République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté

AU DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures

Option: MICROBIOLOGIE

Effet de 5 types d'Huiles Essentielles de Thymus vulgaris

Sur quelques souches de Dermatophytes

Membres de jury:

Présenté par :

MR BOUDJERDA DJAMEL MR BOUHOUS

MR BOULDJEDRI MOHAMED

MUSTAPHA

Encadreur Président Examinateur

CHIHOUB AMEL SOUIADI WIDAD ABDELAZIZ SELMA



Année Universitaire 2004-2005

Ramarciaments

1

Avec nos profonds sentiments de respect et de reconnaissance, nous tenons à présenter nos sincères remerciements à tous ceux qui nous ont aidé de mener à bien ce mémoire.

A Notre encadreur Mr BOUDJERDA Djamel qui n'a jamais cessé de nous prodiquer se ses précieux conseils.

A Mr BOUROUTED Youssef spécialiste en biologie médicale et à Mr CHTHOUB

Kamel ingénieur agronome pour leur aide et leur conseils et encouragement qui nous ont permis

de mener à bien notre travail.

Nous tenons aussi à remercier tous les professeurs du département de la microbiologie et tous le personnel du laboratoire de l'université de Jijel en particulier ZENTR Sonia.

Nous remercions très vivement Mr. QULD JED XI Makemed et BOUHOUS Mustapha d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

WIDAD AMEL SELMA

SOMMAIRE

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

| CHAPITRE 1 : les Huiles Essentielles | | | |
|--|----|--|--|
| I-1. Historique | 1 | | |
| I-2. Définition | 1 | | |
| I-3. Origine des HE | 1 | | |
| I-4. Caractéres physico-chimiques des HE | 2 | | |
| I-4-1. Caractéres physiques | 2 | | |
| I-4-2. Caractéres chimiques | 2 | | |
| I-5. Toxicité des Hulles Essentielles | Ž | | |
| I-6. Composition des H.E | 2 | | |
| I-6-1. Les Terpenoides | 3 | | |
| I-6-2. Les Composés | 4 | | |
| I-6-3. Les Composés d'origine divers | 4 | | |
| I-7. Les procédés d'obtention des IIE | 5 | | |
| I-7-1. Par entraînement à la vapeur d'eau | รี | | |
| I-7-2. Par expression des épicarpes de citrus | 5 | | |
| I-7-3. Enfleurage | 5 | | |
| I-7-4. Extraction au CO2 | 6 | | |
| I-7-5. Macération | 6 | | |
| 1-7-6. Extraction aux solvants | | | |
| I-8. Conservation des H.E | 6 | | |
| | | | |
| CHAPITRE II : LES HUILES ESSENTIELLES DE Thymus vulgaris | | | |
| I-1. Classification | 7 | | |
| I-2. Description de la plante | 7 | | |
| I-3. Chimiotypes | 9 | | |
| I-4. Constituants des H.E de Thymus vulgaris | ŷ | | |
| I-5. Les propriétés des HE de <i>Thymus vulgaris</i> | 11 | | |

| I-5-1.Effet sur les procaryotes | 11 |
|---|------|
| a-Les propriétés antibacteriennes | 11 |
| b-Les propriétés antivirales | 11 |
| I-5-2.Effet sur les eucaryotes | 11 |
| a-Les propriétés antifongiques | 11 |
| b-Les propiétés antiparasitaires | 11 |
| 1-5-3.Effet sur l'organisme | 12 |
| a-Expectorant | 12 |
| b-Cicatrisant et stimulant | 12 |
| c-Anti-infectieux | 12 |
| d-Anti-inflammatoire | 12 |
| e-Anti-oxydant | 12 |
| I-5-4.Effet spasmolytique | 12 |
| I-6.Les domaines d'utilisation des II.E de T.vulgaris | 12 |
| I-6-1.Domaine cosmétique | 13 |
| I-6-2.Domaines agroalimentaire | 13 |
| 1-6-3.Domaine biologique | 13 |
| I-6-4.Domaine pharmaceutique | 13 |
| | |
| CHAPITRE III: LES DERMATOPHYTES | 14 |
| I-1.Généralité | 14 |
| I-2.Historique | 15 |
| I-3.Definition | 15 |
| I-4. Classification | 15 |
| I-5.Structure morphologique | 16 |
| I-6.Reproduction | 16 |
| I-6-1. Reproduction as exuée | 16 |
| I-6-2.Reproduction sexuée | 16 |
| I-7.Epidémiologie | 1 10 |
| I-7-1.Mode de contamination | 16 |
| I_7_9 Factours favorisants | 17 |

