

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département : Microbiologie Appliquée et  
Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : ميكروبيولوجيا تطبيقية و علوم التغذية

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Biologie

*Option : Microorganismes et Pathogénicité*

### Thème

**Activité antifongique de quelques huiles  
végétales sur les champignons responsables de  
mycoses humaines.**

#### Membres du Jury

Présidente : M<sup>r</sup>. BOUBEZARI M.T.

Encadreur : D<sup>r</sup>. AKROUM S.

Examinatrice : M<sup>me</sup> BOURZAMA Gh.

#### Réalisé par

- M<sup>elle</sup> KHECHMAR Dounia

- M<sup>elle</sup> ZAAFRI Sonia

Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....

Année Universitaire 2016 - 2017.

## REMERCIEMENTS

*Au terme de ce travail de mémoire de master, les mots justes sont difficiles à trouver pour exprimer nos remerciements.*

*À « Allah », le tout puissant, qui nous a accordé le courage et la motivation pour élaborer ce modeste travail*

*Un très grand merci à notre encadreur DR Akroum pour sa gentillesse, ses précieux conseils, sa bienveillance et son soutien tout au long de la réalisation de ce travail*

*Nous rendons un vibrant hommage aux membres du jury qui ont accepté de juger ce travail :*

*Un merci particulier à notre président de jury, M<sup>r</sup> Boubzari de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du*

*Un merci particulier à l'examinatrice de ce mémoire : M<sup>m</sup> Bourzama pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.*



# *Dédicas*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A la mémoire de ma mère*

*A mon cher père*

*A mes chers frères*

*A mes chères sœurs*

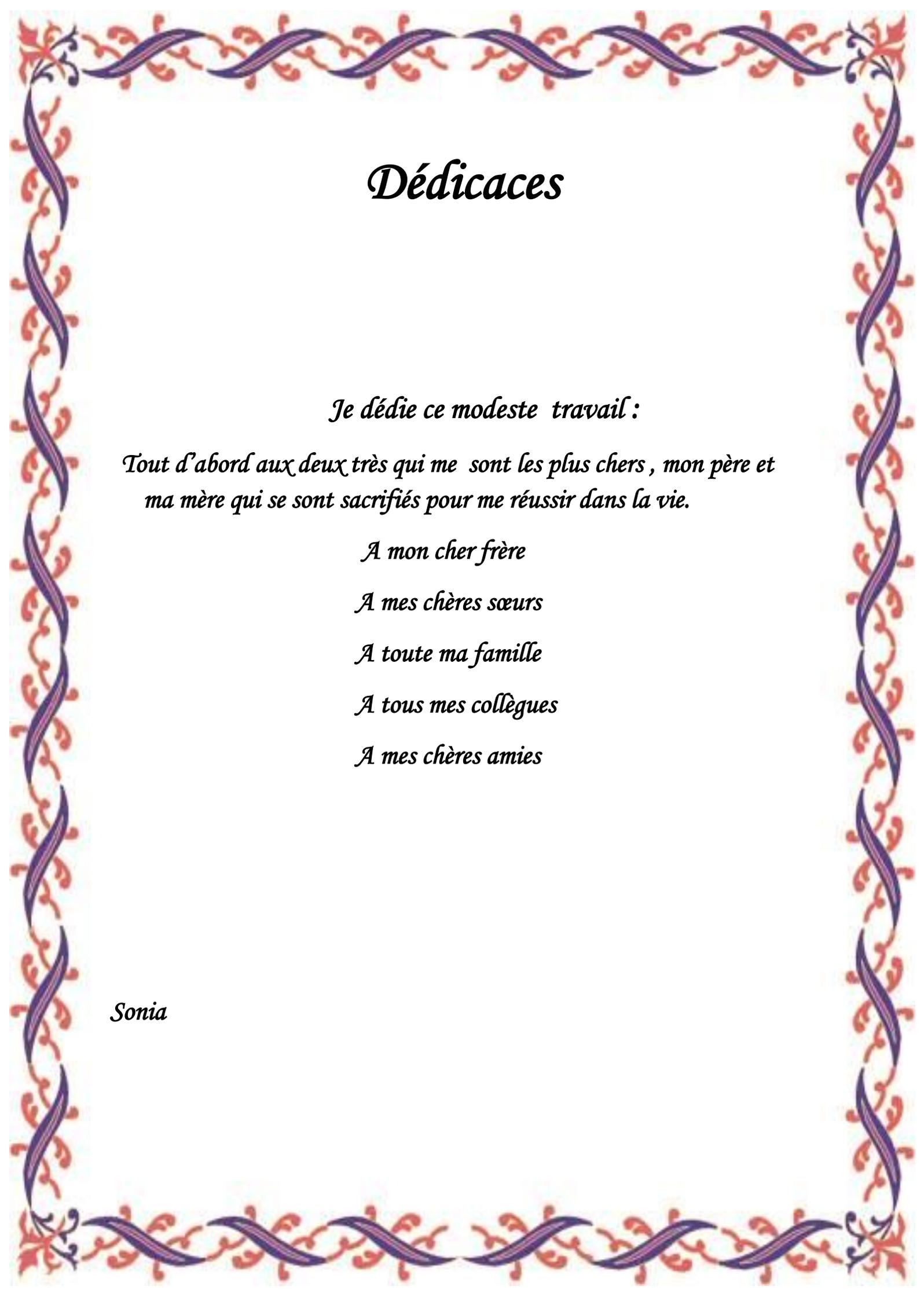
*A toute ma famille*

*A tous mes collègues*

*A mes chères amies*

*Dounia*





# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*Tout d'abord aux deux très qui me sont les plus chers , mon père et  
ma mère qui se sont sacrifiés pour me réussir dans la vie.*

*A mon cher frère*

*A mes chères sœurs*

*A toute ma famille*

*A tous mes collègues*

*A mes chères amies*

*Sonia*

# Sommaire

	<i>Pages</i>
<i>Introduction générale</i> .....	1
<u><i>Partie bibliographique</i></u>	
<i>Chapitre I : les huiles végétales</i> .....	2
I-1- Définition .....	2
I-2- La composition des huiles végétales .....	2
I-2-1- Les triglycérides.....	2
I-2-2- Les constituants mineurs.....	2
I-3- L'extraction des huiles végétales.....	3
I-3-1- Pression à froid .....	3
I-3-2- Pression à chaude .....	3
I-3-3- Extraction chimique .....	3
I-3-4- Le Raffinage .....	3
I-4- Bienfaits et utilisation des huiles végétales .....	5
I-4-1- Huile d'olive.....	5
I-4-2- Huile de lentisque.....	5
I-4-3 -Huile de nigelle.....	5
I-4-4- Huile de ricin.....	5
I-4-5- L'huile de tournesol.....	6
I-4-6-L'huile d'argan.....	6

I-5- L'activité antimicrobienne des huiles végétales.....	6
I-5-1 -Exemples de l'activité antibactérienne de quelques huiles.....	6
I-5-2-Exemples de l'activité antifongique de quelques huiles.....	7
<b><i>Chapitre II : les mycoses humaines</i></b>	8
II-1- Définition .....	8
II- 2- les principales mycoses humaines.....	8
II- 2-1- Les dermatophytoses.....	8
II- 2-1-1 – <i>Epidermophyton</i> .....	8
II- 2-1-2- <i>Microsporum</i> .....	8
II- 2-1-3- <i>Trichophyton</i> .....	8
II- 2-2- Les candidoses .....	10
II- 2-2-1- Les candidoses superficielles (cutanéomuqueuses) .....	10
II- 2-2-2- Candidose systémiques (viscérales ou profondes).....	10
II- 2-3- Les aspergilloses.....	11
II- 2-3-1- L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique.....	12
II- 2-3-2- L'aspergillome pulmonaire.....	12
II- 2-3-3- L'aspergillose invasive.....	12
II-2-3-4- La sinusite aspergillaire.....	12

### **Partie Pratique**

<b><i>I- Matériel</i></b> .....	13
I-1- Huiles végétales.....	13
I-2- Matériel fongique.....	13

I-3- Instruments et appareillages.....	13
I-4- Colorants et solutions.....	14
I-5- Milieux de culture.....	14
<b>II- Méthodes.....</b>	<b>14</b>
II-1- Le prélèvement des échantillons.....	14
II-1-1- Prélèvement à partir des ongles.....	14
II-1-2- Prélèvement à partir des cheveux.....	15
II-1-3- La mise en culture des échantillons.....	15
II-2- Isolement et purification des espèces fongiques.....	15
II-3- Identification des champignons Dermatophytes .....	15
II-3-1- Caractérisation macroscopique.....	15
II-3-2- Caractérisation microscopique.....	16
II-4- Confirmation de la pureté des <i>Candia</i> .....	16
II-4-1- Observation macroscopique.....	16
II-4-2- Observation microscopique.....	16
II-4-3- Recherche des structures caractéristiques.....	16
II-3- Test de l'activité antifongique des huiles végétales.....	17
<b>III- Résultats.....</b>	<b>19</b>
III-1- Les espèces isolées des échantillons.....	19
III-2- Identification des champignons dermatophytes.....	19
III-3- Confirmation de la pureté des <i>Candida</i> .....	26
III-4- Résultats de l'activité antifongique des huiles végétales.....	29
<b>IV- Discussion.....</b>	<b>34</b>

<i>Conclusion</i> .....	37
<i>Références bibliographiques</i> .....	38
<i>Annexe</i>	

## *Liste des tableaux*

<i>Tableaux</i>	<i>Titres</i>	<i>Pages</i>
<i>Tableau 1</i>	Les principaux Dermatophytes et leurs origines.	<b>9</b>
<i>Tableau 2</i>	Les moisissures isolées des différents prélèvements.	<b>20</b>
<i>Tableau 3</i>	Activité antifongique des huiles végétales sur les moisissures (exprimées en mm).	<b>30</b>
<i>Tableau 4</i>	Activité antifongique des huiles végétales sur les <i>Candida</i> .	<b>32</b>

## Liste de Figures

<i>Figures</i>	<i>Titres</i>	<i>Pages</i>
<i>Figure 1</i>	<i>Epidermophyton.</i>	<b>9</b>
<i>Figure 2</i>	<i>Microsporum.</i>	<b>9</b>
<i>Figure 3</i>	<i>Trichophyton.</i>	<b>9</b>
<i>Figure 4</i>	Aspect macroscopique du mycélium 1 sur PDA après 72 h.	<b>21</b>
<i>Figure 5</i>	Aspect microscopique du mycélium 1 (grossissement x40)	<b>21</b>
<i>Figure 6</i>	Aspect macroscopique du mycélium 2 sur PDA après 72h.	<b>22</b>
<i>Figure 7</i>	Aspect microscopique du mycélium 2 (grossissement x40).	<b>22</b>
<i>Figure 8</i>	Aspect macroscopique du mycélium 3 sur la gélose PDA après 72 h.	<b>23</b>
<i>Figure 9</i>	Aspect microscopique du mycélium 3 (grossissement x40).	<b>23</b>
<i>Figure 10</i>	Aspect macroscopique du mycélium 4 sur la gélose PDA après 72h.	<b>24</b>
<i>Figure 11</i>	Aspect microscopique du mycélium 4 (grossissement x40).	<b>24</b>
<i>Figure 12</i>	Aspect macroscopique du mycélium 5 sur la gélose PDA après 72h.	<b>25</b>
<i>Figure 13</i>	Aspect microscopique du mycélium 5 (grossissement x 40, coloration par le bleu de méthylène).	<b>25</b>
<i>Figure 14</i>	Aspect macroscopique du mycélium 6 sur PDA après 72 h.	<b>26</b>
<i>Figure 15</i>	Aspect microscopique du mycélium 6 (grossissement x40).	<b>26</b>
<i>Figure 16</i>	Aspect macroscopique de <i>Candida albicans</i> sur PDA après 24 h	<b>27</b>
<i>Figure 17</i>	Aspect microscopique de <i>Candida albicans</i> (grossissement x40).	<b>27</b>
<i>Figure 18</i>	Formes caractéristiques de <i>Candida albicans</i> (grossissement x40).	<b>28</b>

<i>Figure 19</i>	Aspect macroscopique de <i>Candida glabrata</i> sur PDA après 24.	<b>28</b>
<i>Figure 20</i>	Aspect microscopique de <i>Candida glabrata</i> (grossissement x40).	<b>28</b>
<i>Figure 21</i>	Aspect macroscopique de <i>Candida sp.</i> sur PDA après 72h.	<b>29</b>
<i>Figure 22</i>	Aspect microscopique de <i>Candida sp.</i> (grossissement x40).	<b>29</b>
<i>Figure 23</i>	Activité antifongique de l'huile de cade sur <i>Aspergillus versicolr</i>	<b>31</b>
<i>Figure 24</i>	Activité antifongique de l'huile de ricin sur <i>Trichophyton rubrum</i>	<b>31</b>
<i>Figure 25</i>	Activité antifongique de l'huile ricin sur <i>Microsporum canis</i>	<b>32</b>
<i>Figure 26</i>	Activité antifongique de l'huile de nigelle sur <i>M. audouinii</i>	<b>32</b>
<i>Figure 27</i>	Activité antifongique de l'huile d'olives sur les <i>Candida</i> .	<b>33</b>
<i>Figure 28</i>	Activité antifongique de l'huile de lentisque sur les <i>Candida</i> .	<b>33</b>
<i>Figure 29</i>	Activité antifongique de l'huile de ricin sur les <i>Candida</i> .	<b>33</b>
<i>Figure 30</i>	Activité antifongique de l'huile de cade sur les <i>Candida</i> .	<b>34</b>
<i>Figure 31</i>	Activité antifongique de l'huile de nigelle sur les <i>Candida</i>	<b>34</b>



## *Liste des schémas*

<i>Schémas</i>	<i>Titres</i>	<i>Pages</i>
Schéma 1	Composition générale d'un triglycéride	2
Schéma 2	Procédés d'extraction des huiles végétales	4
Schéma 3	Pourcentage de différentes espèces impliquées dans les candidoses	11
Schéma 4	Recherche des structures caractéristiques des <i>Candida</i>	17
Schéma 5	Test de l'activité antifongique des huiles végétales	19

## *Introduction*

---

Les mycoses humaines sont des infections cosmopolites dues au développement de champignons microscopiques (levures ou moisissures), dans différents tissus du corps humain (**Guillot 1999**). Les espèces responsables de ces infections sont généralement saprophytes ou commensales. Mais certaines conditions, comme l'immunodéficience ou la prolifération importante des germes, induisent le passage de la forme saprophyte ou commensale à la forme parasitaire, ce qui provoque la pathogénicité du champignon (**Chabasse et Guigen 1999**).

