.....	6
I.4.1.4 Multiplication	7
I.4.1.5 Réservoirs de virus	7
I.4.1.6 Cycle biologique.....	7
I.4.2 Vecteur.....	8
I.4.2.1 Taxonomie et morphologie.....	8
I.4.2.2 Biologie	9
I.4.3 Relation hôte –parasite ,phlébotome, climats	11
I.4.3.1 Hôte parasite	11
I.4.3.2 Phlébotomes climats	11
I.4.4 Co-infection leishmaniose/VIH (SIDA)	11
I.5 Formes cliniques.....	12
I.5.1 Leishmaniose viscérale	12
I.5.1.1 Forme de l'infantile	12

Table des matières

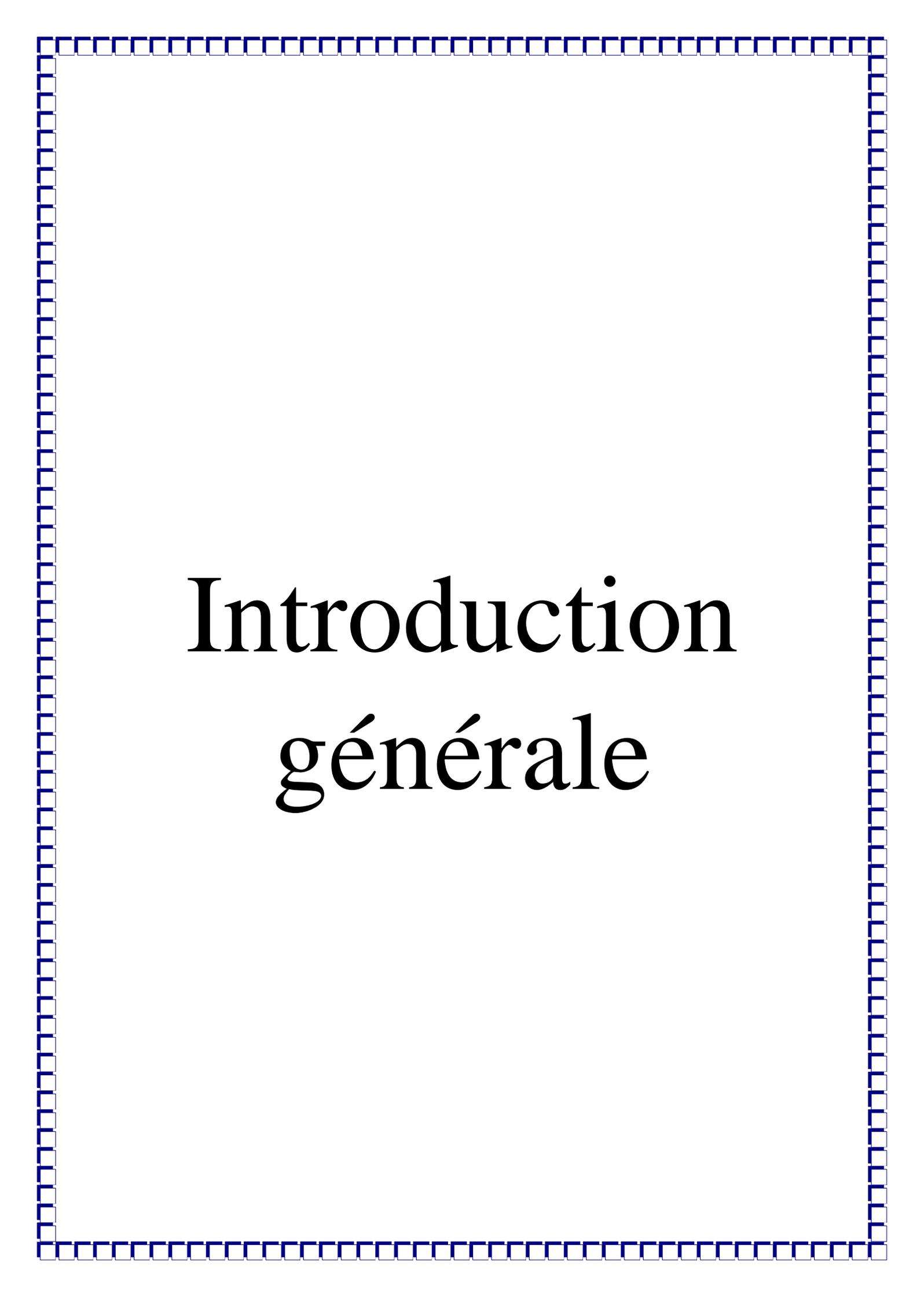
I.5.1.2	Forme de l'adulte.....	12
I.5.2	Leishmaniose cutanée	12
I.5.3	Leishmaniose cutanéomuqueuses.....	13
I.6	Répartition géographique	13
I.6.1	Leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde	14
I.6.2	Leishmaniose cutanée diffuse de l'Ancien Monde	15
I.6.3	Leishmaniose cutanée du Nouveau Monde	15
I.6.4	Leishmaniose cutanée diffuse du Nouveau Monde	16
I.6.5	Leishmaniose cutanée disséminée	16
I.6.6	Leishmania en Algérie	17
I.6.6.1	Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ).....	17
I.6.6.2	Leishmaniose cutanée sporadique (LCS)	17
I.6.6.3	Leishmaniose cutanée anthroponotique.....	17
I.7	Diagnostic	18
I.7.1	Arguments direct de certitude	18
I.7.1.1	Prélèvement	18
I.7.1.2	Examen direct	18
I.7.1.3	Culture	19
I.7.1.4	Inoculation à l'animal	19
I.7.1.5	Examen anatomopathologique	20
I.7.1.6	Diagnostic moléculaire	20
I.7.1.7	Diagnostic différentiel	20
I.7.2	Arguments indirect de présomption.....	21
I.7.2.1	Arguments épidémiologiques et cliniques.....	21
I.7.2.2	Arguments biologiques.....	21
I.7.2.3	Arguments immunologiques.....	21
I.8	Traitement des leishmanioses	22
I.8.1	Traitement par les agents physiques	22
I.8.2	Médicaments	22
I.8.3	Prophylaxie	24
II.	Chapitre II : Plant médicinal	25
II.1	Plantes aromatique et médicinales.....	26
II.1.1	Définition	26
II.1.2	Intérêt de l'étude des plantes médicinales.....	26
II.1.3	Phytothérapie.....	26

Table des matières

II.1.3.1	Définition de principe actif.....	26
II.1.3.2	Huils essentiel.....	27
II.1.3.2.1	Définition	27
II.1.3.2.2	Répartition :	27
II.1.3.2.3	Localisation des huiles essentielles dans la plants	27
II.1.3.3	Méthode d'extractions des huiles essentielles	28
II.2	Généralités sur haloxylon scoparium (remth)	30
II.2.1	Nom vernoculaires	30
II.2.2	Position systématique.....	31
II.2.3	Etude botanique.....	31
II.2.4	Utilisation	31
II.2.4.1	Utilisation Traditionnel.....	31
II.2.5	Description	32
II.2.6	Phytochimie.....	32
II.2.7	Activité biologique.....	35
II.3	Généralités sur Artemisia herba-alba	36
II.3.1	Nom vernoculaires	36
II.3.2	Place en systématique.....	36
II.3.3	Etude botanique.....	37
II.3.3.1	Partie souterraine	37
II.3.3.2	Partie aérienne	37
II.3.3.2.1	Tige	37
II.3.3.2.2	Feuilles et les rameaux	37
II.3.3.2.3	Fleur	37
II.3.4	Domaines d'utilisations.....	38
II.3.4.1	Domaine thérapeutique.....	38
II.3.4.2	Domaine alimentaire.....	38
II.3.4.3	Domaine de la cosmétologie.....	39
II.3.4.4	Utilisation traditionnelle de la plante.....	39
II.3.5	Composition chimique des huiles essentielles du genre Artemisia.....	39
II.3.6	Répartition géographique	40
II.3.7	Toxicité de la plante	41
II.3.8	Activités biologiques.....	41
Partie II	:	42
Partie expérimental	42

Table des matières

Partie II :partie expérimental.....	43
III. Chapitre III : partie pratique.....	43
III.1 Objectifs de l'étude.....	44
III.2 Matériel et méthodes (milieu de culture).....	44
III.2.1 Matériel	44
III.2.1.1 Matériel biologique	44
III.2.1.2 Matériel de laboratoire	44
III.2.2 Méthodes	46
III.2.2.1 Préparations du milieu NNN.....	46
III.2.2.2 Préparation du milieu Blanc d'œufs	51
III.2.3 Mise en évidence du parasite	54
III.2.3.1 Prélèvement.....	54
III.2.3.2 Examen direct après coloration.....	54
III.2.4 Milieu Harrat	56
III.3 Matériel végétale	56
III.3.1 Préparation de l'extrait aqueux (EA)	56
III.3.1.1 Composition.....	56
III.3.1.2 Préparation la décoction.....	56
III.3.2 artemesia herba alba :.....	58
III.3.2.1 Méthode d'extraction	58
IV. Chapitre IV : Résultats et discussion.....	61
IV.1 Résultats.....	62
IV.1.1 Résultats des ensemencements.....	62
IV.1.2 Résultats de l'analyse qualitative quantitative de plantes étudiée.....	62
IV.1.2.1 Analyse qualitative de l'extrait aqueux (EA)	62
IV.1.2.2 Analyse quantitative de l'extrait aqueux (EA)	62
IV.1.2.3 Détermination du rendement en huile essentielle	63
IV.2 Discussion.....	63
Conclusion générale	65
Bibliographie.....	67
Annexes	70



Introduction générale

Introduction

Les leishmanioses représentent un groupe de maladies parasitaires d'expression clinique variée, dues à un protozoaire flagellé du genre *Leishmania*. Ces affections sont transmises par un insecte vecteur, le phlébotome femelle.

L'Algérie, qui compte parmi les pays les plus touchés, est concernée par cette zoonose qui sévit à l'état endémique sous trois formes cliniques : la leishmaniose viscérale (LV), la leishmaniose cutanée sporadique du nord (LCN) et la leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ) (HARRAT et BELKAÏD, 2002).

Le diagnostic de certitude des leishmanioses repose sur la mise en évidence du parasite par examen direct du frottis, ce qui n'est pas toujours fructueux. Aussi, il est préférable de détecter en parallèle le pathogène par la mise en culture. Cette dernière qui est indispensable est cependant conditionnée par la disponibilité de milieux performants et faciles à préparer.

Cependant, il existe une autre alternative concernant l'approche parasitologique directe et qui consiste en l'identification du parasite par l'utilisation de techniques sérologiques et moléculaires.

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments.

Elles sont considérées comme source inépuisables de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Par l'étendue des domaines de recherches impliqués actuellement, nous nous sommes intéressés dans ce travail à évaluer les données récoltées d'une part des questionnaires des patients dans la région de Ain Sekhouna concernant la plante la plus utilisée en tant qu'anti leishmaniose cutanée et l'étude de *Hammada Scoparia* « Remth » et *Artemisia herba alba* « chih » par la réalisation dans le laboratoire des sciences fondamentales de l'université de Saïda d'une étude de l'activité antileishmanienne des extraits de cette plante *in vitro*.

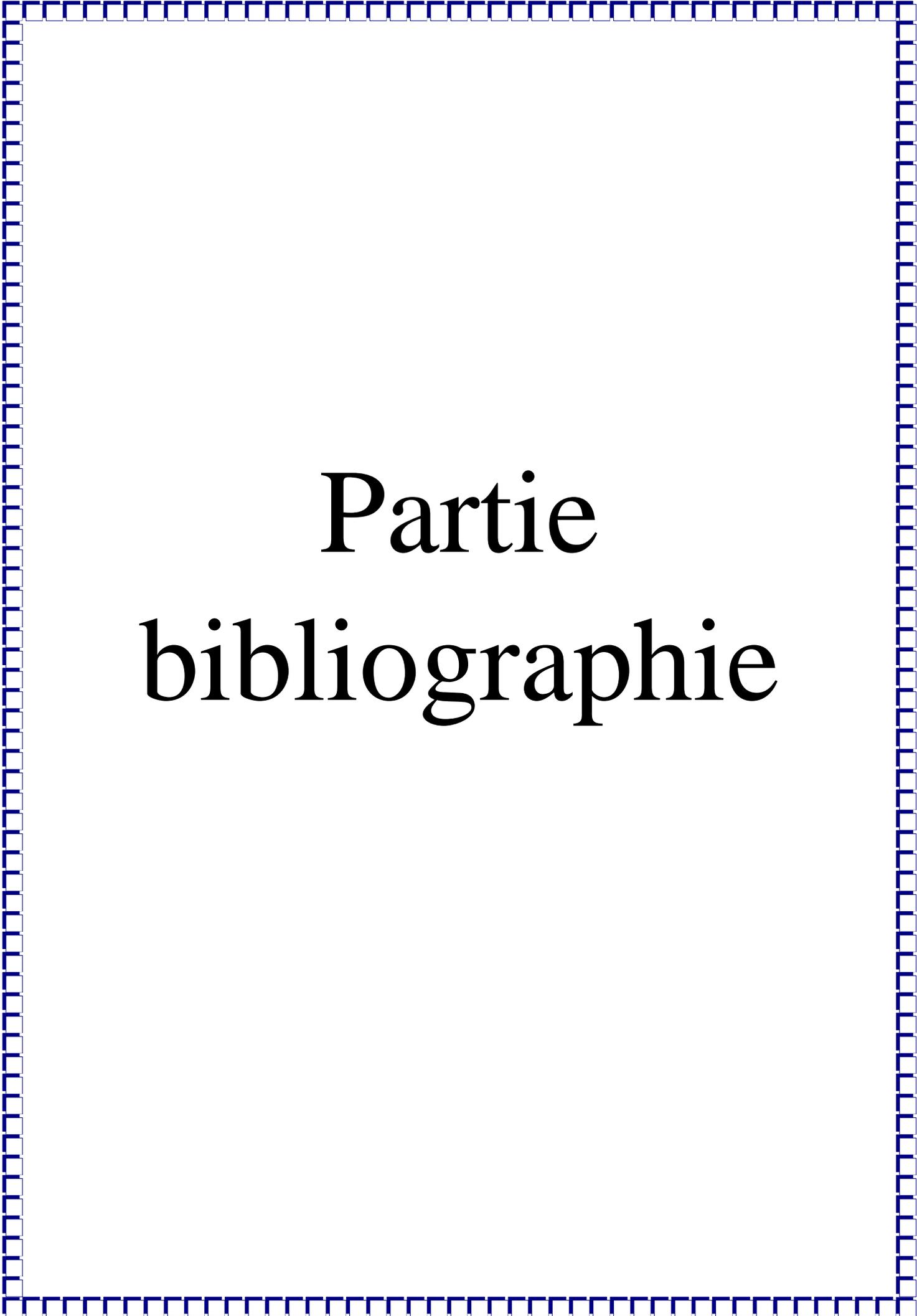
Les leishmanioses représentent un problème majeur de santé publique. Bien que des médicaments existent pour traiter ces maladies, ceux-ci ne sont pas toujours efficaces du fait de l'apparition de résistances parasitaires et de la toxicité des produits.

De plus, l'administration des traitements disponibles contre les leishmanioses s'effectue essentiellement par voie générale, ce qui nécessite une hospitalisation des patients. La recherche de nouvelles molécules thérapeutiques s'avère par conséquent nécessaire.

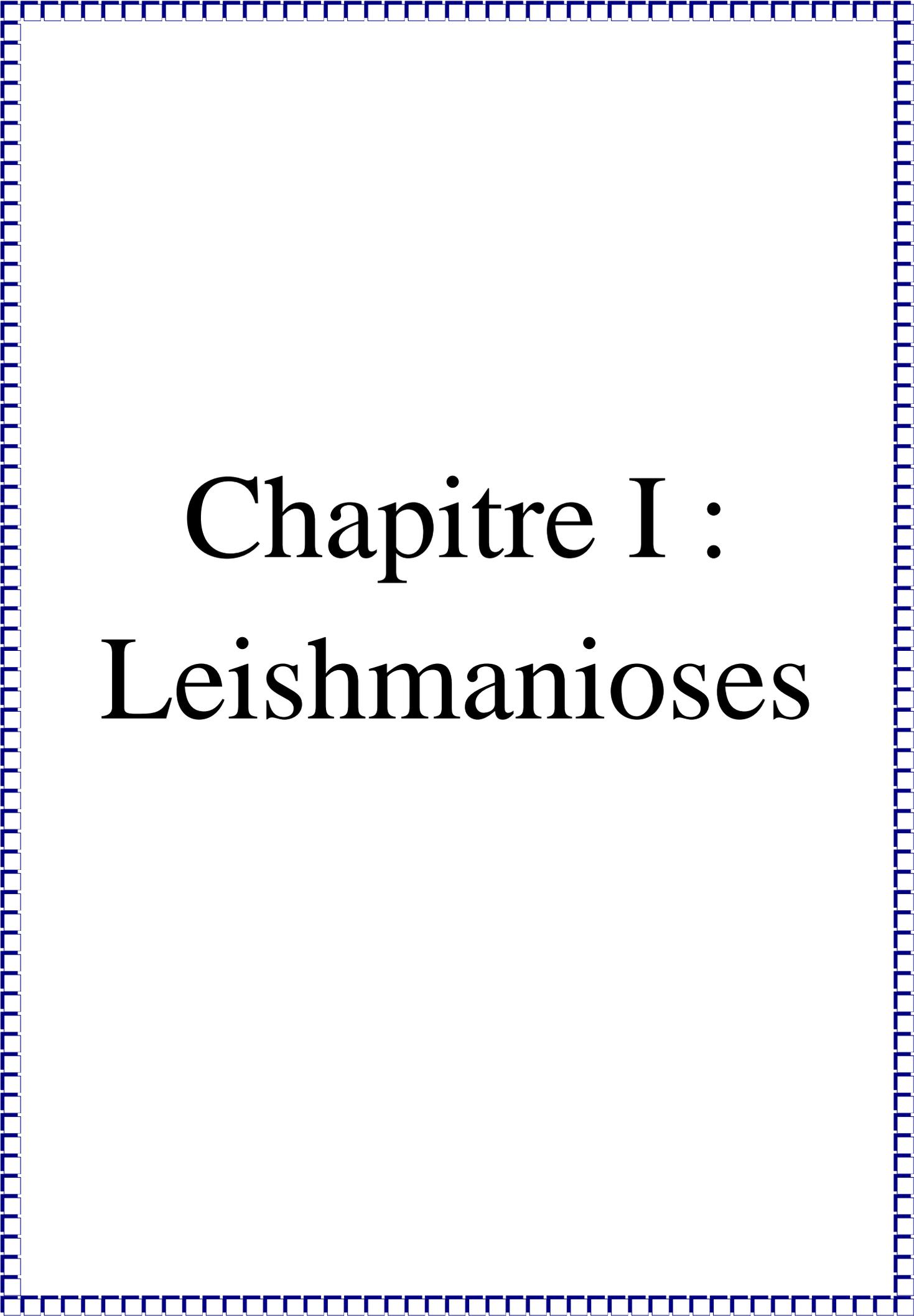
Dans le cadre de cette étude, les capacités matérielles mises à notre disposition, nous ont permis de mettre en place une stratégie de recherche pour l'étude transversale, analytique, descriptive et de tester l'activité antileishmanienne *in vitro* des extraits de la plante.

A travers ce travail, nous nous sommes intéressées dans un premier temps à donner quelques connaissances bibliographiques concernant l'intérêt d'étude des plantes médicinales et un aperçu scientifique sur la leishmaniose.

Par la suite, nous avons étudié le rendement des extractions solide liquide des feuilles de la plante puis un autre objectif principal étant consacré à l'étude de l'activité antileishmanienne *in vitro* des extraits de la plante.



Partie bibliographie



Chapitre I :

Leishmanioses

I.1 Définition

Les leishmanioses sont des parasitoses communes à l'homme et à l'animal (anthropozoonose), dues à des protozoaires flagellés appelés Leishmanies, transmises par la piqure de la femelle hématophage d'un insecte diptère dénommé phlébotome. Les réservoirs de parasite sont des rongeurs sauvages, l'homme, le chien. Selon les espèces de parasites et l'état immunitaire en cause, il y a diverses formes qui sont : - La leishmaniose qui affecte la totalité des cellules histiomonocytaires appelée leishmaniose viscérale ou Kala-azar, - La leishmaniose cutanéomuqueuse - La leishmaniose cutanée pure. (FAMAKAN KEITA, 2005).

Les formes cutanées de la leishmaniose sont les plus courantes et représentent 50-75 % de tous les nouveaux cas. L'urbanisation est l'un des principaux facteurs de risques. (FAMAKAN KEITA, 2005).

