

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire

Présenté par :

BELKACEM Asmaa

BELKACEM Khadidja

Thème

***Évaluation de la toxicité d'un remède traditionnel utilisé contre
la dermatite atopique (Étude expérimentale chez le rat).***

Soutenu publiquement le 04/06/2023

Jury:		Grade
Présidente :	Mme. BAROUAGUI Soria	MCB
Encadrant:	Mr. BENCHOHRA Mokhtar	Pr
Co-encadrant:	Mr. HEMIDA Houari	MCA
Examinatrice :	Mme. MILIANI Asmaa	MCB

Année universitaire 2022-2023



إِنَّ الْحَمْدَ لِلَّهِ نَحْمَدُهُ وَنَسْتَعِينُهُ وَنَسْتَغْفِرُهُ، وَنَعُوذُ بِاللَّهِ مِنْ شُرُورِ أَنْفُسِنَا
وَسَيِّئَاتِ أَعْمَالِنَا، مَنْ يَهْدِهِ اللَّهُ فَلَا مُضِلَّ لَهُ، وَمَنْ يَضِلَّ فَلَا هَادِيَ لَهُ،
وَأَشْهَدُ أَنْ لَا إِلَهَ إِلَّا اللَّهُ وَحْدَهُ لَا شَرِيكَ لَهُ، وَأَشْهَدُ أَنَّ مُحَمَّدًا عَبْدُهُ وَرَسُولُهُ



يَا أَيُّهَا النَّاسُ اتَّقُوا رَبَّكُمُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ نَفْسٍ وَاحِدَةٍ وَخَلَقَ مِنْهَا زَوْجَهَا وَبَثَّ
مِنْهُمَا رِجَالًا كَثِيرًا وَنِسَاءً وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي تَسَاءَلُونَ بِهِ وَالْأَرْحَامَ إِنَّ اللَّهَ كَانَ
عَلَيْكُمْ رَقِيبٌ (1) سورة النساء

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais c'est Allah qui dispose. Que notre Seigneur, guide toujours nos pas.

Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à notre directeur de mémoire Mr BENCHOÛRA M. et à notre Co-directeur de mémoire

Mr HEMIDA H. pour la proposition du sujet, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour leur aide, leurs encouragements, leurs précieux conseils, leur confiance, leur patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous tenons à leur exprimer notre gratitude pour tout cela.

Nos profonds remerciements également à notre responsable de spécialité Mr YEZZI W.

C'est un honneur pour nous que Mme BEROUAGUI S. et Mme MELIANI A. aient accepté de bien vouloir juger la qualité de notre travail.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude à tous les enseignants qui ont participé de près ou de loin à notre formation au cycle universitaire.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents:

A ma mère qui a œuvré à ma réussite par son amour, ses prières, son soutien, tous les Sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence Dans ma vie.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi

Ma grand-mère, pour ses prières que dieu vous préserver santé et longue vie.

Mon chère frère Mohamed, Mes chères sœurs Hadjer, Nour elhouda et Amina qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

Ma jumelle Khadidja, il n'y a pas d'amour aussi unique que l'amour entre jumelles. Tu me connais mieux que quiconque, et nous avons traversé tant que choses ensemble .je t'apprécie plus que les mots ne pourraient jamais le dire.

Mon neveu Iyad et ma nièce Amira.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs ; Mr Houcine, Mr yezli, Mme Mihoub, Mme Gourchala et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions.

Mes chères amies et toute la promotion de Master 2 toxicologie et sécurité alimentaire

Asmaa



Dédicaces

Je dédie ce mémoire à ... :

Mes Très Chers Parents :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; Maman que j'adore.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi Mon père.

Ma grande mère : Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

Mon grand-père : رحمه الله و اسكنه فسيح جناته.

A Mes Très Chers Frère et sœurs Hadjer, Mohamed, Djihad, Amouna Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, ni ma gratitude et ma reconnaissance envers les innombrables et immenses encouragements durant toutes les années de mes études.

A ma jumelle Asmaa

Je voudrais te dédier ces quelques mots pour te dire à quel point je suis fière d'être ta sœur jumelle. Depuis notre naissance, nous avons partagé tant de moments merveilleux ensemble, et je sais que nous en partagerons encore beaucoup d'autres à l'avenir.

A mon neveu et ma nièce Iyad et Amira Vous avez apportés beaucoup de bonheur à notre famille. Je vous aime.

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études en signe d'un profond respect et d'un profond amour, Surtout Mr **yezli** et Mr **Hocine**.*

A mes amies proches et toute la promotion de Master 2 toxicologie et sécurité alimentaire.

Khadija



Table des matières

Liste des figures	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Tissu cutané et dermatite atopique

1. Rappels physiologiques sur la peau ou tissu cutané.....	2
1.1. L'épiderme.....	2
1.2. Le derme.....	2
1.3. L'hypoderme.....	2
2. Les fonctions de la peau.....	4
3. La dermatite atopique.....	4
3.1. Définition.....	4
3.2. Immunopathologie de la DA.....	4
3.3. Différents types de DA selon son évolution.....	5
4. Les causes de la dermatite atopique.....	6
5. Complications de la dermatite atopique.....	7
6. Traitements classique de la dermatite atopique	7
7. Principes du traitement	7
8. Traitements naturels alternatives.....	8

Chapitre II : Etude de la toxicité

1. Toxicité d'un produit.....	9
1.1. Evaluation de l'effet toxique	9
1.1.1. Toxicité à doses répétées.....	9
2. Les Différentes Formes De Toxicité	9
2.1. Toxicité aiguë	9
2.2. Toxicité subaiguë	9
2.3. Toxicité subchronique.....	9
2.4. Toxicité chronique	10
3. La dermatotoxicité.....	10
3.1. Définition de la dermatotoxicologie	10
3.1.1. Les sensibilisants cutanés.....	10
3.1.2. La toxicité cutanée	10
3.1.3. L'évaluation de la toxicité cutanée.....	10
3.1.3.1. Test d'irritation cutanée	11
3.1.3.2. Test de sensibilisation cutanée.....	11
3.1.3.3. Test de perméabilité cutanée	11
3.1.4. Intérêt du test de toxicité pour un remède à usage local	11

Matériel et méthode

I	Objectif de travail.....	12
II	Lieu et période de l'étude.....	12
III	Matériel et méthode	
III.1	Matériel	12
I.1.	Matériel biologique	12
I.2.	Produits chimiques.....	13
III.2	Méthode :	
I.	Répartition des lots.....	14
II.	Induction de la dermatite chez les rats.....	14
III.	La thérapie de la dermatite atopique par traitement naturel	16
IV.	Sacrifice et prélèvement des organes.....	18
V.	Etude histopathologique.....	21

Résultats et discussion

I.	Résultats	22
1.	Observations macroscopiques (cliniques) des signes de la toxicité.....	22
1.1.	Examen cutané	22
1.1.1.	L'apparition de la dermatite atopique.....	22
1.1.2.	Evaluation de la dermotoxicité du remède traditionnel.....	23
1.1.3.	Effets du traitement sur la dermatite atopique provoquée chez les rats.....	24
1.2.	Examen des organes après autopsie.....	26
2.	Etude anatomopathologique (microscopiques).....	26
2.1.	Evaluation de la toxicité du formol sur la peau et les organes internes.....	26
2.2.	Evaluation de la toxicité de la crème dépilatoire (Venus[®]) sur la peau.....	29
2.3.	Evaluation de la toxicité liée à l'utilisation du remède traditionnel sur la peau et les organes internes chez les rats témoins (RT).....	29
2.4.	Evaluation de la toxicité liée au traitement avec le remède traditionnel chez les rats sensibilisés par le formol et la crème.....	31
II.	Discussion	33
Conclusion	37

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des figures

Figure 1 : Structure des trois couches de la peau	3
Figure 2 : Structure cellulaire schématique de l'épiderme.....	3
Figure 3 : Dermatite atopique aigue des mains	5
Figure 4 : Dermatite atopique chronique des mains.....	5
Figure 5 : Dermatite chronique du pied chez un enfant de 8 ans.....	5
Figure 6 : Schéma montrant la différence entre une peau normale et une peau avec dermatite atopique	6
Figure 7 : Rat wistar en cage d'expérimentation.....	13
Figure 8 : Formol commercial (37%).....	13
Figure 9 : Crème dépilatoire Venus.....	13
Figure 10 : Application de la crème dépilatoire.....	15
Figure 11 : Préparation du formol 10%	16
Figure 12 : Application de formaldéhyde à 10 %	16
Figure 13 : Un échantillon du remède traditionnel.....	17
Figure 14 : Remède appliqué sur le dos du rat	17
Figure 15 : Fixation du sujet sur la table d'autopsie.....	20
Figure 16 : Rat éventré.....	20
Figure 17 : Organes prélevés.....	20
Figure 18 : Préparation des échantillons sur formol 10% (fixation d'organes) pour l'étude histopathologie.....	20
Figure 19 : Réaction cutanée à la 1 ^{ère} application du traitement (RT2).....	23
Figure 20 : Absence de réaction cutanée suite à la 1 ^{ère} application du traitement (RT1).....	23
Figure 21 : Aspect de la peau du dos de rat RT2 après 8 semaines du traitement.....	23
Figure 22 : Aspect de la peau du dos du rat RT1 après 8 semaines du traitement.....	23
Figure 23 : Kyste hépatique	26
Figure 24 : Rat, peau, destruction massive de l'épiderme avec détachement de toutes les couches et altération du derme (ulcération) H&E, 40X	27
Figure 25 : Rat, peau, infiltration du derme par des cellules inflammatoires H&E, 400X	27

Figure 26 : Rat, intestin, perte totale des villosités avec hyperplasie des nodules lymphocytaires (plaques de Peyer) H&E, 40X	28
Figure 27 : Rat, estomac, légère infiltration inflammatoire de la muqueuse gastrique (partie glandulaire) H&E, 100X	28
Figure 28: Rat, peau, perte totale de la couche épidermique et une partie du derme (perte de substance massive et profonde) H&E, 40X	29
Figure 29: Rat, peau, architecture normale de la peau des rats témoins (remède traditionnel) H&E, 100X	30
Figure 30 : Rat, foie, architecture intègre du parenchyme hépatique des rats témoins (remède traditionnel) H&E, 100X	30
Figure 31 : Rat, Rein, architecture normale du parenchyme rénal des rats témoins (remède traditionnel) H&E, 100X	31
Figure 32: Rat, peau, rétablissement de l'architecture chez les rat présentant une dermatite (formaldéhyde) traité avec le remède traditionnel H&E, 40X	32
Figure 33: Rat, peau, rétablissement de l'architecture chez les rat présentant une dermatite (crème dépilatoire Venus®) traité avec le remède traditionnel H&E, 40X	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Présentation du protocole suivi dans notre expérimentation18

Tableau 2 : Les scores des réactions inflammatoires de la peau suite à l'induction de la dermatite atopique par la crème et le formol.....22

Tableau 3 : Dermatite induite par la crème dépilatoire chez les sujets témoins (non traités) et les sujets traités par le remède, après une semaine 24

Tableau 4 : Dermatite induite par le formol chez les sujets témoins (non traités) et les sujets traités par le remède, après une semaine.....25

Liste des abréviations

KC : Kératinocytes.

CL : Cellule de Langerhans.

DA : Dermatite atopique.

SCORAD : Scoring atopic dermatitis (Score de dermatite atopique).

Introduction

Les maladies inflammatoires chroniques de la peau sont de plus en plus fréquentes. La dermatite atopique est l'une de ces affections, elle est observée surtout chez le nourrisson et l'enfant, mais peut survenir à tout-âge (**Chehad et Mansoul, 2017**). L'utilisation accrue de produits chimiques dans notre quotidien (conservateurs et colorants alimentaires, cosmétiques, produits de ménage, peintures, ...) et le stress émotionnel sont autant de facteurs responsables de la dermatite atopique (**Tamagawa-Mineoka et Katoh, 2020**).