| I-8.Aspect clinique | 17 |
|---|------------|
| 1-8-1.Lésion de la peau glabre | 17 |
| I-8-2. Teigne du cuir chevelu | 18 |
| I-8-3.Les onyxis | 18 |
| I-9.Genre de dermatophytes responsables de mycoses superficielles | 18 |
| I-10.Traitement antifongique des mycoses | <u>1</u> 9 |
| | |
| DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE | |
| MATERIELS ET METHODE | |
| I.Introduction | 23 |
| II. Matériel | 23 |
| II-1-1. Matériel biologique | 23 |
| II-1-2. Milieu de culture | 23 |
| II-1-3. Autres matériels | 2 3 |
| III-Méthode de travail | 24 |
| III-1. Principe | 24 |
| 11I - 2. Prélèvement | 2 4 |
| III-3. Préparation de La gélose dans les boîtes de pétri | 25 |
| III-4. Ensemencement | 25 |
| III-5. Purification | 25 |
| III-5-1. Préparation de la gélose inclinée | 25 |
| III-6. Identification des dermatophytes | 25 |
| a- Caractère macroscopique | 25 |
| b- Caractère microscopique | 26 |
| IV- Methode de détermination de l'effet antifongique | 26 |
| IV-1. Preparation de l'inoculum | 2 6 |
| IV -2. Ensemencement | 27 |
| IV -3. Confection des puits | 27 |
| IV -4. Preparation des dilutions | 2 7 |
| IV -5. Preparation du temoin | 30 |
| | |

| V- Résultat et discussion | 31 |
|---|----|
| V-1. Kesultat de La recherche des dermatophytes | 31 |
| V-1-1. Pour l'espece 1 | 31 |
| V-1-2. Pour l'espece 2 | |
| V-2. Resultas et discussion | |
| V-2-1. Effet souche | 34 |
| V-2-2. Effet huile | 30 |
| IV-3. Discussion génerale | 39 |
| Conclusion Generale | |
| References Bibliographiques | |
| Annexes | |
| Glossaire | |

Liste des abréviations

H.E: Huile Essentielle

T.V : Thymus vulgaris

CMI: Concentration minimale inhibitrice

μ**M** : Micro-métre

EP: Eau physiologique

UV : Ultra violet

IR : Infra rouge

Fig : Figure

Tbl : Tableau

μl : Micro-litre

μ : Micron

V : Volume

D: Dilution

N : Numérotation

K: Potassium

Mg: Magnésium

Ca : Calcium

Fe : Fer

Liste des figures

Figure 1 : Le squelette de base des terpènes.

Figure 2 : La plante de *Thymus vulgaris*.

Figure 3 : Les principaux constituant d'H.E de *Thymus vulgaris*.

Figure 4 : Résultat de l'isolement de Microsporum gypseum et de

Géotrichum capitatum sur gélose inclinée.

Figure 5 : Aspect macroscopique de *Microsporum gypseum* (espèce 1) et de

Géotrichum capitatum (espèce 2) sur gélose sabouraud.

Figure 6 : Aspect microscopique de *Microsporum gypseum*.

Figure 7 : Aspect microscopique de Géotrichum capitatum.

Figure 8,9 : Effet de 5 types d'Huiles Essentielles de *Thymus vulgaris* sur

Microsporum gypseum.

Figure 10 : Effet de 5 types d'Huiles Essentielles de *Thymus vulgaris* sur

Géotrichum capitatum.

Liste des tableaux

Tableau I Principaux constituants d'H.E de Thymus vulgaris

Tableau II Différentes classes des antifongiques.

Tableau III Préparation des dilutions [1/5 – 1/20] d'H.E de *T.vulgaris*

Tableau IV Préparation des dilutions [1/25 – 1/60] d'H.E de *T. vulgaris*

Tableau V Préparation des dilutions [1/65 – 1/100] d' H.E de *T. vulgaris*

Tableau VI Préparation des dilutions [1/100 – 1/200] d' H.de*T.vulgaris*

Tableau VII Classification des différents Terpènes

Tableau VIII Les composés phénoliques les plus importants

Tableau IX Métabolisme secondaire Azoté

 Tableau X
 Chimiotypes du Thym selon la provenance

.

Introduction

Introduction

Les huiles essentielles des plantes aromatiques sont utilisées dans une large gamme d'activité industrielle, pharmacologique, cosmétique, agroalimentaire également en médecine traditionnelle contre plusieurs maladies.

Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sont connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antioxydants.