I.2 Rappel historique

- En 1900, sir William leishmania eut découvert l'agent de la leishmaniose dans des frottis de la rate d'un soldat mort de fièvre à DUM-DUM en Inde. Les résultats de cette découverte n'ont été publiés qu'en 1903.
 - La même année, Charles Donovan identifia le même parasite dans une biopsie de rate. Ce parasite fut nommé *Leishmania donovani*.
 - En 1904, Rogers décrit dans une culture in vitro de sang citraté des formes flagellées, probablement des promastigotes.
 - La première culture fut obtenue par Nicolle et Sircre en 1908.
 - En 1909, Nicolle décrit *Leishmania infantum* en Afrique du nord, et en 1913, Chagas identifia la maladie, tandis que Migone retrouva le parasite, appelé *Leishmania chagasi*, en Amérique du sud.
- Toutefois, il s'avère qu'actuellement que *Leishmania chagasi* appartient au même type parasitaire que *Leishmania infantum* et *leishmania donovani*.
- Dans la même année, le même auteur démontra l'incurabilité de l'*infantum* au chien.
 - En 1910, la première observation sur la leishmaniose canine en Algérie était rapportée par les frères Sergent.
 - En 1911, Lemaire découvre le premier cas de leishmaniose viscérale humaine en Algérie dans un foyer de la Kabylie.
 - En 1921, en Algérie, les frères Sergent et leurs collaborateurs établirent le rôle du vecteur des phlébotomes en réussissant la transmission du bouton d'orient par application des broyats de ses insectes sur les scarifications cutanées.
 - Le cycle du parasite ainsi que sa répétition géographique furent étudiés de 1925 à 1928 par Alder, Theoder et Christopher.
 - La chimio taxonomie, mise en place par Maazoom en 1981, s'est révélée performante en matière d'étude éco-épidémiologique des leishmanies et d'un point de vue fondamental, elle a permis des études taxonomiques des leishmanies. (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima, 2018/2019)

I.3 Importance en santé publique

Chez l'homme, l'ensemble des infections causées par *Leishmania spp* est considéré comme la troisième maladie parasitaire vectorielle après la malaria et les filarioses lymphatiques. Elle est de plus la deuxième cause de mortalité due à un parasite derrière la malaria.

Leishmanioses

Il faut faire prendre conscience aux décideurs de l'importance des leishmanioses en tant que problème de santé publique si l'on veut qu'ils soient prêts à soutenir et à défendre les programmes de lutte. (Organisation mondiale de la santé , 2010 , p , Martinetti, Léa, 2013) .

Dans les régions d'endémie, avant que les autorités et le personnel sanitaires ne se mettent au travail, il faut organiser des cours de formation à leur intention. Les médecins et les 164 techniciens de laboratoire doivent prendre part aux programmes d'éducation pour la santé puisqu'en général, ils sont familiarisés avec la maladie. Dans ces mêmes régions d'endémie, des programmes d'éducation sanitaire de base doivent être organisés à l'intention des agents de santé communautaires et des dirigeants locaux, des maîtres d'école et des communautés à fin de leur apprendre à reconnaître la maladie et à conseiller les malades sur la marche à suivre ou encore de les inciter à prendre des initiatives et à participer aux campagnes de prévention et de lutte. (Organisation mondiale de la santé , 2010 , p , Martinetti, Léa, 2013) .

L'éducation pour la santé s'adresse également aux personnels des régions où la maladie n'est pas endémique mais où des infestations peuvent s'observer chez des personnes qui se sont rendues dans des zones d'endémie. Il faut que les pays élaborent, en fonction de la situation locale, des stratégies et des plans de communication appropriés, tant en matière d'éducation pour la santé qu'en vue de faire évoluer les comportements.(Organisation mondiale de la santé , 2010 , p , Martinetti, Léa, 2013) .

I.4 Epidémiologie

I.4.1 Parasites

I.4.1.1 Classification

Espèces	Sous-espèces
Leishmania donovania	Leishmania donovania donovania, Leishmania donovania infantum Leishmania donovania chagasi
Leishmania major	
Leishmania tropica	
Leishmania aethiopia	
Leishmania mexicana	Leishmania mexicana mexicana, Leishmania mexicana amazonensis, Leishmania mexicana pifanoi
Leishmania braziliensis	Leishmania braziliensis, braziliensis, Leishmania braziliensis guyanensis Leishmania braziliensis panamensis

Tableau I-1 Taxonomie des espèces de leishmaniose dont le parasite chez l'homme est connu. (FAMA KAN KEITA , 2005 , (LAMARI Fatima et ZOUAK Karima , 2018/2019)

Les parasites sont de protozoaires dimorphes du genre *Leishmania*. Ils se présentent sous deux formes :

- La forme promastigote, libre forme *Leptomonas*.
- La forme amastigote dite *Leishmania* se trouve chez les mammifères.(FAMA KAN KEITA , 2005 , (LAMARI Fatima et ZOUAK Karima , 2018/2019)

I.4.1.2 Caractères morphologiques

Les leishmanies peuvent se présenter sous deux formes :

- ✓ La forme promastigote constitue la forme fusiforme, flagellée, mobile et extracellulaire du parasite.



Figure I-1 Photographie de promastigote (LeishRisk. Bridging Research and Leishmaniasis Control). (Martinetti, Léa, 2013)

- ✓ La forme amastigote constitue la forme ovoïde, de 2 à 6 μm de diamètre, à gros noyau, non mobile et intracellulaire. (Martinetti, Léa, 2013)

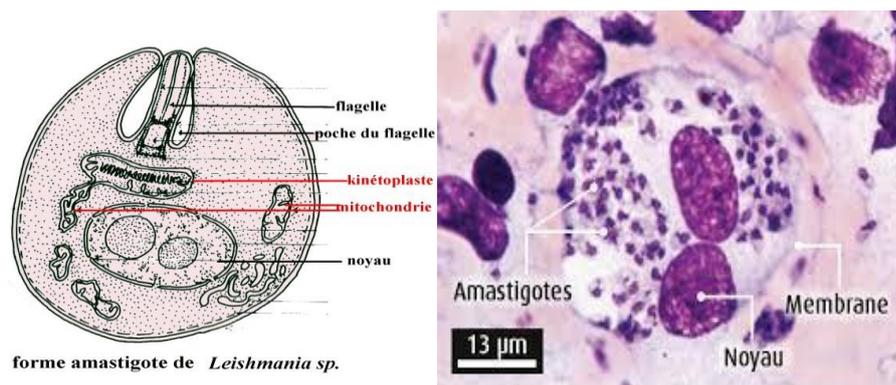


Figure I-2 Photographie d'amastigote (Martinetti, Léa, 2013)

I.4.1.3 Nutrition

- La nutrition s'effectue par pinocytose , à travers la membrane plasmique de la poche flagellaire . Les microvésicules fusionnent avec les lysosomes permettant la digestion des macromolécules ingérées . (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)

I.4.1.4 Multiplication

- Les deux formes de la leishmanie se multiplient par division binaire longitudinale qui commence par un dédoublement du corps basal (partie du Kinétoplaste) et la formation d'un second flagelle (Grassé et al.,1961) . Elle se termine par une division simultanée du kinétoplaste et du noyau . (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)

I.4.1.5 Réservoirs de virus

Le réservoir diffère selon les espèces de parasites et les régions. Les cas humains de *Leishmania infantum* et de *Leishmania chagasi* semblent bien contractés à partir de nombreux canins. Le chien présente une maladie généralement fatale. Au contraire la transmission de *Leishmania donovani* est inter humaine. Les formes cutanées de l'ancien monde sont liées aux réservoirs constitués par les rongeurs pour *Leishmania mexicana* en Amérique du Sud. Les damas constituent les réservoirs pour *Leishmania aethiopia* en Afrique et les édentés (fourmiliers) pour *Leishmania. Braziliensis guyanensis* et *Leishmania.braziliensis panamensis* en Amérique. Le chien est le réservoir de *Leishmania.tropica* et *Leishmania.peruviana*. (FAMAKAN KEITA , 2005)



Figure I-3 réservoir de LC du nord à *Leishmania infantum* (le chien)Le réservoir de LC du nord à *Leishmania infantum* (le chien) (FAMAKAN KEITA , 2005)

I.4.1.6 Cycle biologique

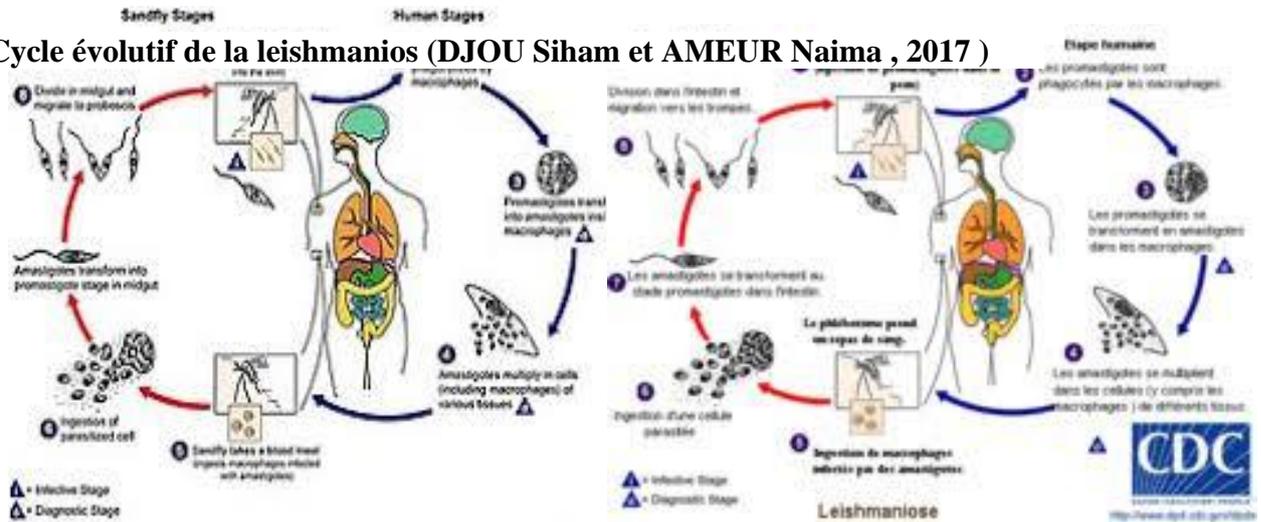
Il se déroule entre deux hôtes :

- un vertébré (homme, chien, rongeurs...) et l' insecte vecteur .
- La leishmaniose est transmise à l'homme par la piqûre des phlébotomes femelles infectées .
- **Chez le vecteur** : Le phlébotome, s'infeste en piquant un homme ou un animal malade. Il absorbe ainsi les macrophages infectés . Au niveau du tube digestif de l'insecte, les formes amastigotes se transforment en formes promastigotes dans les heures qui suivent, et s'échappent de la membrane péritrophique. Ils subissent un cycle complexe comportant de nombreuses divisions mitotiques, deux étapes de fixation à l'épithélium de la muqueuse intestinale et une phase de migration vers la partie antérieure du tube digestif, où a lieu la métacyclogenèse.
- **Chez l'hôte définitif** : Lors d'un prochain contact avec un mammifère sain , l'insecte injecte les formes promastigotes métacycliques suite aux efforts de succion au niveau du site de la piqûre ,ces

Leishmanioses

formes infestantes sont phagocytées par les macrophages du derme et se transforment dans quelques minutes en amastigotes en perdant leur flagelle. Ces amastigotes se multiplient et survivent dans les phagolysosomes des cellules du système réticulo-endothélial infectées. La cellule hôte finit par éclater, libérant les parasites qui pénètrent aussitôt dans de nouvelles cellules. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

Figure I-4 Cycle évolutif de la leishmaniose (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)



I.4.2 Vecteur

Le phlébotome : est établi que les phlébotomes sont les seuls vecteurs capables de transmettre les leishmanies aux mammifères. D'autres modes de transmission sont suspectés mais ils restent marginaux, notamment dans les régions endémiques où les phlébotomes sont très présents. (Martinetti, Léa, 2013)

I.4.2.1 Taxonomie et morphologie

Morphologie de l'adulte

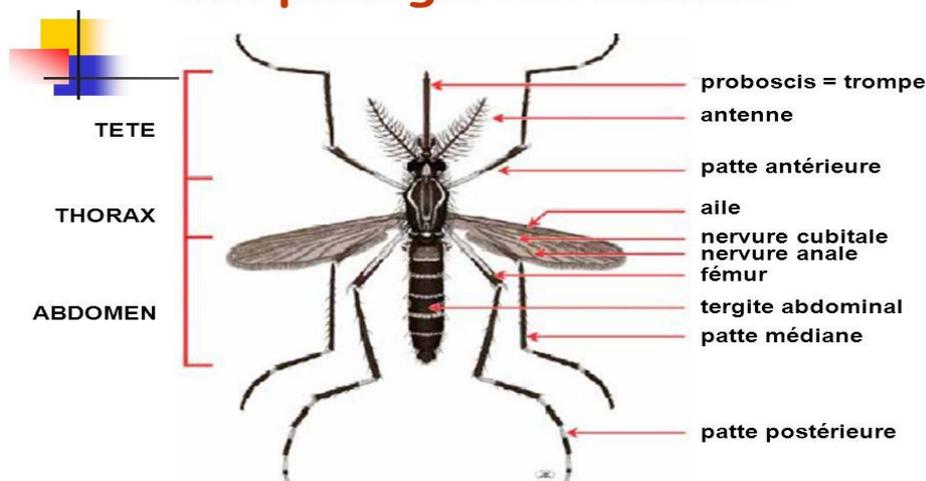


Figure I-5 Morphologie de l'adulte (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)



Figure I-6 Photographie de phlébotome. (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)

En France, la leishmaniose due à *Leishmania infantum* est transmise par deux espèces : *Phlebotomus perniciosus* et *Phlebotomus ariasi*. D'autres espèces sont présentes dans le bassin méditerranéen, notamment *P. major* et *neglectus* en Grèce. (LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)

I.4.2.2 Biologie

a- Habitat

Les phlébotomes sont présents dans les zones tropicales, subtropicales et les zones tempérées où ils ne sont actifs que lorsque les températures sont comprises entre 18 et 25°C. Ils affectionnent également une humidité relative élevée et l'absence de vent car se sont de mauvais voiliers. Les formes adultes recherchent les recoins sombres et confinés : fissures et trous dans les murs, terriers de rongeurs. Cependant, les femelles lorsqu'elles sont fécondées ont d'avantage besoin d'humidité et préfèrent ainsi les caves, les étables, ou bien encore les chenils. (MARTINETTI Léa , 2013)

P. ariasi occupe les étages compris entre deux cents et six cents mètres d'altitude, de préférence dans les endroits où il y a des chênes. C'est un vecteur principalement rural, que l'on retrouve dans les Cévennes et le Languedoc. *P. perniciosus* occupe lui des altitudes plus basses. C'est un vecteur des zones rurales et suburbaines, que l'on retrouve en Provence-Alpes-Côte d'Azur, notamment en Corse, et dans quelques foyers ectopiques de leishmaniose. (MARTINETTI Léa , 2013)

b- Nutrition

Seules les femelles sont hématophages et effectuent un repas sanguin entre chaque ponte (le sang est indispensable à la maturation des œufs) soit 5 repas au maximum pendant leur 2 à 6 semaines de vie à l'état adulte. Elles peuvent parcourir un rayon de quelques mètres à plusieurs centaines de mètres pour se nourrir et elles peuvent piquer plusieurs fois avant de prendre leur repas sanguin. (MARTINETTI Léa , 2013)

Leishmanioses

Les phlébotomes ne se nourrissent pas exclusivement sur les chiens et les hommes, ils sont assez opportunistes (chats, rongeurs variés, bétail, oiseaux, lézards, etc...). Les morsures se font le plus souvent au niveau des zones dépilées. Hors des périodes de ponte, les mâles et les femelles se nourrissent de sucs végétaux et de miellat de pucerons. (MARTINETTI Léa , 2013)

c- Cycle évolutif

Les phlébotomes se reproduisent dans les déchets organiques, les fissures des murs, et la ponte a lieu 5 à 8 jours après le repas sanguin. Les œufs sont pondus isolément : à chaque ponte la femelle peut pondre de quinze à quatre-vingt œufs, qu'elle dépose dans tout endroit où l'humidité et la température sont élevées (sol des forêts, écorce de certains arbres, ruines, niches, terriers, sable humide d'où le nom de « sand flies » qu'on leur donne souvent).

Après éclosion, les phlébotomes passent par 4 stades larvaires en trois à cinq semaines en conditions optimales. Elles se transforment alors en nymphes qui donneront des adultes en une à deux semaines. (MARTINETTI Léa , 2013)

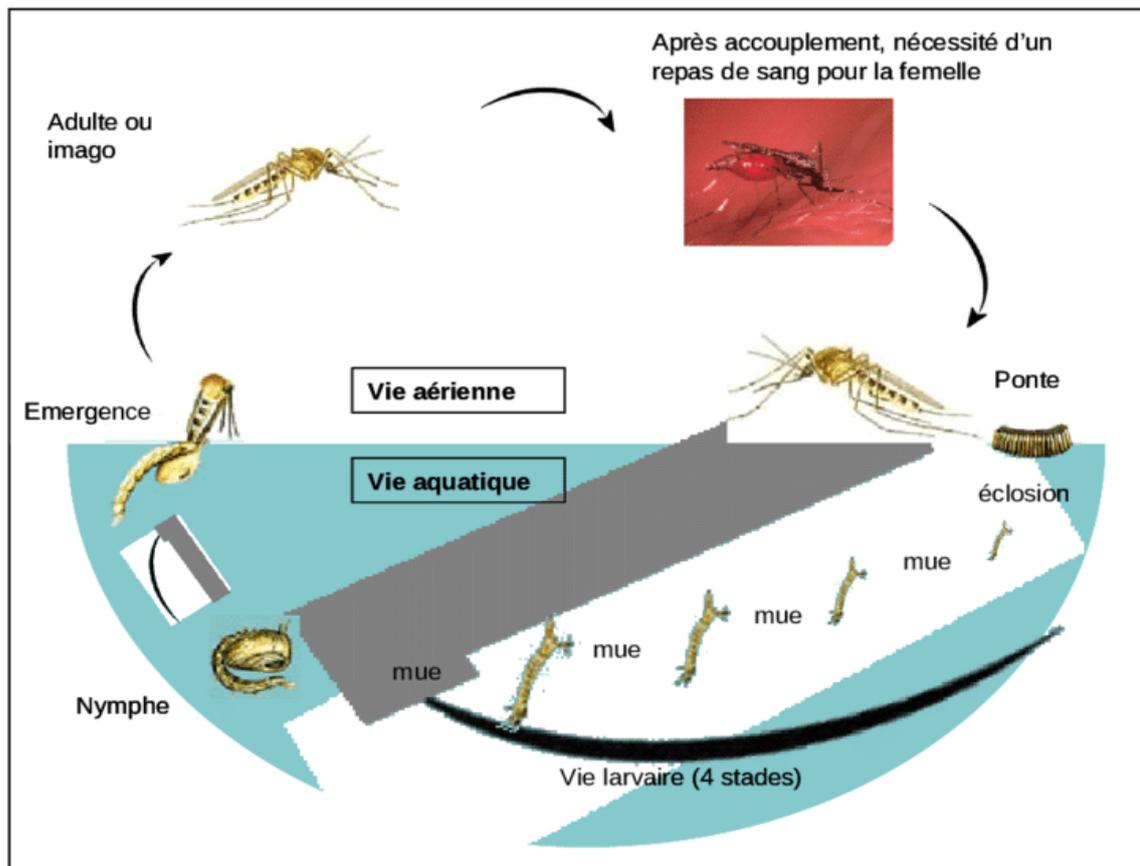


Figure I-7 Cycle de développement de phlébotome. (MARTINETTI Léa , 2013)

d- Activité

Dans les zones tempérées, les phlébotomes sont actifs de la fin du printemps jusqu'à la fin de l'automne (lorsque les températures sont favorables) et leur activité est maximale du crépuscule à l'aube. Etant de mauvais volants ils ne parcourent que de petites distances (de deux cent mètres à deux kilomètres et demi) et sont incapables de voler en présence de vent. Leur vol est silencieux et ils peuvent rentrer dans les habitations la nuit en raison de leur phototropisme .

P. ariasi est principalement exophile et son activité est maximale en été lorsque les températures dépassent 20°C. *P. perniciosus* est lui endophile et son activité est maximale au printemps et à l'automne . (MARTINETTI Léa , 2013)

I.4.3 Relation hôte –parasite ,phlébotome, climats

I.4.3.1 Hôte parasite

Elles sont mal connues notamment chez l'homme. Le parasite phagocyté par les macrophages ou in vitro, il est détruit par les radicaux libres, mais in vivo, les leishmanies échappent à cette lyse et se multiplient librement dans les cellules phagocytaires où elles sont à l'abri des réactions immunitaires spécifiques.

A savoir pour :

-La leishmaniose cutanéomuqueuse : l'immunité cellulaire est élevée et les anticorps sont présents. (FAMAKAN KEITA , 2005)

-Leishmaniose viscérale : l'immunité cellulaire vis-à-vis des anticorps du genre leishmania est nulle, par contre les anticorps spécifiques sont élevés et il existe également une sécrétion importante d'anticorps poly clonaux non spécifiques. (FAMAKAN KEITA , 2005)

- Les leishmanioses cutanées : l'immunité cellulaire s'installe tardivement ; dans la forme cutanée diffuse très lentement ou jamais. Le titre des anticorps est variable en fonction de l'espèce parasitaire . Il n'y a pas d'immunité entre la leishmaniose viscérale et la leishmaniose cutanée Plus encore, il n'y a pas d'immunité entre deux formes sèche et humide. Par contre, pour une forme déterminée l'immunité est solide. La forme pseudo- lupide nous apparaît due à des inoculations de leishmanie chez des malades ayant fait antérieurement une leishmaniose et complètement guéris depuis, donc en état d'immunité. A la suite d'une réinfection avec une souche de *Leishmania* différente que celle produite la première atteinte. C'est encore cette immunité qui, en se développant, amène une guérison spontanée. Cette immunité persiste durant toute la vie . (FAMAKAN KEITA , 2005)

I.4.3.2 Phlébotomes climats

Les modifications (FAMAKAN KEITA , 2005) climatiques enregistrées dans le sahel ont pu influer sur le développement du vecteur .