Des médicaments synthétiques (chimiques), notamment les corticostéroïdes, sont utilisés dans le traitement des différents types de dermatoses. Toutefois, ces médicaments présentent en majorité des effets secondaires, pouvant nuire gravement à la santé des patients (**Delepouille, 2020, Barta et al, 2023**), d'où la recherche d'alternatives en médecine traditionnelle. Cette dernière, constitue la somme totale des connaissances, compétences et pratiques qui reposent, rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture (**OMS, 2000**). Ce type de médecine s'avère très prometteur, en raison des risques collatéraux limités pour la santé (**Merouane, 2013**). Mais la composition exacte de certains remèdes naturels reste inconnue, d'où le besoin de s'assurer de leur innocuité (locale et générale) (**OMS, 2000**). Ainsi, toute substance destinée à être mise sur le marché doit subir des tests de toxicité (**Benneouala et al, 2021**).

Notre travail s'intéresse à l'étude de la toxicité d'un remède traditionnel utilisé contre la dermatite atopique.

La première partie de ce mémoire est consacrée à la synthèse bibliographique, qui présente des rappels physiologiques sur la peau, des généralités sur la dermatite atopique et sur l'étude de la toxicité en général.

La deuxième partie est réservée à l'expérimentation animale, décrivant le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude.

La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus et leurs interprétations.

Nous avons terminé notre manuscrit par une conclusion générale.

Synthèse bibliographique

Chapitre I
Tissu cutané et dermatite atopique

Chapitre I : Tissu cutané et dermatite atopique**1. Rappels physiologiques sur la peau ou tissu cutané :**

La peau est constituée d'un ensemble de tissus qui fonctionnent comme une structure unique. La peau et ses structures complémentaires composent le système tégumentaire dont la fonction principale est de protéger l'organisme contre les agressions externes (physiques, chimiques et infectieuses), elle est composée de trois couches de tissus superposés : épiderme, derme et hypoderme (**Nguyen, 2021**) (figure 1).

1.1. L'épiderme :

C'est la couche cutanée la plus superficielle, l'épiderme à une épaisseur qui varie selon la localisation (**Tran, 2007**).

Il existe quatre types de cellules épithéliales au niveau de l'épiderme, 80% sont représentées par les kératinocytes (KC) et les 20% restant sont les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel (**Nguyen, 2021**) (figure 2).

1.2. Le derme :

Le derme, épais, situé plus en profondeur, est constitué de tissu conjonctif richement vascularisé, de cellules vivantes et de nombreuses fibres élastiques, de réticuline et de collagène. Le derme a un rôle «nourrissant» par le biais de nombreux vaisseaux sanguins qu'il contient et qui permettent la diffusion des nutriments à l'épiderme (**Aoun et Madani, 2016**).

1.3. L'hypoderme :

C'est une couche située directement sous le derme. Il s'agit d'un tissu conjonctif contenant des adipocytes, richement vascularisé et innervé. L'hypoderme permet la régulation du métabolisme cellulaire. Il donne à la peau une protection mécanique mais également sa silhouette élastique. Il a un rôle dans l'isolation thermique ainsi qu'un rôle de réserve énergétique (**Touria ,2013**).

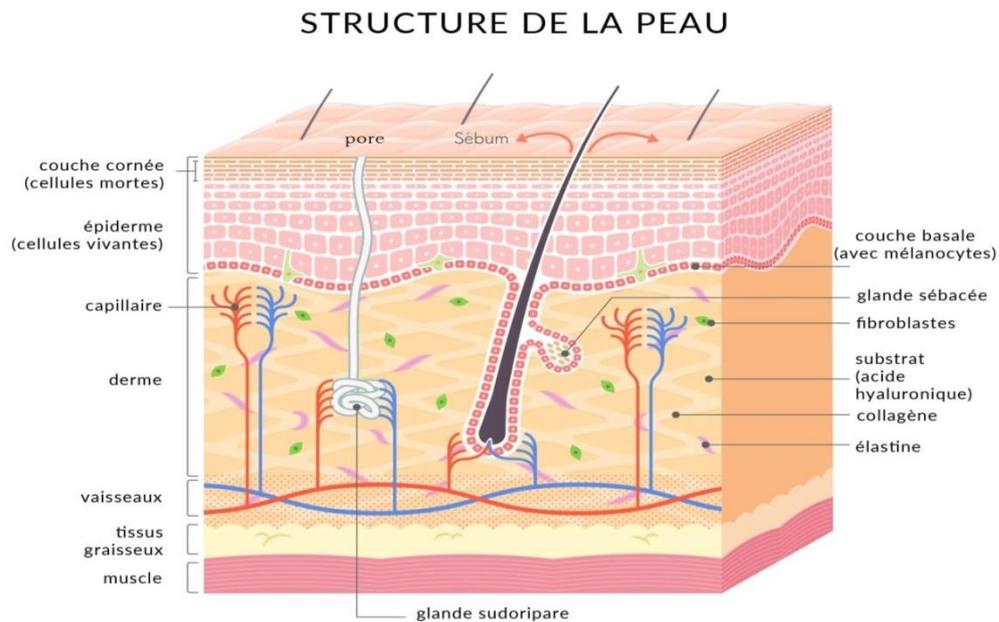


Figure 01 : Structure des trois couches de la peau (Hemili, 2019).

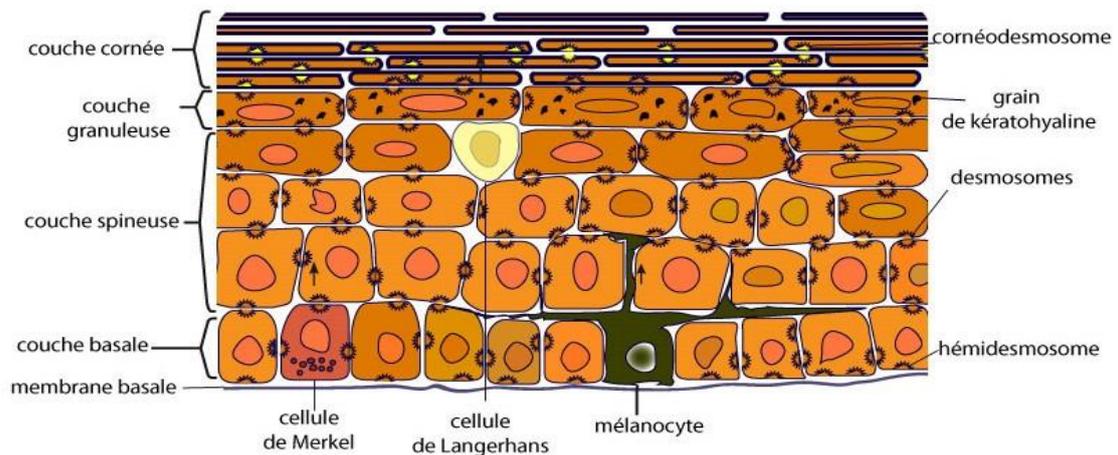


Figure 02 : Structure cellulaire schématique de l'épiderme (Démarchez, 2015).

2. Les fonctions de la peau :

Les principales fonctions de la peau sont :

- **Thermorégulation** : régulation de la température corporelle.
- **Fonction de barrière** : première barrière contre les agressions de l'organisme.
- **Fonction immunitaire** : organe de défense, faisant intervenir les différents facteurs du système immunitaire.
- **Fonction métabolique** : permet la maturation de la vitamine D et possède des récepteurs pour les hormones stéroïdes et la vitamine A.
- **Fonction sensorielle** : organe sensoriel en raison de la richesse du derme en terminaisons nerveuses (**Tartouga, 2022**).

3. La dermatite atopique :

3.1. Définition :

Le terme « atopie » vient du grec, a- préfixe privatif, et topos qui signifie endroit ou place qui facilite le déclenchement d'une réaction d'hypersensibilité.

Le terme « dermatite » est une contraction du terme « dermatose », qui regroupe toutes les maladies de la peau, et du suffixe « -ite », qui désigne une inflammation. Cela signifie « maladie inflammatoire de la peau ».

Ce sont Sulzberger et Wise (1933) qui trouvent la notion de "dermatite atopique" (DA). Actuellement on parle d'eczéma constitutionnel ou d'eczéma atopique, mais le terme dermatite atopique reste le plus répandu dans toutes les langues (**Dubois, 2017**).

La DA est définie comme une maladie inflammatoire chronique qui survient dans les zones topiques et se caractérise par des poussées prurigineuses (**Mesili et Mebarek, 2018**).

3.2. Immunopathologie de la DA :

Les lésions de la dermatite atopique sont des lésions d'hypersensibilité retardée qui sont dues à l'activation des lymphocytes T dans la peau (**Nicolas et Nosbaum, 2012**).

3.3. Différents types de DA selon son évolution :

- a) **Eczéma aigu** : l'apparition est habituellement soudaine et provoque généralement des démangeaisons. Il se caractérise par des placards érythémateux, souvent infiltrés, œdémateux, aux bords mal délimités, avec des vésicules claires de la taille d'une tête d'allumette (figure 3); élémentaires et caractéristiques de l'eczéma (Dubois, 2017).



Figure 3 : dermatite atopique aigue des mains (Lafaurie, 2022)



Figure 4 : dermatite atopique chronique des mains (Staumont, 2022)

Figure 5 : Dermatite chronique du pied chez un enfant de 8 ans (Photo Pr Benchohra).



- b) **Eczéma chronique** : L'eczéma chronique est un eczéma sec. Il se compose de placards érythémateux squameux, mal délimités et prurigineux. Les squames sont parfois très fines, furfuracées, poussiéreuses (figure 4). Dans d'autres cas, la desquamation est plus intense, les squames sont plus épaisses et de plus grandes tailles (Dubois, 2017).

- c) **Eczéma lichénifié** : L'eczéma lichénifié est un eczéma de longue durée. Le prurit subsiste indéfiniment, il est caractérisé par des plaques bien définies qui peuvent être de couleur rose, rouge foncé ou même violacée (figure 5). Le tégument est épais, infiltré et sillonné de stries blanchâtres (Dubois, 2017).

4. Les causes de la dermatite atopique :

Dans la majorité des cas, une rupture de la barrière cutanée est l'événement initial dans le développement de la maladie (Cork et al, 2009) (figure 6).

- ✓ l'hypermétabolisme du système immunitaire ;
- ✓ certains facteurs de l'environnement qui favorisent l'apparition des poussées ;
- ✓ une faible diversité du microbiote cutané ;
- ✓ prédisposition génétique, il y a des antécédents familiaux de DA dans 60 à 80 % des cas (Launay, 2013).

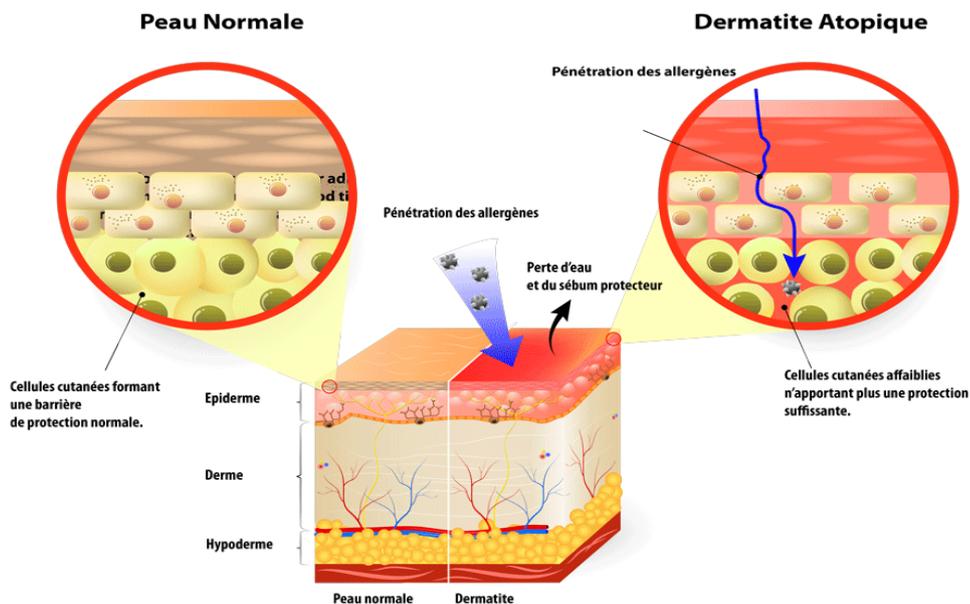


Figure 6: Schéma montrant la différence entre une peau normale et une peau atopique (Géomer, 2023).