Certaines espèces ne provoquent que des mycoses superficielles (dermatophytoses), tandis que d'autres pénètrent plus profondément et peuvent être responsables de mycoses sous-cutanées ou de mycoses profondes, dites aussi viscérales (**Kauffman 2006**).

La plupart du temps, les mycoses superficielles sont bénignes même si elles sont parfois gênantes. En règle générale, elles sont facilement accessibles aux traitements, mais ont l'inconvénient d'être très récidivantes. Les mycoses systémiques, quant à elles, surviennent généralement chez les patients immunodéprimés (**Chabasse et Guigen 1999**). Le tableau clinique de ces mycoses n'est pas typique et diffère selon l'immunité du patient et le type de mycose, Mais il reste grave, d'où l'intérêt du diagnostic précoce par l'examen mycologique afin d'instaurer un traitement adapté (**Kauffman 2006**).

Le taux des infections fongiques acquises a considérablement augmenté au cours des dernières décennies ; à cause des champignons nosocomiaux qui sont devenus très répandus ou à cause de la récurrence. Ceci est particulièrement préoccupant chez les patients à hauts risques, en particulier ceux qui ont une déficience immunitaire (**Kauffman 2006**).

Ce problème de résistance et celui de la récurrence justifient le choix de ce travail dont l'objectif était de contribuer à la recherche de nouveaux produits antimycosiques, des produits non encore ou très peu étudiés jusqu'à présents : les huiles végétales. Ceci dans l'espoir de pouvoir remplacer les traitements actuels qui sont de moins en moins efficaces.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées à cinq huiles végétales réputées pour avoir beaucoup d'intérêts médicaux : l'huile d'olives, l'huile de lentisque, l'huile de nigelle, l'huile de ricin et l'huile de cade (**Benseguini 2001 ; Kanter et al. 2006 ; Maameri et al. 2012 ; Ghnimi 2015 ; Elias et al. 2017**).

Donc, nous avons prélevé, isolé et purifié les champignons responsables de quelques mycoses superficielles ; puis nous avons récupéré quelques espèces connues pour être des parasites de l'homme, à savoir des espèces du genre *Candida*. Le test de l'activité antifongique a été réalisé par culture sur gélose contenant les huiles végétales sélectionnées. La présence ou l'absence de la croissance était un indicateur de la sensibilité ou la résistance des espèces.

**I-1- Définition :**

L'huile végétale est un corps gras obtenu à partir des plantes oléagineuses (l'arachide, l'olivier, le colza, le ricin, le soja, etc.). Ces plantes ont la particularité d'avoir une grande quantité de lipides dans leurs graines, fruits et noyaux. L'huile végétale peut être comestible ou utilisée industriellement en peinture, en savonnerie en pharmacie, etc. Ceci dit certaines huiles n'ont aucun intérêt culinaire, industriel ou autre (**Yousouf 2012**).

**I-2- La composition des huiles végétales :**

Les huiles végétales sont constituées essentiellement de triglycérides et de constituants mineurs.

**I-2-1- Les triglycérides :**

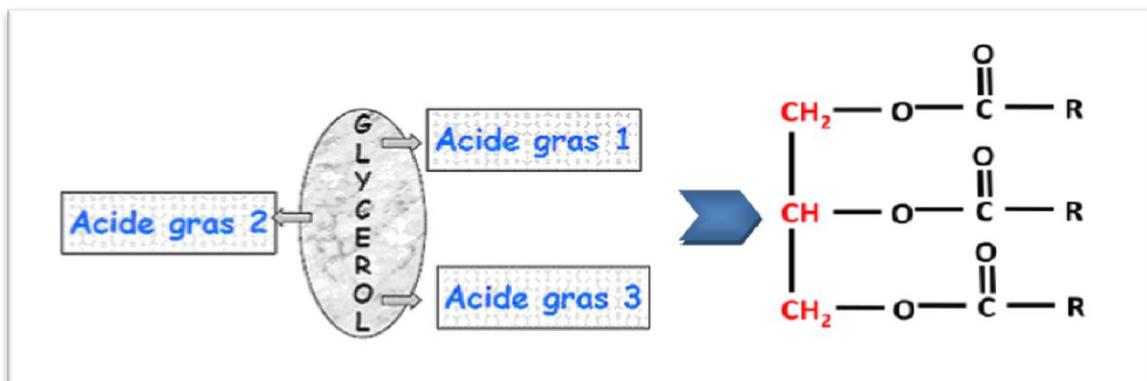
Les triglycérides représentent de 95 à 99 % du poids des huiles végétales. Ils résultent de la combinaison d'une molécule de trialcool (glycérol) avec trois molécules d'acide gras (Schéma 1) qui sont majoritairement des acides gras insaturés indispensables pour la santé (**Cuvelier et Maillard 2012**).

Deux types d'acides gras insaturés sont distingués :

- ✚ Les acides gras mono-insaturés (oméga 9) : présents principalement dans l'huile d'olive, l'huile de colza et l'huile d'arachide.
- ✚ Les acides gras polyinsaturés (oméga 3 et 6) : ils ne peuvent pas être synthétisés en quantité suffisante par l'organisme donc ils doivent être apportés obligatoirement par l'alimentation (huiles de maïs, de soja, de tournesol...) (**Bates 2016**).

**I-2-2- Les constituants mineurs :**

Ils représentent de 0.5 à 2 % du poids de l'huile et renferment des constituants non glycéridiques (vitamine E, phytostérols, caroténoïdes, les phospholipides, etc.) (**Lecerf 2011**).



**Schéma 1 :** Composition générale d'un triglycéride (**Cuvelier et Maillard 2012**).

**I-3- L'extraction des huiles végétales :**

Les huiles végétales sont triées et nettoyées, broyées et réduites en pâte pour l'extraction. Cette dernière s'effectue par plusieurs méthodes qui influencent la qualité du produit (**Schéma 2**). Les méthodes utilisées pour l'extraction sont :

**I-3-1- Pression à froid :**

C'est un mode d'extraction exclusivement mécanique qui consiste à presser les matières végétales par une presse hydraulique à une température maximale de 60°C. Ce procédé ne retire pas l'entièreté de l'huile des graines, il reste selon le type de graines de 9 à 20 % d'huile dans le tourteau d'extraction, mais l'huile obtenue est pure, ne contenant aucune substance étrangère et de très haute qualité nutritionnelle, elle est qualifiée de « huile vierge» (**Dijkstra et Segers 2007**).

**I-3-2- Pression à chaude :**

Le pressage à chaud s'effectue mécaniquement en une étape unique ou en deux étapes (première pression à froid et seconde à chaud). Dans le premier procédé, la pâte est pressée à une température entre 80 et 120°C, et dans le procédé en deux étapes, une première pression à froid est effectuée puis le tourteau huileux est réchauffé avant d'être pressé. L'huile ainsi obtenue est dite « brute ». Elle possède une bonne conservation mais est de couleur foncée et a une odeur désagréable, ce qui nécessite un raffinage lui faisant perdre une partie de ses éléments nutritifs (**Morin et Pagés 2012**).

**I-3-3- Extraction chimique :**

Cette extraction utilise un solvant organique (comme l'hexane) chauffé à 50-60°C pour extraire les tourteaux restants de la pression mécanique. Cette technique permet un meilleur rendement mais les huiles végétales produites sont de moindre qualité (**Morin et Pagés 2012**).

**I-3-4- Le Raffinage :**

Le raffinage est l'ensemble des opérations qui améliorent les caractères organoleptiques et nutritionnels, ainsi que la stabilité des corps gras. Cette étape permet un bon usage et une bonne conservation de l'huile (**Karleskindet al. 1996**). Elle comprend plusieurs opérations :

- ✚ Démucilagination (ou dégomme): Consiste en l'élimination des mucilages, qui sont essentiellement des phospholipides existant dans l'huile brute.

- ✚ Neutralisation : Cette étape a pour objectif l'élimination des acides gras libres qui augmentent l'instabilité des huiles.
- ✚ Décoloration : Cette opération vise à éliminer les pigments de l'huile (chlorophylles et pigments caroténoïdes) nuisibles à sa couleur et à sa conservation.
- ✚ Désodorisation : Ce procédé permet d'éliminer toutes les substances odorantes de l'huile et de lui donner une odeur et un goût neutres, ce qui permet une meilleure stabilité dans le temps (Evrard *et al.* 2007).

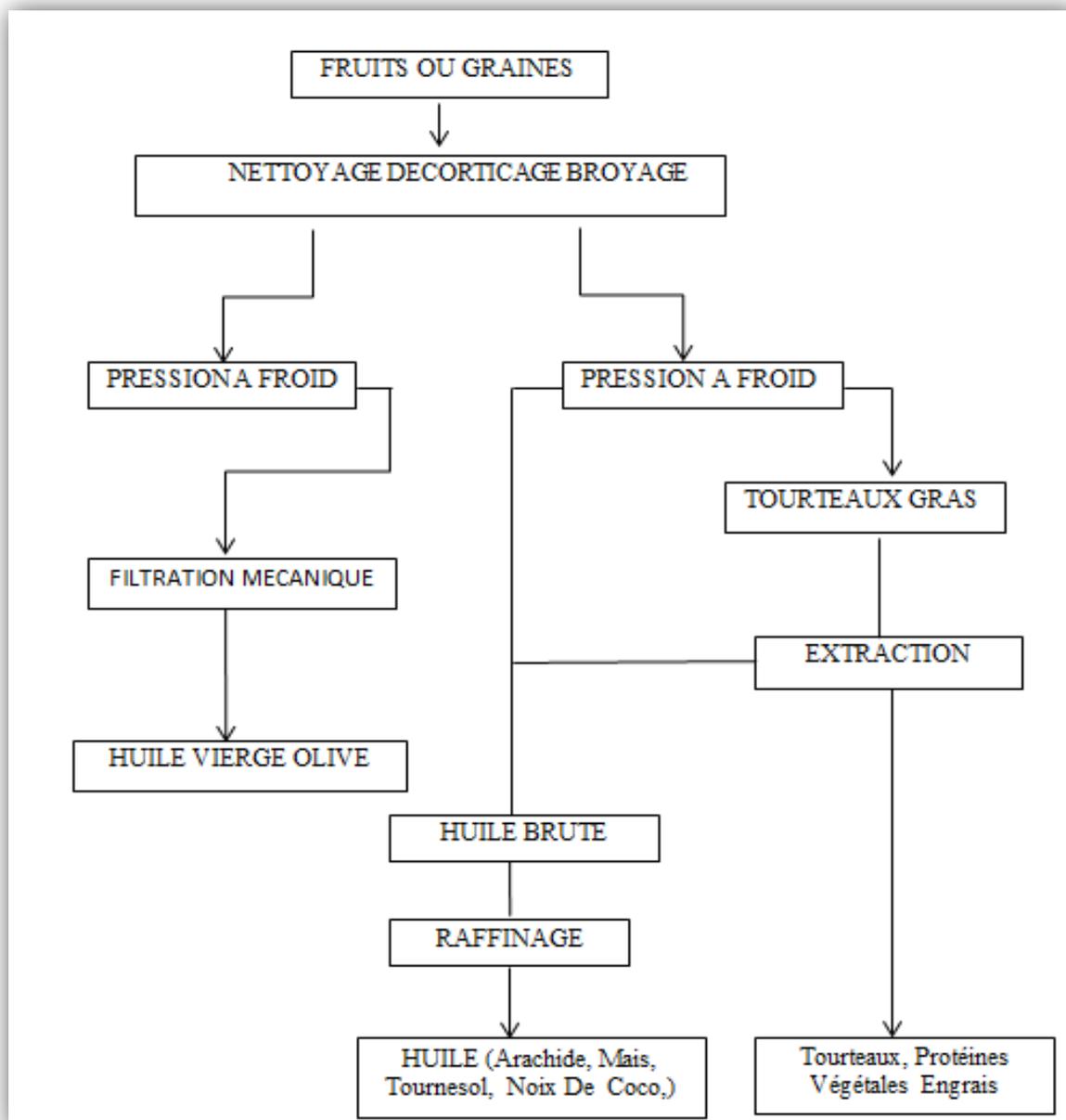


Schéma 2 : Procédés d'extraction des huiles végétales (Karleskind *et al.* 1996).