I.4.4 Co-infection leishmaniose/VIH (SIDA)

La leishmaniose viscérale après piqûre infectante par le phlébotome, ou transmission transplacentaire ou transmission par le sang (seringues) est liée à une dépression de l'immunité cellulaire (ex : transplantation d'organes).

La leishmaniose viscérale nécessite une parfaite coopération cellulaire entre le système monocytes-macrophages et les lymphocytes, particulièrement les lymphocytes T- helper CD4+. Les Co-infections leishmanioses viscérales/VIH sont apparues du fait de la superposition croissante des

Leishmanioses

deux maladies, la pandémie de VIH/SIDA atteignant les zones rurales et la leishmaniose viscérale devenant de plus en plus suburbaine.

Les Co-infections sont signalées dans 33 pays , mais la plupart des cas proviennent du Sud de l'Europe (Espagne, France, Italie et Portugal), les toxicomanes par voie IV (intra-veineuse) représentant la principale population à risque. Les cas de co-infections augmentent en Afrique de l'Ouest et dans les sous continents Indien où l'homme est la seule source d'infection pour les phlébotomes vecteurs.

La prévalence de la co-infection serait de 1-3 % (OMS), ce qui est préoccupant pour les années à venir en zone d'endémie. Elle est observée chez les sujets jeunes entre 30- 45 ans avec une prédominance masculine.(FAMAKAN KEITA ,2005)

I.5 Formes cliniques

- Appelée également kala azar , ou 'fièvre noire ' ou fièvre Dum-Dum est la forme la plus grave de la maladie , avec une mortalité de presque 100 % en l'absence de traitement . .(LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)

I.5.1 Leishmaniose viscérale

I.5.1.1 Forme de l'infantile

Touche les enfants âgés de 2 à 3 ans . Après d'une durée d'incubation de 1 à 2 mois , elle s'installe insidieusement avec une altération rapide de l'état général . La phase d'état comprend une fièvre irrégulière associée à une anémie responsables d'une pâleur extrême et à un syndrome spléno-hépatogaugléonnaire. La maladie est fatale en l'absence de traitement . .(Pr Pierre Aubry et al , 2018)

I.5.1.2 Forme de l'adulte

De plus en plus fréquente , à un début plus brutal que chez l'enfant , la période d'état est similaire , hormis un syndrome spléno-hépatobénomégalique moins marqué , mais auquel s'ajoutent les signes cutanés avec parfois des signes digestifs et / ou hémorragiques . Les formes atypiques sont fréquents (gastro-intestinales , respiratoires ou cutanées) en particulier chez les sujets immunodéprimés (Sida , traitements immunosuppresseurs) . .(Pr Pierre Aubry et al , 2018)

I.5.2 Leishmaniose cutanée

Elles sont caractérisées par des lésions d'aspect polymorphe et d'évolution lente, chronique, indolore, classiquement sans signes généraux, sans lésion muqueuse ni viscérale.(Pr Pierre Aubry et al , 2018)

Type de leishmaniose	Parasite	Réservoirs	Vecteur
Leishmaniose cutanée zoonotique ou rurale .	Leishmania major (Algérie du sud haut plateaux)	Rongeurs sauvages Psammomys obesus , Meriones shawi .	Phlebotomus papatasi Phlebotomus sergenti Phlebotomus longicuspis

Leishmanioses

Leishmaniose cutanée anthroponotique ou urbaine	Leishmania tropica	Homme	Phlebotomus sergenti Phlebotomus papatasi
Leishmaniose cutanée sporadique du nord .	Leishmania Infuntum	Chien , chacal .	Phlebotomus perniciosus Phlebotomus perfiliewi

**Tableau I-2 Types de leishmaniose cutanée , parasite , réservoirs et vecteur en Algérie .
(Pr Pierre Aubry et al , 2018)**

I.5.3 Leishmaniose cutané-muqueuses

La lésion cutanée ressemble à celle res LC , mais après guérison , le parasite peut atteindre secondairement les muqueuses de la force : cartilages du nez ou de l'oreille lèvres ou muqueuses de l'oropharynx conduisant à des mutilations faciales et parfois au décès. (Biomnis , 2012)

I.6 Répartition géographique

Les leishmanioses sont présentes dans 5 continents ,dans les zones tropicales et subtropicales de 88 pays dont 72 pays en développement Les zones d'endémies sont l'Europe du sud ,ainsi que de nombreux PED d'Afrique ,du Moyen- Orient d'Asie , d'Amérique centrale et du sud. La forme rurale humide de la leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde est répandue dans les zones sèches d'Afrique, au Nord de l'équateur, au Moyen-Orient en Asie centrale jusqu'à l'Inde.

La forme sèche urbaine n'est signalée que dans la méditerranée orientale à l'Asie centrale. La leishmaniose cutanée due à *Leishmania aethiopica* est localisée dans certaines zones montagneuses d'Ethiopie, Kenya, de la Tanzanie et de la Namibie où vivent ces réservoirs, les damas. La leishmaniose cutané-muqueuse a une large répartition dans le bloc forestier amazonien. Les colons qui défrichent la forêt se contaminent à partir du cycle silvatique. La leishmanioses cutanée à *Leishmania braziliensis* et *Leishmania braziliensis panamensis* touchent seulement ceux qui pénètrent dans la grande forêt (Guyanes et le Brésil), ainsi qu'en Amérique centrale.

Les diverses formes de leishmanioses cutanées américaines sont répandues dans les zones forestières du sud du Mexique, au Brésil, sauf l'Uta du servant pacifique des Andes. (FAMAKAN KEITA , 2005)

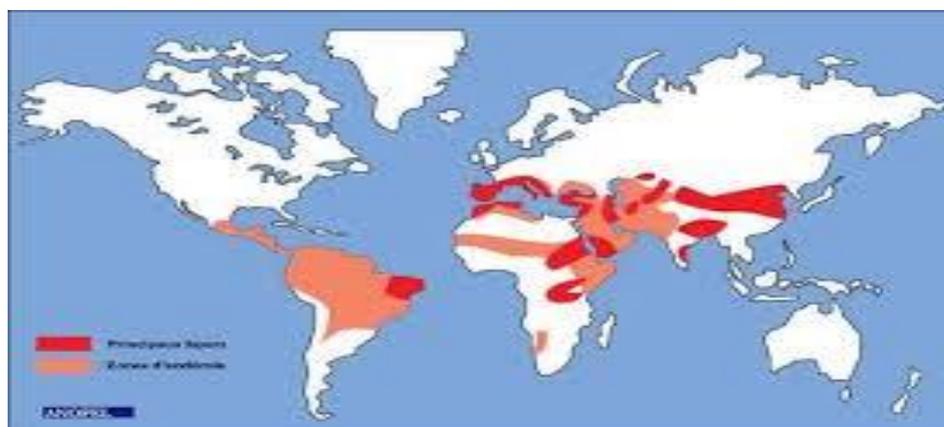


Figure I-8 Répartition géographique de leishmania dans le monde(FAMAKAN KEITA , 2005)

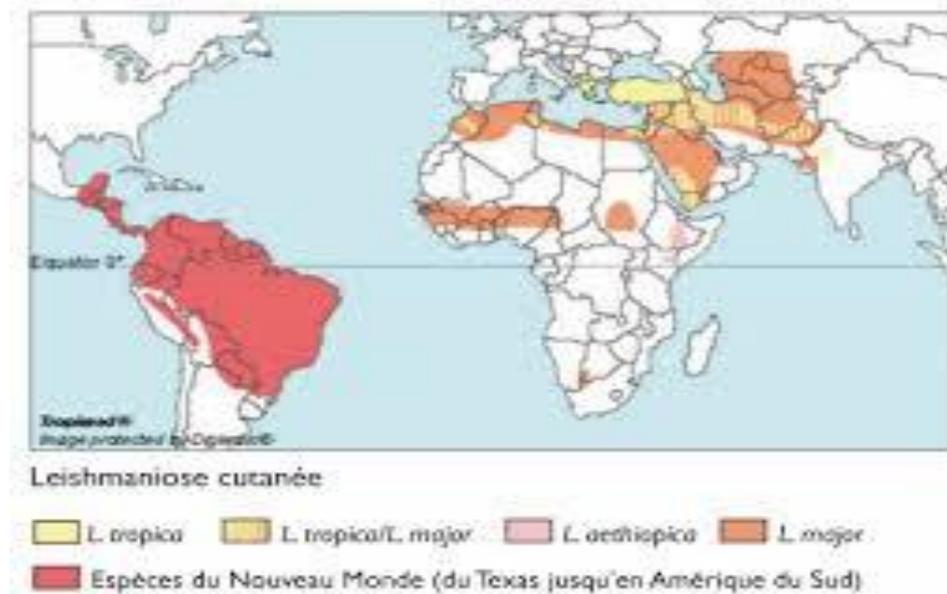


Figure I-9 Distribution de leishmaniose cutanéé dans le monde
(FAMAKAN KEITA , 2005)

I.6.1 Leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde

Les caractéristiques cliniques de la leishmaniose cutanée ont tendance à varier d'une région à l'autre et à l'intérieur d'une même région, par suite de différences touchant à l'espèce parasitaire, au type de cycle zoonosique en cause, à l'état immunitaire et peut-être aussi par suite du déterminisme génétique de la réponse du patient. (FAMAKAN KEITA , 2005).

La lésion « classique » débute sous la forme d'une papule ou d'un nodule au point d'inoculation ; elle s'accroît peu à peu pour atteindre sa taille finale au bout d'une semaine. Une croûte se forme au centre en révélant, si elle se détache, une ulcération pouvant atteindre 5 cm de diamètre dont les bords sont surélevés et qui est entourée d'une induration variable. Cette ulcération évolue vers la guérison au prix d'une cicatrice profonde présentant une altération de la pigmentation. (FAMAKAN KEITA , 2005).

La présence de nodules satellites siégeant au bord de la lésion est courante. Le clinicien doit être parfaitement informé de l'extrême variété des manifestations cliniques possibles.

La leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde est provoquée par cinq espèces de leishmanies : *L. infantum*, *L. tropica*, *L. major*, *L. aethiopica* et *L. donovani*. Des lésions cutanées dues à *L. infantum* s'observent dans toute son aire de répartition, tout particulièrement dans le bassin méditerranéen. *Leishmania infantum* est la cause la plus fréquente de leishmaniose cutanée en Europe du sud. Ce sont des lésions nodulaires le plus souvent uniques, peu enflammées, même si des ulcérations caractéristiques sont également observées. En l'absence d'immunodépression, il n'y a ni signes ni antécédents de leishmaniose viscérale. (FAMAKAN KEITA , 2005).

Les lésions guérissent spontanément en l'espace d'une année environ et semblent conférer une immunité. *Leishmania tropica* est également présente en Grèce. La leishmaniose cutanée due à *L.*

tropica (désignée antérieurement sous la dénomination de leishmaniose anthroponosique ou de leishmaniose cutanée anthroponosique urbaine) détermine des ulcérations sèches et indolores de la peau, souvent multiples, qui en règle générale guérissent spontanément en l'espace d'une année ou parfois plus, laissant souvent derrière elles des cicatrices inesthétiques. La durée d'incubation est généralement de 2 à 8 mois. (FAMAKAN KEITA , 2005).

La leishmaniose récidivante, également connue sous le nom de leishmaniose lupoïde ou tuberculoïde est une forme chronique de la leishmaniose cutanée anthroponosique qui peut durer de longues années. Les lésions, d'évolution lente, siègent habituellement sur les parties exposées ; elles se caractérisent par une cicatrice douée d'activité périphérique. En l'absence de traitement, la maladie est destructrice et le patient reste défi guré. (FAMAKAN KEITA , 2005).

La rareté des amastigotes au niveau de la lésion peut facilement conduire à un diagnostic tardif ou erroné. La leishmaniose cutanée provoquée par *L. major* (désignée antérieurement sous la dénomination de leishmaniose zoonosique ou de leishmaniose cutanée zoonosique rurale) est indolore, comme les autres formes de leishmaniose cutanée, quand les lésions ne s'accompagnent pas de complications. (FAMAKAN KEITA , 2005).

Ces lésions sont souvent très enfl amées et ulcérées et guérissent en 2 à 8 mois. Elles sont fréquemment multiples, spécialement chez les immigrants non immunisés, et l'on observe une confl uence et une surinfection. Elles mettent souvent longtemps à guérir et peuvent laisser d'importantes cicatrices inesthétiques et invalidantes. La durée d'incubation est souvent inférieure à 4 mois. La leishmaniose cutanée due à *L. aethiopica* s'accompagne essentiellement de lésions cutanées nodulaires localisées et moins fréquemment prend l'aspect d'une leishmaniose bucco-nasale qui peut déformer les narines et les lèvres ou encore d'une leishmaniose cutanée diffuse .

La plupart des lésions évoluent lentement et peuvent s'étendre localement. L'ulcération est tardive ou absente. La guérison spontanée prend habituellement de 2 à 5 ans. (FAMAKAN KEITA , 2005).

I.6.2 Leishmaniose cutanée diffuse de l'Ancien Monde

La leishmaniose cutanée diffuse est provoquée par *L. aethiopica* et se caractérise par des macules, des papules, des lésions nodulaires ou des plaques très disséminées ou par une infi ltration diffuse de la peau, spécialement au niveau de la face et des faces externes des membres où l'épaississement des sourcils et du lobe des oreilles peut ressembler à la lèpre lépromateuse. Il n'y a pas d'ulcération. (La lutte contre les Leishmaniose , 2010).

L'atteinte des muqueuses se limite à la bordure des narines et des lèvres. Cette maladie ne guérit pas spontanément et les récives sont fréquentes après le traitement (voir section 3.2.3). Une leishmaniose cutanée diffuse liée à une immunodépression et due à d'autres espèces de leishmanies peut se produire chez les sujets porteurs d'une infection concomitante par le VIH et les personnes présentant d'autres formes d'immunodépression (par exemple, les personnes greffées). Des manifestations atypiques peuvent se produire, comme des ulcérations par exemple.(La lutte contre les Leishmaniose , 2010).

I.6.3 Leishmaniose cutanée du Nouveau Monde

Dans les Amériques, il existe toute une variété de manifestations cliniques dues à de multiples espèces de leishmanies qui sont phylogénétiquement distinctes. Si certaines de ces manifestations

cliniques sont plus souvent liées à une espèce ou à un sous-genre particuliers, aucune d'entre elles n'est propre à une espèce donnée. En outre, une part importante des infestations sont asymptomatiques. Au nombre de ces formes cliniques figurent des leishmanioses cutanées ou cutanéomuqueuses localisées, disséminées ou atypiques. Les caractéristiques cliniques et les espèces responsables sont décrites ciaprès et la section 4.1 donne un récapitulatif de la répartition géographique ainsi que des vecteurs et des réservoirs connus ou suspectés. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

La leishmaniose cutanée localisée est provoquée par de multiples espèces appartenant aux deux sous-genres *Leishmania* et *Viannia*, d'abondance variable dans la région des Amériques. Les lésions peuvent apparaître dans n'importe quelle région du corps mais prennent généralement naissance au point d'inoculation sous la forme d'une macule, suivie d'une papule qui s'ulcère et s'étend en prenant l'aspect d'une lésion cratériforme ronde à ovale ou évolue vers une forme nodulaire. Les lésions peuvent se manifester des semaines, des mois, voire des années après la contamination. Les lésions primitives peuvent être uniques ou multiples. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

L'extension par voie lymphatique se manifeste par une adénite ou adénopathie et elle est commune aux lésions dues aux espèces du sous-genre *Viannia*. Les lésions provoquées par *L. mexicana* sont souvent spontanément résolutives en l'espace de 3 à 4 mois, celles qui sont dues aux espèces du sous-genre *Viannia* telles que *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* et *L. peruviana* pouvant guérir sans traitement au bout de 6 mois. Des lésions secondaires cutanées ou intéressant les muqueuses peuvent se former ; l'atteinte des muqueuses est la plupart du temps imputable à une infestation par *L. braziliensis* ou *L. panamensis* mais peut également être due à d'autres espèces. La leishmaniose cutanée due à *L. infantum*, l'espèce qui est généralement la cause de la leishmaniose viscérale, est souvent atypique. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

Les lésions se manifestent sous la forme de plaques ou de nodules localisés qui s'inscrivent dans le spectre clinique des lésions dues aux espèces dermatotropes du Nouveau Monde. La leishmaniose cutanée à *L. infantum* s'observe principalement en Amérique centrale, dans des zones où la leishmaniose viscérale est endémique chez les grands enfants et les jeunes adultes, alors que chez les enfants de moins de cinq ans, c'est cette dernière forme qui prédomine. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

I.6.4 Leishmaniose cutanée diffuse du Nouveau Monde

La leishmaniose cutanée diffuse du Nouveau Monde est analogue à celle de l'Ancien Monde tant sur le plan clinique que sur le plan anatomo-pathologique. Il n'y a généralement pas de lésions au niveau des muqueuses. Cette affection ne guérit pas spontanément. Au début, la maladie cède au traitement classique mais elle récidive et reste réfractaire à tout traitement ultérieur. Elle n'est attribuée qu'à *L. mexicana* et *L. amazonensis*. Un foyer inhabituel a fait son apparition en République Dominicaine. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

I.6.5 Leishmaniose cutanée disséminée

La leishmaniose cutanée disséminée se présente sous la forme de nombreuses lésions étendues nodulaire ou ulcérées et on l'attribue à des infestations par *L. braziliensis*, *L. panamensis*, *L. guyanensis* et *L. amazonensis*. Plus de 20 et jusqu'à plusieurs centaines de lésions cutanées peuvent se former avec ou sans atteinte des muqueuses. La réaction aux antigènes leishmaniens, qu'il s'agisse d'une réponse d'hypersensibilité retardée ou d'une réponse anticorpale, reste intacte et les

lésions cèdent partiellement aux antimoniés et à la miltéfosine. (Organisation mondiale de la santé , 2010)

I.6.6 Leishmania en Algérie

La LC en Algérie, endémique depuis le commencement du siècle, est causé par *L.infantum* , *L. major* et *L. killicki* (limité pour le moment à Ghardaïa dans le sud algérien, longtemps confinée au Sahara).

I.6.6.1 Leishmaniose cutanée zoonotique (LCZ)

A *L. major* (zymodème MON-25). C'est la forme la plus rencontrée en Algérie. Elle correspond au clou de Biskra ou bouton d'Orient sous sa forme humide ou rurale. Elle s'observe dans les régions steppiques , arides à semi-arides , principalement au niveau de la frange nord du Sahara. Dans ces région , cohabitent le vecteur *Phlébotomus papatasi* et les rongeurs sauvages réservoirs naturels de la maladie *Psammomys obesus* et *Meriones shawi* .