5. Complications de la dermatite atopique:

La dermatite atopique peut entraîner diverses complications (**Delepouille, 2020**) :

- **Infections** à staphylocoque doré, à herpès simplex (type 1 essentiellement).
- **Retard de croissance** : Le retard de croissance observée en cas de dermatite atopique est plus lié à des restrictions alimentaires (régimes farfelus, carences) ou à un manque de sommeil (difficulté à synthétiser l'hormone de croissance) qu'à l'utilisation de dermocorticoïdes.
- **Autres manifestations atopiques**: l'asthme (30 à 40% des cas).
- **Allergie alimentaire** : Moins de 10% cas de DA ont été associés à une allergie alimentaire.

6. Traitements classique de la dermatite atopique :

- **DA légère** : Les traitements topiques réduisent les lésions inflammatoires d'eczéma au moment des poussées (corticothérapie locale et inhibiteurs de la calcineurine topiques) et diminuent la xérose due à l'altération de la barrière cutanée (émollients) (**Launay, 2013**).
- **DA modérée à sévère**: Un traitement systémique (photothérapie, ciclosporine ou méthotrexate) peut être indiqué. Le recours aux traitements systémiques concerne principalement les 10 à 15% d'adultes atteints d'une DA sévère (**Staumont, 2021**).

7. Principes du traitement :

Le traitement de DA est symptomatique, il ne vise pas à éliminer définitivement la maladie, mais de traiter les symptômes lors de la récurrence et à prévenir les récurrences par une prise en charge au long cours. L'objectif principal du traitement doit être la restauration de la qualité de vie du patient et de son entourage (**Staumont, 2021**).

8. Traitements naturels alternatives :

Les remèdes et les traitements naturels contre l'eczéma sont tout aussi efficaces que les remèdes classiques pour soulager les démangeaisons sèches associées à cette affection cutanée. Par conséquent, les personnes qui souffrent d'eczéma peuvent utiliser des crèmes, des huiles et des produits naturels, et choisir des changements alimentaires et de mode de vie pour gérer ou prévenir les poussées d'eczéma (Alexandre, 2022).

Chapitre II
Etude de la toxicité

Chapitre II : Etude de la toxicité

1. Toxicité d'un produit :

Ce sont tous les effets indésirables d'un toxique sur un organisme vivant. Autrement dit, c'est la capacité intrinsèque d'un produit chimique à produire des effets nocifs chez un organisme vivant et qui en font une substance dangereuse. Ces effets sont liés à la dose, à la voie d'absorption, au type et à la gravité de la lésion ainsi qu'au temps nécessaire à l'apparition d'une lésion (Benneouala et al, 2021).

1.1. Evaluation de l'effet toxique :

L'évaluation toxicologique est fondée sur des études quantitatives (mesurables) ou qualitatives (non mesurables) adéquates. Plusieurs types d'études peuvent nous permettre d'évaluer les effets d'une substance toxique (Bobekar, 2012).

1.1.1. Toxicité à doses répétées :

Les essais de toxicité à doses répétées visent principalement à déterminer les effets *in vivo* d'une exposition quotidienne répétée à une substance sur des périodes plus ou moins longues (Aydın et al, 2016).

2. Les différentes formes de Toxicité :

L'homme est constamment exposé à une toxicité soit aiguë soit subaiguë ou encore chronique.

2.1. Toxicité aiguë :

La toxicité aiguë se manifeste rapidement, voire immédiatement, après une prise unique ou à court terme après plusieurs prises rapprochées (Otmani et Yahiaoui, 2016).

2.2. Toxicité subaiguë :

La toxicité subaiguë concerne les effets nocifs dus à la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes (Otmani et Yahiaoui, 2016).

2.3. Toxicité subchronique :

Lors des tests de toxicité cutanée subchronique, le composé testé est appliqué quotidiennement sur la peau de l'animal pendant une période de 1 à 3 mois. Durant l'expérience, les animaux sont surveillés afin de déceler des signes de toxicité (Otmani et Yahiaoui, 2016).

2.4. Toxicité chronique :

Le but d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée, pendant plus de 90 jours (Otmani et Yahiaoui, 2016).

3. La dermatotoxicité :

3.1. Définition de la dermatotoxicologie :

C'est le domaine qui fait la jonction entre la dermatologie et la toxicologie, il s'intéresse aux interactions entre la peau et son environnement. La pénétration transcutanée des xénobiotiques, leur mécanisme d'action, leur métabolisme au niveau de la peau et la réponse de celle-ci à leur présence (Sorg, 2010).

Les études de tolérance locale devraient être incluses dans les études de toxicité générale (Aydın et al, 2016). Ainsi, les tests de toxicité, des produits topiques, sont indispensables pour prévenir les effets différés sur les utilisateurs (Parasuraman et al, 2020).

3.1.1. Les sensibilisants cutanés :

Ce sont toutes les substances qui provoquent des réactions cutanées à médiation immunologique ; se traduisant par une réaction locale ou une dermatite de contact allergique (Schaefer et al, 2008).

3.1.2. La toxicité cutanée :

La toxicité cutanée est la capacité d'une substance à causer des effets nocifs sur la peau, tels que l'irritation, l'inflammation, les éruptions cutanées et les brûlures. La toxicité cutanée peut être influencée par des facteurs tels que la concentration de la substance, le pH, la solubilité et la durée d'exposition (Sedrati et al, 2021).

3.1.3. L'évaluation de la toxicité cutanée :

Les études de toxicité cutanée sont basées sur plusieurs tests disponibles, les tests *in vivo* sur les animaux de laboratoire pourraient être plus utiles que les études *in vitro* pour l'identification ou la caractérisation de la toxicité (Lémery et al, 2015).

C'est une étape importante dans l'évaluation de la sécurité des produits chimiques et des médicaments.

Plusieurs méthodes sont utilisées pour cela :

3.1.3.1. Test d'irritation cutanée :

Cette méthode consiste à appliquer le produit chimique ou le médicament sur la peau intacte et à observer les réactions cutanées telles que l'érythème, l'œdème, la desquamation et la formation de croûtes (OCDE, 2015).

3.1.3.2. Test de sensibilisation cutanée :

Cette méthode est utilisée pour évaluer la capacité d'un produit chimique ou d'un médicament à provoquer une réaction allergique. Elle implique l'application répétée du produit chimique ou du médicament sur la peau intacte pendant plusieurs semaines, suivie d'une exposition à une concentration plus élevée du produit chimique ou du médicament pour déclencher une réaction allergique (OCDE, 2022).

3.1.3.3. Test de perméabilité cutanée :

Cette méthode mesure la capacité d'un produit chimique ou d'un médicament à pénétrer dans la peau. Elle implique l'application d'une solution contenant le produit chimique ou le médicament sur la peau et la mesure de la quantité qui pénètre dans la peau (OCDE, 2010).

3.1.4. Intérêt du test de toxicité pour un remède à usage local :

Les effets bénéfiques d'un remède peuvent souvent se manifester après une administration répétée à long terme, ce qui peut augmenter les risques de toxicité.

Bien que les signes de toxicité aiguë ou subaiguë soient souvent facilement reconnus et prévus par les humains, des essais devraient être réalisés concernant l'utilisation à long terme d'un remède à base de plantes.

Par conséquent, les tests de toxicité subchronique et chronique sont plus utiles pour évaluer la sécurité des remèdes naturels que les tests de toxicité aiguë et subaiguë. (Aydın *et al*, 2016).

Matériel et méthode

I . Objectif de travail :

Ce travail vise à :

- ✓ Évaluer la toxicité du remède traditionnel chez des rats sains;
- ✓ Induire la dermatite atopique chez les rats;
- ✓ Observer l'effet thérapeutique du remède traditionnel utilisé contre la dermatite atopique ;

II . Lieu et période de l'étude :

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur une durée de 4 mois, Ils ont été réalisés au niveau de :

- ✓ L'animalerie de l'Institut des Sciences Vétérinaires, «Université Ibn Khaldoun-Tiaret ».
- ✓ Laboratoire d'autopsie clinique et celui de l'histopathologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires, «Université Ibn Khaldoun-Tiaret ».

III . Matériel et méthode :

La partie expérimentale a joint deux grands volets :

- ✓ Un volet a été consacré à l'induction de la dermatite atopique, puis le traitement par application du remède traditionnel.
- ✓ Le second volet était destiné à l'évaluation de la toxicité à court terme (aigue) et à moyen terme (sub-chronique) du traitement, avec les études macroscopique et microscopique, chez un modèle animal expérimental (le rat).

III .1- Matériel :

a) Matériel biologique :

Animaux :

Dans notre étude nous avons utilisé des rats wistar (mâles et femelles) âgés de 12 à 16 semaines, d'un poids corporel compris entre 150 à 420g (figure 7).

Le rat comme modèle d'expérimentation offre de nombreux avantages par rapport aux autres animaux de laboratoire (faible cout, entretien et manipulation faciles, alimentation et espace d'entretien réduit, et une très bonne adaptation aux conditions expérimentales).

Ces animaux sont issus de l'Institut Pasteur d'Alger, et sont élevés à l'animalerie de l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'université IBN KHALDOUN TIARET, où s'est déroulée l'expérimentation.

Les conditions de l'entretien durant l'expérimentation (température, lumière, hygrométrie) n'étaient pas contrôlées (naturelles). Les rats étaient logés dans des cages en plastique tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages étaient nettoyées et la litière changée, 1 à 2 fois par semaine. Les rats étaient adaptés aux conditions de l'environnement et à l'alimentation (granulés destinés à l'alimentation de vaches), bien avant le début de notre expérimentation.



Figure 7 : Rat wistar en cage d'expérimentation.

b) Produits chimiques :

On a utilisé deux produits de composition chimique dans l'induction de la DA.

- ✓ Le formaldéhyde 10% (CH_2O), préparé à partir d'une solution commerciale de 37% (Laboratoire Steira) (figure 8).
- ✓ Une crème dépilatoire (Laboratoire Venus) : C'est une crème dépilatoire à usage humain, qu'on retrouve dans le rayon des produits cosmétiques (figure 9).



Figure 8 : Formol commercial (37%).



Figure 9: Crème dépilatoire Venus.

III. 2. Méthodes :

Plusieurs études ont utilisé le rat et la souris comme modèles dans l'induction de la dermatite atopique, et afin d'évaluer certaines thérapies. En effet, les rats développent des symptômes de DA très similaires à ceux observés chez l'homme (**Fujii et al, 2009**).

I. Répartition des lots :

Notre étude a été réalisée sur 12 rats wistar réparties en 3 lots :

- 1) **Lot témoin-traitement (RT)** : 2 rats sains sont soumis à des applications du remède traditionnel toutes les 48 heures, sur la zone (2cm²) rasée du dos, pendant 8 semaines.
- 2) **Lot crème (RC)** : 4 rats sont soumis à une application de crème dépilatoire, sur une zone (2cm²) du dos, durant 5 semaines.

Les rats ayant présentés des réactions de dermatites sont répartis en deux groupes :

- **Témoin-crème (RC1)** : 2 rats, ne recevant aucun traitement.
- **Traitement-crème (RC2)** : 2 rats, recevant une application du traitement tous les 48heurs.