**I-4- Bienfaits et utilisation des huiles végétales :**

Les huiles végétales sont très riches en acide linoléique et autres acides gras, ce qui leur confère d'innombrables vertus : revitalisantes, réparatrices, tonifiantes, anti-oxydantes, etc. De plus, chaque huile végétale peut avoir plusieurs bienfaits en même temps.

**I-4-1- Huile d'olives :**

L'huile d'olives a plusieurs caractéristiques qui la rendent très intéressante, notamment sa richesse en acide oléique lui confère un rôle dans la lutte contre les maladies cardiovasculaires et le mauvais cholestérol. Elle a aussi un effet non négligeable contre l'hypertension, la constipation, la douleur, le cancer du sein et de la prostate. Son utilisation la plus courante en médecine traditionnelle visait le ralentissement du vieillissement cutané et la régulation du système digestif (**Elias et al. 2017**).

**I-4-2- Huile de lentisque :**

L'huile de lentisque est une huile végétale utilisée depuis des siècles pour soigner les affections pulmonaires, les toux, l'asthme, les bronchites, les sinusites, etc. Aussi, grâce à ses vertus aseptiques, une application locale servait à guérir les brûlures, les plaies et les ulcères. Cette huile est toujours très conseillée en cas de troubles digestifs, d'intoxication, de maux d'estomac et de prostatite (**Mammeri et al. 2012**).

**I-4-3- Huile de nigelle :**

L'huile de nigelle est d'une richesse exceptionnelle. Elle contient en effet de nombreux actifs bénéfiques agissant en interne et en externe. La prise régulière de cette huile, apporte d'innombrables bienfaits, parmi eux :

- ✚ Renforcer le système immunitaire (**Khan 1999**).
- ✚ Améliorer les fonctions digestives et neutraliser les réactions allergiques (**Kanter et al. 2006**).
- ✚ Equilibrer la tension artérielle et la glycémie (**Farah et al. 2002**)

**I-4-4- Huile de ricin:**

L'huile de ricin est caractérisée par une viscosité très élevée. Grâce à sa texture particulière, elle représente un excellent agent mouillant et disséminant qui favorise la croissance et la résistance des cheveux, des cils, des sourcils et des ongles. Elle a aussi des propriétés anti-inflammatoires, anti-oxidante et antalgiques (antidouleur) très puissantes (**Ghnimi 2015**).

**I-4-5- Huile de tournesol :**

Extraite des graines de tournesol, cette huile est riche en acides gras essentiels (Oméga 6 et 9) ce qui l'indique comme un excellent moyen de prévenir le cholestérol, renforcer le système immunitaire et prévenir le vieillissement tout en étant un régulateur endocrinien et nerveux. De plus l'huile de tournesol est très riche en vitamine E : l'antioxydant majeur qui aide à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres (**Boivin 2007**).

**I-4-6- Huile d'argan :**

Elle provient du fruit de l'arganier. Cette huile est riche en acides gras actifs et est très utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement de la varicelle, des rhumatismes et pour la prévention de l'athérosclérose. Elle est aussi conseillée pour les irritations, l'acné juvénile, l'eczéma, les gerçures et les brûlures. En effet l'huile d'argan possède une action anti-inflammatoire et antimicrobienne bien notoire et a la capacité de réduire les risques de l'hypertension artérielle (**Cherki et al. 2004 ; Drissi et al. 2004**).

**I-5- L'activité antimicrobienne des huiles végétales :**

Plusieurs études ont été menées sur l'activité antimicrobienne des huiles végétales et ont montré que ces substances pouvaient être efficaces contre de nombreux germes pathogènes. Ceci dit, il faut bien savoir choisir son huile car chacune est active sur un nombre précis de microorganismes (**Maameri et al. 2012 ; Ghnimi 2015 ; Elias et al. 2017**).

**I-5-1- Exemples de l'activité antibactérienne de quelques huiles :**

L'huile d'olives, notamment vierge, a des propriétés antibactériennes très importantes. Elle s'est montrée être particulièrement efficace contre *Helicobacter pylori* et certaines autres bactéries nuisibles de la flore intestinale, comme *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli*. De même, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Yersinia sp.* et *Shigella sonnei* ne survivaient pas après une heure d'incubation en présence de cette huile (**Medina et al. 2006**). D'un autre côté, l'huile de ricin peut empêcher la croissance de plusieurs bactéries comme *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhi* (**Rahmati et al. 2015**). L'huile de Nigelle montre une bonne activité contre *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* résistante à la ceftriaxone et la ciprofloxacine (**Sarwar et Latif 2015 ; Bakalet et al. 2017**). L'huile de lentisque, quand à elle, est active contre plusieurs germes particulièrement résistants, dont *Clostridium perfringens* et *Staphylococcus aureus* (**Mezni et al. 2012**).

**I-5-2- Exemples de l'activité antifongique de quelques huiles :**

L'huile de ricin est riche en acide ricinoléique qui lui confère des propriétés antifongiques non négligeables. En effet, cette huile est notamment connue pour sa capacité à inhiber la croissance des dermatophytes comme les *Candida*, *Fusariumvertici* et *Aspergillus flavus* (**Garget al. 1985 ; Devkatteet al. 2005**). De même l'huile de nigelle, qui contient de la thymoquinone, a un grand potentiel antifongique contre les mycoses cutanées par *Trichophyton*, *Epidermophyton* et *Candida albicans* (**Mahmoud et al. 2014**). L'huile de lentisque a une activité inhibitrice contre *Aspergillus niger*, *Trichophyton mentagrophyte*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans* et *Microsporum canis* (**Benseguini 2001**).

L'huile d'olive a une activité antifongique plutôt mitigée. Elle est active contre *Candida krusei*, mais a une faible action contre *Candida albicans* et les dermatophytes (**Goel et al. 2016**). Elle est souvent utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des onychomycoses et ce grâce à son pouvoir adoucissant qui aide à prévenir la sécheresse des ongles, mais ne guérit pas nécessairement la mycose sauf si elle est mélangée avec d'autres huiles ou traitements (**Geweely 2006**).

**II-1- Définition :**

Les mycoses humaines se définissent comme des maladies infectieuses dues au développement et à la multiplication de champignons pathogènes dans différents tissus et organes chez l'homme, elles peuvent être dues à des moisissures ou à des levures (**Guillot 1999**).

**II- 2- Les principales mycoses humaines :****II- 2-1- Les dermatophytoses :**

Ce sont des mycoses cutanées superficielles causées par des champignons microscopiques filamenteux kératinophiles. En effet, ces moisissures présentent une affinité importante pour la kératine (**Al Shima et al. 2015**) qu'ils attaquent grâce à des enzymes, ce qui leur permet de s'installer dans la couche cornée. Les dermatophytoses apparaissent principalement dans les zones de forte transpiration (zones interdigitales, aisselles, tronc, etc.), sur le cuir chevelu et les ongles (**Carrillo-Muñoz et al. 2008 ; Ghannoum et Isham 2009**).

Les agents responsables appartiennent aux genres :

**II-2-1-1- *Epidermophyton*:** Il appartient aux Deutéromycètes et se caractérise par un mycélium septé et des macro-conidies en forme de massue (**Figure 1**). Ce champignon se localise préférentiellement au niveau de la peau, très rarement au niveau des ongles et jamais au niveau des cheveux (**Chabasse et Guiguen 1999**).

**II-2-1-2- *Microsporum*:** Il touche sélectivement les cheveux et la peau, mais rarement les ongles. Ce genre appartient aussi aux Deutéromycètes et se différencie d'*Epidermophyton* par les macro-conidies qui ont une paroi épaisse, présentant parfois des aspérités, et la présence des micro-conidies allongées (**Chabasse et Guiguen 1999**) (**Figure 2**).

**II-2-1-3- *Trichophyton*:** Il infecte aussi bien cheveux, poils, ongles et peau. Sous microscope, le mycélium apparaît fin et septé et se fragmente pour donner des arthrospores caractéristiques (**Ghannoum et Isham 2009**) (**Figure 3**).

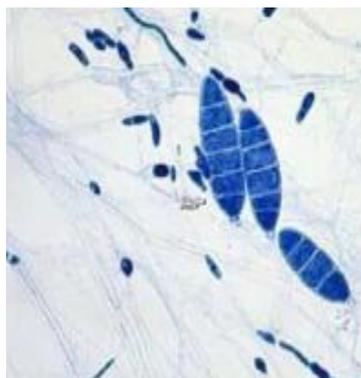
Ces mycoses sont superficielles, bénignes et très contagieuses. Elles se transmettent de l'homme à l'homme (espèces anthropologiques), de l'animal à l'homme (espèces zoophiles) et de la terre à l'homme (espèces telluriques). Certaines sont cosmopolites d'autres n'existent que dans certains pays (**Oliveira et al. 2003**) (**Tableau 1**).

**Tableau 1:** Les principaux Dermatophytes et leurs origines (Gentilini *et al.* 2012).

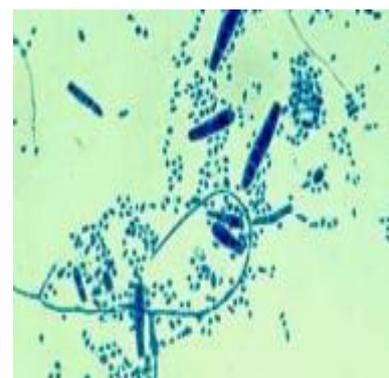
Genre	Anthropophiles	Zoophiles	Telluriques
<i>Microsporum</i>	<i>M. audouinii</i> <i>M. landeronii</i> <i>M. rivalieri</i> <i>M. ferrugineum</i>	<i>M. canis</i> <i>M. persicolor</i> <i>M. praecox</i> <i>M. distortum</i> <i>M. obesum</i> <i>M. equinum</i> <i>M. nanum</i>	<i>M. gypseum</i> <i>M. persicolor</i> <i>M. praecox</i> <i>M. fulvum</i> <i>M. nanum</i>
<i>Trichophyton</i>	<i>T. rubrum</i> <i>T. interdigitale</i> <i>T. violaceum</i> <i>T. soudanense</i> <i>T. schoenleinii</i> <i>T. tonsurans</i> <i>T. megninii</i> <i>T. concentricum</i>	<i>T. mentagrophytes</i> <i>T. erinacei</i> <i>T. equinum</i> <i>T. verrucosum</i> <i>T. simii</i> <i>T. gallinae</i> <i>T. quinckeanum</i> <i>T. terrestre</i>	<i>T. mentagrophytes</i> <i>T. terrestre</i> <i>T. simii</i>
<i>Epidermophyton</i>	<i>E. floccosum</i>		

**Figure 1 :** *Epidermophyton*

(Kah 2011)

**Figure 2 :** *Microsporum*

(Kah 2011)

**Figure 3 :** *Trichophyton*

(Kah 2011)

**II- 2-2- Les candidoses :**

Les candidoses sont des infections causées par des levures appartenant au genre *Candida*. Ces espèces sont des saprophytes opportunistes chez l'homme. Elles deviennent très virulentes en cas de baisse de l'immunité, notamment chez le malade atteint du VIH, induisant alors diverses infections mycosiques telles que les mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Selon les zones du corps infectées, les candidoses peuvent être classées en deux groupes : les candidoses superficielles et les candidoses profondes (**Pihet et Marot 2013**).

**II- 2-2-1- Les candidoses superficielles (cutanéomuqueuses) :**

Elles touchent la peau et les muqueuses et sont rencontrées aussi bien chez des sujets sains que chez des individus immunodéprimés (**Ghannoum et al. 2003**). Lors de ces infections les *Candida* se développent au niveau du revêtement cutané, des phanères et des muqueuses.

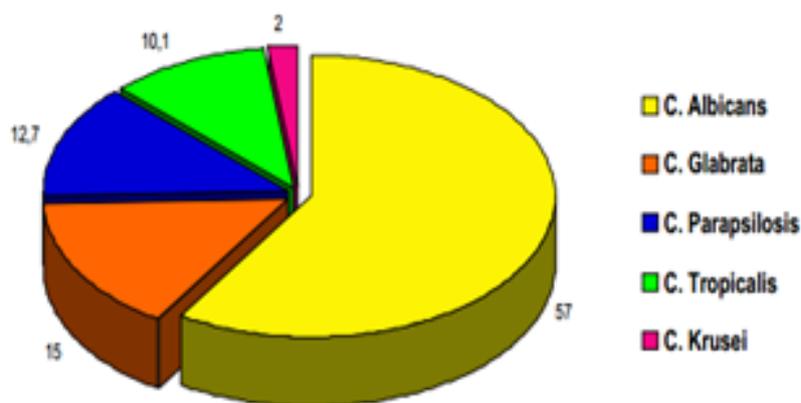
Les candidoses superficielles sont majoritairement dues à *Candida albicans* (**Miller et Johnson 2002**). Mais, d'autres espèces sont aussi rencontrées comme *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida krusei* (**Papon et al. 2013 ; Merseguet et al. 2015**) (Schéma 3).