Le foyer historique de Biskra reste encore le plus actif, mais la maladie s'étend rapidement et crée de nouveaux et importants foyers tels ceux de Msila , Bou-Saada ,Tiaret et Béchar . Elle est endémo-épidémique dans ces régions. Les enfants autochtones et les personnes venant y séjourner . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.6.6.2 Leishmaniose cutanée sporadique (LCS)

Elle se produit sur le littoral du nord du pays , causée par *L. infantum* MON 24, avec *Phlebotomus perfliewi* comme vecteur et les chiens impliqués comme réservoir. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.6.6.3 Leishmaniose cutanée anthroponotique

L'étude d'une première manifestation épidémique dans un centre émergent dans Ghardaïa (vers le sud d' Algérie) a indiqué la présence d'une nouvelle espèce de *L. killicki*, qui coexiste avec *L. major* MON25 , avec *Phlebotomus sergenti* comme vecteurs et les rongeurs *Ctenodactylus gundi* comme réservoirs

*La LC zoonotique à *L. major* connaît une extension géographique en dehors des foyers naturels de la maladie. cependant, on a constaté au cours de ces dernières années que la barrière géographique formée par l'Atlas tellien ,qui séparait la forme cutanée du nord (sporadique) à *L. infantum* et la LCZ du sud à *L. major* , a été franchie avec une avancée rapide de cette dernière vers le nord du pays . Cette propagation méridienne coïncide avec la survenue d'importantes épidémies affectant des milliers de cas dans le pays. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

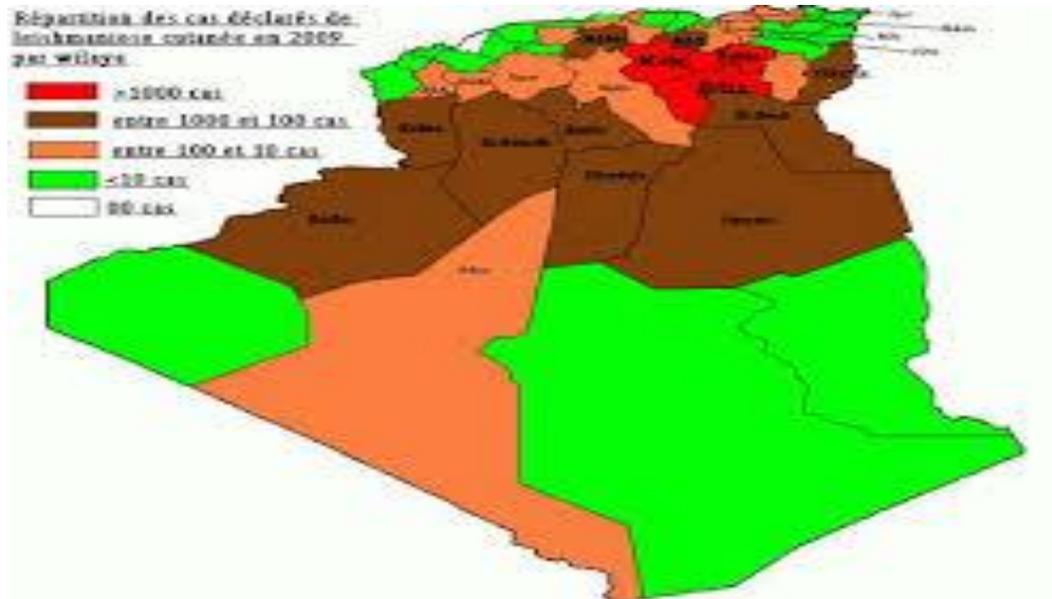


Figure I-10 Différents foyers de Leishmaniose cutanée en Algérie(DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7 Diagnostic

I.7.1 Arguments direct de certitude

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence des parasites ou de leur ADN dans les prélèvements cutanés, les leishmanies sont plus facilement retrouvées lorsqu'elles sont recherchées en début d'évolution de la maladie , dès les premières semaines qui suivent l'apparition des lésions . En fin d'évolution, les parasites deviennent rares dans les tissus. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.1 Prélèvement

L'examen parasitologique est essentiel afin de mettre en évidence les leishmanies. Il faut faire un prélèvement sur le bourrelet situé en périphérie de la lésion, en zone parasitologiquement active, par grattage au vaccinostyle ou à la curette. On peut également aspirer le produit d'une ponction ou faire des appositions sur lame d'une tranche de section de biopsie cutanée . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.2 Examen direct

Le diagnostic est habituellement fait par l'examen microscopique direct d'un frottis cutané (au Gx100). Cet examen est pratiqué après coloration par le May-Grunwald-Giemsa (MGG) ou le

Giemsa sur le produit prélevé de la lésion. On recherche les formes amastigotes de *Leishmania* sp, au niveau des cellules du système réticulo-endothélial à l'intérieur des macrophages; ou des formes libres après éclatement des cellules infestées. Elles sont de petite taille : 2 à 6µm, plutôt arrondis, avec un noyau ovale, excentré et pourpre à la coloration de MGG, le cytoplasme est coloré en bleu pâle, le kinétoplaste est de coloration très foncée, placé souvent perpendiculairement au noyau. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.3 Culture

C'est un complément indispensable au diagnostic , permettant de rendre plus sensible le diagnostic parasitologique , d'identifier précisément le parasite et de tester éventuellement la sensibilité de la souche au médicament disponible. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

On utilise des milieux semi-solides, biphasiques (contiennent du sang , nécessaire pour la reproduction du Parasite) ou des milieux liquides qui sont représentés par le milieu drosophile de Schneider et le milieu RPMI-1640, additionnés à 20% de sérum de veau fœtal (SVF) décomplémenté et éventuellement enrichis de glucose , pyruvate , L- glutamate et hémine .Ces milieux sont tamponnés à PH 7,2 à 7,5.

Le milieu NNN (Novy Mac Neal Nicolle) reste le plus utilisé ,il est composé de deux phases , une solide faite de gélose avec 10% de sang de lapin défibriné et une phase liquide constituée de l'exsudat produit à partir de la gélose au sang . Il permet d'isoler le parasite sous sa forme promastigote et d'en déterminer le genre, l'espèce et le zymodème par typage isoenzymatique. Le produit pathologique est ensemencé au niveau de la phase liquide de la culture . L'incubation se fait entre 22 et 26°C, pendant au moins 3 semaines. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

La recherche de formes promastigotes se fait chaque semaine par la réalisation d'un état frais entre lame et lamelle au microscope à fond claire à l'objectif G X 10 ou G X40 sur une goutte de la phase liquide, les *Leishmanies* peuvent être repérées par leur mobilité. Une culture ne peut être déclarée négative qu'après 4 à 5 semaines . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

Les contaminations représentent l'un des problèmes observés au cours de la culture. En effet , le milieu NNN , riche en nutriments , est propice à la prolifération des bactéries et des moisissures .

L'utilisation systématique d'antibiotiques et d'antifongiques au besoin n'ont pas toujours suffi pour éviter ou enrayer ces contaminations dues principalement à la présence de bactéries dans l'inoculât dermique déjà surinfecté ou à la souillure par des champignons environnementaux lors de l'ouverture des tubes pour l'inoculation initiale, les lectures ou les repiquages. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.4 Inoculation à l'animal

En plus de hamster doré syrien, d'autres rongeurs peuvent être utilisés tels que la souris Balbc , *Meriones libycus* ou *Meriones shawi* qui peuvent aussi être élevés au laboratoire . L'inoculation consiste à injecter 0.5 à 1 ml du broyat de la biopsie ou du produit de la ponction-biopsie dans un coussinet plantaire ou le museau de l'animal, voire en intra péritonéale. L'animal développe une forme localisée ou généralisée de la maladie en quelques semaines à quelques mois . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.5 Examen anatomopathologique

Il est rarement demandé pour confirmer une LC . Les formes amastigotes de *Leishmania* sp sont souvent de découverte fortuite dans les coupes histologiques d'une biopsie réalisée devant une lésion atypique. À la phase de début de la maladie, on note généralement un infiltrat dense de tout le derme. Ce dernier est composé essentiellement de macrophages associés à des lymphocytes et des cellules géantes. Des plasmocytes, des neutrophiles et des éosinophiles peuvent également être observés. Les amastigotes sont identifiés dans environ la moitié des cas, le plus souvent à l'intérieur des macrophages. Les granulomes épithélioïdes , rares au début , apparaissent progressivement en cours d'évolution. Ils sont entourés d'histiocytes et de lymphocytes. Plus tardivement, les cellules géantes de Langhans et un grand nombre de plasmocytes peuvent se voir. La nécrose est rare. La perte du tissu élastique et des structures annexielles traduisent la cicatrice atrophique. Les modifications épidermiques sont variables. L'épiderme peut être acanthosique ou au contraire atrophique, présentant en surface, une hyperkératose avec ou sans parakératose. Parfois, une hyperplasie épidermique pseudocarcinomeuse est observée .(DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.6 Diagnostic moléculaire

Il est basé sur la détection et l'analyse de l'amplification des acides nucléiques du parasite. Ceci consiste à soumettre le matériel du prélèvement à la PCR. C'est une technique rapide permettant d'avoir le résultat dans les heures qui suivent le prélèvement, sans risque de contamination, avec une sensibilité de 87 à 90 % et une spécificité de plus de 84% , il est fiable même pour les charges parasitaires les plus faibles.

Il est particulièrement utile pour le suivi thérapeutique des malades traités par quantification de la charge parasitaire, il a également montré son efficacité dans la mise en évidence du portage asymptomatique du parasite chez les patients infecté par le VIH. Il permet aussi l'identification des espèces, voire des sous-espèces, ainsi que la distinction des souches sensibles et des souches résistantes au traitement, ce qui contribue à une meilleure prise en charge thérapeutique. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.1.7 Diagnostic différentiel

Les principaux diagnostics différentiels des leishmanioses cutanées sont les pyodermites, l'ulcère tropical, les myiases , les piqûres d'insectes, les mycoses profondes, la sarcoïdose, le lupus, les néoplasies et les mycobactérioses .

Le diagnostic différentiel histologique se pose avec les autres granulomes : sporotrichose, blastomycose, histoplasmosse, gomme syphilitique, tuberculose, donovanose , pian, rhinosclérome , etc. Dans la majorité des cas, les agents infectieux sont aussi intramacrophagiques nécessitant des colorations spéciales pour les visualiser. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.2 Arguments indirect de présomption

I.7.2.1 Arguments épidémiologiques et cliniques

En raison de l'extension des LC avec l'apparition de nouveaux foyers, l'origine géographique des malades ou la notion de séjour dans des régions endémiques doit être prise en considération. Le diagnostic est difficile à évoquer du fait du polymorphisme lésionnel de la maladie. Les formes cliniques de LC localisé incluent les papules, les nodules, les plaques, les ulcères ou les lymphangite nodulaire. Les caractères communs aux différents aspects de cette dernière sont: la localisation sur les zones exposées (face, bras, jambe), l'absence de douleur, le petit nombre de lésions, la chronicité (plus de quinze jours d'évolution) et l'échec des antibiotiques (qui sont souvent prescrits car le principal diagnostic différentiel est la pyodermite) . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.2.2 Arguments biologiques

Dans le cas de Leishmaniose cutanée, il n'y a pas de perturbations biologiques importantes . La vitesse de sédimentation reste normale, la protéine C réactive n'est pas augmentée et il n'y a pas d'hypergammaglobunémie .La formule sanguine n'est perturbée qu'en cas de surinfection bactérienne , on observe alors une élévation modérée des leucocytes polynucléaires neutrophiles . (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.7.2.3 Arguments immunologiques

- **L'immunité humorale** : La présence des leishmanies dans les tissus cutanés n'entraîne pas généralement la formation d'anticorps spécifiques décelables par les examens sérologiques habituels , L'hémagglutination indirecte , l'immunofluorescence indirecte ou l'ELISA, qui utilisent les antigènes solubles ,le problème avec ces méthodes c'est les réactions croisées avec les autres espèces de la famille des Trypanosomatidae et leur basse sensibilité , ce qui les rend très peu utilisable pour le diagnostic. Seul le Western blot permet de déceler deux bandes spécifiques 14 et 18 kDa , mais le cout de cette technique la rend inutile dans la plupart des cas. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

- **L'immunité cellulaire**: Test à la leishmanine ou l'intradermoréaction(IDR de Monténégro) Elle consiste à injecter par voie intradermique 0.2 ml d'une suspension d'un antigène préparé à partir des formes promastigotes de Leishmania au niveau de la face antérieure de l'avant-bras , et à coté une injection d'eau physiologique qui représente le témoin . Une réponse d'hypersensibilité retardée à médiation cellulaire est obtenue au bout de 48 heures, elle est exprimée par une papule œdémateuse d'au moins 5 mm de diamètre , on peut la mesurer en palpant puis marquant les limites de l'induration . La taille est ensuite comparée à celle de l'injection de contrôle , le test reste habituellement positif toute la vie , témoignant d'un contact avec le parasite ou un portage asymptomatique mais sans aucun intérêt diagnostique . Elle est réservé aux enquêtes épidémiologiques. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.8 Traitement des leishmanioses

La prescription d'un traitement anti-leishmanien reste complexe. Les produits disponibles sont peu nombreux, souvent anciens, fréquemment toxiques et pour certains, coûteux. Par ailleurs, la stratégie thérapeutique comprend non seulement le choix d'une molécule mais se base également sur la présentation clinique de la maladie, le terrain sous-jacent, et l'espèce infectante présumée (du fait d'une sensibilité variable des différentes espèces de *Leishmania* aux agents anti-leishmaniens). (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.8.1 Traitement par les agents physiques

Historiquement les agents physiques ont été utilisés pour le traitement de la leishmaniose cutanée de l'Ancien Monde et cutané- Américaine. Il s'agissait essentiellement UV (ultraviolet), IR (infrarouge), eau chaude. Aujourd'hui ces pratiques sont abondantes. (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.8.2 Médicaments

Les molécules principales sont représentées par le tableau : (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

Molécule	Action	Posologie	Effets secondaire
Les antimoniés pentavalents (Glucantime®)	Action inhibitrice sur la synthèse de l'ATP , sur l'oxydation glycolique et sur celle des acides gras .	15 à 20mg par kilo de poids corporel, soit 56 à 75mg de Glucantime® .Le RCP du Glucantime® indique, pour le traitement de la leishmaniose cutanée, une posologie de 37 à 75mg/kg par jour jusqu'à la guérison clinique. .	voie générale: toxicité hématologique, rénale, hépatique, pancréatique et cardiaque(rares mais graves) . intra lésionnel : complications infectieuses parfois graves (surtout de type Staphylococcique) , nodules sporotrichoïdes (extrémités)et des réactions d'urticaire . -Risque de stibio-intoxication ou stibio –intolérance .
Pentamidine	Agit sur la glycolyse aérobie et anaérobie des protozoaires , se fixe sur l'ADN kinétoplastique , inhibant sa réplication et par fixation de l'ARN de	dose de 3 à 4 mg/kg par injection, avec une injection toute les 48 heures.	-Type allergique(prurit ...) -Locaux(thrombose veineuse....) - Transitoires(paresthésie faciale...) -Anémie, hypoglycémie

Leishmanioses

	transfert et en perturbant l'activité mitochondriale
Amphotéricine B .	interfère avec la synthèse des stérois membranaires des leishmanies provoquant des modifications de la perméabilité de la membrane parasitaire entraînant une perte létale de substances et arrêt de la croissance.	Perfusion IV lente de 6-8h (1/2 jours) après la dissolution du produit (50 mg) dans 500 ml de sérum glucosé .	frissons, fièvre, vertiges, hypotension, convulsions, paresthésies, des effets toxiques rénaux et hématologiques non négligeables.
Ambisome ®	C'est une forme lipidique de l'Amphotéricine B , il est plus efficaces et moins toxiques mais très chère .		
Les molécules alternatives			
Miltéfosine	Intervient dans la synthèse des phospholipides de <i>Leishmania</i> en plus de l'activité immunomodulatrice sur les cellules T et les macrophages.	Une dose de 100 mg/jour pendant 4 semaines .	vomissements, diarrhées, avec un risque tératogène , cytolyse hépatique et une insuffisance rénale légère .
Les imidazolés	Les imidazolés inhibent le cytochrome P450, bloquant la synthèse des stérois membranaires.	- fluconazole : 200 mg/jour (12,5 mg/kg/jour chez l'enfant), pendant 6 semaines - métronidazole : 1 à 1,5 g/jour (25 à 30 mg/kg/j chez l'enfant) pendant 15 jours	-Intolérance digestive(nausées et vomissement) . - Cutanée(prurit, urticaire, rash)
Aminosidine sulfate. Paromomycine	Est un antibiotique aminoside à large spectre. Il inhibe la synthèse des protéines parasitaires. * Une recherche entre Institut Pasteur de Tunis, Institut Pasteur de Paris et médecine militaire des USA a démontré un taux élevé de guérison avec une crème antibiotique d'une LC, cette crème contient 15 % de paromomycine et 0,5 % de gentamicine, elle donne un taux de guérison de 81 % avec fermeture des plaies.		
Allopurinol	Son métabolite s'incorpore à l'ARN de la cellule et le gène de la synthèse protéique du parasite , avec une dose de 20 mg/Kg /jour.		
Atovaquone	Inhibiteur sélectif des transporteurs d'électrons mitochondriaux.		
Interféron gamma	L'interféron gamma est une lymphokine produite naturellement par les lymphocytes T helper et les cellules tueuses NK. Il possède des propriétés immunomodulatrices.		

Tableau I-3 Molécules principales (DJOU Siham et AMEUR Naima , 2017)

I.8.3 Prophylaxie

Les mesures ci-après sont applicables à la lutte contre les formes de leishmaniose cutanées. Individuelle : moustiquaire, répulsifs, port de vêtements recouvrant le maximum de surface corporelle, mobilisation sociale et éducation sanitaire en vue d'encourager la participation active du public aux mesures visant à l'éradication des phlébotomes. o L'élimination autour des habitats, des déchets, ordures et matières organiques de toutes sortes susceptibles de favoriser la reproduction des phlébotomes, ainsi que des briques, bois de chauffage et d'autres matériaux sous lesquels les phlébotomes peuvent se poser. La lutte contre les rongeurs. (FAMAKAN KEITA , 2005)

Chapitre II :

Plant
médicinal

II.1 Plantes aromatique et médicinales

II.1.1 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 .

Actuellement grâce ou progrès scientifique considérables enregistrés depuis la fin du XIXème siècle (technique d'analyse et extraction... etc.) les plantes médicinales constituent des ressources inestimables qui ont été utilisées pour trouver de nouvelles molécules nécessaire à la mise au point de futurs médicaments .

D'après Odile et Daniel (2007), environ plus de 30% des médicaments contiennent des principes actifs d'origine naturelle. (SEBAI Mohamed et BOUDALI Mohamed , 2012) .

II.1.2 Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus .La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés .

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme model pour les composés pharmaceutiquement actifs . (https://www.memoireonline.com/01/13/6764/m_Contribution—l-etude-de-l-activite-antimicrobienne-du-genevrierJuniperus-phoenicea—essai-d.html)

II.1.3 Phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de 2 mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ».

La phytothérapie est la médecine par les plantes, selon l' O.M.S (organisation mondial de la santé) la phytothérapie est considérée comme médecine alternative .

Dans notre société l'utilisation des plantes et les produits a base des plantes est augmenté de façon très rapide , tous utilisent les plantes médicinales anarchiquement sans connaitre le danger et le risque de ce ci. (SEBAI Mohamed et BOUDALI Mohamed , 2012) .

II.1.3.1 Définition de principe actif

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ces composants sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante : ils représentent quelques pour-cent à peine du poids total de celle-ci, mais ce sont eux qui en sont l'élément essentiel.

Matériel végétal étudié

Des principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés.

Chez certaines plantes, seule une partie de la plante peut être utilisée. (SEBAI Mohamed et BOUDALI Mohamed , 2012) .

II.1.3.2 Huils essentiel

La norme AFNOR T-75-006 définit l'huile essentielle comme : «un produit obtenu à partir d'une matière première végétale , soit par entraînement à la vapeur d'eau , soit par hydrodistillation . L'huile essentielle est alors séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ». L'huile ainsi obtenue possède certaines caractéristiques physicochimiques qu'il est possible de mesurer au laboratoire à l'aide de techniques simples oud'appareillages plus complexes . (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

Les huiles essentielles doivent répondre à des critères physiques imposés par les normes. En effet , elles sont liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse , leur densité est inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, sassafras et vétiver) , volatiles , insolubles dans l'eau , rarement colorées , et solubles dans les huiles végétales , dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage . Elles sont peu polaires , et il convient de les conserver à l'abri et de la lumière. (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

II.1.3.2.1 Définition

Ce sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. On distingue:

- **Concrète:** obtenu à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux.
- **Résinoïde:** obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine végétale, par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux.
- **Pommade florale :** corps gras parfumé obtenu à partir de fleurs soit par « enflourage à froid », soit par « enflourage à chaud ».
- **Absolute :** produit ayant une odeur caractéristique, obtenu à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction à l'éthanol à température ambiante. (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

II.1.3.2.2 Répartition :

II.1.3.2.3 Localisation des huiles essentielles dans la plants

Les huiles essentielles se rencontrent dans tous le règne végétal, cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles : conifères, rutacées, ombellifères, myrtacées, labres.

Les huiles essentielles peuvent être extraites de tous les organes de la plante :

Matériel végétal étudié

- Des sommités fleuries (lavande, menthe, ylang ylang, camomille,,...)
- Des racines ou rhizomes (vétiver, angélique, gingembre ...),
- Des écorces (citron, orange, bergamote, cannelle ...)
- Du bois (bois de cèdre, de santal, camphrier ...),
- Des fruits (le poivre ...),
- Des graines (cardamones, coriandre, fenouil, muscade),
- Des feuilles (eucalyptus ...).