- 3) **Lot formol (RF)** : 6 rats ont été sujets à une application de 0,1 ml de formaldéhyde sur le dos, pendant 1 à 2 semaines consécutifs.

Les rats ayant présentés des réactions de dermatites sont répartis en deux groupes :

- **Témoin (RF1)** : 3 rats, ne recevant aucun traitement.
- **Traitement (RF2)** : 3 rats, recevant une application du traitement tous les 48 heures.

II. Induction de la dermatite chez les rats :

1. Protocole A:

Au début, nous avons utilisé la crème dépilatoire afin d'enlever le poil pour l'application du formol, comme rapporté par certains auteurs (**Truong et al ,2020**). Cependant, nous avons remarqué que certains sujets présentaient des réactions inflammatoires de la peau plus ou moins importantes, suite à ces applications.

Après, nous nous sommes documenté sur le sujet, il s'est avéré que les crèmes dépilatoires étaient susceptibles de provoquer des réactions dermiques variées chez certaines personnes (**Lambert, 2023**). D'où notre choix pour la crème dépilatoire comme deuxième agent inducteur de la DA.

A. Application du traitement crème dépilatoire :

La crème dépilatoire (venus) est appliquée sur le dos du rat (figure 10) pendant 2 à 3 min (suivant l'indication du produit). Les poils sont retirés et la zone nettoyée avec une compresse humide. Cette opération est répétée une fois par semaine, durant 5 semaines.



Figure 10 : Application de la crème dépilatoire.

2. Protocole B :

- L'induction de la DA par le formol chez les petits rongeurs a été réalisée dans plusieurs études par voie d'inhalation (voie respiratoire) (**Han et al, 2017**). Cependant, nous avons utilisé la voie percutanée (**Niosh, 2011**) étant donné la difficulté de la technique respiratoire, qui nécessite des cages hermétiques avec nébuliseur.

A. Dilution de formaldéhyde (37%) à 10 % :

Par l'équation : $C1 \times V1 = C2 \times V2$

$$V2 = \frac{C1 \times V1}{C2} \qquad V2 = \frac{37 \times 100}{10} \qquad V2 = 370 \text{ ml}$$

B. Préparation de la solution :

- On a mesuré un volume de 100 ml de formaldéhyde pur (37%) par une éprouvette graduée 100 ml.

- On verse ce volume dans une bouteille en verre.
- On ajoute 270 ml d'eau distillée dans cette bouteille pour obtenir un volume de 370 ml (figure 11).



Figure 11 : Préparation du formol à 10%.

C. Application du traitement formol :

A l'aide d'une seringue, on a prélevé 0,1 ml de la solution formaldéhyde à 10% qu'on a étalée sur une surface de 2cm² du dos du rat (figure 12), une application non-occlusive et réalisée pendant 1 à 2 semaines (Niosh, 2011). L'opération est stoppée dès l'apparition de la dermatite.



Figure 12: Application de formaldéhyde à 10 %.

III. La thérapie de la dermatite atopique par traitement naturel :

Le remède est fabriqué par une vieille dame de la région de Tiaret à base d'huile d'olive et de miel et d'autres ingrédients naturels que nous ignorons (figure 13). Ce remède présente de l'efficacité dans le traitement des dermatites.



Figure 13 : Un échantillon du remède traditionnel.

- **Protocoles d'application du traitement :**

Après l'apparition des signes de la dermatite, chaque lot est divisé en 2 ; sujets témoins et sujets traités.

Le produit est appliqué à l'aide d'un moyen naturel (une plume de poule ou dinde comme recommandé par la dame). Dans notre cas, nous avons utilisé des plumes de pigeons (selon la disponibilité) (figure 13). Toute la zone dépilée est enduite avec le produit (figure 14), chaque 48h.



Figure 14 : Remède appliqué sur le dos du rat.

Tableau 1 : Présentation du protocole suivi dans notre expérimentation.

Lots	Effectifs (n)	Poids moyen (g)	Application	Périodes
RT	2	RT1: 210 RT2: 213	Application de remède traditionnel sur la peau saine du dos (rasé).	8 semaines
RC	4	RC1 : 209 RC2 : 241 RC3 : 183 RC4 : 196	Application de la crème dépilatoire sur la peau. Traitement naturel de la dermatite atopique : RC2, RC4	5 semaines 1 semaine
RF	6	RF1 :230 RF2 :256 RF3 :197 RF4 :206 RF5 :420 RF6 :338	Application 0,1 ml de formaldéhyde dilués à 10% sur la peau rasée du dos. Traitement naturel de dermatite atopique : RF2, RF4, RF6	1 à 2 semaines 1 semaine

Remarque : Le traitement d'induction de la dermatite (crème, formol) est stoppé dès l'apparition des signes de dermatite.

IV. Sacrifice et prélèvement d'organes :

A la fin de l'expérience, les rats sont tués puis disséqués (figures 15-16) :

- Les sujets du lot **RF** et lot **RC** après la guérison (disparition des lésions).
- Les sujets du lot **RT** après 8 semaines de traitement.

Des études macroscopiques et microscopiques ont été réalisées sur la peau dorsale et les organes internes des rats, afin de détecter d'éventuels changements morphologiques et histopathologiques.

➤ **Matériel utilisée :**

- Dessiccateur en verre
- Lames
- Coteaux
- Bistouris
- Diethyl ether
- Boite de prélèvement

- Sérum physiologique
- Coton
- Papier essuie-tout
- Pince
- Ciseaux De Dissection
- Formol à 10 %
- Abaisse-langue
- table de dissection

➤ **Méthode :**

- ✓ Dans un dessiccateur nous mettons une couche de coton puis on verse le diéther pour l'anesthésie des rats.
- ✓ Le saignement de l'animal s'effectue le plus rapidement possible, il permet de vider l'animal de son sang (l'exsanguination).
- ✓ Les rats sont ouverts ventralement pour prélever les organes : reins, foie, cœur, rate, poumons, cerveau, estomac, intestin, peau (figures 16-17).
- ✓ Les organes sont rincés dans un sérum physiologique.
- ✓ Pour réaliser des coupes histologique, les organes sont fixés dans du formol 10% (figure 18).



Figure 15 : Fixation du sujet sur la table d'autopsie.



Figure 16 : Rat éventré.



Figure 17: Organes prélevés.



Figure 18 : Préparation des échantillons sur formol 10% (fixation d'organes) pour l'étude histopathologique.

V. Etude histopathologique :

Les coupes histologiques ont été réalisées suivant la technique classique de **Houlot (1984)** qui comporte les étapes suivantes :

1. Fixation :

Les organes prélevés sont découpés en fragments de 0,5cm d'épaisseur, puis placés dans une solution de formol à 10%.

2. Traitement des tissus :

Le traitement des tissus a été réalisé sur automate (Leica TP1020) qui effectue la déshydratation par passage dans une série de bains d'éthanol à concentrations croissantes (70%, 80%, 95% et 100%). La deuxième étape consiste en un nettoyage dans le xylène suivi par une infiltration par la paraffine dissoute à 56°C.

3. Inclusion et confection des blocs :

Les échantillons sont mis dans des cassettes puis imprégnés à chaud par une paraffine de routine dont le point de fusion est de 54°C à 56°C. La paraffine est coulée au quart dans des moules en acier inoxydable chauffés à 60°C et les fragments de tissus y sont déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés sont congelés à -20°C.

4. Confection des coupes :

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant d'être réduits en coupes microscopiques de 5 µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome.

Les coupes sont ensuite étalées dans un bain marie à 50°C, puis collées sur des lames par l'albumine et séchées à 60°C pendant 1 heure, pour éliminer la paraffine.

5. Coloration :

Après séchage à l'étuve à 37°C pendant au moins deux heures, les lames sont colorées en Hématoxyline-Eosine (**H&E**) : L'hématoxyline colore les noyaux en violet, et l'éosine colore le cytoplasme en rose.

Cette coloration a été effectuée manuellement selon le protocole suivant :

- ✓ Déparaffinage par passage dans deux bains de xylène de 15 mn chacun ;
- ✓ Réhydratation par passage dans deux bains d'éthanol absolu pendant 5 minutes ;
- ✓ Un bain d'alcool à 70° pendant 5 minutes ;
- ✓ Coloration avec l'hématoxyline pendant 25 minutes ;
- ✓ Rinçage dans l'eau de robinet pendant 15 minutes ;

- ✓ Coloration à l'éosine pendant 15 minutes ;
- ✓ Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant ;
- ✓ Déshydratation dans l'alcool à 70° pendant 10 minutes, puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes ;
- ✓ Séchage des lames par papier buvard ;
- ✓ Clarification dans le xylène pendant 15 minutes ;
- ✓ Montage des lamelles à l'aide du baume de Canada en prenant soins de dégager les bulles d'air.

6. Lecture des lames :

Les images numériques sont capturées aux différents grossissements avec un microscope (Zeiss) connecté à un appareil photo numérique (AXioCamERc5s) lié à un ordinateur (hp).

Résultats et discussion

I. Résultats :

1. Observations macroscopiques (cliniques) des signes de la toxicité :

1.1. Examen cutané :

1.1.1. L'apparition de la dermatite atopique :

Le score de gravité des lésions cutanées le plus couramment utilisé est le SCORAD ; mise au point en 1990 par l'European Task Force, il permet l'évaluation de l'intensité des signes cliniques d'une dermatite (Becker, 2017).

Le tableau 2 présente les périodes durant lesquelles s'est déroulée l'induction de la dermatite chez les sujets dans les deux lots (crème et formol). Aussi, ce tableau décrit les résultats des lésions cutanées et résume les scores inflammatoires, consécutives à la sensibilisation par la crème dépilatoire et le formol 10%.

Tableau 2 : Les scores des réactions inflammatoires de la peau suite à l'induction de la dermatite par la crème et le formol.

Lots		Période d'induction	Erythème	Croute	Etendue De lésion	Score total
Crème	RC1	5 semaines	+	+	10%	4
	RC2	5 semaines	++++	+++	60%	14
	RC3	5 semaines	++++	+++	80%	14
	RC4	5 semaines	++++	++++	80%	16
Formol	RF1	2 semaines	++	++	30%	8
	RF2	2 semaines	++	+++	40%	10
	RF3	2 semaines	+++	+++	60%	12
	RF4	1 semaine	++++	++++	80%	16
	RF5	1 semaine	++	++	50%	8
	RF6	1 semaine	++++	+++	80%	14

+: léger ; ++: modéré ; +++: importante ; ++++: sévère ; + = 2 points.

L'application de la crème dépilatoire et le formaldéhyde 10%, sur les dos des rats a entraîné une irritation, érythème, rougeur et formation de la croûte.

1.1.2. Evaluation de la dermatotoxicité du remède traditionnel :

L'application cutanée du traitement sur les rats a entraîné une rougeur après la première 48h pour le lot témoin RT2 (fig.19). Chez RT1 aucune réaction cutanée n'a été observée (fig.20).

Après la deuxième application et jusqu'à la fin d'expérience la rougeur avait disparu (fig.21-22).



Figure 19 : Réaction cutanée à la 1^{ère} application du traitement (RT2).



Figure 20 : Absence de réaction cutanée suite à la 1^{ère} application du traitement (RT1).



Figure 21 : Aspect de la peau du dos de rat RT2 après 8 semaines du traitement.



Figure 22 : Aspect de la peau du dos du rat RT1 après 8 semaines du traitement.

1.1.3. Effets du traitement sur la dermatite atopique provoquée chez les rats :

Les résultats cliniques montrent que le traitement naturel utilisé en application percutanée sur les zones de la dermatite induite, chez les sujets du lot crème (tableau 3) et ceux du lot formol (tableau 4), a conduit à une guérison totale de la dermatite (disparition des lésions cutanées) après seulement une semaine de traitement, comparé aux lésions qui ont persisté chez les témoins (non traités) dans les deux lots.