Les candidoses cutanées : elles se manifestent sur les zones de transpiration : le pli de l'aîne, les aisselles, les zones interdigitales, les écorchures et les endroits brûlés. Elles peuvent aussi apparaître au niveau des ongles causant des périonyxis et des onyxis. (**Contet-Audonneau et Schmutz 2001**).

Les candidoses des muqueuses : elles peuvent infecter différentes muqueuses : la cavité buccale (muguet), la muqueuse vaginale et l'œsophage (**Contet-Audonneau et Schmutz 2001**).

**II- 2-2-2- Candidose systémiques (viscérales ou profondes) :**

Les candidoses systémiques peuvent être causées par le passage dans le sang de la levure après une infection des muqueuses. Néanmoins, elles sont surtout rencontrées chez les patients infectés par des outils chirurgicaux non stériles. La dissémination hématogène des *Candida* (candidémies) peut causer des complications graves comme des lésions des reins, de la rate, des poumons, du foie (**Lionakis 2014 ; Hebecker et al. 2016**).



**Schéma 3** : Pourcentage des différentes espèces impliqués dans les candidoses (**Pihet et Marot 2013**).

### II- 2-3- Les aspergilloses :

Les aspergilloses sont des mycoses opportunistes, cosmopolites le plus souvent broncho-pulmonaires, provoquées par un champignon filamenteux appartenant au genre *Aspergillus* (**Takazono et Sheppard 2016**).

Les *Aspergillus* sont des champignons imparfaits « Deutéromycètes » caractérisés par des filaments cloisonnés et par une multiplication asexuée qui se fait par des organes caractéristiques dits « les têtes aspergillaire ». *Aspergillus fumigatus* est l'espèce la plus impliquée en pathologie humaine (80 à 90 %), néanmoins d'autres espèces peuvent être isolées, comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus nidulans* et *Aspergillus terreus* (**Kermani et al. 2013 ; Kaur et Singh 2014**)

Chez l'homme, ces champignons ont à l'origine de quatre types d'aspergilloses :

- ✚ L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique.
- ✚ L'aspergillose invasive.
- ✚ L'aspergillome.
- ✚ La sinusite aspergillaire.

Beaucoup plus rarement, et essentiellement chez les personnes aux défenses immunitaires défaillantes (immunodéprimées), l'aspergillose se manifeste par d'autres atteintes : ostéoarticulaire, cérébrale, cutanée,...) (**Koren et al. 2013**).

**II-2-3-1- aspergillose broncho-pulmonaire allergique :**

L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique est une maladie inflammatoire liée au développement de la moisissure dans l'arbre bronchique causant une réponse immunologique complexe (**Li et al. 2014**). Cette forme de pathologie touche essentiellement les sujets atteints d'un asthme ou d'une mucoviscidose ; mais elle est aussi couramment rencontrée chez les immunocompétents (**Tillie-Leblond et al. 2015**). Le traitement se fait par l'administration d'antifongiques.

**II- 2-3-2- L'aspergillome pulmonaire :**

L'aspergillome pulmonaire est une atteinte grave due au développement de la moisissure dans une cavité parenchymateuse préexistante. Le plus souvent cette dernière est d'origine tuberculeuse. Le champignon envahit alors toute la cavité et forme une véritable « truffe aspergillaire ». Le traitement de l'aspergillome se fait par des interventions chirurgicales et une prise d'antifongiques (**Thompson et Patterson 2011**).

**II- 2-3-3- L'aspergillose invasive :**

Il s'agit de la forme la plus grave. L'aspergillose devient très agressive, envahit rapidement les poumons et se propage souvent par le sang jusque dans le cerveau, le cœur, le foie et les reins. Cette infection représente la seconde cause de mortalité par infection fongique, elle touche essentiellement les sujets immunodéprimés (**Gangneux et al. 2002**).

La guérison dépend à la fois de la précocité du traitement antifongique et de la pathologie sous-jacente, mais elle n'est obtenue que dans 60 % des cas (**Lortholary et al. 1995**).

**II-2-3-4- La sinusite aspergillaire :**

La sinusite aspergillaire est une infection chronique des sinus. Elle est due à l'interaction entre les muqueuses de ces derniers et la moisissure. Cliniquement, deux formes sont distinguées : la forme non invasive et la forme invasive qui se voit généralement sur terrain immunodéprimé.

Le traitement se fait par un simple drainage des sinus. Par contre si les sinus sphénoïdaux sont atteints, une intervention chirurgicale et un traitement antifongique sont nécessaires (**Blandin et David 2008**).

### **I- Matériel**

#### **I-1- Les huiles végétales :**

Cinq huiles végétales ont été utilisées dans cette étude : l'huile de cade, l'huile de nigelle, l'huile de ricin, l'huile de lentisque et l'huile d'olives.

Les huiles de cade et de nigelle ont été achetées chez une herboristerie à Jijel. L'huile de ricin provenait d'une pharmacie à Jijel. Et les huiles de lentisque et d'olives provenaient d'un producteur et fournisseur local.

#### **I-2- Matériel fongique :**

Des espèces du genre *Candida* prélevées chez des patients atteints de mycoses ont été testées pour l'activité antifongique. Elles ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la polyclinique « Chibout Mohamed » de Chekfa. Les souches étaient identifiées comme étant *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.*

#### **I-3- Instruments et appareillages :**

- Bec bunsen
- Boites Pétri
- Béchers
- Flacons
- Anse de platine
- Spatule
- Pince
- Balance
- Embouts
- Micropipette
- Lames
- Lamelles
- Bain-marie
- Agitateur magnétique
- Plaque chauffante avec agitation
- Etuve
- Autoclave
- pH mètre
- Microscope optique a caméra

- Glucose
- Agar
- Ruban adhésif (scotch)
- Pipettes Pasteur
- Coupe-ongles
- Curette
- Compresses stériles

### **I-4- Colorants et solutions :**

- Eau distillée
- Eau physiologique
- Sérum humain
- Bleu de méthylène
- Fuchsine

### **I-5-Milieus de culture :**

- GN (Gélose Nutritive)
- PDA (gélose Potato Dextrose Agar) : Ce milieu n'a pas été fourni mais préparé au laboratoire.

## **II – Méthodes**

### **II-1- Le prélèvement des échantillons :**

Nous avons récupérés 4 échantillons d'ongles et 2 échantillons de cheveux à partir de personnes atteintes d'onychomycoses et de teignes respectivement. Ces personnes n'étaient pas sous traitement antifongique.

#### **II-1-1- Prélèvement à partir des ongles :**

A l'aide d'un coupe-ongles stérile nous avons coupés des fragments de l'ongle atteint. Puis à l'aide d'une curette, nous avons gratté délicatement la surface de la zone infectée. Les fragments de chaque échantillon ont ensuite été transportés au laboratoire dans des boites de Pétri bien fermées (**Vélez-Ponce *et al.* 2016**).

Nous avons effectué deux types d'instruments (coupe-ongles et curette) afin de récupérer des échantillons différemment localisés au niveau de l'ongle. Ceci permettait de savoir si une seule espèce étaient responsables de l'infection ou plusieurs en même temps.

### **II-1-2- Prélèvement à partir des cheveux :**

Chez les personnes atteintes de teigne, le prélèvement s'est fait à l'aide d'une pince stérile au niveau du cuir chevelu infecté. Nous avons prélevé des cheveux cassants autour de la zone touchée, puis les échantillons ont été ramenés au laboratoire dans des boîtes de Pétri stériles (Vyas *et al.* 2013).

Les individus chez qui le prélèvement a été effectué, n'avaient pas ni érythèmes, ni squames. Donc nous ne pouvions pas effectuer un prélèvement à partir du cuir chevelu directement sans causer de blessures.

### **II-1-3- La mise en culture des échantillons :**

A l'aide d'une pince stérile, nous avons déposé aseptiquement un fragment de chaque échantillon (ongles, poils) dans des boîtes de Pétri contenant de la gélose PDA. L'incubation était effectuée à 25°C pendant 72 heures (Botton *et al.* 1990).

### **II-2- Isolement et purification des espèces fongiques :**

Les moisissures qui ont poussé sur la gélose PDA ont été isolées et purifiées par plusieurs repiquages successifs sur le même milieu. Le prélèvement se faisait à l'aide d'une anse de platine sur les côtés les plus dégagés de chaque mycélium, puis l'ensemencement était réalisé par touche à la surface des géloses. Les boîtes étaient incubées à 25°C pendant 72 jours (Bouchet *et al.* 2005).

### **II-3- Identification des champignons dermatophytes :**

Les espèces fongiques isolées et purifiées ont été identifiées en se basant sur leurs caractères macroscopiques (caractères culturels) et microscopiques

#### **II-3-1- Caractérisation macroscopique :**

Elle consistait à observer et caractériser les mycéliums sur les boîtes de Pétri durant une période d'incubation allant de trois à vingt et un jours, selon les espèces. Les principaux points relevés étant la vitesse de croissance, la couleur au recto et au verso des boîtes, le relief et la texture des mycéliums, la présence d'exsudats, des pigments et des sclérotés (Botton 1990 ; Akroum 2012).

### **II-3-2- Caractérisation microscopique :**

L'examen microscopique des moisissures s'est fait en déposant un morceau du mycélium sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique. Après un léger étalement, la lamelle est déposée délicatement. Pour les thalles cassants, le prélèvement pouvait être effectué à l'aide d'un morceau de ruban adhésif.

Observation des structures caractéristiques des moisissures s'est faite aux grossissements  $\times 10$  puis  $\times 40$ . Dans le cas des mycéliums hyalins ou difficilement observables, une goutte de fuchsine ou de bleu de méthylène est ajoutée au liquide de montage (Botton *et al.* 1990).

L'objectif de cette étape étant de caractériser les moisissures isolées et de déterminer leurs structures spécifiques (leurs clés d'identification) (Botton *et al.* 1990; Akroum 2012).

### **II-4- Confirmation de la pureté des *Candida* :**

La confirmation de la pureté des levures s'est faite par observation macroscopique et microscopique (Staniszewska *et al.* 2013).

#### **II-4-1- Observation macroscopique :**

Les souches de *Candida* étaient repiquées en faisant un ensemencement par stries sur gélose PDA à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation était effectuée à 30°C pendant 24 heures. L'observation macroscopique visait à confirmer que toutes les colonies étaient identiques sur la surface de la gélose (Staniszewska *et al.* 2013).

#### **II-4-2- Observation microscopique :**

L'observation microscopique permettait de détecter la présence d'éventuelles cellules contaminants. Pour ce fait, une goutte d'eau distillée stérile était déposée sur une lame, puis une colonie était prélevée à l'aide d'une anse de platine et étalée légèrement dans la goutte.

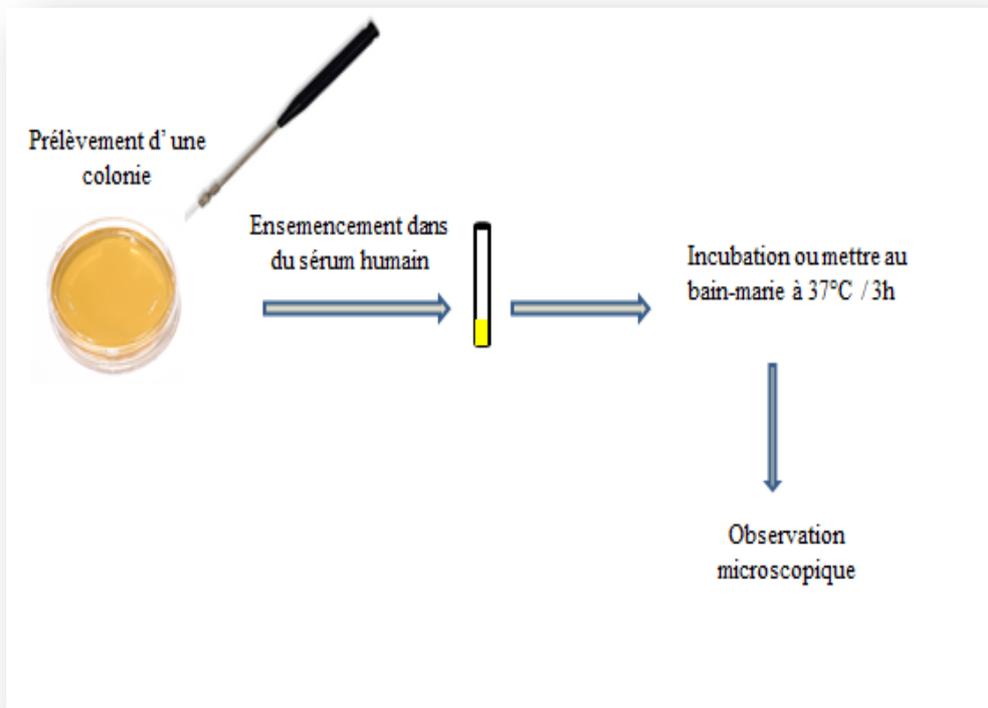
La lame était ensuite recouverte par une lamelle et l'observation effectuée aux grossissements  $\times 10$  et  $\times 40$  (Papp *et al.* 2014).