Les huiles essentielles ont donc des origines multiples et sont sujettes à des contacts avec le monde externes très variés. (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

Les huiles essentielles « sont élaborées au sein du cytoplasme de certaines cellules, elles s'en séparent par synérèse (séparation d'un liquide de son gel) sous forme de petites gouttelettes qui confluent en plage plus ou moins étendues. Elles sont stockées dans les structures cellulaires spécialisés (cellule à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe) canaux sécréteur).(YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

II.1.3.3 Méthode 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

Les huiles essentielles sont extraites principalement par deux méthodes de distillation et une méthode d'expression à froid :

- L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- L'hydrodistillation.
- L'expression à froid (cas particulier des agrumes). (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

a- Entraînement à la vapeur

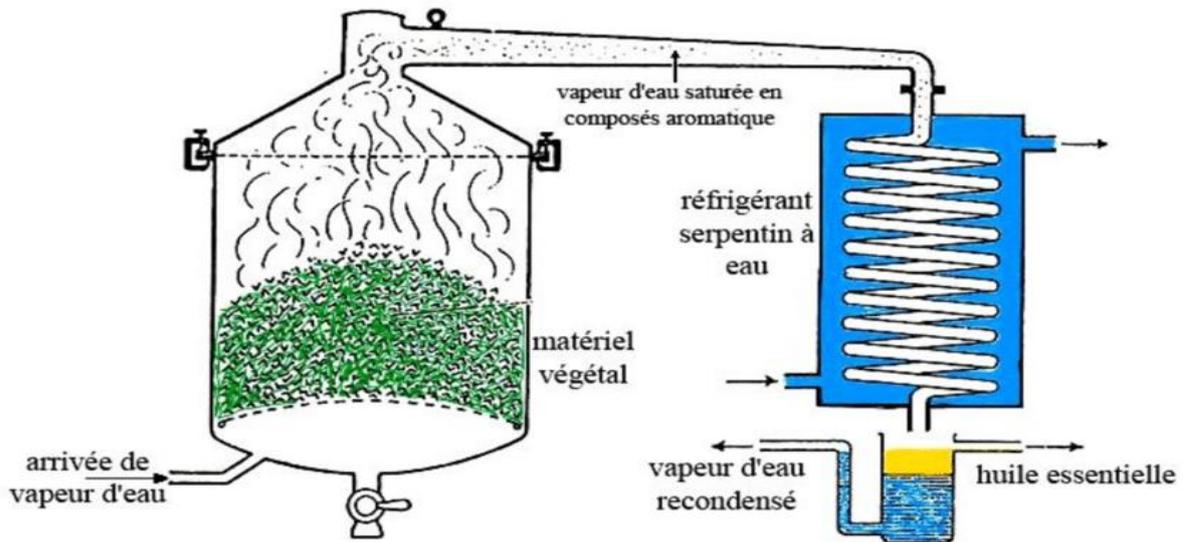


Figure II-1 Principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

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 (YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

b- Hydrodistillation :

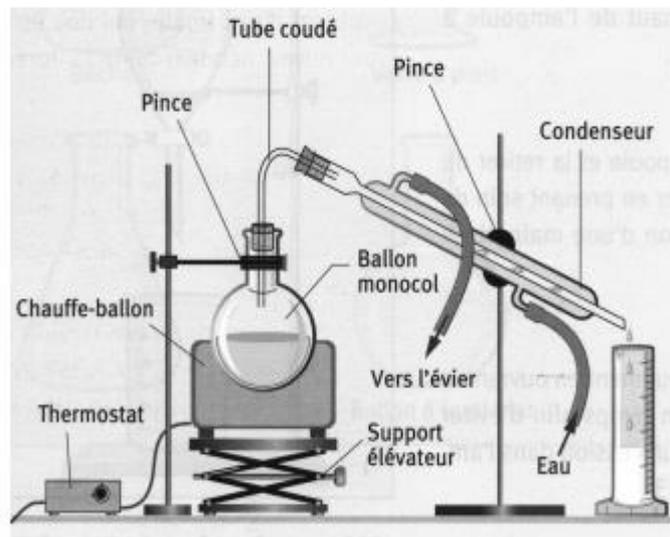


Figure II-2 Montage d'hydrodistillation(YAHY Sara et SEHIBI Souad , 2019)

Matériel végétal étudié

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. (YAH I Sara et SEHIBI Souad , 2019)

c- Expression à froid

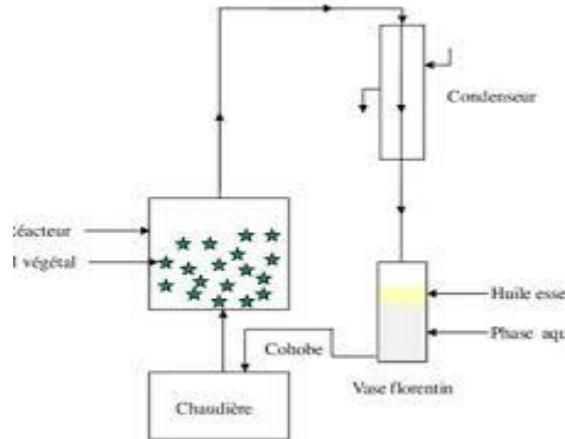


Figure II-3 Schéma du montage de l'expression à froid(YAH I Sara et SEHIBI Souad , 2019)

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (Citrus spp.) 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 . (YAH I Sara et SEHIBI Souad , 2019)

II.2 Généralités sur haloxylon scoparium (remth)

II.2.1 Nom vernaculaires

(LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima , 2018/2019)



Figure II-4 Haloxylon scoparium(YAH I Sara et SEHIBI Souad , 2019)

II.2.2 Position systématique

- **Règne** : Végétal
- **Embranchement** : Phanérogames
- **Sous Embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Eudicots
- **Ordre** : Caryophyllales
- **Famille** : Amaranthaceae
- **Genre** : Hammada
- **Espèce** : *H. scoparia* (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

II.2.3 Etude botanique

Haloxylon scoparium POMEL appartient à la famille des Amaranthaceae, qui est composée de 800 espèces répartis sur 75 genres.

C'est un arbrisseau à tiges grêles, très nombreuses, qui noircissent en séchant, avec des épis floraux courts, des fruits à ailes vivement colorées, souvent rose ou rouge.

C'est une plante qui se trouve dans les régions arides et semi-arides de l'Algérie, et d'autres régions de la méditerranée, et aussi en proche orient. (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

II.2.4 Utilisation

H. scoparium utilisé pour traiter les troubles oculaires (SALAH, et al., 2002). Perfusion de la poudre de la partie aérienne de *H. scoparium* sont utilisés au Maroc pour leurs effets antidiabétiques (BNOUHAM, et al., 2002; EDDOUKS et al., 2002) antiseptique et anti-inflammatoire. A Oman, les tiges de cette espèce sont utilisées comme mordant pour la teinture de la laine dans le tissage traditionnel. L'extrait à l'éthanol de *H. scoparium* s'est avéré avoir antidiabétique (AJABNOØR et al., 1984) et activité anticoagulante des animaux de laboratoire (AWA.AD et al., 2001), selon MAIRE; (1962) l'*H. scoparium* est utilisé comme un cataplasme pour le moule.

En Algérie la tisane de la partie aérienne utilisée pour leur effet antidiabétique et, la poudre de *H. scoparium* pour les inflammation. (MOHAMMEDI Z., 2013 ; GUERRAH Mounira et al., 2015)

II.2.4.1 Utilisation Traditionnel

Les parties aériennes sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter les désordres et les problèmes de l'oeil et la vision, les problèmes de digestion, les dermatoses, les piqures des scorpions (CHEHMA A., 2006). Les extraits aqueux ont un pouvoir anticancéreux, anti-spasme et larvicide. In vivo, BOUROGAA et al. (2012) ont démontré que les extraits aqueux des feuilles de *H. scoparium* exercent une activité hépatoprotectrice chez le rat (MOHAMMEDI Z., 2013 ; GUERRAH Mounira et al., 2015)

II.2.5 Description

Selon BABA AISSA. (1999) c'est un sous-arbrisseau persistant haut 70 cm, aux rameaux articulés :

Feuilles caractéristique à ce genre, se présentant sous la forme de petites gaines opposées et munies de 2 points ; inflorescences blanchâtres, axillaires.

Fleurs actinomorphes et bisexuées, solitaires, avec 5 sépales cannelés étamines libres 2 à et ailés, 5 5 étamines insérées sur un disque.

Ovaire supère et uniloculaire .

Fruits bacciformes. (OTMANI Fatiha , 2015)

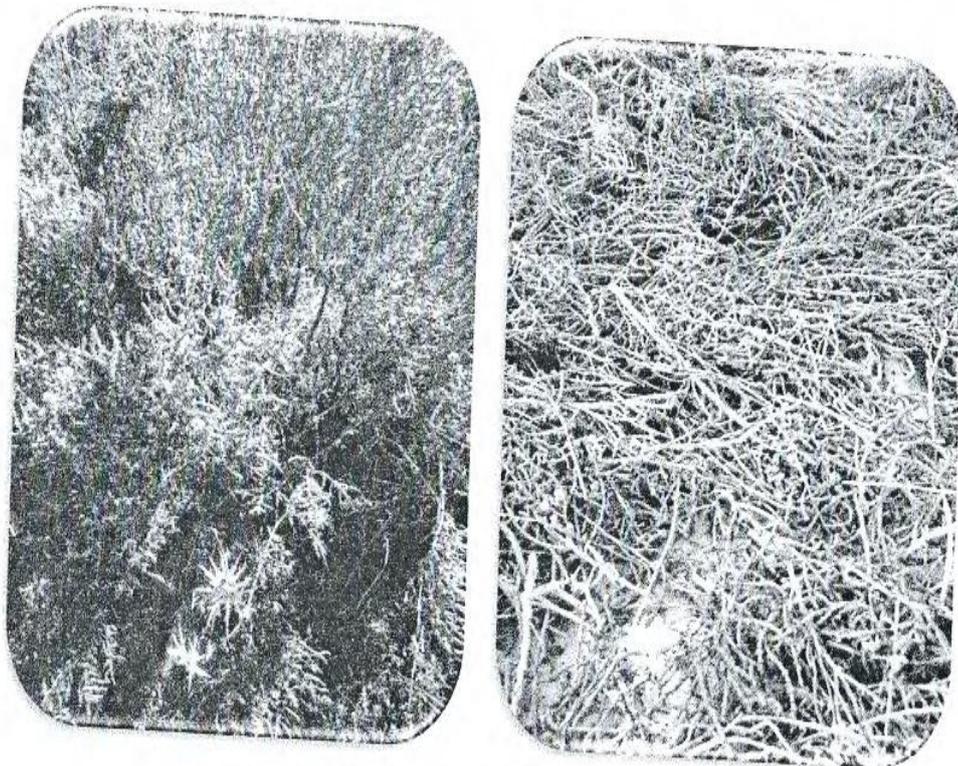


Figure II-5 Haloxylon scoparjum (OTMANI Fatiha , 2015)

II.2.6 Phytochimie

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 originaires de l'Espagne (plusieurs sites de récolte) 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 chimotype 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 %).

Matériel végétal étudié

Une huile essentielle renfermant la davanone (29.1%), le p-cymène (9.2-18.4%), le γ terpinène, et le myrcène. Le 1,8-cineole (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%). 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. 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 . 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. (KHEDDOUM Naima Loudjaine, 2018)

Matériel végétal étudié

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

Tableau II-1 Composition des huiles essentielles extraites d'*A. herba-alba* (en %)(BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

II.2.7 Activité biologique

Hammada scoparia appartient à un groupe de plantes appelées les halophytes. Ces plantes ont la capacité de croître dans des conditions de stress abiotique comme la haute salinité et la haute température. Cette capacité remarquable résulte du développement de mécanismes de défense et la synthèse de molécules conçues pour résister aux conditions extrêmes de l'environnement. De ce fait ces plantes sont très riches en molécules bioactives, et sont considérées comme une potentielle source de nouveaux médicaments . (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

H. scoparia est connue sous le nom vernaculaire de « Remth » en Algérie, Maroc et en Tunisie. C'est une plante utilisée en médecine traditionnelle comme remède pour le traitement des désordres de l'œil et de la vision, des maladies de la peau, du diabète sucré et de l'hypertension ,mais aussi pour le traitement du cancer, des hépatites, des inflammations, et de l'obésité. (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

En revanche, plusieurs travaux ont été réalisés sur différents extraits de H. scoparia, et différentes activités biologiques ont été prouvées. Des extraits aqueux et méthanolique, administrés à des rats traités par l'éthanol, ont diminué d'une façon importante, le stress oxydative et l'altération hépatique engendrés par la toxicité de l'éthanol . (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

Ces activités hépato-protective et antioxydante, ont été reliées à la présence de composés phénoliques dans la plante . De plus dans un autre travail, l'équipe de Bourogaa a aussi démontré que H. scoparia est efficace contre les cellules leucémiques, et les molécules responsables sont les flavonols triglycosides . (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

D'autre part H. scoparia s'est révélée aussi puissante contre les mollusques, plusieurs extraits ont été testés, et leur activité molluscicide a été prouvée. Ces travaux ont aussi identifié la molécule ayant la plus importante activité , il s'agit d'un alcaloïde, le N-methylisosaloline . (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

Récemment un extrait éthanolique de H. scoparia, a montré une activité d'inhibition de la mélano-genèse in vitro, cette activité a été attribuée au catéchol et à des dérivés tétrahydroisoquinoliniques . (BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima, 2018)

II.3 Généralités sur *Artemisia herba-alba*

II.3.1 Nom vernaculaires

Wormwood (Anglais) (Aouadhi, 2010) ; Armoise blanche (Français) ; Chih (Arabe) dans toute l'Afrique du Nord et en Moyen-Orient et dans d'autres régions sous le nom d'Ipsi et Zezzare . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)



Figure II-6 *Artemisia herba-alba* Arabic name : chih (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.2 Place en systématique

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:

- **Règne** : Végétal
- **EMBRANCHEMENT** : Phanérogames
- **SOUS EMBRANCHEMENT** : Angiospermes
- **CLASSE** : Dicotylédones gamopétales
- **SOUS CLASSE** : Gamopétal épiqueyne isostermes
- **ORDRE** : Asterales
- **FAMILLE** : Synanthérées ou composées
- **SOUS FAMILLE** : Tubuliflores
- **TRIBU** : Anthemidées
- **GENRE** : *Artémisia*
- **ESPECE** : *Artémisia herba alba* .(Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.3 Etude botanique

L'armoise blanche 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. (KHEDDOUM Naima Loujaine , 2018)

II.3.3.1 Partie souterraine

L'armoise blanche 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. La biomasse racinaire diminue très vite avec la profondeur et très peu de racines sont retrouvées à partir de 50 cm .

II.3.3.2 Partie aérienne

Elle est représentée par la partie ligneuse, la tige, les feuilles et les fleurs . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.3.2.1 Tige

L'armoise 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 . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.3.2.2 Feuilles et les rameaux

Les feuilles sont courtes, blanches laineuses, et argentées. Elles sont très petites et entières, ce qui réduit considérablement la surface transpirante et permet ainsi à la plante de résister à la sécheresse . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.3.2.3 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. (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

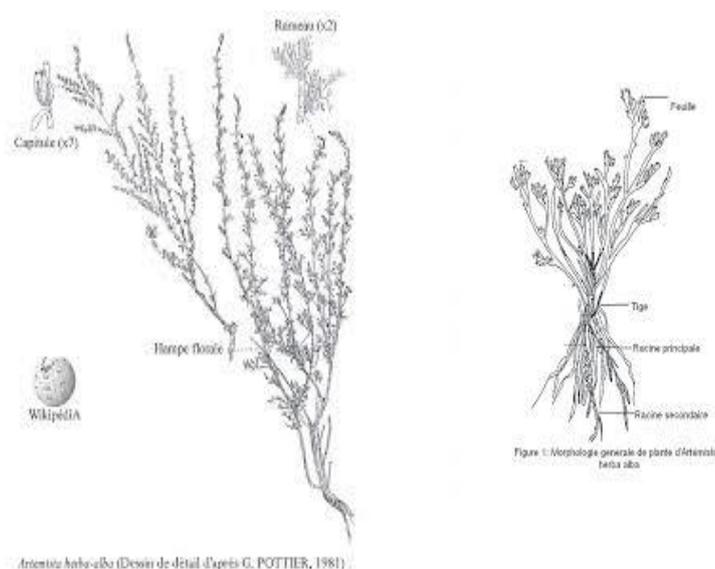


Figure II-7 Dessin de détail d'après G.POTTER, 1981 d'Artemisia herba alba (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.4 Domaines d'utilisations

L'Armoise blanche est une plante médicinale et surtout aromatique, largement exploitée pour son huile essentielle. Son pouvoir antibactérien, antiseptique et antifongique lui a conféré une application dans de nombreux domaines : en thérapeutique, en cosmétologie et en industrie agro-alimentaire . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.4.1 Domaine thérapeutique

L'Armoise est utilisée en médecine traditionnelle depuis l'antiquité. Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, elle est utilisée pour traiter les maux les plus divers : ulcères, dyspepsies, troubles hépatiques, aphtes, mycoses, contre les piqûres d'insectes et de scorpions et toutes les formes d'empoisonnements .

En chine, elle est utilisée pour régulariser le cycle menstruel et stopper leurs douleurs. Ses propriétés antispasmodiques la recommandent dans les syndromes neurologiques et psychiatriques : (hypotension, syncope, épilepsie), dans les affections du foie et de la vésicule biliaire .

Toutefois, elle doit être utilisée avec beaucoup de prudence et à des doses faibles car des doses trop élevées peuvent causer des intoxications très graves (caractérisées par une hépato néphrite à prédominance rénale accompagnée de phénomènes convulsifs) causés par certains composés cétoniques, l' α -thujone, la β -thujone et le Camphre . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.4.2 Domaine alimentaire

Par ses caractères organoleptiques l'Armoise blanche peut être utilisée pour aromatiser certaines boissons comme le café dans le sud des pays du Maghreb. Son emploi reste cependant limité à cause de la toxicité de l' α -thujone et de la β -thujone contenus dans les huiles essentielles. Le code des bons usages pour l'industrie des arômes préconise que le taux

de la thujone ne doit pas dépasser 5 mg/kg dans les aliments et les boissons . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.4.3 Domaine de la cosmétologie

Exploitée industriellement, les huiles essentielles de l'Artemisia herba alba sont utilisées en parfumerie et en cosmétologie à cause de leur pouvoir antiseptique, et aromatique, elles servent à augmenter la durée de conservation des produits cosmétiques tout en leur assurant une odeur agréable . (Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.4.4 Utilisation traditionnelle de la plante

Artemisia herba alba est très utilisé en médecine traditionnelle lors d'un désordre gastrique tel que la diarrhée et les douleurs abdominales. Elle est aussi utilisée en tant que remède de l'inflammation du tractus gastro-intestinal, l'armoise blanche était reconnue depuis longtemps par les populations pastorales et nomades pour ses vertus purgatives. On l'utilise notamment comme vermifuge chez les ovins .

Cette plante possède des propriétés thérapeutiques, et non seulement elles utilisées dans la médecine traditionnelle, mais aussi dans l'industrie alimentaire . Bendjilali et al. (1984) ont montré que, l'armoise blanche est considérée comme l'arome de certaines boissons comme le thé ou le café. .(Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019)

II.3.5 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 . (KHEDDOUM Naima Loujaine , 2018)

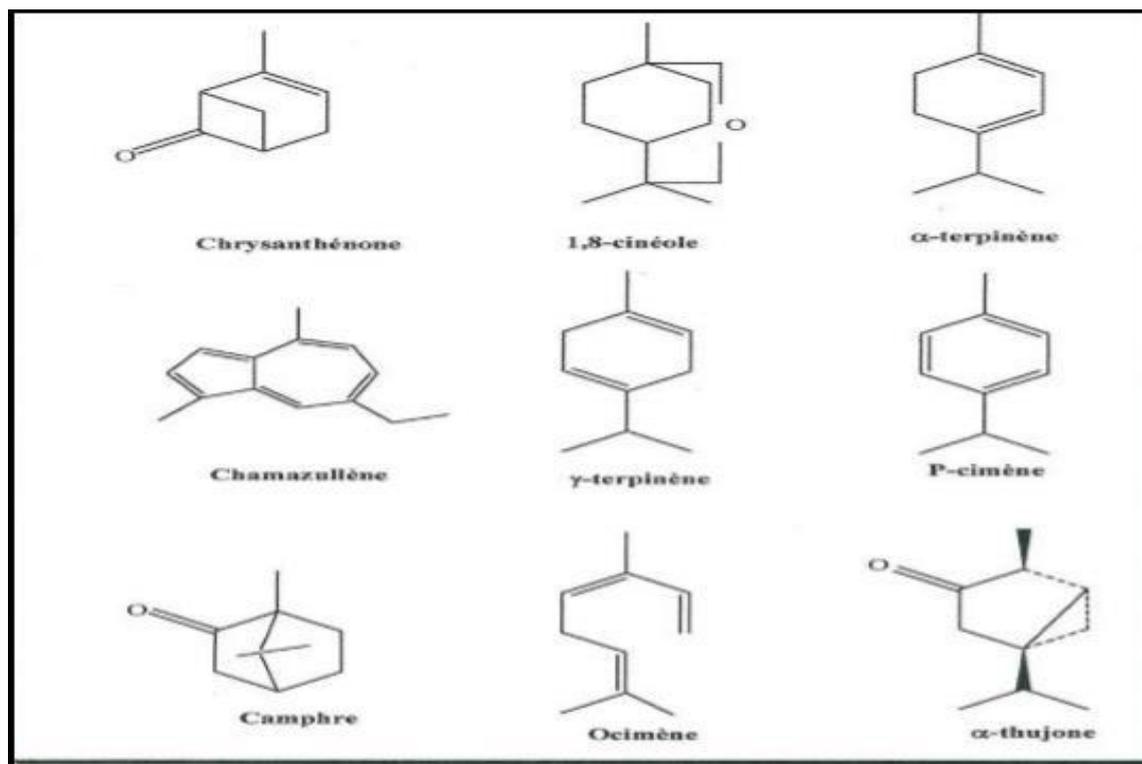


Figure II-8 Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles (KHEDDOUM Naima Loujaine , 2018)

II.3.6 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 .

C'est une plante steppique des régions irano-touraniennes, prédominante dans les steppes d'Espagne ainsi que dans le désert de Sināï .

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 .