Tableau 3 : Dermatite induite par la crème dépilatoire chez les sujets témoins (non traités) et les sujets traités par le remède, après une semaine.

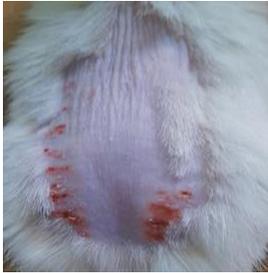
Sujets	Caractère de la dermatite induite par la crème dépilatoire	Etat de la lésion après une semaine.
RC1 Témoin (non traité)		
RC2 Traitement		
RC3 Témoin		
RC4 Traitement		

Tableau 4 : Dermatite induite par le formol chez les sujets témoins (non traités) et les sujets traités par le remède, après une semaine.

Sujets	Caractère de la dermatite induite par le formol	Etat de la lésion après une semaine
RF1 Témoin		
RF2 Traitement		
RF3 Témoin		
RF4 Traitement		
RF5 Témoin		



1.2. Examen des organes après autopsie :

Il s'agit d'observer l'aspect général des organes de l'animal à l'œil nu. Ainsi, la taille, la forme et la couleur de chaque organe sont notés.

L'examen macroscopique des organes (peau, cerveau, foie, reins, poumons, estomac, intestin grêle, rate, cœur) de chaque sujet autopsié a révélé que ces organes ne présentaient aucune anomalie, à l'exception du foie du rat RC4 sur lequel on a identifié un kyste (figure 23).



Figure 23 : kyste hépatique.

2. Etude anatomopathologique (microscopiques) :

2.1. Evaluation de la toxicité du formol sur la peau et les organes internes :

2.1.1. Peau : Les coupes histologiques de la peau des rats sensibilisés au formaldéhyde (lot RF) ont montré une destruction importante et une modification de l'architecture de la peau, en particulier celle de l'épiderme. Une perte totale de l'épithélium a été observé dans plusieurs parties des sections histologiques (figure 24) associée à des infiltrations inflammatoires sévères du derme (figure 25).

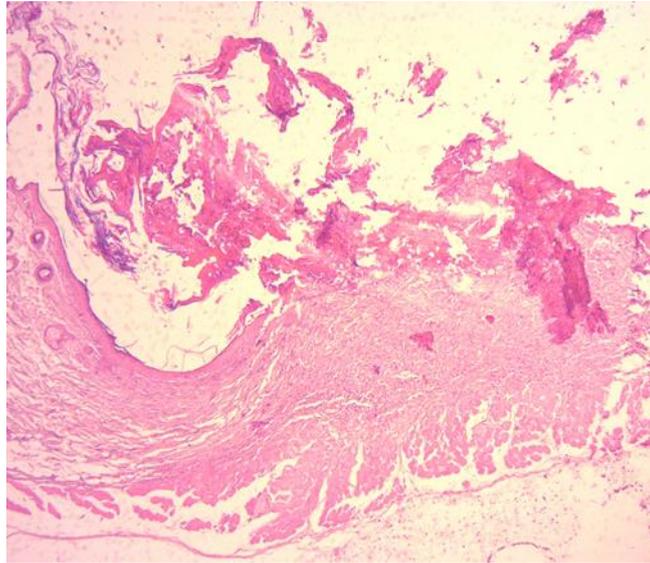


Figure 24 : Rat, peau, destruction massive de l'épiderme avec détachement de toutes les couches et altération du derme (ulcération) **H&E, 40X.**

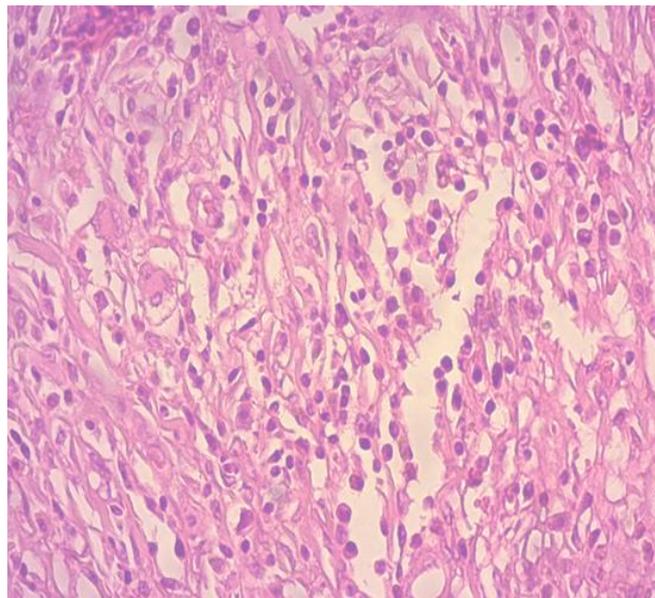


Figure 25 : Rat, peau, infiltration du derme par des cellules inflammatoires **H&E, 400X.**

2.1.2. Tube digestif : Les coupes histologiques de l'estomac ont montré une légère infiltration inflammatoire de la muqueuse gastrique glandulaire (figure 27). Une destruction sévère de la muqueuse intestinale a été observée avec une perte totale des villosités, une infiltration inflammatoire associées à une hyperplasie lymphonudulaire des plaques de Peyer (figure 26).

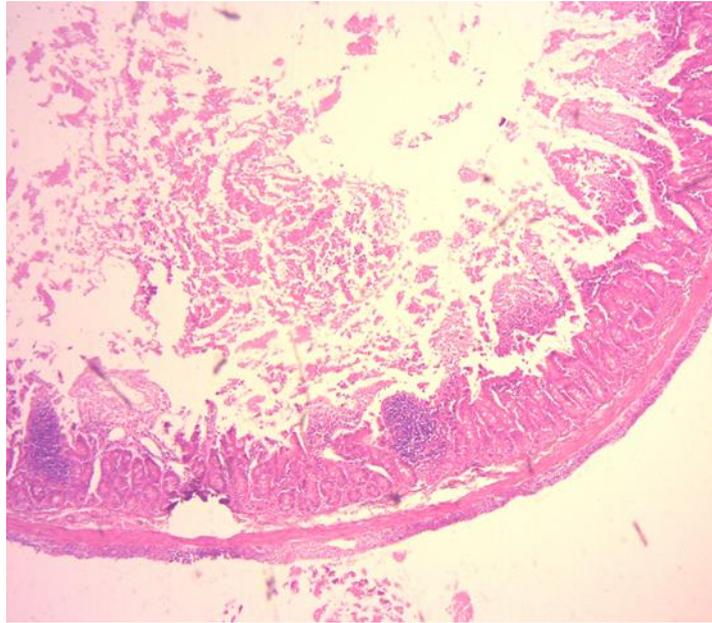


Figure 26 : Rat, intestin, perte totale des villosités avec hyperplasie des nodules lymphocytaires (plaques de Peyer) **H&E, 40X.**

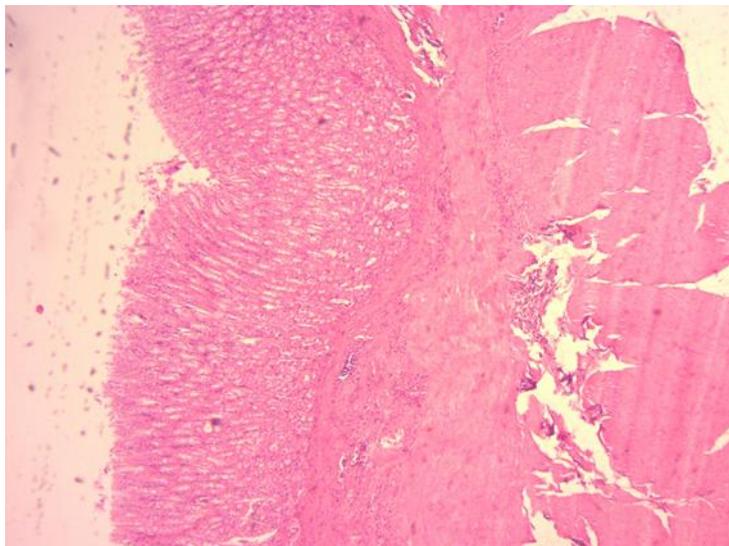


Figure 27 : Rat, estomac, légère infiltration inflammatoire de la muqueuse gastrique (partie glandulaire) **H&E, 100X.**

2.2. Evaluation de la toxicité de la crème dépilatoire (Venus®) sur la peau :

2.2.1. Peau : Les sections de peau des sujets sensibilisés avec la crème dépilatoire ont montré un détachement complet de l'épiderme et destruction en profondeur du derme avec une infiltration inflammatoire modérée (figure 28).

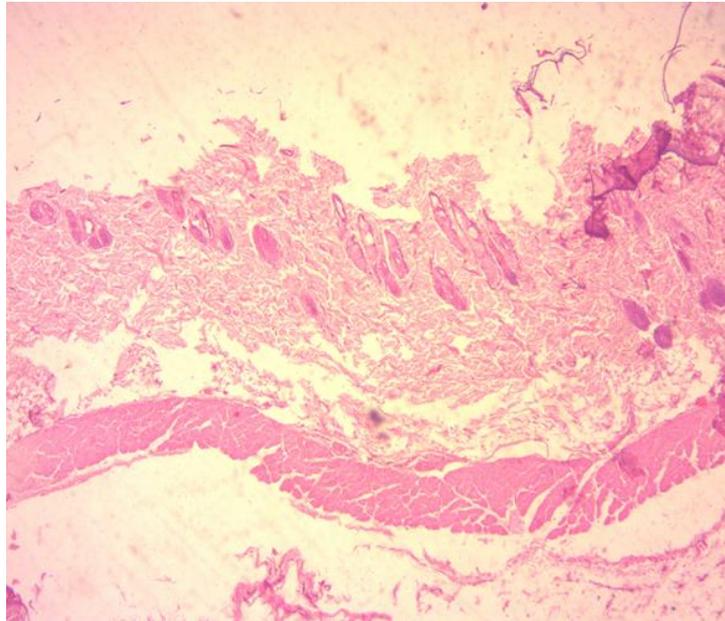


Figure 28: Rat, peau, perte totale de la couche épidermique et une partie du derme (perte de substance massive et profonde) **H&E, 40X**.

2.3. Evaluation de la toxicité liée à l'utilisation du remède traditionnel sur la peau et les organes internes chez les rats témoins (RT) :

2.3.1. Peau : L'application topique du remède traditionnel n'a présenté aucune lésion microscopique des différentes couches (figure 29).

2.3.2. Organes internes : Egalement, pour les organes internes, comme le foie (figure 30) et les reins (figure 31), aucune lésion spécifique ou modification de l'architecture tissulaire n'a été démontré.