#### **II-4-3- Recherche des structures caractéristiques :**

Certaines conditions de culture défavorable permettent l'apparition de structures caractéristiques chez les levures, notamment *Candida albicans* qui forme des chlamydo-spores et des pseudo-mycéliums quand la température est supérieure à l'optimale.

Dans ce travail, nous avons donc prélevé et déposé une colonie de chaque levure dans un tube à essai contenant du sérum humain. Les tubes ont ensuite été incubés pendant 3 heures à 37°C (Schéma 3).

Une fois ce laps de temps écoulé, l'observation microscopique a été refaite pour les levures : une goutte du sérum a été prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur, déposée entre lame et lamelles et observée au microscope optique, aux grossissements x10 puis x40 (**Staniszewska et al. 2013 ; Papp et al. 2014**).



**Schéma 4 : Recherche des structures caractéristiques des *Candida*.**

### II-3- Test de l'activité antifongique des huiles végétales :

Dans notre étude, nous avons évalué l'activité antifongique des huiles végétales contre les moisissures isolées des ongles et les *Candida*.

L'objectif du test était de déterminer la sensibilité de ces champignons (responsables de mycoses humaines) vis-à-vis les huiles végétales utilisées et quelle huile avait la plus grande activité antifongique.

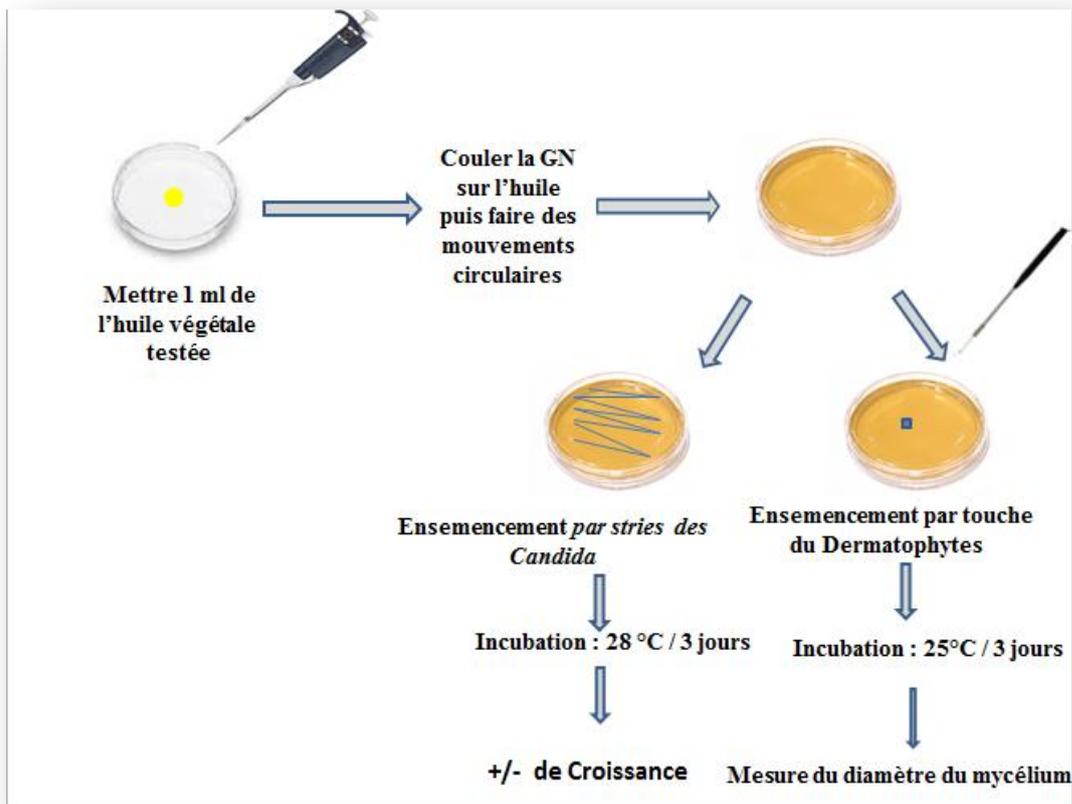
Avant d'effectuer ce test, les huiles végétales ont été stérilisées par autoclavage à 120°C pendant 15 minutes (**Banal et al. 2014**).

A l'aide d'une micropipette, nous avons déposé 1 ml de chaque huile dans une boîte de Pétri, puis nous avons coulé la gélose nutritive par-dessus la goutte et effectué des mouvements circulaires de la boîte afin de bien homogénéiser le tout (**Staniszewska et al. 2013**).

## Matériel et Méthodes

Après la solidification du milieu, nous avons effectué un ensemencement par touche des moisissures à l'aide d'une anse de platine (Tabassum et Vidyasagar 2014). Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées pendant 72 heures à 25°C (**Schéma 4**). Pour les levures, l'ensemencement s'est fait par stries à l'aide d'une pipette Pasteur et les boîtes incubées pendant 24-48 heures à 30°C (Botton *et al.* 1990 ; Staniszewska *et al.* 2013). Comme test positif, nous avons utilisé l'amphotéricine B sous forme de solution (1mg / 1ml).

La détermination de l'activité antifongique était en fonction de la capacité de chaque espèce à pousser dans le milieu. Pour les moisissures, le diamètre des mycéliums nous permettait d'évaluer la capacité de résistance de la moisissure (plus le diamètre était important, plus la moisissure était considérée comme peu sensible à l'huile).



**Schéma 5 : Test de l'activité antifongique des huiles végétales.**

### III- Résultats

#### III-1- Les espèces isolées des échantillons

Nous avons isolé six moisissures à partir des échantillons prélevés. Dans le tableau 2, nous avons nommé par le terme « mycélium » chaque moisissure isolée et purifiée. Les résultats obtenus montraient que les échantillons 2 et 3 prélevés à partir des ongles étaient contaminés par deux champignons chacun. Les autres par contre ne renfermaient qu'un seul pathogène (Tableau 2).

**Tableau 2 :** Les moisissures isolées des différents prélèvements.

Echantillons	Echantillon 1 (ongles)	Echantillon 2 (ongles)	Echantillon 3 (ongles)	Echantillon 4 (cheveux)	Echantillon 5 (cheveux)
<b>Mycéliums obtenus</b>	Mycélium 1	Mycélium 2 Mycélium 3	Mycélium 3 Mycélium 4	Mycélium 5	Mycélium 6

#### III-2- Identification des champignons dermatophytes

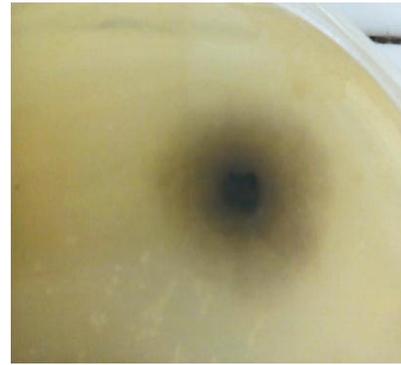
L'observation macroscopique et microscopique des mycéliums isolés et purifiés nous a permis d'avoir les caractéristiques suivantes :

##### \* Mycélium 1

**Observation macroscopique :** Le mycélium était aplati, duveteux, blanc et au centre noir. Il était surélevé au milieu. A l'état âgé, l'aspect devenait poudreux. Le revers était gris avec un centre noir (Figure 4). Cette moisissure avait une croissance assez rapide.



A : Recto de la boîte de Pétri



B : Verso (revers) de la boîte de Pétri

**Figure 4** : Aspect macroscopique du mycélium 1 sur PDA après 72 h.

**Observation microscopique** : Le mycélium était marron, septé et ramifié. Il était large et avait un aspect tortueux. De nombreuses macro-conidies pluricellulaires étaient produites. Elles étaient ornementées, de forme allongée et septées transversalement. Ces cellules étaient isolées les unes des autres (non en chainettes) (**Figure 5**).

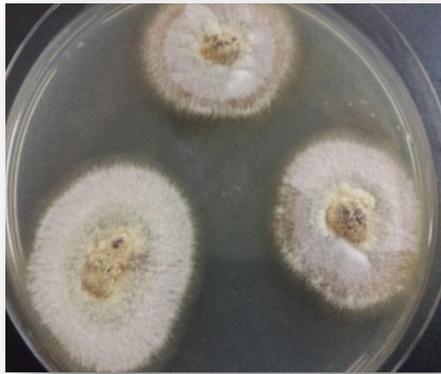


**Figure 5** : Aspect microscopique du mycélium 1 (grossissement x40)

✚ La caractérisation du mycélium 1 indiquait clairement qu'il s'agissait de *Microsporium gypseum* (Botton *et al.* 1990).

#### \* Mycélium 2

**Aspect macroscopique** : Le mycélium était blanc, poudreux et aplati. Le centre était granuleux, surélevé et virant vers le beige. Au revers de la boîte, le thalle était brun jaunâtre à saumon (**Figure 6**). La croissance de ce mycélium était moyennement rapide.



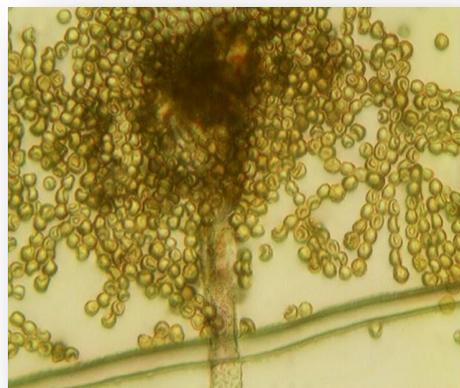
A : Recto



B : Verso (revers)

**Figure 6 :** Aspect macroscopique du mycélium 2 sur PDA après 72h.

**Aspect microscopique :** Le mycélium était septé, jaunâtre, portant de longs conidiospores ornementés et siphonnés. Des têtes aspergillaires étaient observées. Elles étaient bisériées et avaient des columelles (vésicules centrales) petites. Les conidies étaient disposées en chaînettes. Elles paraissaient ornementées et de forme irrégulière (**Figure 7**).



**Figure 7 :** Aspect microscopique du mycélium 2 (grossissement x40).

✚ La caractérisation du mycélium 2 indiquait l'espèce *Aspergillus versicolor* (Botton *et al.* 1990).

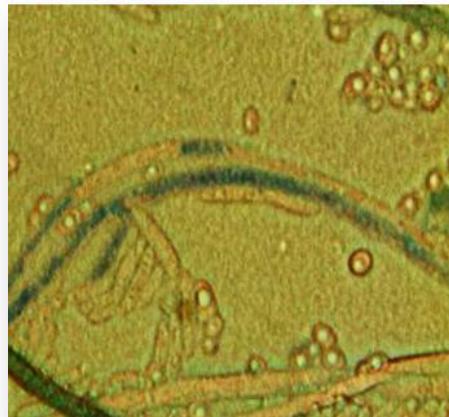
### \* Mycélium 3

**Observation macroscopique :** Le mycélium était laineux, blanc et avait une croissance rapide. Le revers est rougeâtre (**Figure 8**).



**Figure 8 :** Aspect macroscopique du mycélium 3 sur la gélose PDA après 72 h.

**Observation microscopique :** Le mycélium était mince, septé et formaient de nombreuses micro-conidies et macro-conidies. Les premières étaient rondes et unicellulaires, tandis que les secondes étaient allongées et septées transversalement (**Figure 9**).



**Figure 9 :** Aspect microscopique du mycélium 3 (grossissement x40).

➤ Le mycélium 3 correspondait donc à l'espèce *Trichophyton rubrum* (Botton *et al.* 1990).

#### \* Mycélium 4

**Aspect macroscopique :** Le mycélium était blanc, virant un peu à l'orange. Il était laineux et surélevé. Le revers était jaune orangé et fasciculé (**Figure 10**).



A : Recto



B : Verso (revers)

**Figure 10:** Aspect macroscopique du mycélium 4 sur la gélose PDA après 72h.

**Aspect microscopique :** Le mycélium était sépté et échinulé. Il produisait de nombreuses macro-conidies septées longitudinalement et allongées. Ces conidies se caractérisaient par la présence d'ornementations à leur surface. Elles paraissaient en effet échinulées (**Figure 11**).



**Figure 11 :** Aspect microscopique du mycélium 4 (grossissement x40).

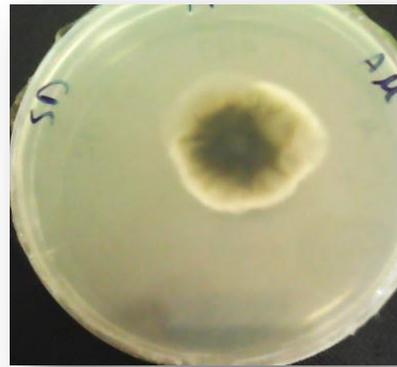
- Le mycélium 4 avait les caractéristiques culturelles et microscopiques de *Microsporium canis*. Il était donc identifié comme tel (**Botton et al. 1990**).

#### \* Mycélium 5

**Aspect macroscopique :** Le mycélium était blanc, aux bords irréguliers et duveteux. Le centre était surélevé et de couleur foncée. Le revers du thalle allait du verdâtre au vert foncé (**Figure 12**). La croissance du mycélium était moyennement rapide à lente.