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. (KHEDDOUM Naima Loujaine , 2018)

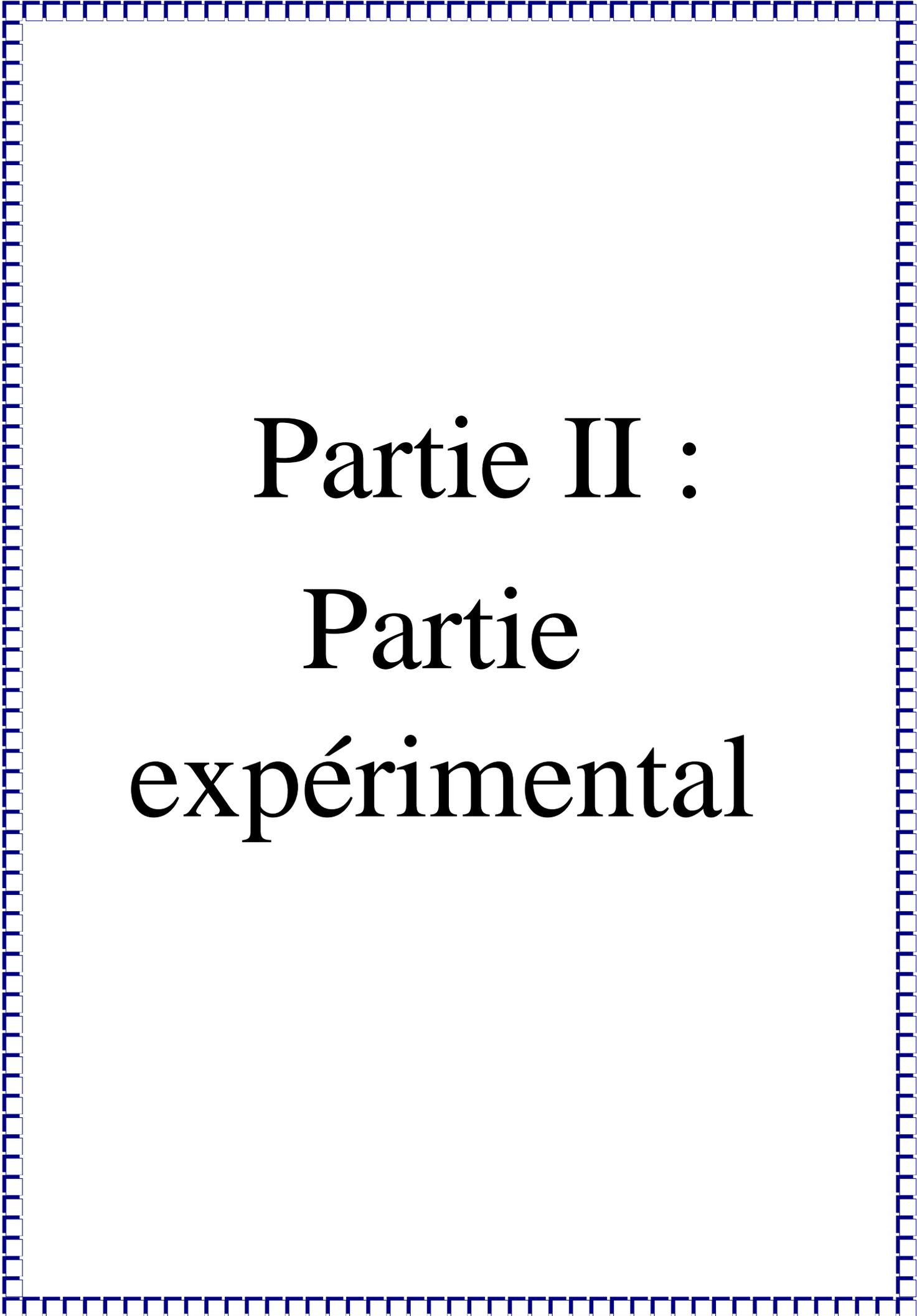
II.3.7 Toxicité de la plante

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 .

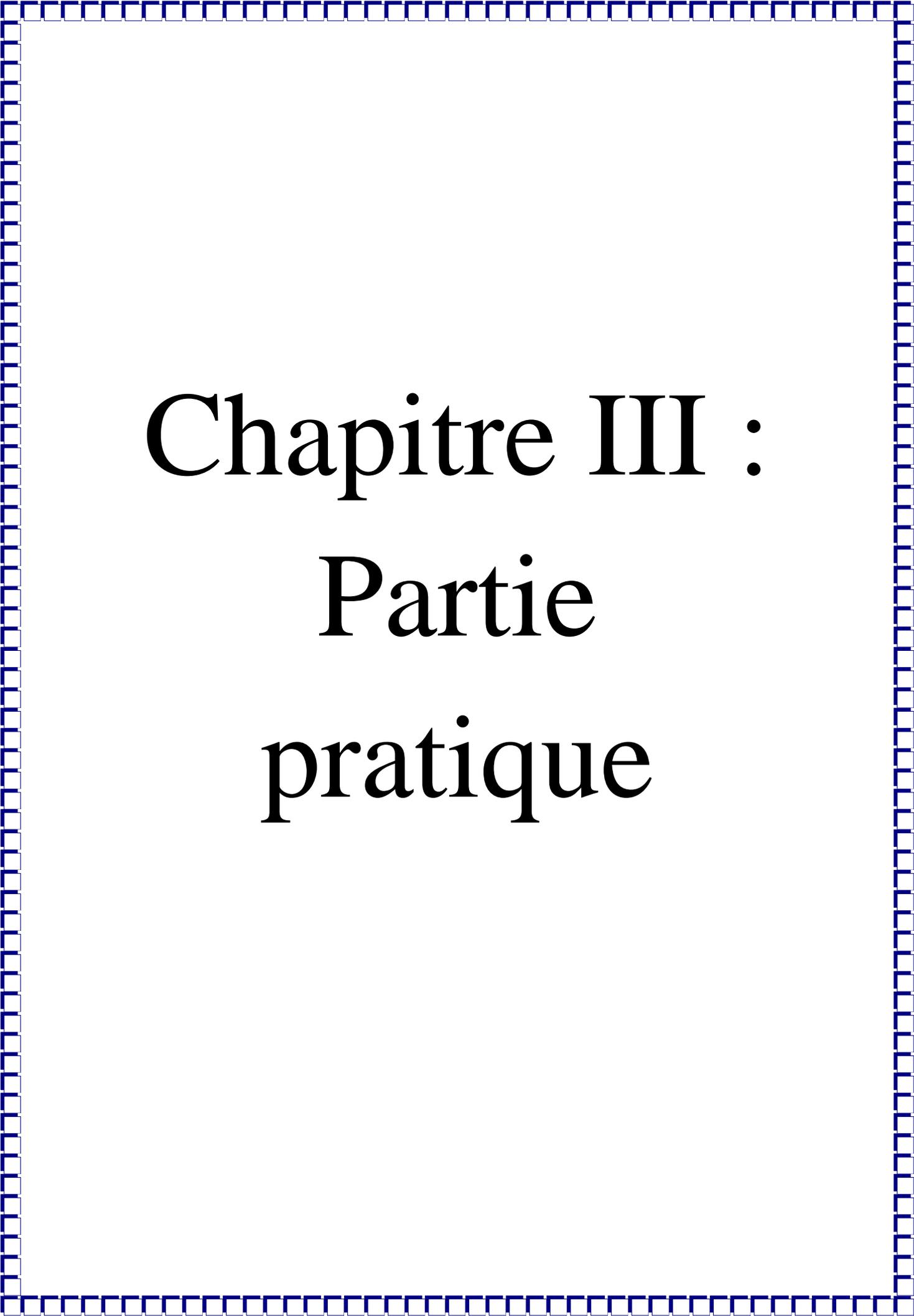
Elle est Interdite aux femmes enceintes car elle est toxique à dose élevée on doit respecter les doses. Son pollen provoque des diarrhées. (KHEDDOUM Naima Loujaine , 2018)

II.3.8 Activités biologiques

Plusieurs études scientifiques ont également prouvées l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'agent antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, anti malarien, antipyrétique, antispasmodique et antihémorragique .(Dalal MEHDI et Oumhani SALEM, 2019).



Partie II :
Partie
expérimental



Chapitre III :
Partie
pratique

III.1 Objectifs de l'étude

Notre objectif est d'étudier les plante de chih et remth en tant qu'anti anti Leishmaniose cutanée a travers des tests de son activité antiparasitaire in vitro et la Préparation des milieux de culture pour leur diagnostic .

III.2 Matériel et méthodes (milieu de culture)

Le diagnostic des leishmanioses repose essentiellement sur le principe de la mise en évidence des leishmanies dans les prélèvements de patients, à l'examen direct ou en culture. Pour la mise en culture, elle se fait sur des milieux spécifiques tels que le milieu NNN, le milieu Blanc d'œufs; auxquels on rajoute des antibiotiques, les milieux ainsi préparés doivent être de qualité, et donner des résultats concluants.

Le but de ce travail est la préparation de deux milieux de cultures spécifiques différents. L'un est à base de sang de lapin, le milieu NNN, et l'autre est à base d'œufs, le milieu Blanc d'œufs. Et d'en évaluer la qualité (le rendement).

Nous avons réalisé cette étude au niveau du laboratoire biologie du université DR-Moulay Tahar.

III.2.1 Matériel

III.2.1.1 Matériel biologique

La souche de leishmanias .

III.2.1.2 Matériel de laboratoire

- **Appareillages**

Pour mener à bien notre travail nous avons utilisé l'appareillage suivant :

- Agitateur magnétique.
- Bec Bunsen.
- Balance de précision.
- Centrifugeuse.
- Bain marie.
- Etuve Pasteur à 121°C.
- Etuve d'incubation à 24°C.
- Etuve d'incubation à 37°C.
- La Hotte à flux laminaire.
- Microscopeoptiq

Partie pratique

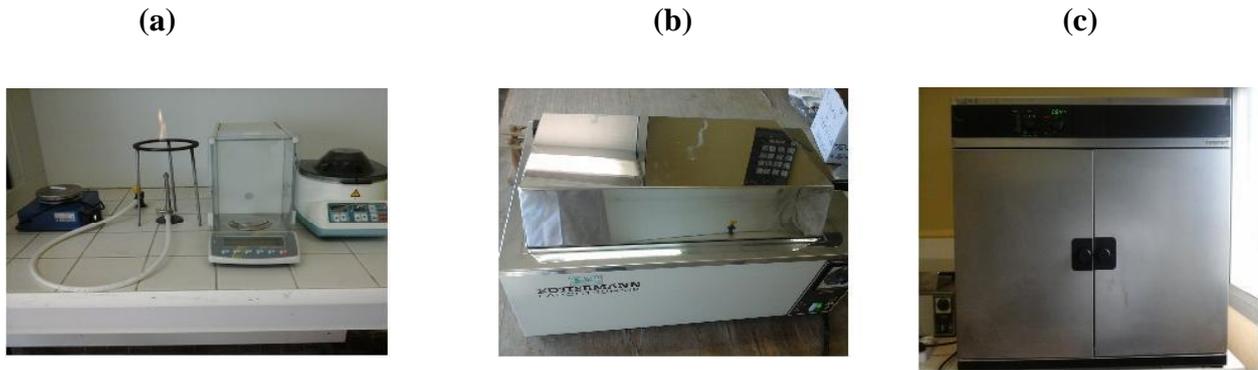


Figure III-1 (a) appareillages de Laboratoire (b) Bain marie (c) Etuve Pasteur à 121°C

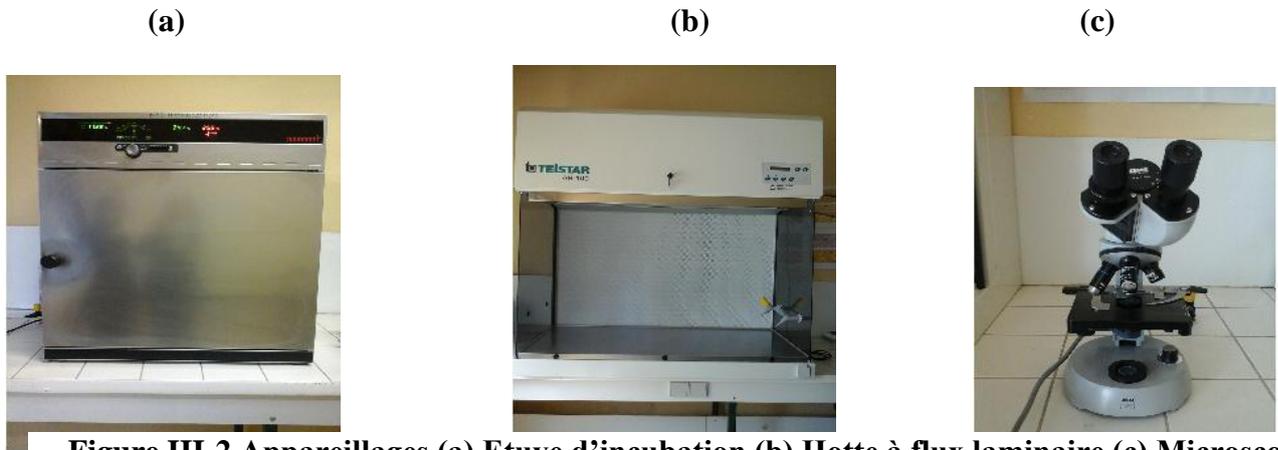


Figure III-2 Appareillages (a) Etuve d'incubation (b) Hotte à flux laminaire (c) Microscope optique

- Verreries

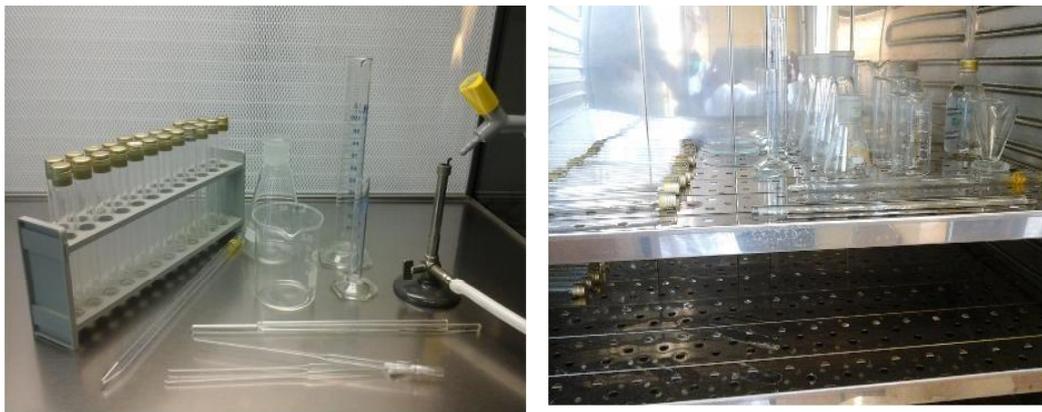


Figure III-3 Verrerie utilisée

- **Produits chimiques**

- Chlorure de sodium.
- Citrate de sodium.
- May Grünwald.
- Giemsa.
-

- **Autres produits utilisé**

- Bacto agar.
- Sang du lapin.
- Les Antibiotiques (Pénicilline G ; Gentamycine).
- L'urine stérile dont la source est humain.

III.2.2 Méthodes

III.2.2.1 Préparations du milieu NNN

Après lavage et stérilisation du matériel, on procède aux étapes suivantes :

En premier lieu, on procède à la préparation de la gélose, dans un récipient, on fait dissoudre les 6g de Na CL dans 1L d'eau distillée stérile sur une flamme puis on ajoute les 10g d'Agar, et à l'aide d'un agitateur magnétique on remue jusqu'à dissolution complète, on laisse bouillir pendant 5 mn. On transvase le mélange dans un ErlenMeyer.

(a)



(b)



Figure III-4 (a) Préparation de la gélose. (b) Gélose préparée

On procède au remplissage des tubes à vis stérile à raison de 8 ml par chaque tube, on les laisse à température ambiante pour que la gélose se solidifie.



Figure III-5 Milieux gélosés solidifiés

Après la solidification des milieux gélosés, on met ces derniers à l'étuve Pasteur à 120°C pendant 20 min, pour la stérilisation des milieux avant de rajouter le sang de lapin.

En deuxième lieu, on réalise la ponction du lapin au laboratoire, à l'aide d'une seringue 50cc.

On achète 2 lapins et ça est due à l'absence de animalerie au niveau de notre université.

On place l'animal sur le dos et stérilise la peau à l'alcool iodé.

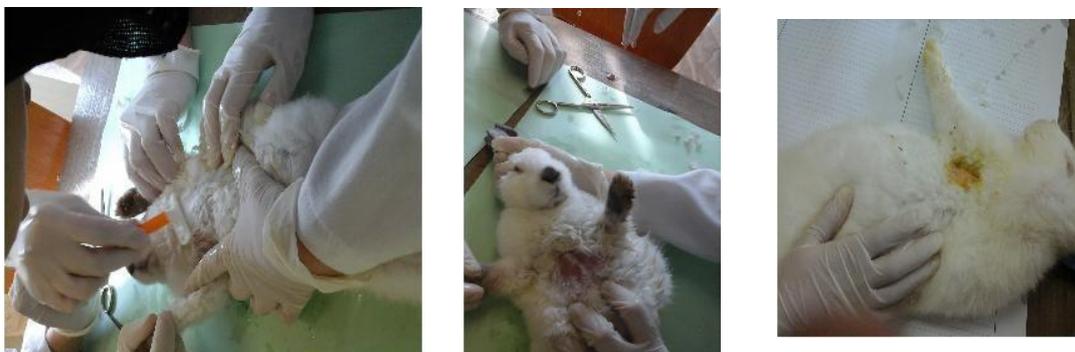


Figure III-6 Rasage et désinfection de la partie thoracique du lapin

Partie pratique

A côté de la flamme du bec Bunsen, on procède à la ponction intracardiaque, après avoir repère la partie de forts battements cardiaques, et cela à l'aide d'une seringue 50cc, on prélève environ 25cc de sang, ce qui était très difficile à faire.



Figure III-7 Paillasse préparée pour la ponction du lapin



Figure III-8 Ponction du Lapin

On refoule le sang prélevé dans des tubes de prélèvement pour analyse de la coagulation (tube citraté) on agite pour éviter la coagulation du sang. On le met au réfrigérateur à $+4^{\circ}\text{C}$.



Figure III-9 Tube citraté

En troisième lieu, on procède au mélange du sang au milieu gélosé à raison de 1ml par tube. D'abord, on met les milieux solidifiés dans un bain marie bouillant, pour leurs solubilisation, après on fait descendre la température à $45-50^{\circ}\text{C}$.



Figure III-10 Mise en solution des milieux solidifiés.

Devant une flamme du bec Bunsen, on mélange le sang au milieu gélosé, à raison de 1ml par tube et on remue le mélange sans faire de bulles.

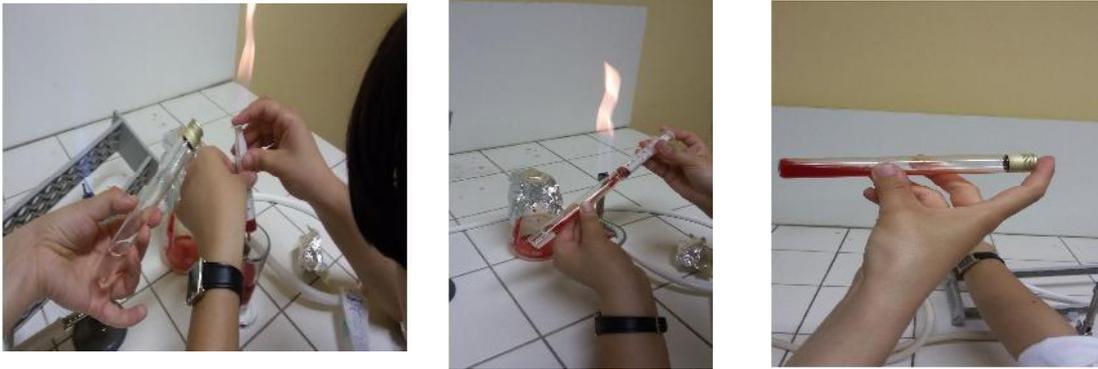


Figure III-11 Mélange de sang à la gélose

On met les tubes dans une position incliné.



Figure III-12 Inclination des tubes préparés

En dernier lieu, on met les milieux à l'étuve Pasteur à 37 °C pendant 24h.



Figure III-13 Milieux NNN dans l'étuve d'incubation à 37°C

Les tubes sont placés au réfrigérateur à +4°C, les milieux se conservent pendant une durée d'un mois.



Figure III-14 Conservation des milieux à +4°C

III.2.2.2 Préparation du milieu Blanc d'œufs

On le prépare en utilisant 4 œufs et de l'urine microbiologiquement stérile. On sépare les jaunes des blancs des 4 œufs, on met les blancs dans un bécher avec 300µl d'urine filtrée non contaminée, en présence d'une flamme d'un bec Bunsen et on ajoute 250000 UI de pénicilline G.



Figure III-15 Matériels utilisées pour la préparation des blancs d'œufs

On agite énergiquement à l'aide d'un agitateur magnétique pendant quelques minutes jusqu'à homogénéisation.