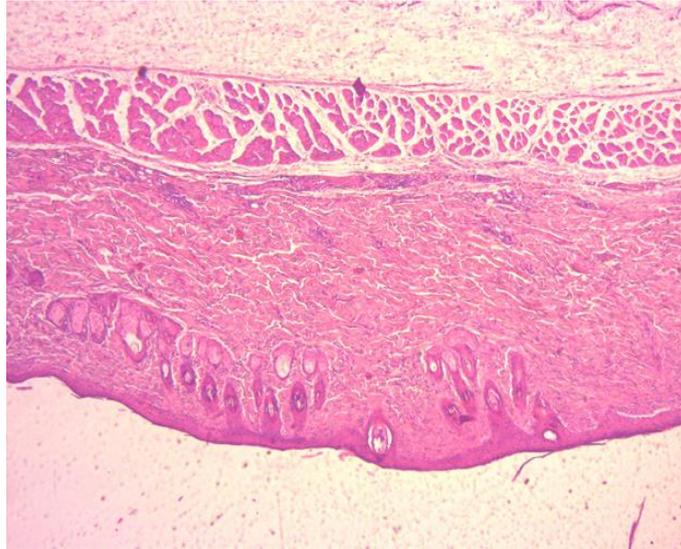


Figure 29: Rat, peau, architecture normale de la peau des rats témoins (remède traditionnel) **H&E, 100X.**

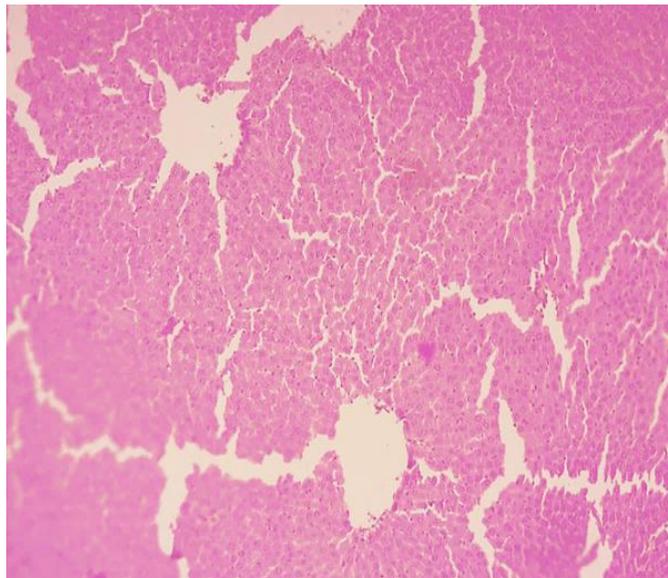


Figure 30 : Rat, foie, architecture intègre du parenchyme hépatique des rats témoins (remède traditionnel) **H&E, 100X.**

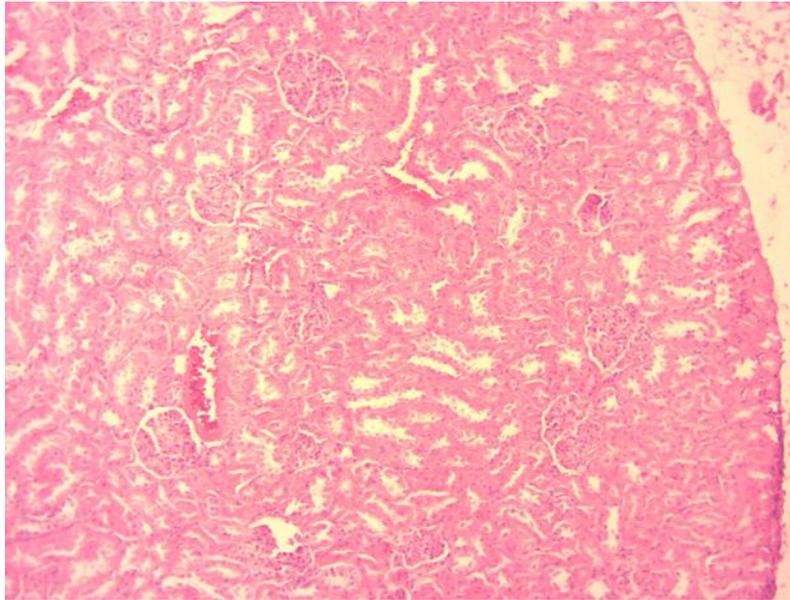


Figure 31 : Rat, Rein, architecture normale du parenchyme rénal des rats témoins (remède traditionnel) **H&E, 100X**.

2.4. Evaluation de la toxicité liée au traitement avec le remède traditionnel chez les rats sensibilisés par le formol et la crème :

L'étude histologique des coupes de peaux de rats, ayant présentés de la dermatite après sensibilisation avec le formaldéhyde et la crème dépilatoire (venus[®]), traités avec le remède traditionnel a montré une amélioration et une diminution des lésions cutanées et des tissus d'organes prélevés.

L'étude histologique a aussi montré un rétablissement de l'architecture des différentes couches de la peau et ses annexes: épiderme, derme et hypoderme, des follicules pileux, des glandes sébacées et des glandes sudoripares. Ceci confirme l'effet bénéfique du remède traditionnel du bon déroulement du processus de réparation (figure 32). Egalement, une diminution importante des infiltrats inflammatoires a été observée dans la plupart des organes.

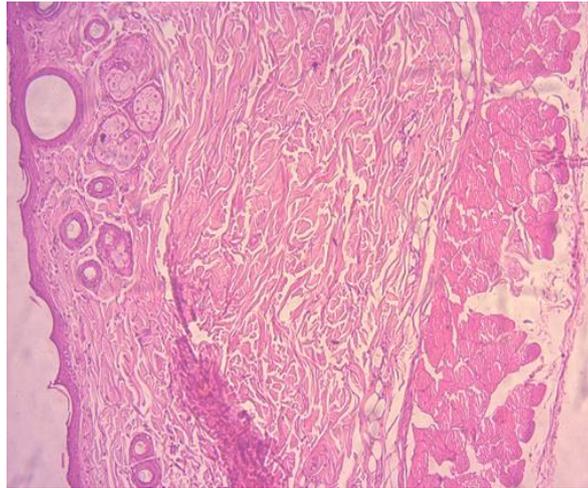


Figure 32: Rat, peau, rétablissement de l'architecture chez les rat présentant une dermatite (formaldéhyde) traité avec le remède traditionnel **H&E, 40X.**

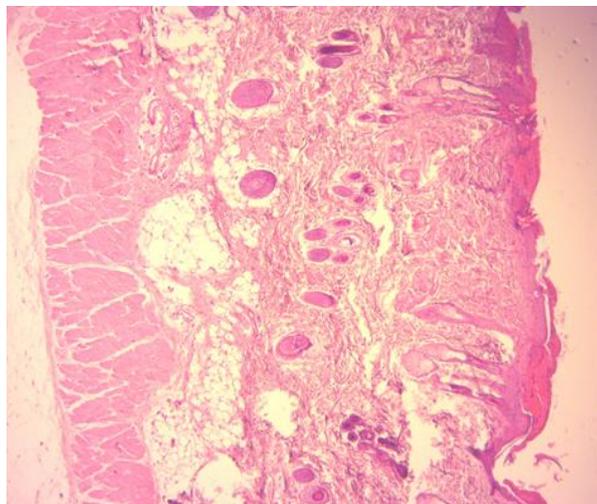


Figure 33: Rat, peau, rétablissement de l'architecture chez les rat présentant une dermatite (crème dépilatoire Venus[®]) traité avec le remède traditionnel **H&E, 40X.**

II. Discussion

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la toxicité d'un remède traditionnel, utilisé chez l'homme contre les problèmes de dermatites, sur des rats de laboratoire. Pour cela, nous avons réalisé une induction de dermatite chez les rats avec deux produits chimiques : le formol à 10% et la crème dépilatoire à usage humain (Venus).

Ainsi, les résultats de cette étude nous ont permis, également, d'évaluer la gravité de la toxicité cutanée induite par la crème dépilatoire et par le formol sous forme de dermatite. En effet, cette évaluation est importante pour une prise en charge thérapeutique ultérieure (**Mesili et Mebarek, 2018**).

Le formaldéhyde est classé comme substance toxique, à l'échelle européenne, en raison de ses propriétés de sensibilisation cutanée, lors d'expositions répétées, entraînant la dermatite allergique de contact. Ainsi, les réactions d'irritation cutanée surviennent avec certitude uniquement lors de contact direct avec des solutions contenant du formaldéhyde, chez environ 5% des sujets (**Duffort et al, 2010**).

Dearman et al (1999) et **Marcon (2008)** confirment que le formaldéhyde possède une activité de sensibilisation par contact avec la peau. Également, **NIOSH (2011)** rapporte que des solutions de formaldéhyde de diverses concentrations (7 à 9 %, 15 à 18 % et 37 %) sont modérément irritantes pour la peau chez les rats et les souris.

Dans la littérature, la majorité des études de sensibilisation de la peau par le formol utilisent la voie respiratoire (inhalation) (**Han et al, 2017**). Dans notre étude, nous avons utilisé du formol 10% en application locale sur la peau du dos des rats, après rasage. L'apparition de réaction de dermatite était variable, selon les sujets, de moyenne à importante.

L'utilisation de la crème dépilatoire (Venus®) avait pour but d'éliminer les poils afin de faciliter l'application du remède, le rasage étant une pratique contraignante pouvant entraîner des blessures de la peau fragile des rats. Mais après quelques contacts avec la peau, des réactions inflammatoires d'intensités variables apparaissaient sur les rats; ainsi, nous avons décidé d'inclure ces sujets dans le second lot de l'induction de DA. La crème dépilatoire, comme tout produit cosmétique, n'est pas exempt d'inconvénients, elle contient plusieurs composants chimiques (sodium gluconate, sodium hydroxyde et le potassium thioglycolate,...) pouvant donner des

actions immunogènes et provoquer une irritation de la peau et des dermatites (**Lambert, 2023**).

En effet, certaines études ont rapportés que l'utilisation de crème dépilatoire (Veet®) était responsable de l'apparition de réactions inflammatoires variables chez les utilisateurs (**Moghimi et al, 2013**). Ainsi, notre étude peut constituer une alerte aux utilisateurs de ce produit cosmétique qui peuvent souffrir de dermatites sans savoir les causes.

Notre étude confirme la toxicité du formol et de la crème dépilatoire après contacts répétés. Les observations cliniques (macroscopiques) ont dévoilé que l'induction de DA avec le formol et la crème étaient responsables de lésions épidermiques, avec des étendues allant de 10% à 80% de la peau sensibilisée. Les réactions sont caractérisées par des démangeaisons, érythème, croûte, rougeur et sécheresse de la peau. Ce sont les signes de la dégradation de la barrière cutanée (**Tartouga, 2022**).

Notre étude démontre que le traitement des rats (lot RF, lot RC) par application topique du remède traditionnel, soulage de manière évidente la dermatite atopique, dans une durée record d'une semaine comparée aux sujets témoins (tableau 3 et 4).

Concernant l'évaluation des effets toxiques, à long terme, du remède traditionnel utilisé contre la DA. Les rats témoins traités uniquement par le remède traditionnel pendant 8 semaines (2 mois), n'ont montré ni de réactions allergiques locales (figures 19-22), ni de signes de pathologie générale (maladie). Cependant, une toxicité interne du remède n'a pas été écartée, étant donné que les rats se léchaient le dos après chaque application du remède, d'où l'étude histopathologique ci-après.

L'étude anatomopathologique des échantillons de peaux, prélevés sur les sujets présentant de la dermatite induite par le formaldéhyde et la crème dépilatoire, a montré l'existence de dommages importants au niveau de la structure de cet organe. Il s'agit d'une altération et d'un détachement complet de l'épiderme, avec endommagement des kératinocytes CR3 (figure 28) et RF5 (figures 24 et 25).

Les modifications de la structure de la peau sont associées à un nombre accru de cellules inflammatoires dermiques. **Tartouga (2022)** confirme que ces changements structuraux de la peau ont un rapport avec l'apparition de dermatite atopique.

Chez les rats témoins RF1, RF3, RF5 nous avons observé une réaction inflammatoire plus au moins importante au niveau d'estomac (figure 27), et une entérite sévère avec ulcération (absence d'épithélium) et hyperplasie lymphocytaires dans l'intestin (figure 26). Ces dommages sont probablement liés aux propriétés irritantes du formaldéhyde ingéré par les rats. Au fait, après chaque application du formol sur la zone dépilée du dos, les rats se léchaient le dos et ingéraient par conséquence du formol. Les études de **Til et al (2003)** témoignent que le formaldéhyde est toxique pour l'estomac et l'intestin.

Cependant, l'histopathologie ne révèle aucune lésion sur les organes des rats du lot CR, à l'exception de la peau. Pour le rat CR4 nous avons observé un kyste hépatique probablement d'origine parasitaire (figure 23).