A : Recto



B : Verso (revers)

**Figure 12 :** Aspect macroscopique du mycélium 5 sur la gélose PDA après 72h.

**Aspect microscopique :** Le mycélium était septé, ramifié et particulièrement échinulé. Il produisait des macro-conidies septés transversalement et de forme allongée. Ces conidies étaient pluricellulaires et pouvaient contenir jusqu'à huit cellules (**Figure 13**).



**Figure 13 :** Aspect microscopique du mycélium

(grossissement x 40, coloration par le bleu de méthylène).

- Le mycélium 5 était donc identifié comme étant l'espèce *Microsporium audouinii* (Botton *et al.* 1990).

\* Mycélium 6

**Observation macroscopique :** Le mycélium était blanc, duveteux, de faible densité et aérien. Au revers de la boîte de Pétri, il paraissait blanc au centre rosâtre (**Figure 14**).



**A :** Recto



**B :** Verso (revers)

**Figure 14 :** Aspect macroscopique du mycélium 6 sur PDA après 72 h.

**Observation microscopique :** Le thalle était tortueux, septé et ramifié. Il produisait de nombreuses arthrospores disposées en chaînes ou qui se détachaient pour se disposer en amas (**Figure 15**).



**Figure 15 :** Aspect microscopique du mycélium 6 (grossissement x40).

- Le mycélium 6 avait les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de *Trichophyton verrucosum* (**Botton et al. 1990**).

- ❖ Les moisissures isolées des différents prélèvements étaient donc *Microsporium gypseum*, *Aspergillus versicolor*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis*, *Microsporium audouinii* et *Trichophyton verrucosum*.

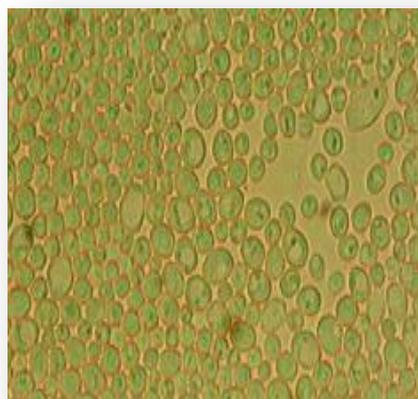
### II-3- Confirmation de la pureté des *Candida*

*Candida albicans* : Sur gélose, *Candida albicans* était sous forme de colonies blanchâtres, globuleuses, légèrement surélevées, crémeuses et lisses (**Figure 16**). Sous microscope, les cellules apparaissaient sous forme ovoïde et étaient pigmentées en bleu. Leur reproduction se faisait par bourgeonnement (**Figure 17**). La similitude des cellules indiquaient que l'espèce était pure.

Dans le sérum physiologique à 37°C, la levure formait des pseudo-mycéliums avec des chlamydospores et des cellules ressemblant aux blastospores. Ces structures confirmaient qu'il s'agissait de *Candida albicans* (**Figure 18**).



**Figure 16** : Aspect macroscopique de *Candida albicans* sur PDA après 24 h



**Figure 17** : Aspect microscopique de *Candida albicans* (grossissement x40).

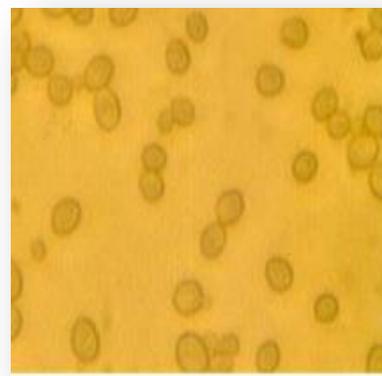


**A** : Bourgeonnement donnant des blastospores.

**B** : Pseudomycélium avec chlamydozoospores.

**Figure 18** : Formes caractéristiques de *Candida albicans* (grossissement x40).

***Candida glabrata*** : *Candida glabrata* était sous forme de colonies blanchâtres, rondes, plates, crémeuses et brillantes (**Figure 19**). Sous microscope, les cellules apparaissaient sous forme ovoïde. Elles étaient bourgeonnantes et de couleur verdâtre (**Figure 20**). La similitude des cellules confirmait la pureté de l'espèce.



**Figure 19** : Aspect macroscopique de *Candida glabrata* sur PDA après 24.

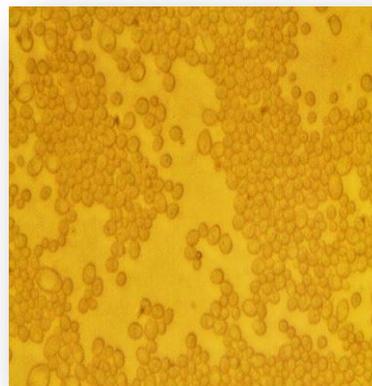
**Figure 20** : Aspect microscopique de *Candida glabrata* (grossissement x40).

***Candida sp.*** : *Candida sp.* était sous forme de petites colonies blanches, rondes, lisses et crémeuses (**Figure 21**). L'observation microscopique montrait des petites cellules identiques : rondes, bourgeonnantes et déposées en amas (**Figure 22**).

L'observation de la culture et des cellules sous microscope indiquait que l'espèce était pure.



**Figure 21:** Aspect macroscopique de *Candida sp.* sur PDA après 72h



**Figure 22 :** Aspect microscopique du *Candida sp.* (grossissement x40)

### III-4- Résultats de l'activité antifongique des huiles végétales

Les résultats de l'activité antifongiques des huiles sur les dermatophytes sont enregistrés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Activité antifongique des huiles végétales sur les moisissures (exprimées en mm).

(-) : Absence de croissance fongique.

**Chiffre en gras** : bonne activité antifongique.

**Chiffres en gras \*** : faible activité antifongique.

	Huile d'olives	Huile de lentisque	Huile de nigelle	Huile de ricin	Huile de cade	Amphotéricine B
<i>Microsporum gypseum</i>	27 mm	<b>18 mm</b>	24 mm	28 mm	22 mm	17 mm
<i>Aspergillus versicolor</i>	-	25 mm	24 mm	25 mm	<b>16 mm</b>	-
<i>Trichophyton rubrum</i>	28 mm	<b>17 mm</b>	22 mm	<b>37 mm*</b>	20 mm	17 mm
<i>Microsporum canis</i>	-	22 mm	24 mm	30 mm	24 mm	20 mm
<i>Microsporum audouinii</i>	30 mm	22 mm	<b>17 mm</b>	20 mm	22 mm	18 mm
<i>Trichophyton verrucosum</i>	24 mm	25 mm	24 mm	<b>35 mm*</b>	<b>35 mm*</b>	20 mm

L'espèce *Microsporum gypseum* a donné un petit mycélium de 18 mm en présence de l'huile de lentisque, et de 22 mm, 24 mm, 27 mm et 28 mm en présence de l'huile de cade, l'huile de nigelle et l'huile d'olive respectivement. Ceci indiquait que l'espèce était sensible à toutes les huiles végétales utilisées, notamment l'huile de lentisque et l'huile de cade.

L'huile d'olives a montré une forte activité vis-à-vis *Aspergillus versicolor*, cette espèce était aussi sensible à l'huile de cade (**Figure 23**), sur laquelle elle a donné un petit mycélium de 16 mm. Par contre, l'huile de lentisque, l'huile de nigelle, l'huile de ricin avaient une faible activité sur cette espèce.

L'espèce *Trichophyton rubrum* a montré une grande sensibilité vis-à-vis de l'huile de lentisque. Une bonne activité a aussi été enregistrée par l'huile de nigelle et l'huile de cade. L'huile d'olives avait une activité modérée sur cette espèce. Par contre, nous avons remarqué une résistance totale à l'huile de ricin. En effet, sur cette huile, la moisissure avait atteint 37 mm de diamètre en seulement trois jours de culture (**Figure 24**).

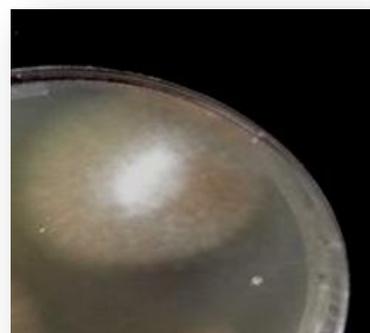
*Microsporum canis* était principalement sensible à l'huile d'olives. D'un autre côté, l'huile de lentisque avait une bonne activité, suivie de l'huile de cade et l'huile de nigelle. La plus faible activité antifongique contre cette espèce était donnée par l'huile de ricin (**Figure 25**).

L'espèce *Microsporum audouinii* a donné une faible croissance en présence de l'huile de nigelle (**Figure 24**). Ceci montrait que cette huile avait une bonne activité sur l'espèce. Venaient après, l'huile de ricin, l'huile de cade et l'huile de lentisque qui avaient des activités moins importantes. L'huile d'olives a donné la plus faible activité sur *Microsporum audouinii*.

Sur *Trichophyton verrucosum*, l'huile d'olives, l'huile de lentisque et l'huile de nigelle ont présenté une bonne activité antifongique. Mais, l'huile de ricin et l'huile de cade avaient une faible activité sur cette moisissure.



**Figure 23 :** Activite antifongique de l'huile de cade sur *Aspergillus versicolr*



**Figure 24 :**Activité antifongique de l'huile de ricin sur *Trichophyton rubrum*



**Figure 25 :** Activité antifongique de l'huile ricin sur *Microsporium canis*



**Figure 26 :** Activité antifongique de L'huile de nigelle sur *M. audouinii*

Les résultats de l'activité antifongique sur les *Candida* ont démontré que l'huile d'olives n'avait aucune activité vis-à-vis *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.*(**Figure 27**). Les mêmes résultats ont été notés avec l'huile de lentisque (**Figure 28**) et l'huile de ricin (**Figure29**). L'huile de cade, par contre, avait une forte activité antifongique sur *Candida glabrata* et *Candida sp.*,mais pas sur *Candida albicans*(**Figure 29**). Les résultats ont aussi montré que l'huile de nigelle avait une bonne activité antifongique sur *Candida sp.*, mais aucune sur *Candida glabrata* et *Candida albicans* (**Figure 30**) (**Tableau 4**).

**Tableau 4 :** Activité antifongique des huiles vegetales sur les *Candida*.

(++) : Présence de croissance fongique → absence d'activité antifongique.

(-) : Absence de croissance fongique → présence d'activité antifongique.

(+) : Présence d'une faible croissance fongique → présence d'une faible activité antifongique.

	Huile d'olives	Huile de lentisque	Huile denigelle	Huile de ricin	Huile de cade	Amphotéricine B
<i>Candida Albicans</i>	++	++	++	++	+	-
<i>Candida Glabrata</i>	++	++	++	++	-	+
<i>Candisa sp.</i>	++	++	+	++	-	+



A: *Candida albicans*

B : *Candida glabrata*

C : *Candida sp.*

Figure 27 : Activité antifongique de l'huile d'olives sur les *Candida*.



A: *Candida albicans*.

B : *Candida glabrata*.

C : *Candida sp.*

Figure 28 : Activité antifongique de l'huile de lentisque sur les *Candida*.



A : *Candida C. albicans*.

B : *Candida glabrata*

C : *Candida sp.*

Figure 29 : Activité antifongique de l'huile de ricin sur les *Candida*.



**A :** *Candida albicans*

**B :** *Candida glabrata*

**C :** *Candida sp.*

**Figure 30 :** Activité antifongique de l'huile de cade sur les *Candida*.



**A :** *Candida albicans*

**B :** *Candida glabrata*

**C :** *Candida sp.*

**Figure 31 :** Activité antifongique de l'huile de nigelle sur les *Candida*.

Trois espèces ont été isolées à partir des échantillons d'ongles : *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* et *Aspergillus versicolor*. Des études antérieures ont déjà montré que ces espèces étaient responsables d'onychomycoses (**Tchernev et al. 2013**).

*Microsporum canis*, *Microsporum audouinii* et *Trichophyton verrucosum*, quant à elles, étaient des espèces isolées à partir des cheveux infectés. Les travaux de **Neji et ses collègues (2009) et de Kallel et ses collaborateurs (2017)** affirmaient que ces espèces étaient en réalité les causes majeures des teignes du cuir chevelu. En effet, ces études indiquaient que plus de 80 % de des teignes étaient causées par *Microsporum canis*, *Microsporum audouinii* et *Trichophyton verrucosum* (**Neji et al. 2009; Kallel et al. 2017**) ; sachant que *Microsporum canis* et *Trichophyton verrucosum* sont des espèces zoophiles, qui contaminent l'être humain par contact des animaux et *Microsporum audouinii* est un pathogène anthropophile qui ne se transmet qu'entre les hommes (**ANOFEL 2014**).

*Trichophyton rubrum* était isolée de deux échantillons d'ongles sur trois, contrairement à *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* et *Aspergillus versicolor* qui n'étaient apparus qu'une fois chacun. Les résultats de **Tchernev et al. (2013)** ont rapporté que *Trichophyton rubrum* était l'espèce la plus courante dans les onychomycoses ce qui rejoignait nos résultats.