Figure III-16 Agitation des blancs d'œufs

On répartir le mélange dans des tubes à vis stériles à raison de 3 ml par tube .



Figure III-17 Répartition du blanc d'œufs sur les tubes stériles

On met les tubes dans un portoir incliné dans un bain marie bouillant à 100°C jusqu'à coagulation des milieux.



Figure III-18 Coagulation des milieux blancs d'œufs au bain Marie à 100°C

Une fois la coagulation obtenue, on met les milieux à l'étuve Pasteur à 37°C pendant 24 heures.

Après 24 heures, on a la formation d'une phase liquide en très petite quantité. On les conserve à +4°C.



Figure III-19 Conservation des milieux à + 4°C

III.2.3 Mise en évidence du parasite

III.2.3.1 Prélèvement

Nous prélevons sur des patients de K-KH atteints de la LC. Notre patient est une femme de 55 ans, de Ain Skhouna wilaya de Saida.

Le prélèvement est obtenu en raclant les bordures de la lésion cutanée avec la lame de bistouri et étalé dans un tube à vis qui contient le milieu soit NNN ou blanc d'oeuf porte objet en vue de réaliser un frottis.

On met le tube dans l'étuve Pasteur à 37 °C pendant 7 jours.



Figure III-20 Lésion cutanée

Après 7 jours, on fait le repiquage à l'aide d'une pipette Pasteur, on prélève quelques gouttes de l'ancien tube et on les coule dans un milieu neuf.

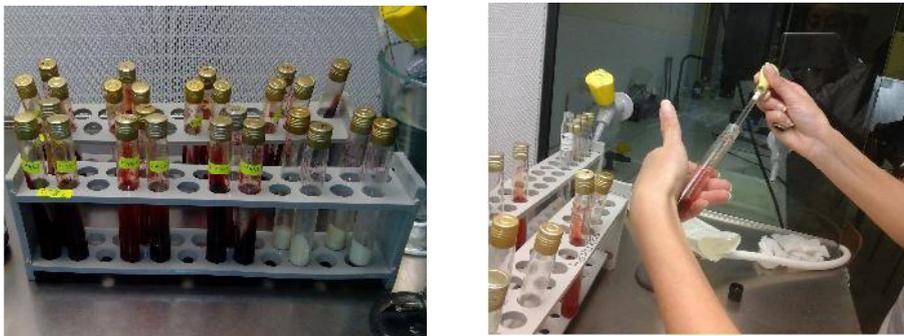


Figure III-21 Repiquage de la souche

III.2.3.2 Examen direct après coloration

Le frottis est coloré par les réactifs suivants :

- Le réactif de May Grünwald(R1) de 2 à 3 minutes.
- Et ensuite la coloration au Giemsa(R2) pendant 15 minutes.

Partie pratique

- Après la coloration, le frottis est séché avant de passer à la lecture.

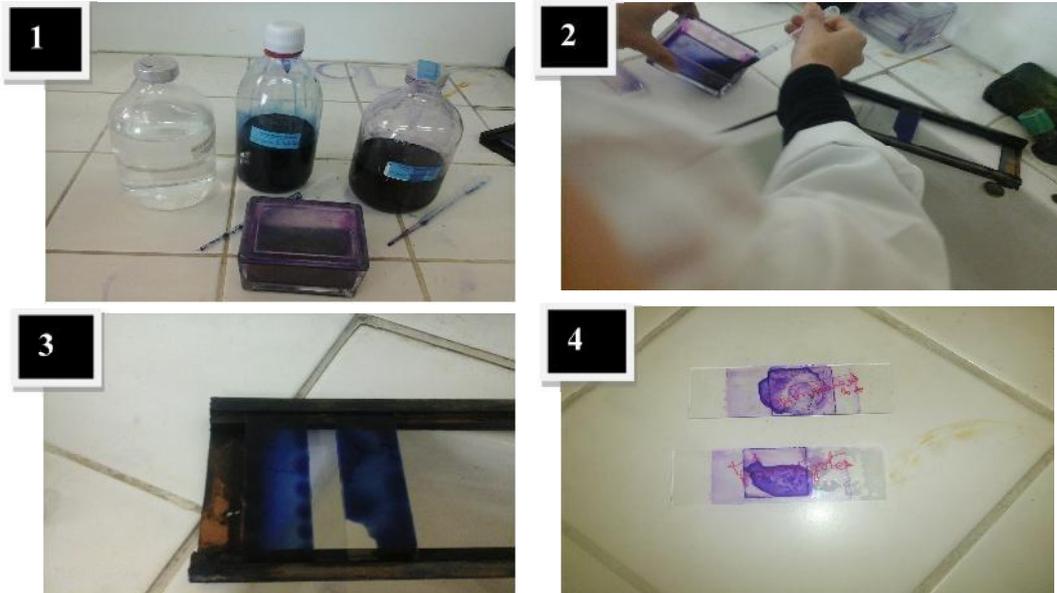


Figure III-22 Etapes de la coloration

La lecture a lieu le 7^{ème} jour. La phase liquide est prélevée stérilement à l'aide d'une pipette Pasteur pour la recherche des formes promastigotes mobiles au microscope, entre lame et lamelle au ($G \times 10; \times 40$), et cela pour chaque milieu ensemencé.

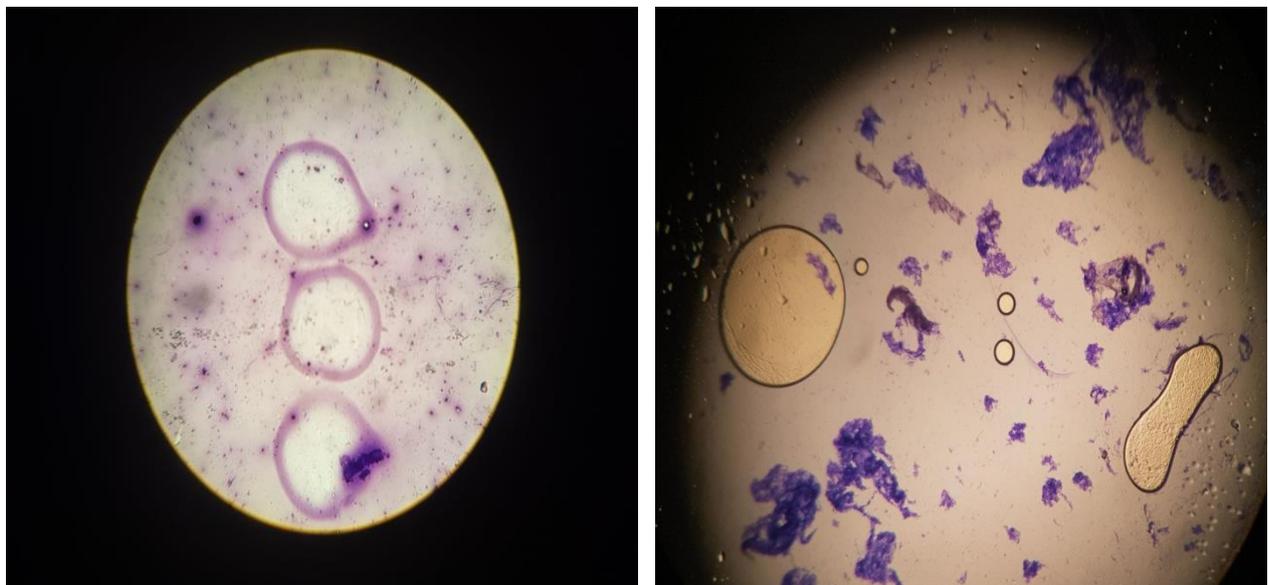


Figure III-23 Formes promastigotes observées au ($G \times 40$). Résultat négative

III.2.4 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 1 000 stérile. Le milieu peut se conserver jusqu'à trois mois.

III.3 Matériel végétale

« Remth » *Hammada scoparia*, a été récoltée dans la région de Naama. La partie aérienne de la plante a été séchée traditionnellement à la maison pendant 15 jours, afin de compléter la sécheresse de la plante, celle-ci a été mise à l'étuve du laboratoire et chaque 48h nous pesons jusqu'à atteindre un poids constant, puis a été broyée en fine poudre à l'aide d'un broyeur électrique et stockée soigneusement jusqu'à son utilisation.

III.3.1 Préparation de l'extrait aqueux (EA)

III.3.1.1 Composition

Poudre de la plante25g

Eau distillée.....500ml

III.3.1.2 Préparation la décoction

- Mettre la plante en poudre dans l'eau distillée et chauffer sur un agitateur magnétique 10°C après 30 minutes nous ouvrons le bouton de température à 100 °C pendant 1 heure.



Figure III-24 Agitateur magnétique

- Filtration sous vide de la mélange



Figure III-25 Filtration sous vide

- Le filtrat obtenu a été évaporé à sec dans une étuve à une température de 40°C, pour donner un extrait aqueux (EA).



Figure III-26 Etuve de séchage

- **Extrait** : conserver le filtrat au réfrigérateur à +4°C pour son utilisation dans l'évaluation de l'activité antileishmanienne in vitro.



Figure III-27 Extrait aqueux de remthe

- **Détermination de rendement** : Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$R (\%) = \frac{P1+P2}{P3} \times 100$$

- P1 : poids de cristalliseur poids de matière sèche après le séchage.
- P2 : poids de cristalliseur vide.
- P3 : poids de matière première.

III.3.2 artemesia herba alba :

La plante d'Artemisia herba alba été récolté au mois de février 2020 , la plante situé dans la région de sidi bel Abbes et Macheria

La partie aériennes de l'espèce Artemisia herba alba été séchées à l'air, à l'abri de la lumière, pendant 15 jours puis a été mise à l'étuve du laboratoire et chaque 48h nous pesons jusqu'à atteindre un poids constant, et conservées dans des sacs propres en papier jusqu'à au moment de l'extraction.

III.3.2.1 Méthode d'extraction

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation classique sur un appareil de type Clevenger modifié (Figure III-24). Les extractions ont été réalisées par ébullition de 25 g de matériel végétal dans un ballon de 0,5 litres rempli d'eau (2/3 du volume du ballon) pendant 2 à 3 heures.

Les vapeurs formées montent le long de la colonne en entraînant avec elles les huiles Essentielles (Figure III-25). Ces vapeurs sont condensées dans un réfrigérant, le condensât

Partie pratique

(eau + huile essentielle) est récupéré dans une ampoule à décanter. L'HE obtenue par une simple décantation est séparée minutieusement de la partie aqueuse.

Les huiles essentielles obtenues fluides, de couleur jaune pâle et dégagent une forte odeur, fraîche et agréable sont conservées dans des flacons ombrés hermétiques à basse température (-4°C) et à l'abri de la lumière pour évitée toute dégradation.



Figure III-28 Appareil de Clevenger modifié

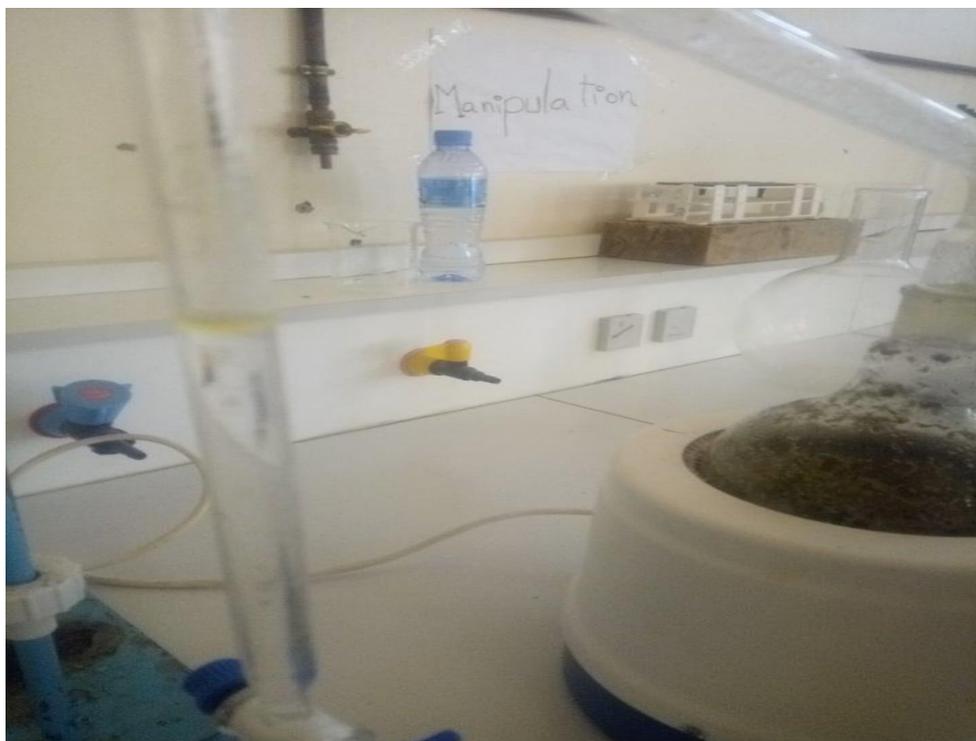


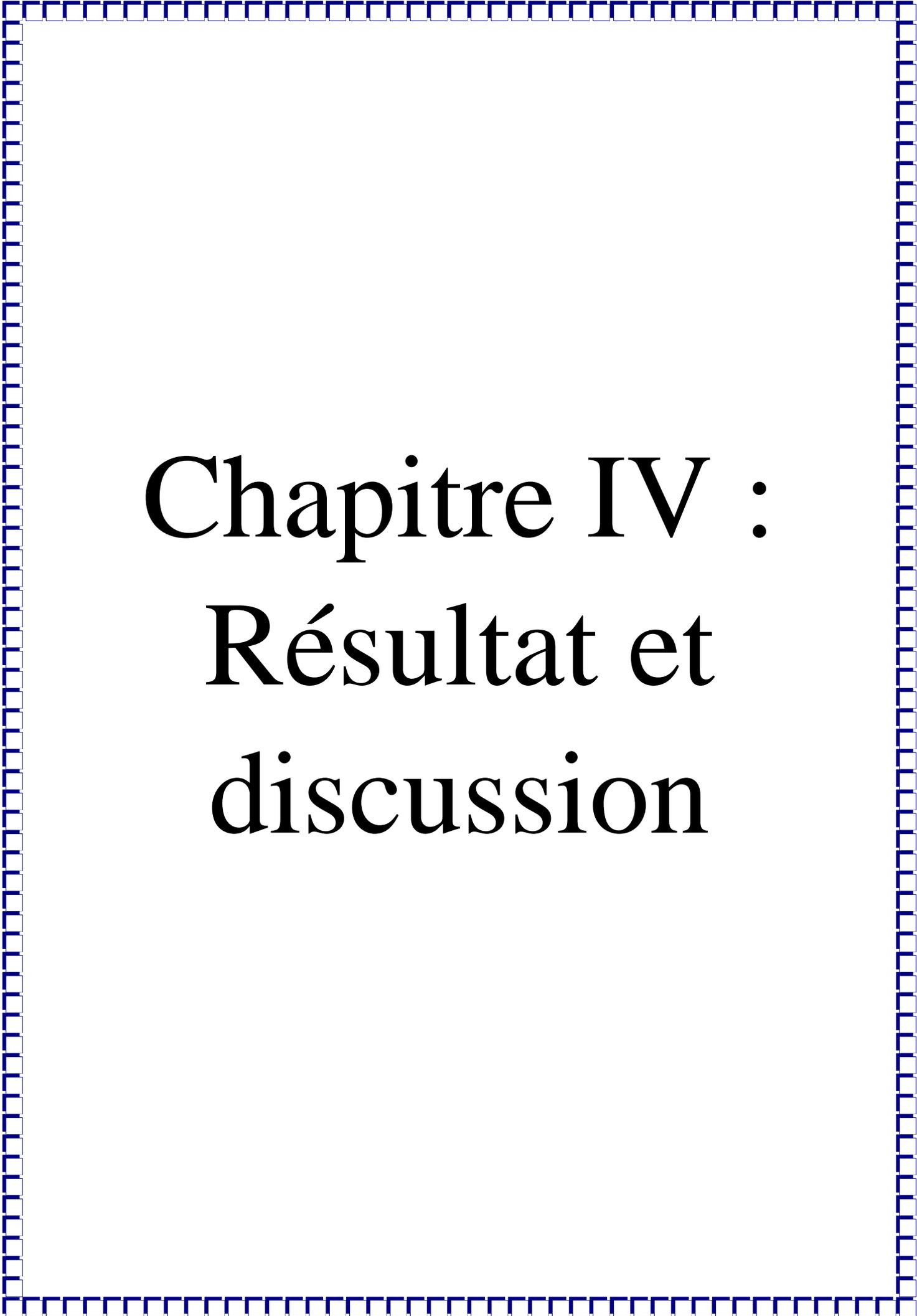
Figure III-29 Formation d'huile essentiel dans le colonne

- Rendement de l'huile essentielle

Selon la norme Afnor (1986), le rendement en huile essentielle (Rd), est :

$$Rd = M'/M \cdot 100$$

- Rd : Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).
- M': Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).
- M: Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).



Chapitre IV :

Résultat et discussion

IV.1 Résultats

Dans notre étude on a travaillé sur Utilisation des plantes du désert algérien dans le traitement du parasite *Leishmania cutanée* dans les régions d'Ain Sekhona, wilaya de Saida.

IV.1.1 Résultats des ensemencements

Nous avons apporté des échantillons (souches de *Leishmania*) de patients atteints de leishmaniose de l'hôpital Ain Sekhona et les avons mis dans des milieux (milieu NNN et milieu blanc d'œuf) que nous avons fait précédemment dans le laboratoire de l'Université Dr Moulay Taher.

Les résultats sont obtenus 7 jours après l'ensemencement de la souche en prélevant la phase liquide des milieux des cultures dans des conditions stériles, et rechercher les formes promastigotes entre lame et lamelle au microscope pour chaque milieu ensemencé.

La culture était négative durant 15 jours d'incubation pour les souches.

IV.1.2 Résultats de l'analyse qualitative quantitative de plantes étudiée

- Nous avons apporté une plante **Hammada scoparia** « **Remth** » de Naama , que nous avons séchée et transformée en poudre pour la préparation de l'extrait aqueux (EA) .

IV.1.2.1 Analyse qualitative de l'extrait aqueux (EA)

- L'extrait aqueux sèche ainsi obtenu présente généralement un aspect d'une poudre de couleur verte-noir pour les extraits .
- L'extrait aqueux sans sécher ainsi obtenu présente généralement un aspect d'un liquide de couleur verte-noir pour les extraits .

A l'exception de celui des feuilles immatures qui a une couleur verte foncée.

IV.1.2.2 Analyse quantitative de l'extrait aqueux (EA)

- **Rendement d'extraction aqueux de Hammada scoparia** « **Remth** »

P1 : poids de cristalliseur (328,48g) + poids de matière sèche (4.6) après le séchage.

P2 : Poids de cristalliseur vide = 328.48g.

P3 : poids de matière première = 25g.

$$R=18.4\%$$

- D'autre part, nous avons apporté la plante d'absinthe (*Artemisia herba alba*) des régions de Sidi Bel Abbes et Machria. Et nous l'avons séchée pour en extraire l'huile essentielle en utilisant l'appareil de Clevenger modifié.

IV.1.2.3 Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement d'une extraction se calcule par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière première végétale (en poudre généralement). Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = (MHE / MMV) \cdot 100$$

- R : rendement de l'extraction en %
- MHE : masse de l'huile essentielle extraite en (g).
- MMV : masse de la matière végétale en (g).
- $R(\%) = \frac{5.48}{792} * 100 = 0.69\%$
- Le rendement en HE de l'*Artemisia herba-alba* égale à 0,69%

IV.2 Discussion

- les cultures négatives obtenues sont expliquées par le problème des contaminations, car le milieu NNN est très riche en nutriments et propice à la prolifération des bactéries et des moisissures (BERREBI, 1936). D'ailleurs, l'utilisation d'antibiotique (pénicilline G) n'a pas suffi pour éviter ces contaminations .

La négativité de la recherche des leishmanies par culture sur milieu blanc d'œuf est due probablement aux contaminations ou une erreur lors d'une étape de préparation. Toutefois, cela ne veut pas dire qu'il n'est pas fiable pour la culture des leishmanies, car l'urine utilisée dans sa préparation grâce à sa propriété de stimulant de la division cellulaire, suffirait selon plusieurs auteurs à améliorer à la fois la sensibilité de l'isolement et la richesse (HOWARLD,1991;THIMOTHY,1994).

Pour améliorer la sensibilité des cultures, il existe plusieurs milieux qui peuvent être utilisés, comme le milieu sérum de lapin coagulé, le milieu de Sloppy-Evans ou de compléter la phase liquide du milieu NNN de RPMI et de sérum de veau fœtal (PRATLONG, 1994; EVANS, 1989; GRAMMICIA, 1989). Il faut cependant préciser que ces derniers milieux sont plus coûteux et difficile à préparer ou à manier (PRATLONG, 1994;BELKAID, 1996; GRAMMICIA,1989).