Chez tous les sujets avec dermatite induite et traités avec le remède traditionnel (CR2, CR4, RF2, RF4, RF6) on a observé une réduction des lésions morphologiques induites par le formaldéhyde et la crème dépilatoire, avec un score allergique égal à zéro. D'un point de vue histopathologique, le remède avait guéri les organes affectés (estomac, intestin, peau) de manière évidente (figure 30).

Les résultats de l'étude histologique chez les rats témoins RT1, RT2 n'ont montré aucun changement dans la structure tissulaire de la peau (figure 29). La couche épidermique superficielle présentait une kératine intacte et l'épiderme était bien disposé. Il n'y avait pas de cellules inflammatoires, les glandes et les poils folliculaires étaient évidents sur l'épiderme.

Cette étude préliminaire, sur les effets du remède traditionnel utilisé contre la dermatite chez l'homme, a démontré son innocuité (non-toxicité) pour la peau et les organes internes chez le rat. Ainsi, cette innocuité confirmée pour les organes interne n'est pas seulement en relation avec une éventuelle absorption du produit par la voie cutanée, mais surtout après son ingestion pendant une durée de 8 semaines. Il faut rappeler qu'à chaque fois qu'on applique le remède sur le dos du rat, ce dernier le lécher.

Par ailleurs, chez les rats souffrants de dermatite induite par le formaldéhyde et par la crème dépilatoire on a observé une rémission totale après seulement une semaine de l'application du traitement. De plus, l'étude anatomopathologique a confirmé le rôle

réparateur du traitement sur la peau agressée par les toxiques inducteur de la dermatite.

Conclusion

Le présent travail avait pour objectif d'évaluer les éventuels effets toxiques d'un remède traditionnel utilisé contre la dermatite atopique.

Les rats sains traités par ce remède pendant une longue période (8 semaines) n'ont montré aucun signe de toxicité clinique (macroscopique). Egalement, l'étude anatomopathologique des différents organes internes (cerveau, foie, poumons, cœur, reins, intestin grêle, estomac, rate) et de la peau n'a montré aucune altération de la structure tissulaire avec une morphologie normale.

Par contre, les rats qui ont été sensibilisés localement par le formaldéhyde et la crème dépilatoire présentaient des réactions inflammatoires du derme avec une altération importante de l'épiderme. Egalement, le formaldéhyde avait entraîné des lésions importantes des organes internes.

Par ailleurs, l'étude a montré qu'après une courte période (une semaine) de l'application du remède sur la dermatite induite, la rémission était totale et rapide.

Les résultats obtenus au cours de cette étude préliminaire nous permettent de conclure que ce remède est sûr et efficace et peut constituer une alternative au traitement médical de la dermatite, dans la perspective d'une étude sur la composition exacte du produit.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Alexandre.Z, 2023.QARE.** <https://www.qare.fr/sante/eczema/traitement/>.consulté le : 20.02.2023.
- **Aoun .M., Madani .H, 2016.** Segmentation et caractérisation des lésions dermatologique par l’approche multifractale. Université Abou Bakr Belkaïd, TLEMCEN.89p.
- **Aydın.A ., Aktay.G ., Yesilada .E, 2016.** A Guidance Manual for the Toxicity Assessment of Traditional Herbal Medicines. Natural Product Communications.11, 1763 – 1773.
- **Barta. K., Fonacier. L.S., M. H. RRT, et al., 2023.** Corticosteroid exposure and cumulative effects in patients with eczema: Results from a patient survey. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, Volume 130, Issue 1, Pages 93-99.e10,
- **Becker.M ,2017.** Dermatite atopique : prise en charge et conseils à l’officine. Sciences pharmaceutiques. Université de Lorraine .127p.
- **Benneouala.C ., Berchiche. L ., Mellaz.N, 2021.** Toxicité des produits cosmétique: Tests in Vivo. Thèse de doctorat. Université Mouloud Mammeri, TIZI OUZOU.189p.
- **Bobekar. K, 2017.** Toxicité aigüe et effet hypoglycémiant de l'extrait éthanolique des graines de la coloquinte (*Citrillus colocynthis*) chez les rats "WISTAR". Thèse de doctorat Université Abou Bakr Belkaid, TLEMCEN.79p.
- **Bounekta.A, 2021.** Contribution à l’étude de l’effet toxique de Doxorubicine sur la fonction reproductrice chez le rat Wistar : effet protecteur possible de l’extrait aqueux de *Bunium mauritanicum* (Talgouda). Mémoire de master. Université M’Hamed Bougara, BOUMERDES .63.
- **Cehad.A ., Mansoul.T, 2017.**La dermatite atopique de l'adulte. *Revue algérienne d’allergologie*, pp.15-17.
- **Cork M J., Danby S G., Vasilopoulos Y et al, 2009.** Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology* (2009), Volume 129, 1892-1908.
- **Dearman .R ., Basketter.D ., Evans .P ., Kimber.I, 1999.** Comparison of cytokine secretion profiles provoked in mice by glutaraldehyde and formaldehyde. Vol. 29, pp. 124–132.

Références bibliographiques

- **Delepouille.A, 2020.** MON PHARMACIEN AU CŒUR DE MA SANTÉ. <https://pharmaciedelepouille.com/eczema-dermatite-atopique/>.consulté le : 08.02.2023.
- **Démarchez.M, 2015.**L'épiderme et la différenciation des kératinocytes.
- **Dubois.C, 2017.** Prise en charge de la dermatite atopique et intérêt des probiotiques dans son traitement. Sciences pharmaceutiques, BORDEAUX.193p.
- **Duffort.G ., Houeix .N ., Manier.N ., Troise.A, 2010.** I N E R I S - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques FORMALDEHYDE . Version N°4 .79p.
- **Fujii.Y., Takeuchi.H., Sakuma.S., Sengoku .T., Takakura.S, 2009.** Characterization of a 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Chronic Dermatitis Model in Rats. *Skin Pharmacology and Physiology*, 22(5), 240–247.
- **Géomer,2023.**<https://laboratoire-geomer.com/fr/content/262-dermatite-atopique-soin-mains-corps-bebe>.consulté le 25.01.2023.
- **Gourari .R ., Taib Z, 2017.** Animalerie et Animaux et laboratoire : préparation des procédures pour le laboratoire du département de pharmacie. Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaïd. TLEMCEM.185p.
- **Han.R., Back.S., Lee. J., Kim.H ., Kim. H, 2017.**Effects of Exposure of Formaldehyde to a Rat Model of Atopic Dermatitis Induced by Neonatal Capsaicin Treatment.
- **Hemili .M, 2019 .**Une Approche intelligente pour la santé (Aide au diagnostic du cancer de la peau).Mémoire de master. Université Mohamed Khider.BISKRA.80p.
- **Lafaurie.L, 2022.** <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2517757-eczema-atopique-de-contact-symptomes-photo-traitement-soigner/>.consulté le : 20.02.2023.
- **Lambert.K, 2023.** howstuffworks. <https://health.howstuffworks.com/skin-care/beauty/hair-removal/5-facts-to-know-about-hair-removalcreams.htm>.consulté le 24.04.2023.
- **Launay.F, 2013.** Amélioration de la dermatite atopique par l'éducation thérapeutique et par l'utilisation de thérapeutiques alternatives. thèse de doctorat. Département Pharmacie, BOULEVARD DAVIERS.202p.

Références bibliographiques

- **Lémery, E., Briançon, S., Chevalier, Y., Bordes, C., Oddos, T., Gohier, A., Bolzinger, M.A, 2015.** Skin toxicity of surfactants: Structure/toxicity relationships. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 469, 166–179.
- **Marcon.N, 2008.**Le glyoxal: un possible substitut du formaldéhyde en anatomie pathologique. *Sciences du Vivant. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré Nancy*, 208p.
- **Merouane .A, 2013.** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia barrelieri*). Mémoire magister. Université Hassiba Ben Bouali, CHLEF.118p.
- **Mesli. D., Mebarek .M, 2018.** Sévérité de la dermatite atopique et taux de vitamine D. thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belk Aïd, TLEMCEM.102p.
- **Moghimi, H., Jamali.B., Farahmand.s., Shafaghi.B, 2013.** Effect of essential oils, hydrating agents, and ethanol on hair removal efficiency of thioglycolates. *Journal of Cosmetic Dermatology* 12, 41—48. University of Medical Sciences.IRAN.
- **Nguyen .T, 2021 .**L’application de la médecine traditionnelle chinoise dans le traitement de la dermatite atopique. Thèse de doctorat. Faculté de Pharmacie, LILLE.143p.
- **Nicolas.J ., Nosbaum., A,2012.** Actualités sur la dermatite atopique, Faculté Médecine Lyon-Sud. LYON
- **Niosh (National Institute for Occupational Safety and Health), 2011.**file:///C:/Users/POWER/Downloads/NIOSH%20Skin%20Notation%20Profiles.pdf.consulté le 28.01.2023.
- **OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques) ,2022.** Sensibilisation de la peau, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Essai n° 406, PARIS.
- **OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2010.** Sensibilisation cutanée : Essai de stimulation locale des ganglions lymphatiques, Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4, Éditions OCDE, Essai n° 429, PARIS.

Références bibliographiques

- **OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques), 2015.** Acute Dermal Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, Éditions OCDE, Test. 404 n°, PARIS.
- **OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2000.** Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Programme on Traditional Medicine. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68476>
- **Otmani .A.,Yahiaoui.S, 2016.** Etude de la Toxicité Aiguë et Subaiguë des Alcaloïdes de *Fumaria officinalis* sur des Souris albinos Wistar. mémoire de master. Université Abderrahmane Mira. BEJAIA.94p.
- **Parasuraman.S.,Balamurugan .S.,Vanishya .R, 2020.** Overview of Safety Assessment and Toxicological Screening of Dermal Formulations. *J Basic Clin Appl Health Sci*;3(3):96–103.
- **Schaefer .U., Hansen. S., Schneider.M., Contreras.J ., Lehr.C, 2008.** Models for Skin Absorption and Skin Toxicity Testing. *Biotechnology: Pharmaceutical Aspects*, 3–33.
- **Sedrati. C ., Boulhout .S ., Touabi .A, 2021.** Risque toxicologique des produits cosmétiques : Enquête auprès des consommateurs. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri, CONSTANTINE.92p.
- **Sorg.O, 2010.** La dermatotoxicologie : une discipline à l'avenir prometteur pour l'étude des effets sur la peau des nouveaux xénobiotiques, *Rev Med Suisse*, -4, no. 246, 879–881.
- **Staumont.D, 2021.** Dermato-Info. <https://dermato-info.fr/fr/les-maladies-de-la-peau/la-dermatite-atopique>. consulté le : 22.01.2023.
- **Staumont.S, 2022.** eczéma chronique des mains : de nouveaux traitements attendus dans un avenir proche, LILLE.
- **Tamagawa-Mineoka.R., Katoh.N, 2020.** Atopic Dermatitis: Identification and Management of Complicating Factors. *Int.J.Mol.Sci.* (21), 2671.
- **Tartouga.M ,2022.** Etude de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'extraits du lichen *Parmotrema hypotropa* sur un modèle de dermatite atopique chez la souris. Thèse de doctorat .Université des Frères Mentouri, CONSTANTINE.134p.

Références bibliographiques

- **Til.H ., Woutersen .R ., Feron.V, 2003.**Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4-week drinking water study in rats. Food Chem. Toxicol., 26(5): 447-452.
- **Touria.O, 2013.** Le derme artificiel dans la reconstruction cutanée : Matriderm® et Integra®. Thèse de doctorat .Sciences pharmaceutiques. ROUEN.84p.
- **Tran.H, 2007.** Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine in vivo via l'IRM. Thèse de doctorat. Université de Technologie de Compiègne.174p.
- **Truong,V ., Keum.Y., Jeong .W, 2020.** Red ginseng oil promotes hair growth and protects skin against UVC radiation. College of Pharmacy and Integrated Research Institute for Drug Development, Dongguk University. KOREA.

Annexes

1. Annexes

1.1. Annexe A

Matériel et produits utilisés dans la partie expérimentale.