L'huile d'olives avait une forte activité seulement sur *Aspergillus versicolor* et *Microsporum canis*. Par contre, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton verrucosum*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.* s'étaient avérées résistantes. Aucune autre étude n'a été trouvée sur l'effet de l'huile d'olives sur ces espèces, sauf sur les *Candida* : Les travaux de **Devkatta et al. (2005)** qui portaient sur *Candida albicans* ont montré que cette levure était effectivement insensible à huile d'olives. Et au contraire, les travaux de **Goel et al. (2016)** ont indiqué que l'huile d'olives avait une bonne activité sur la majorité des espèces du genre *Candida*, y compris *Candida albicans*.

Cette différence de résultats pouvait s'expliquer par la différence de constitution et/ou la nature de l'huile utilisée. **Geweely (2006)** a démontré que l'application régulière de l'huile d'olives adoucissait les ongles affectés. Cela pouvait aider à prévenir la sécheresse des ongles, mais ne guérissait pas nécessairement la mycose, sauf si l'huile d'olives était mélangée avec d'autres huiles ou traitements. **Geweely (2006)** a confirmé cette hypothèse avec l'huile d'olives ozonée (dite ozolive) qui avait une bonne activité inhibitrice contre *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* et *Candida albicans*.

Nos résultats ont indiquaient que l'huile de nigelle avait une activité vis-à-vis *Microsporium gypseum* et *Microsporium canis*. Ceci était conforme aux travaux de **Mahmoud et ses collaborateurs (2014)** qui indiquaient que l'huile de nigelle avait un effet antifongique puissant sur ces deux dermatophytes. Ces chercheurs ont attribué l'activité antifongique de cette huile à sa teneur élevée en thymoquinone (**Mahmoud et al. 2014**). D'autres études confirmaient aussi que l'huile de nigelle avait une bonne activité sur *Trichophyton rubrum*, conformément à nos résultats (**Aljabre et al. 2005**).

Dans notre travail, l'huile de nigelle avait une bonne activité contre *Candida sp.* mais pas sur *C. albicans* et *C. glabrata*, contrairement aux travaux de **Sitheeque et al. (2009)** qui affirmaient que les phénols présents dans cette huile avaient une activité sur la majorité des espèces du genre *Candida*, comme *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. kruseii* et *C. parapsilosis* qui étaient couramment isolées des mycoses humaines.

Les espèces *Microsporium gypseum*, *Aspergillus versicolor*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporium canis*, *Microsporium audouinii*, *Candida glabrata* et *Candida sp.* ont montré une sensibilité vis-à-vis de l'huile de cade. Par contre, cette huile n'avait aucune activité inhibitrice sur *Trichophyton verrucosum* et *Candida albicans*. Ces résultats rejoignaient ceux de **Devkatte et al. (2005)** qui indiquaient que l'huile de cade n'avait aucune activité sur *Candida albicans* et les travaux de **Bensgueni (2001)** qui affirmaient que cette huile était efficace contre *Microsporium canis*.

L'huile de cade était utilisée pendant des générations sous le nom de « Cedria » pour traiter l'eczéma, l'acné, le psoriasis, la teigne et la gale. Elle était réputée pour guérir un grand nombre d'infections cutanées (**Bensgueni 2001**). Nos résultats contribuaient à préciser les espèces et donc les types de mycoses qui pouvaient être soignées par cette huile.

L'huile de ricin avait une faible activité sur *Microsporium gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Aspergillus versicolor*, *Microsporium canis* et *Trichophyton verrucosum*. En revanche, elle avait une bonne activité antifongique sur *Microsporium audouinii*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.* Ces résultats se conformaient aux travaux de **Garg et al. (1985)** qui indiquaient que l'huile de ricin avait une bonne activité inhibitrice sur *Microsporium gypseum* et à ceux de **Devkatte et al. (2005)** qui a montré que l'huile de ricin avait une forte activité antifongique contre *Candida albicans*. D'un autre côté, aucune autre étude plus récente n'a apporté plus de précisions sur les types de dermatophytes sensibles à cette huile ou sur son mode d'action pour expliquer l'activité antifongique.

L'huile de lentisque n'était pas dotée d'une activité inhibitrice contre *Aspergillus versicolor*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.* Par contre, elle a montré une bonne activité antifongique vis-à-vis *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum audouinii* et *Trichophyton verrucosum*. Les travaux d'**Ali-Shtayeh** et **AbuGhedib (1999)** confirmaient que l'huile de lentisque avait une forte activité contre *Microsporum canis*.

Notre travail a été mené afin d'étudier l'activité antifongique de l'huile d'olives, l'huile de nigelle, l'huile de lentisque, l'huile de ricin et l'huile de cade sur des champignons responsables des mycoses humaines.

Les prélèvements effectués à partir des ongles et des cheveux infectés ont permis d'isoler six moisissures dermatophytes. Ces dernières ont été identifiées comme étant *Microsporum gypseum*, *Aspergillus versicolor*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton verrucosum*. »

L'activité antifongique des huiles végétales testées sur ces espèces et sur *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida sp.* a permis d'observer que chaque huile avait une activité différente. En effet, l'activité antifongique variait énormément selon l'huile utilisée et l'espèce testée.

La grande plus activité antifongique a été enregistrée pour l'huile d'olives sur *Aspergillus versicolor* et *Microsporum canis*, et par l'huile de cade sur *C. glabrata* et *Candida sp.* Viennent après, l'huile de cade qui a donné une bonne activité sur *Aspergillus versicolor* et de l'huile de lentisque sur *Microsporum gypseum* et *Trichophyton rubrum*.

Pour les dermatophytes, les plus faibles activités antifongiques étaient données par l'huile de ricin sur *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton verrucosum* et par l'huile de cade toujours sur *Trichophyton verrucosum*.

Aussi, nous avons noté que l'espèce *Trichophyton verrucosom* était la plus résistante vis-à-vis les cinq huiles. En effet, cette espèce a donné les plus grands diamètres de croissance une fois cultivée sur les géloses contenant les huiles végétales.

*Aspergillus versicolor*, *Microsporum canis*, *C. glabrata* et *Candida sp.* étaient les seules espèces à avoir été entièrement inhibées ; les deux premières avec l'huile d'olives et les deux autres avec l'huile de cade. D'après nos résultats, aucune autre inhibition totale n'a été obtenue.

Cette différence du degré d'activité laissait remarquer que pour envisager l'utilisation des huiles végétales afin de traiter les mycoses humaines, il fallait bien choisir l'huile appropriée ; car une grande spécificité existait entre l'huile et les champignons.

## Références bibliographique

---

### A

- Akroum, S., (2012) Isolement des moisissures du sol capables de dégrader les tannins condensés et mesure de l'activité de la tannase. Archives des Sciences; 65(3): 28-33.
- Aljabre, S. H. M., Randhawa, M. A., Akhtar, N., Alakloby, O. M., Alqurashi, A. M., Aldossary, A. (2005). Antidermatophyte activity of ether extract of *Nigella sativa* and its active principle, thymoquinone. Journal of Ethnopharmacology, 101(1), 116-119.
- Al Shima, A. S. M., Ouf, S. A., Moussa, T. A., Eltahlawi, S. M. R. (2015). Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt. Brazilian Journal of Microbiology, 46(3), 799-805.
- ANOFEL (Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie). Dermatophytoses ou dermatophyties. Editions Université Médicale Virtuelle Francophone. 2014. 3-4.

### B

- Bakal, S. N., Bereswill, S., Heimesaat, M. M. (2017). Finding novel antibiotic substances from medicinal plants-Antimicrobial properties of *Nigella sativa* directed against multidrug resistant bacteria. European Journal of Microbiology and Immunology, 7(1), 92-98.
- Bates, P. D., (2016). Understanding the control of acyl flux through the lipid metabolic network of plant oil biosynthesis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1861(9), 1214-1225.
- Benseguini, T. (2001). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de : *Inulaviscosa*- *Asphodelus microcarpus* – *Aloe vera* – *Juniperus oxycedrus*. (Thèse de doctorat). Université des Frères Mentouri (Constantine).
- Banat, I. M., Satpute, S. K., Cameotra, S. S., Patil, R., Nyayanit, N. V. (2014). Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants production, (5), 697.
- Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, Ph., Larpent, J., Reymond, P., Sanglier, J., Vassier, Y., Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2<sup>e</sup> Edition Masson. 16-400.
- Bouchet, P., Guignard, J., Pouchus, Y. (2005). Les champignons: Mycologie fondamentale et appliquée. Editions Masson. Pages : 3-70.

## Références bibliographique

---

- Boivin, F. (2007). Les oméga-3 en périnatalogie. Québec Pharmacie, 54(7). Blandin, S., David, G. (2008). L'aspergillose en pratique pour le pneumologue. Revue de Pneumologie Clinique, 64(4), 202-210.

### C

- Carrillo-Muñoz, A. J., Giusiano, G., Cárdenes, D., Hernández-Molina, J. M., Eraso, E., Quindós, G., Guarro, J. (2008). Terbinafine susceptibility patterns for onychomycosis-causative dermatophytes and *Scopulariopsis brevicaulis*. International journal of antimicrobial agents, 31(6), 540-543.
- Chabasse, D ; & Guiguen, CP. (1999). Mycologie Médicale, Paris: Masson.
- Cherki, M., Drisi, A., Derouiche, A., El Messal, M., Barnou, Y., Idrissi-Oudgh, A., & Adlouni, A. (2004). Influence of argan oil administration on lipid peroxidation and paraoxonase activities in healthy moroccan men. In atherosclerosis suppléments, 5(1), 113-113.
- Contet-Audonneau, N., & Schmutz, J. (2001). Antifongiques et mycoses superficielles. Revue Française des Laboratoires, 2001(332), 37-48.
- Cuvelier, M. E., Maillard, M. N. (2012). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 19(2), 125-132.

### D

- Devkatte, A. N., Zore, G. B., & Karuppayil, S. M. (2005). Potential of plant oils as inhibitors of *Candida albicans* growth. FEMS Yeast Research, 5(9), 867-873.
- Diaz, A., Pascal, J., Monnin, L., Bousquet, C., Amat, C., & Michault, A. (1996). Cerebral chromoblastomycosis. Apropos of a case. Review of the literature. Neuro-Chirurgie, 42(2), 95.
- Dijkstra, A. J., & Segers, J. C. (2007). Production and refining of oils and fats. The Lipid Handbook, (143)-262.

### E

- Elias, S., Wisam, S., Luai, A., Massad, B., & Nimer, A. (2017). Lipotoxicity in Obesity: Benefit of Olive Oil. Advances in Experimental Medicine and Biology, 607-617.
- Evrard, J., Pagès-Xatart-Pares, X., Argenson, C., Morin, O. (2007). Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 42(1), 13-23.

## Références bibliographique

---

### F

-Fararh, K. M., Atoji, Y., Shimizu, Y., & Takewaki, T. (2002). Isulinotropic properties of *Nigella sativa* oil in Streptozotocin plus Nicotinamide diabetic hamster. *Research in Veterinary Science*, 73(3), 279-282.

### G

-Gangneux, J. P., Poirot, J. L., Morin, O., Derouin, F., Bretagne, S., Datry, A., Bordes, M. (2002). Surveillance mycologique de l'environnement pour la prévention de l'aspergillose invasive: propositions de standardisation des méthodologies et des modalités d'application. *La Presse Médicale*, 31(18), 841-848.

-Garg, A. P., Smith, S. N., & Pugh, G. J. F. (1985). Inhibition of growth of keratinophilic fungi by oils and fatty acids. *Transactions of the British Mycological Society*, 85(2), 367-370.

-Gentilini M, Caumes E, Danis Martin, Richard-Lenoble D, Bégué Pierre, Touze J.E, KerouédanD, *Médecine Tropicale*. 6<sup>e</sup> édition Brigitte Peyrot. 2012. Page 438.

-Geweely, N. S. (2006). Antifungal activity of ozonized olive oil (Oleozone). *International Journal of Agriculture and Biology*, 8(5), 671-8.

-Ghnimi, w. (2015). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées : *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. (Thèse de doctorat). Université de Lorraine (France) et Université de Carthage (Tunisie).

-Ghannoum, M. A., Isham, N. C. (2009). Dermatophytes and dermatophytoses. *Clinical Mycology*, 2.

-Goel, N., Rohilla, H., Singh, G., Punia, P. (2016). Antifungal Activity of Cinnamon Oil and Olive Oil against *Candida* Spp. Isolated from Blood Stream Infections. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*., 10(8), DC09.

-Guillot, J. (1999). Le diagnostic biologique des mycoses animales. *Revue Française des Laboratoires*, (310), 57-64.

### H

-Hamoud, H. A., Abdelouahed, K., Lazri, L., Bekhouche, S., Ghirieb, S., Ayat, A. L., & Cherfi, L. (2016). Apport du Western blot dans le diagnostic biologique de l'aspergillose. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(2), 18.

-Hebecker, B., Vlaic, S., Conrad, T., Bauer, M., Brunke, S., Kapitan, M., & Jacobsen, I. D. (2016). Dual-species transcriptional profiling during systemic candidiasis reveals organ-specific host-pathogen interactions. *Scientific Reports*, 6:36055.

### K

-Kauffman, C. A. (2006). Endemic mycoses: blastomycosis, histoplasmosis, and sporotrichosis. *Infectious Diseases Clinics*, 20(3), 645-662.