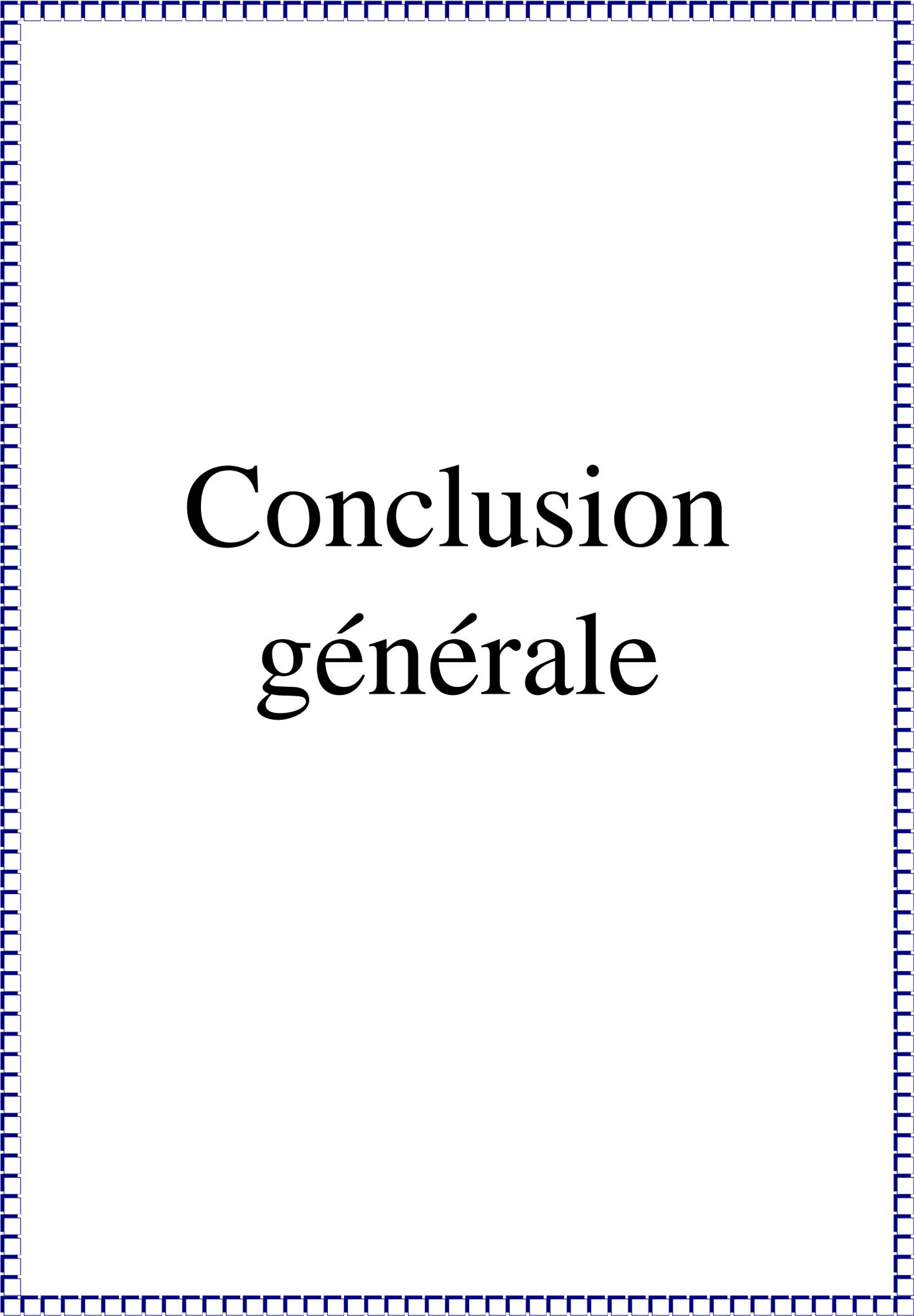
- Les substances d'origine végétale ont toujours constitué une source majeure pour l'élaboration de nouvelles substances aux propriétés thérapeutiques.

Le large spectre antimicrobien, la grande diversité biologique, chimique et le caractère ubiquitaire des plantes du genre *Hammada* et *artemisia* ,

Nous ont amenés à évaluer l'activité des extraits aqueux de *Hammada scoparia* et l'huile essentielle de *artemisia herba alba* vis -à-vis des formes promastigotes de LC.

Résultat et discussion

Remarque : Nous n'avons pas terminé l'étude et nous n'avons eu aucun résultat définitive en raison de circonstances exceptionnelles survenues dans le pays en particulier et dans le monde en général, à savoir l'invasion du virus Corona.



Conclusion générale

Conclusion générale

Au terme de ce travail nous pouvons dire que les leishmanioses sont un problème important tant en santé humaine qu'animale dans tout le Bassin méditerranéen. Ainsi, elle reste l'une des maladies les plus négligées dans le monde mais au cours de ces dix dernières années, des avancées scientifiques majeures ont été réalisées dans le traitement, le diagnostic et la prévention de la leishmaniose.

D'après les culturesensemencées de leishmanies sur milieux NNN et milieu blanc d'œuf on peut déduire les paramètres de réussite de la culture sur ce milieu ;donc ensemencement de la souche de leishmanie et repiquage doivent se réalisés dans des conditions strictement stériles pour éviter ou minimiser la contamination puis incuber les cultures ensemencées à 24C°pour favoriser la multiplication du parasite .

La communauté scientifique est en travail continuel pour la recherche de nouvelles thérapies plus efficaces, avec peu d'effets secondaire, et à la portée des malades, particulièrement ceux à faible revenus.

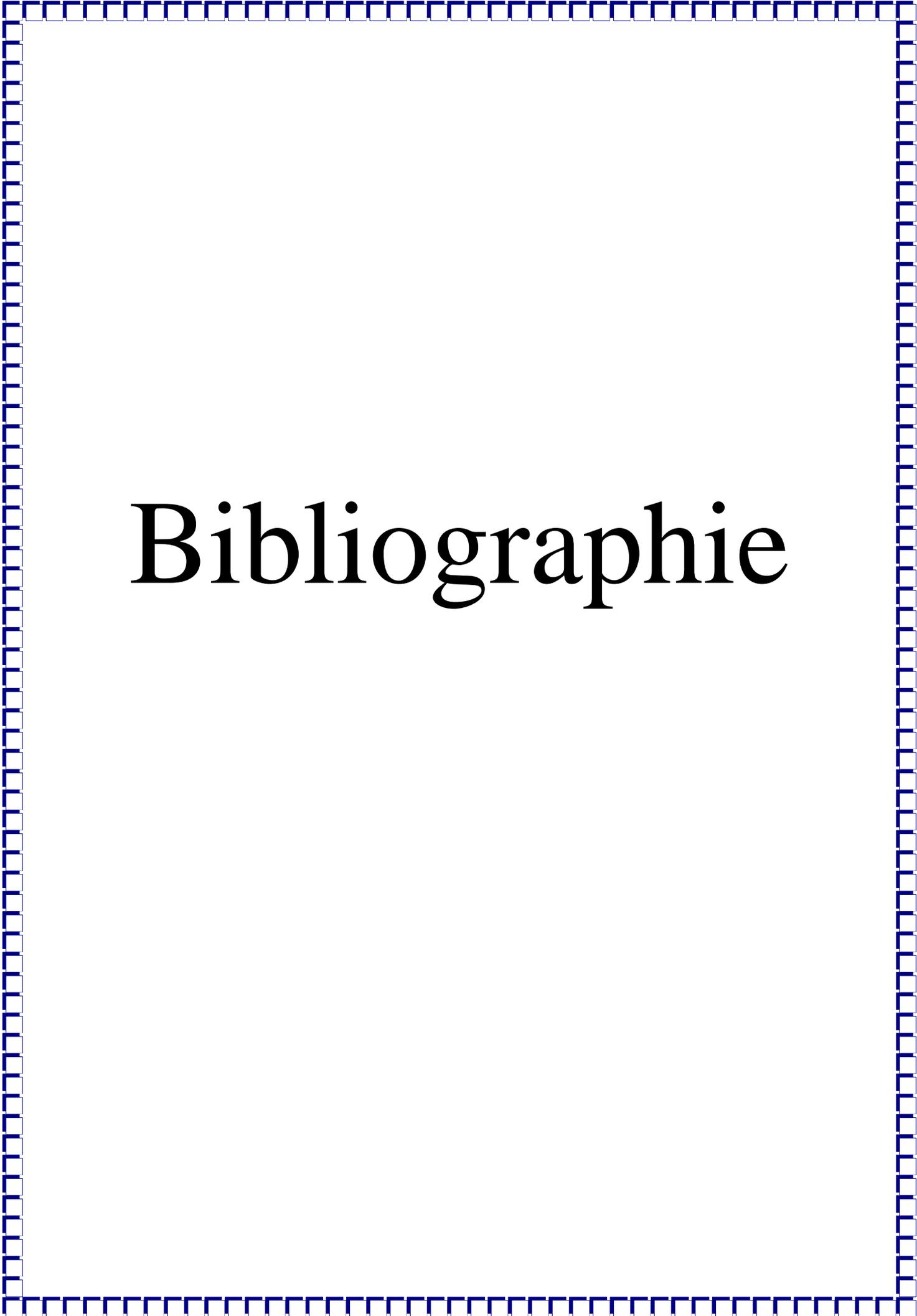
Dans ce contexte, les plantes médicinales représentent un champ d'expérimentation prometteur pour de nouvelles solutions.

Plusieurs travaux de recherche ont été réalisés sur Hammada scoparia « Remth » et Artemisia herba alba à fin d'exploiter leurs différentes activités biologiques.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés au pouvoir anti Leishmaniose cutanée .

Les tests de l'activité antileishmanienne in vitro sont en concordance avec les données analytique, confirment que H. scoparia et A.herba alba il Ya principalement un effet sur la maladie de leishmanienne.

À notre connaissance, il s'agit de la première mention de l'activité antileishmanienne in vitro de Hammada scoparia et Artemisia arba alba , donc ces résultats importants nous encouragent à sélectionner ces plantes comme une source prometteuse pour des études chimiques approfondies afin de caractériser les molécules naturelles responsables à cette activité.



Bibliographie

Bibliographie

- BRAZ Imene et MOHAMED HANCHOUR Fatima , **Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (Artemisa herba helba, Haloxylon scoparium, Peganum harmala et Zygophyllum album)**, mémoire de Master , université de Mostaganem , 2018.
- BOUMAZA Ouahiba ,Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires de Genista tricuspidata (Fabaceae), et Haloxylon scoparium (Chenopodiaceae), thèse de doctorat, université de Constantine .
- Biomnis ,**Leishmaniose** , Précie de biopathologie analyses médicales spécialisée , formation continue en biologie médicale et qualité , 2012 .

- **CHEHMA A., Etude floristique et nutritive des parcours Camelins du Sahara septentrional algérien Cas des régions de Ouargla et Ghardaïa.** Thèse Doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba, 2005.

-
- DJOU Siham et AMEUR Naima , **Etude des cas de leishmaniose cutanée diagnostiqués au laboratoire de Parasitologie-Mycologie Médicales du CHU de Tlemcen (Septembre 2016 – Avril 2017)** , thèse de doctorat en pharmacie, université de Tlemcen ,2017.
- Dalal MEHDI et Oumhani SALEM , **Etude de l'activité antibactérienne d 'Artemisia herba alba de la région (El-kantara) en vue de son utilisation comme bioconservateur dans le lait cru de vache**, mémoire de Master , université de Biskra , 2019.
- FAMAkan Keita , **LA LEISHMANIOSE CUTANEE CHEZ LES PATIENTS RECUS A L'UNITE BIOLOGIE DU CNAM DE JANVIER 2002 A OCTOBRE 2004**, thèse de doctorat en pharmacie , université de Bamako Mali , 2005.

- GUERRAH Mounira et SEGUENI Mériem , **Contribution à l'étude biochimique de quelques plantes médicinales dans le Sahara Septentrional algérien**, mémoire de Master , université d'El Oued , 2015.
- HARRAT Z. et BELKAID M. ,**Les leishmanioses dans l'Algérois** , Données épidémiologiques , Bull. Soc. Pathol. Exot.96 :212-214 , 2002 .
- KHEDDOUM Naima Loujaine, **Etude du pouvoir antibactérien d'Artemisia herba alba « CHIH »**, mémoire de Master , université de Mostaganem , 2018.
- LAMARI Fatiha et ZOUAK Karima ,**etude ethnobotanique et essai sur l'évaluation in vitro de l'activité antiparasitaire de quelques plantes de la région d'Ain Skhouna** , mémoire de Master , université de Saida , 2019.
- MARTINETTI Léa , **DÉPISTAGE, TRAITEMENT ET PRÉVENTION DE LA LEISHMANIOSE CANINE EN CORSE : ENQUÊTE AUPRÈS DES VÉTÉRINAIRES PRATICIENS DE L'ÎLE** , thèse de doctorat, université de Toulouse ,2013.

- MOHAMMEDI Z., **Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie** ,Thèse Doctorat en biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 2013 .
- Rapport de la réunion du comité OMS d'experts de la lutte contre les leishmanioses, **la lutte contre les leishmanioses** , Organisation mondiale de la santé, mars 2010.
- SEBAI Mohamed et BOUDALI Mohamed , **la phytothérapie entre la confiance et méfiance , mémoire professionnel** , institut de formation paramédical CHETTIA , 2012 .
- YAHI Sara et SEHIBI Souad , **évaluation de l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux Amodancus leucotrichus chez rats wistar préalablement intoxiquées par l'aluminium , etude biochimique , hématologique** , mémoire de Master , université de Saida , 2019.

Bibliographie

- OTMANI Fatiha , **Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'haloxylon scoparium pomel de la région de Naâma**, mémoire de Master , université d' Abou Bakr Belkaid Tlemcen , 2015

- Pr Pierre Aubry et al, **Leishmanioses** , Diplôme de Médecine Tropicale , université de bordeaux france , 2019.

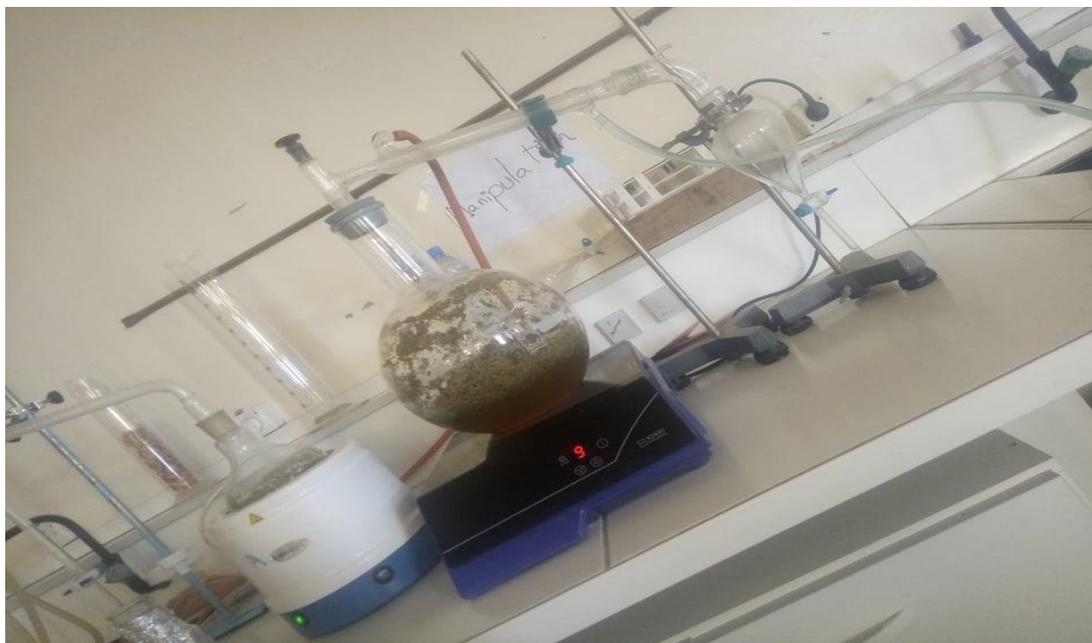
Webographie

https://www.memoireonline.com/01/13/6764/m_Contribution—l-etude-de-l-activite-antimicrobienne-du-genevrierJuniperus-phoenicea—essai-d.html

Annexes

Annexe N°01 :

L'extraction de l'huile essentielle d' artemesia herba alba par des Appareils de Clevenger modifié



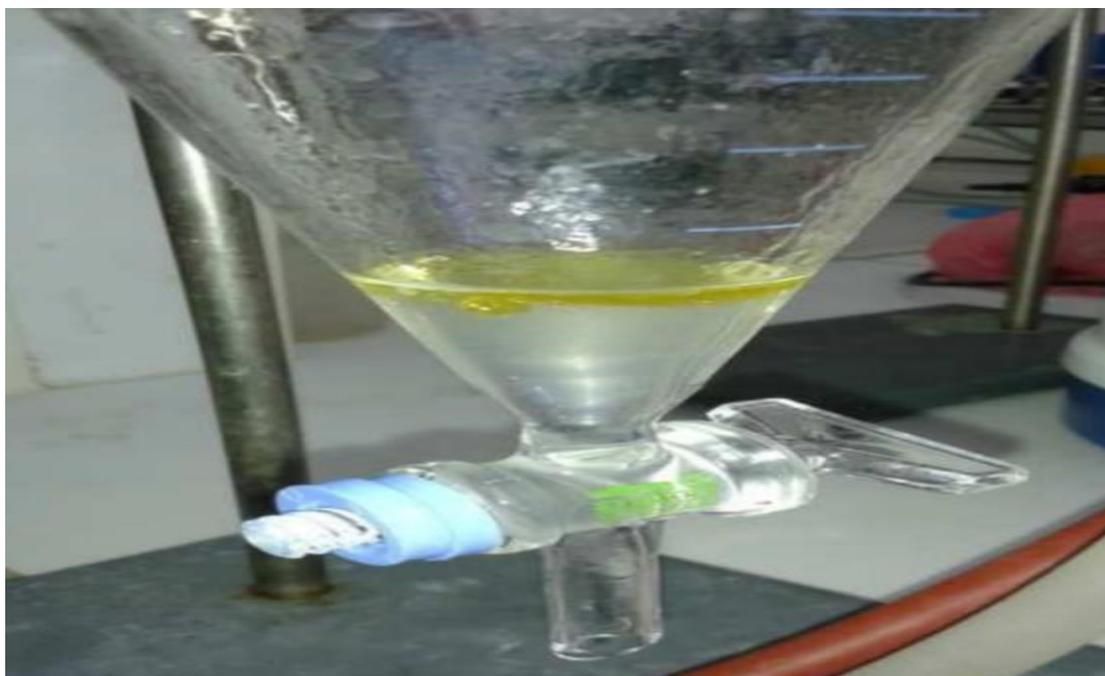
Annexe N° 02 :

Lésion cutanée.



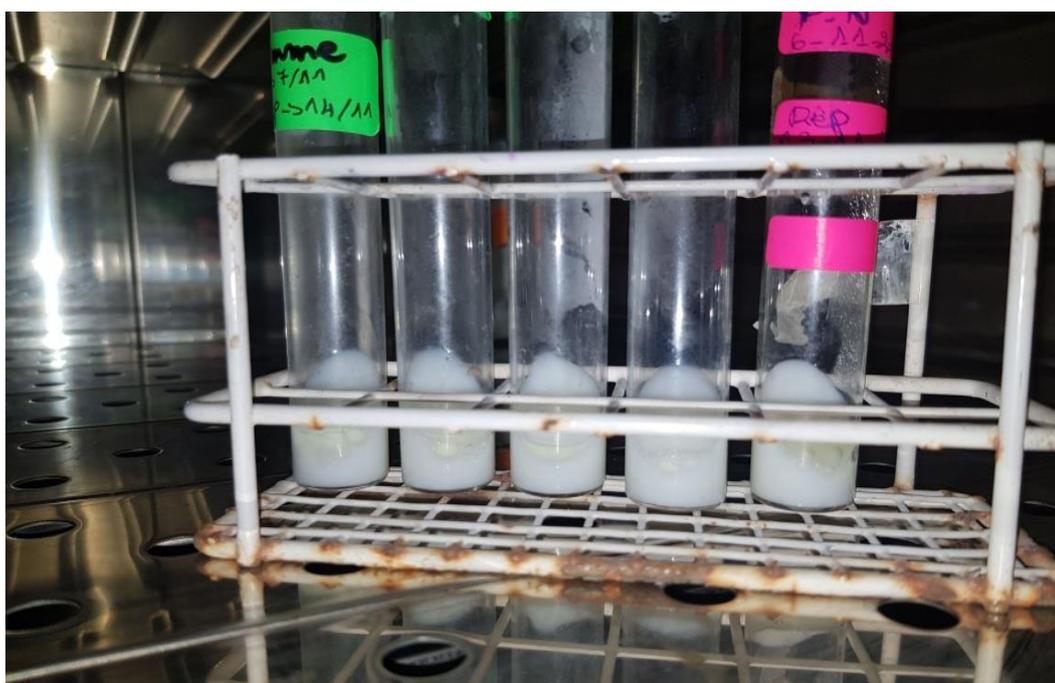
Annexe N° 03:

Des Gouttes d'huile essentielle d' artemesia herba alba



Annexe N° 04:

Milieux blancs d'œufs



Annexe N° 05 :

Milieux NNN



Annexe N° 06 :

Laboratoire de l'hôpital Ain Skhoua