Figure A1 : Animalerie de l'institut vétérinaire, université Ibn khaldoun.

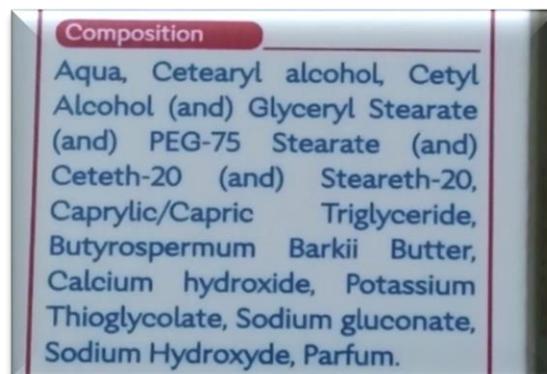


Figure A2 : Composition de la crème dépilatoire VENUS.



Figure A3: Matériels et produits utilisés pour l'euthanasie et le prélèvement des échantillons.



Figure A4 : Rats tués.

1.2. Annexe B

Matériel et produits utilisés pour la préparation des coupes histologiques (lames).



Poste	Réactif	Duré
1	Formol 10%	1h
2	Formol 10%	1h
3	Éthanol 70%	11/2h
4	Éthanol 80%	11/2h
5	Éthanol 95%	11/2h
6	Éthanol 100%	1h
7	Éthanol 100%	1h
8	Éthanol 100%	1h
9	Xylène	11/2h
10	Xylène	11/2h
11	Paraffine	2h
12	Paraffine	2h

Figure B1 : Automate (Leica TP1020).

Tableau B1: programmation de l'automate.



Figure B2 : Station d'enrobage de type Lieca.

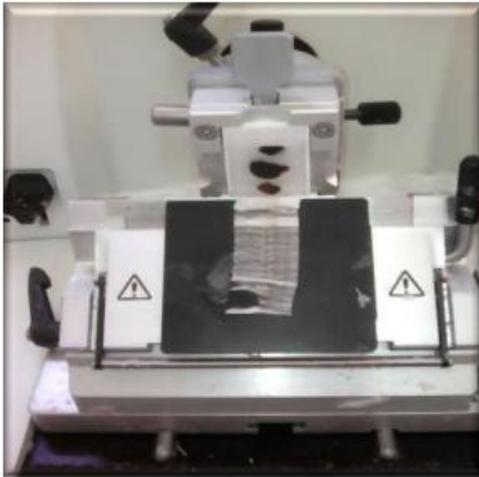


Figure B3 : Microtome rotatif de Type Leica 2125.



Figure B4 : Bain-marie de type Leica .



Figure B5 : Microscope liée à un appareil photo numérique.

1.3. Annexe c

Coupes histologiques des organes du rat témoin traité par le remède traditionnel.

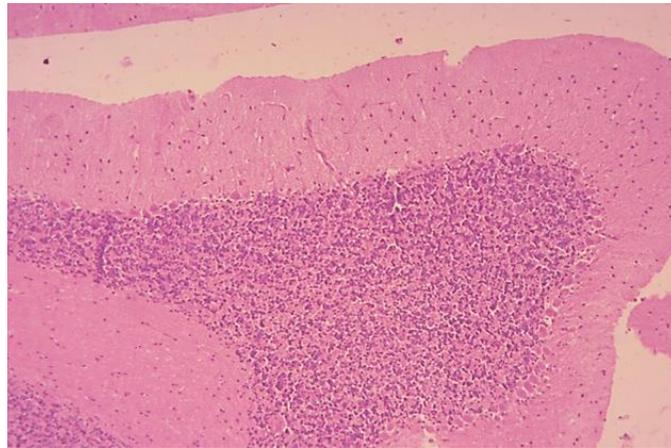


Figure C1 : Rat, cerveau, aspect normal H&E, 10X.

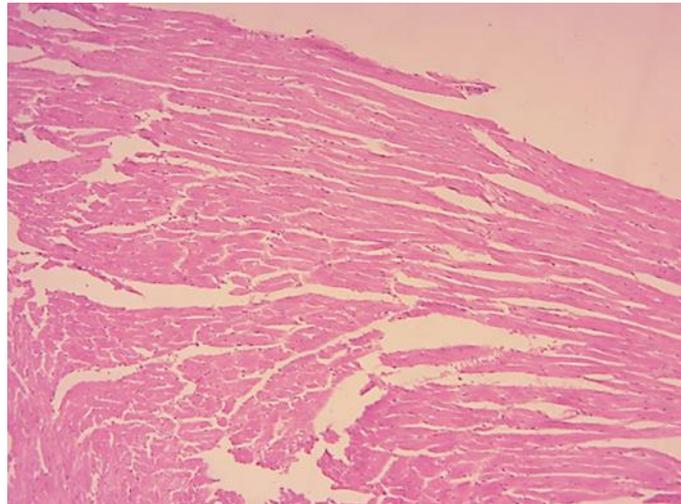


Figure C2 : Rat, cœur, une structure normale H&E, 100X.

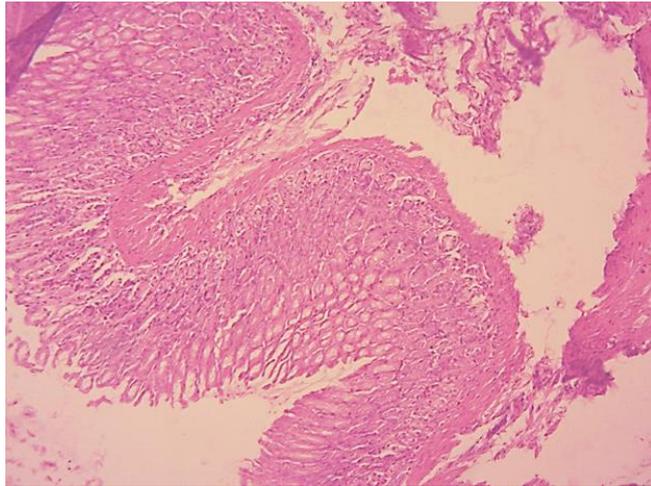


Figure C3 : Rat, estomac intacte H&E, 100X.

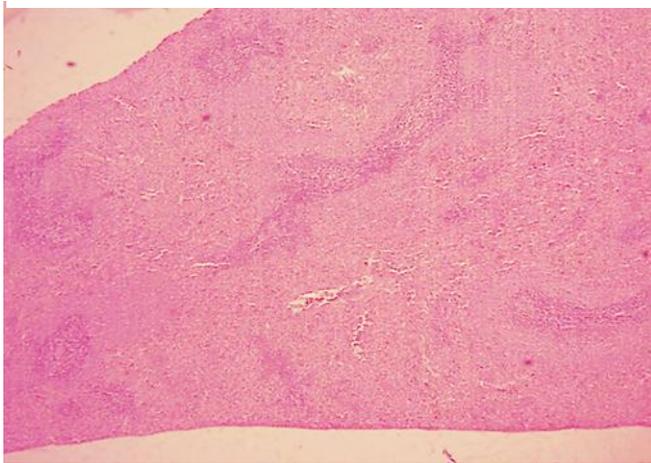


Figure C4 : Rat, rate, aucune lésion H&E, 40X.

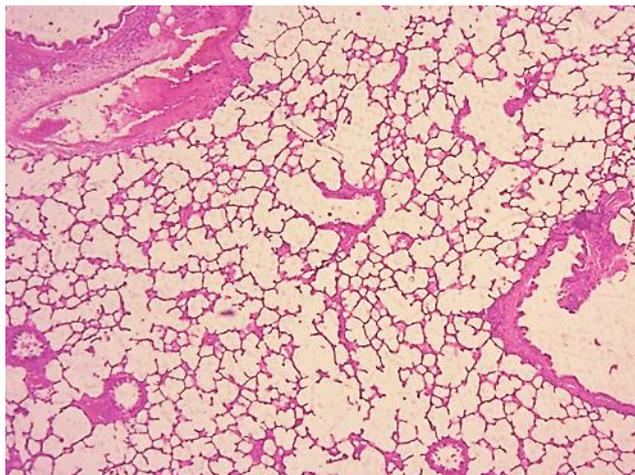


Figure C5 : Rat, poumon normal H&E, 100X.

Résumé

La dermatite atopique est une maladie inflammatoire chronique de la peau, elle est plus fréquente chez les nourrissons et les enfants mais peut survenir à tout âge. L'objectif de cette étude était d'évaluer la toxicité d'un remède traditionnel utilisé chez l'homme contre les problèmes de dermatites. Dans cette étude, nous avons utilisé 12 rats wistar de sexes différents âgés de 12 à 16 semaines et d'un poids corporel compris entre 150 à 420 g. Pour l'évaluation de sa toxicité, le remède est appliqué sur le dos rasé de rats sains pendant 8 semaines successives. L'effet du remède traditionnel sur la dermatite atopique a été évalué *in vivo* sur un modèle induit par le formaldéhyde à 10% et la crème dépilatoire (Venus®) par voie cutanée. Les résultats montrent que l'application pendant une longue durée du remède n'a montré aucun effet toxique, ni sur la peau, ni sur les organes internes. De plus, le remède révèle une réduction des scores des lésions de la peau, et de point de vue histologique, entraîne une réparation de l'épiderme. Sur la base de ces résultats, nous avons confirmé l'innocuité du remède traditionnel et son efficacité en application locale sur les lésions de dermatite chez le rat.

Mots clés : toxicité ; rat ; peau ; dermatite atopique ; remède traditionnel.

ملخص

التهاب الجلد التأتبي هو مرض مزمن ، أكثر شيوعاً عند الرضع والأطفال ولكن يمكن ان يصيب مختلف الفئات العمرية. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الأثر السمي لعلاج تقليدي يستعمل ضد الالتهابات الجلدية. في هذه الدراسة، استخدمنا جرذان من جنسين مختلفين تتراوح أعمارهم بين 12 و 16 أسبوعاً و وزنهم يتراوح بين 150 و 420 جراماً. لتقييم سمية هذا المادة، تم تطبيق العلاج على الجرذان السليمة لمدة 8 أسابيع متتالية. تم تقييم تأثير العلاج التقليدي على التهاب الجلد التأتبي على نموذج مستحدث بالفورمالديهايد بنسبة 10 % وكريم إزالة الشعر (فينوس) عبر الجلد. تظهر النتائج أن التطبيق طويل الأمد للعلاج التقليدي لم يظهر أي تأثير سام، سواء على الجلد أو على الأعضاء الداخلية. بالإضافة إلى ذلك ، يكشف العلاج عن انخفاض في درجات تلف الجلد ومن الناحية النسيجية ، يؤدي إلى إصلاح البشرة. بناءً على هذه النتائج، أكدنا سلامة العلاج التقليدي وفعاليتة في التطبيق المحلي على التهاب الجلد عند الجرذان.

الكلمات المفتاحية: السمية؛ جرد؛ جلد؛ التهاب الجلد التأتبي؛ علاج تقليدي .

Abstract

Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disease. It is most common in infants and children, but can occur at any age. The aim of this study was to evaluate the toxicity of a traditional remedy used in humans to treat dermatitis. In this study, we used 12 wistar rats of different sexes aged 12 to 16 weeks and with a body weight ranging from 150 to 420 g. To evaluate its toxicity, the remedy is applied to the shaved backs of healthy rats for 8 successive weeks. The effect of the traditional remedy on atopic dermatitis was evaluated *in vivo* on a model induced by 10% formaldehyde and depilatory cream (Venus®) via the cutaneous route. The results show that long-term application of the traditional remedy had no toxic effect on either the skin or internal organs. In addition, the remedy shows a reduction in skin lesion scores and, from a histological point of view, leads to epidermal repair. Based on these results, we have confirmed the safety of the traditional remedy and its efficacy in local application on dermatitis lesions.

Key words: toxicity; rat; skin; atopic dermatitis; traditional remedy.