-Kaur, S., & Singh, S. (2013). Biofilm formation by *Aspergillus fumigatus*. *Medical Mycology*, 52(1), 2-9.

-Kanter, M., Coskun, O., & Uysal, H. (2006). The antioxidativ and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone, on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Archives of Toxicology*, 80, 217-224.

-Kah, N. (2011). Dermatophyties, candidoses et autres mycoses superficielles : rôles du pharmacien d'officine. (Thèse de Doctorat). Université Henri Poincare

-Kallel, A., Hdider, A., Fakhfakh, N., Belhadj, S., Belhadj-Salah, N., Bada, N., & Kallel, K. (2017). Teignes du cuir chevelu: principale mycose de l'enfant. Étude épidémiologique sur 10 ans à Tunis. *Journal de Mycologie Médicale*.

-Karleskin, A., Gibbon, F., Triviaux, S. (1996). Chromatographic analysis of unsaponifiable compounds of olive oils and fat-containing foods. *Journal of Chromatography A*, 881(1), 105-129.

-Kermani, F., Shams-Ghahfarokhi, M., Gholami-Shabani, M., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2016). Diversity, molecular phylogeny and fingerprint profiles of airborne *Aspergillus* species using random amplified polymorphic DNA. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(6), 1-10.

-Khan, M. A. (1999). Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. *Inflammopharmacology*, 7(1), 15-35.

## Références bibliographique

---

-Koren, F. L., Alonso, C. S., Alcalá-Galiano, R. A., & Sánchez, N. M. (2013). The different manifestations of pulmonary aspergillosis: multidetector computed tomography findings. *Radiologia*, 56(6), 496-504.

### L

-Lecerf, J. (2011). Les huiles végétales: particularités et utilités: Vegetableoils: Particularities and usefulness. *Médecine des maladies Métaboliques*, 5(3), 257-262.

-Li, Y., Wan, Z., & Li, R. (2014). In vitro activities of nine antifungal drugs and their combinations against *Phialophora verrucosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(9), 5609-5612.

-Lionakis, M. S. (2014). New insights into innate immune control of systemic candidiasis. *Medical Mycology*, 52(6), 555-564.

-Lortholary, O., Guillemin, L., & Dupont, B. (1995). Les manifestations extra-pulmonaires de l'aspergillose invasive. In *Annales de médecine interne*, 146 (2), 96-101.

### M

-Maameri, Z., Beroual, K., Djerrou, Z., Habibatni, S., Benlaksira, B. Serakta, M. Mansour-Djaalab, H., Kahlouche-Riachi, F., Bachtarzi, K., & Hamdi Pacha, Y. (2012). Preliminary study to assess cicatrizing activity of honey and Pistacialentiscus fatty oil mixture on experimental burns in rabbits. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 2, (3) : 476-480.

-Mahmoud, H., Sepahvand, A., Jahanbakhsh, S., Ezatpour, B., Mousavi, S. A. (2014). Evaluation of antifungal activities of the essential oil and various extracts of *Nigella sativa* and its main component, thymoquinone against pathogenic dermatophyte strains. *Journal de Mycologie Médicale*, 24(4), 155-161.

-Medina, E., de Castro, A., Romero, C., & Brenes, M. (2006). Comparison of the concentrations of phenolic compounds in olive oils and other plant oils: correlation with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(14), 4954-4961.

-Medizinische Wochenschrift, 163(1-2), 1-12. Tillie-Leblond, I., Le Rouzic, O., & Cortot, A. (2012). Aspergillose bronchopulmonaire allergique. *Revue française d'allergologie*, 52(3), 134-137.

-Merseguel, K. B., Nishikaku, A. S., Rodrigues, A. M., Padovan, A. C., e Ferreira, R. C., de AzevedoMelo, A. S., Colombo, A. L. (2015). Genetic diversity of medically important and emerging *Candida* species causing invasive infection. *BMC infectious diseases*, 15(1), 57.

## Références bibliographique

---

-Mezni, F., Khaldi, A., Maaroufi, A., Hamrouni, L., Msallem, M., Boussaid, M., & Khouja, M. L. (2012). Composition en acide gras et propriétés biologiques de l'huile fixe des fruits de pistacialentiscus. In International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM, 997, 219-224.

-Miller, M. G., & Johnson, A. D. (2002). White-opaque switching in *Candida albicans* is controlled by mating-type locus homeodomain proteins and allows efficient mating. *Cell*, 110(3), 293-302.

-Morin, O., Pagès-Xatart-Parès, X. (2012). Huiles et corps gras végétaux: ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 19(2), 63-75.

### N

-Neji, S., Makni, F., Cheikhrouhou, F., Sellami, A., Sellami, H., Marreckchi, S., & Ayadi, A. (2009). Epidemiology of dermatophytoses in Sfax, Tunisia. *Mycoses*, 52(6), 534-538.

### O

-Oliveira, J. A. A. D., Barros, J. D. A., Cortez, A. C. A., & Oliveira, J. S. R. L. D. (2006). Superficial mycoses in the City of Manaus. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 81(3), 238-243.

### P

-Papp, L., Sipiczki, M., Holb, I. J., & Miklós, I. (2014). Optimal conditions for mycelial growth of *Schizosaccharomyces japonicus* cells in liquid medium: it enables the molecular investigation of dimorphism. *Yeast*, 31(12), 475-482.

-Papon, N., Courdavault, V., Clastre, M., & Bennett, R. J. (2013). Emerging and emerged pathogenic *Candida* species: beyond the *Candida albicans* paradigm. *Plos Pathogens*, 9(9), e1003550.

-Park, S. G., Oh, S. H., Suh, S. B., Lee, K. H., Chung, K. Y. (2005). A case of chromoblastomycosis with an unusual clinical manifestation caused by *Phialophora verrucosa* on an unexposed area: treatment with a combination of amphotericin B and 5-flucytosine. *British Journal of Dermatology*, 152(3), 560

-Pihet, M., Marot, A. (2013). Diagnostic biologique des candidoses. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(450), 47-61.

## Références bibliographique

---

### R

-Rahmati, H., Salehi, S., Malekpour, A., & Farhangi, F. (2015). Antimicrobial activity of castor oil plant (*Ricinus communis*) seeds extract against gram positive bacteria, gram negative bacteria and yeast. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 11(1), 9-12.

### S

-Sarwar, A., & Latif, Z. (2015). GC–MS characterisation and antibacterial activity evaluation of *Nigella sativa* oil against diverse strains of *Salmonella*. *Natural product research*, 29(5), 447-451.

-Sitheeque, M. A. M., Panagoda, G. J., Yau, J., Amarakoon, A. M. T., Udagama, U. R. N., Samaranyake, L. P. (2009). Antifungal activity of black tea polyphenols (catechins and theaflavins) against *Candida* species. *Chemotherapy*, 55(3), 189-196.

-Staniszewska, M., Bondaryk, M., Swoboda-Kopec, E., Siennicka, K., Sygitowicz, G., Kurzatkowski, W. (2013). *Candida albicans* morphologies revealed by scanning electron microscopy analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 813-821.

### T

-Tabassum, N., & Vidyasagar, G. M. (2014). *In vitro* antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(10), 4493.

-Takazono, T., & Sheppard, D. (2016). *Aspergillus* in chronic lung disease: Modeling what goes on in the airways. *Sabouraudia*, 55(1), 39-47.

-Tchernev, G., Penev, P. K., Nenoff, P., Zisova, L. G., Cardoso, J. C., Taneva, T., & Nocheva, D. (2013). Onychomycosis: modern diagnostic and treatment approaches. *WMW Wiener Medizinische Wochenschrift*, 1-12.

-Thompson, G. R., Patterson, T. F. (2011). Pulmonary aspergillosis: recent advances. In *Seminars in respiratory and critical care medicine*. © Thieme Medical Publishers, 32 (06), 673-681.

## Références bibliographique

---

### Y

- Vélez-Ponce, J., Ponce-Olivera, R. M., Bonifaz, A., Araiza-Santibañez, J., Tirado-Sánchez, A. (2016). Species isolated as the cause of onychomycosis in patients with pemphigus vulgaris. *Revista Médica del Hospital General de México*, 79(1), 1-4.
- Vorathavorn, V. I., Sykes, J. E., Feldman, D. G. (2013). Cryptococcosis as an emerging systemic mycosis in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(5), 489-497.
- Vyas, A., Pathan, N., Sharma, R., Vyas, L. (2013). Clinicomycological study of cutaneous mycoses in sawai man singh hospital of jaipur, North India. *Annals of medical and health sciences research*, 3(3), 593-597.

### Y

- Yousuf, A. (2012). Biodiesel from lignocellulosic biomass—Prospects and challenges. *Waste Management*, 32(11), 2061-2067.

**Préparation de la gélose PDA :**

Constituants pour 1 litre de milieu : 200 g de pomme de terre, 20 g de glucose et 20 g d'agar

- **Préparation** : Découper en petits cubes les pommes de terre déjà lavées, puis les mettre dans un litre d'eau distillée et porter à ébullition sur une plaque chauffante. Après 30 minutes, filtrer à l'aide d'une compresse stérile et récupérer l'eau dans un bécher, lui ajouter le glucose et l'agar, puis remettre le volume à 1 litre en ajoutant de l'eau distillée stérile. A la fin, ajuster le pH du milieu à 6,5 et bien homogénéiser le tout sur une plaque chauffante avec faible agitation.

La stérilisation du milieu était effectuée à 120°C pendant 20 minutes.

## Activité antifongique de quelques huiles végétales sur les champignons responsables de mycoses humaines

### Présenté par :

M<sup>elle</sup> Khechmar Dounia.

M<sup>elle</sup> Zaafrî Sonia.

### Encadré par :

Dr. Akroum S.

Soutenue le : 22 / 06 / 2017.

### Résumé

Les mycoses humaines sont devenues de plus en plus répandues et résistantes aux traitements courants. Dans ce travail, nous avons comme objectif de tester l'activité antifongique de quelques huiles végétales : l'huile d'olives, l'huile de nigelle, l'huile de lentisque, l'huile de ricin et l'huile de cade sur des champignons responsables de mycoses humaines. Donc, nous avons prélevé des dermatophytes à partir de différents sujets atteints des mycoses superficielles. Puis nous les avons isolés et identifiés. L'activité antifongique des huiles végétales a été testée en cultivant les espèces sur des milieux contenant ces huiles. D'autres espèces du genre *Candida* ont aussi été testées. Les résultats obtenus ont montré que toutes les huiles avaient une activité antifongique sur au moins une espèce. L'huile d'olives a exercé la plus grande activité antifongique sur les *Aspergillus versicolor* et *Microsporum canis*. Par contre, la plus faible activité a été apportée par l'huile de ricin, notamment sur *Trichophyton rubrum*. *Candida albicans* a montré une résistance vis-à-vis toutes les huiles végétales utilisés, elle était donc considérée la plus résistante.

**Mots clés :** Dermatophytes, mycoses humaines, moisissures, isolement, identification, activité antifongique, huiles végétales.

### Abstract

Human mycoses have become very widespread and resistant to common treatments. In this study, we tested the antifungal activity of some vegetable oils: olive oil, nigella oil, lentisk oil, castor oil and cade oil on fungi which caused human mycoses. So, we isolated dermatophytes from different persons infected by superficial mycosis, then we isolated and identified the responsible species. The antifungal activity was tested by cultivating fungi on media containing vegetable oils. In addition to the isolated dermatophytes, some species of the genus *Candida* have also been tested. The results showed that all the oils had an antifungal activity, at least on one species. The olive oil had the greatest antifungal activity on *Aspergillus versicolor* and *Microsporum canis*. On the other hand, the lowest activity was provided by castor oil, especially against *Trichophyton rubrum*. *Candida albicans* showed a resistance to all the tested oils, so it was considered as the most resistant species.

**Keywords:** Dermatophytes, human mycosis, mold, isolation, identification, antifungal activity, vegetable oils.

### المخلص

اصبحت الفطريات الممرضة اكثر انتشارا واكثر مقاومة للعلاجات الشائعة ، في هذه الدراسة قمنا باختبار النشاط المضاد للفطريات لبعض الزيوت: زيت الزيتون ، زيت الحبة السوداء، زيت الضرو، زيت الخروع و زيت القطران على مجموعة من الفطريات الممرضة بعد عزلها والتعرف عليها. تم اختبار النشاط المضاد للفطريات عن طريق زراعة مجموعة من الفطريات السطحية و اخرى تنتمي إلى جنس *Candida* في اوساط تحتوي على الزيوت المدروسة. اظهرت النتائج ان كل الزيوت لديها نشاط مضاد على الاقل اتجاه نوع من الفطريات حيث كان لزيت الزيتون النشاط الاكبر خصوصا ضد *Aspergillus versicolor* و *Microsporum canis* أما النشاط الاضعف فكان لزيت الخروع خصوصا ضد *Trichophyton rubrum* و اظهرت النتائج ايضا ان *Candida albicans* هو اكثر الانواع مقاومة للزيوت النباتية المدروسة .

**الكلمات المفتاحية:** الفطريات الممرضة ، الفطريات السطحية ، الزيوت النباتية ، العزل ، التعرف ، النشاط المضاد للفطريات .