Leur activité est surtout liée à deux substances qui sont le Tymol et le carvacrol.

Dans le but de continuer le travail précédant qui consiste en la détermination de l'effet antimicrobien des 5 types d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* de la région de Béchar, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet antifongique de ces 5 types d'huile essentielle et leur pouvoir inhibiteur sur quelques souches de dermatophyte et c'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail et qui se divise en deux parties :

-Une partie bibliographique qui porte sur l'étude théorique des H.E y compris celle de *Thymus vulgaris* ainsi qu'une étude mycologique des dermatophytes.

-Une partie expérimentale qui a pour but l'isolement et l'identification de deux espèces de dermatophyte et la sensibilité de ces dernières vis à vis de 5 types d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* avec une détermination de la CMI.

PREMIERE PARTIE

ETUDE RIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRI I * Les huiles essentielles *

I -1. Historique.

Les huiles essentielles sont connues pour leur vertu thérapeutique depuis la nuit des temps, elles sont utilisées en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire [39]. Déjà 20 siècle avant J.C., l'empereur de **CHINE KWAYG.T** mentionne les propriétés de très nombreuses plantes. [39]

Toutes les civilisations antiques ont développé la médecine par les plantes [39].

Au cours des siècles, cette utilisation est appelée phytothérapie, puis grâce à **M.CATEFOSSE** en 1928 à Lyon elle devient Aromathérapie .Celui-ci plongea par réflexe sa main brûlée lors d'une explosion dans le premier liquide à proximité, Suite à la guérison rapide et sans infection de sa brûlure il s'intéressa aux propriétés de ce liquide, il s'agissait des huiles essentielles de la lavande.[39]. De nos jours, elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. [39]

I- 2. Définition.

L'huile essentielle est élaborée par des organes sécréteurs qui sont localisés dans les différentes parties des plantes et des arbres aromatiques. Semence, racine, bois, feuille, fruit et fleur. [39]

Les H.E n'ont pas de lien parental biochimique ou chimique avec les graisses des végétaux et des huiles fixes comme l'huile d'olive. [9]

Récemment, la norme **AFNOR NF T75** (octobre 1987) a donné la définition suivante d'une H.E : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par utilisation à sec [9]. L'H.E est ensuite séparée de la phase aqueuse par les procédés physiques [9].

I-3. Origine des H.E.

Les H.E n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : dans les fleurs, sur les feuilles, elles sont moins habituelles dans les écorces, le bois, les racines, les grains et dans la peau des fruits [9].

La synthèse et l'accumulation des H.E sont généralement associées à la présence de structure histologique comme les poils sécréteurs spécialisés, souvent localisée à proximité de la surface de la plante [9].

I-4. Caractères physico-chimiques des H.E.

I -4-1. Caractères physiques.

Les H.E sont volatiles, liquides à température ambiante, pures et naturelles car elles proviennent uniquement de la plante qui n'est pas mélangée, ni coupée avec des molécules d'autre H.E ou de molécules de synthèse. Elles ne sont que très rarement colorées, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elles ont un indice de réfraction élevé. Elles sont solubles dans les solvants organiques usuels, très peu solubles dans l'eau, liposolubles, entraînables à la vapeur d'eau et ne contiennent pas de corps gras .[9 , 25]

I-4-2. Caractères chimiques.

Les H.E sont presque toujours acides, ce qui contrarie le développement des micro organismes pathogènes évoluant dans les valeurs de PH neutre. [4]

L'oxydoréduction indique la tendance ou non des composés à s'oxyder et donc à former des radicaux libres, or les H.E ont des valeurs réductrices en s'opposant à l'oxydation d'où leur aptitude à être utilisées comme conservateur alimentaire. [4]

I-5. Toxicité des H.E.

La toxicité chronique des E.H est assez mal connue, on manque aussi des données sur leur éventuelles propriétés mutagènes tératogènes ou cancérogènes. On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë liée à l'utilisation des fortes doses des H.E. [9]

I - 6. Composition des H.E.

La composition des huiles essentielles est influencée par les facteurs suivants :

a . le cycle végétatif.

Pour une espèce donnée la proportion des différents constituants d'une H.E peut varier de façon importante tout au long du développement.[9]

b. Procédé d'obtention.

La labilité des constituants d'H.E explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation est le plus souvent différente de celle de mélange de constituants présents dans les organes sécréteurs du végétal.

Au cours de l'hydrodistillation l'eau, l'acide et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters. [9]

c. Facteurs extrinsèques.

Il s'agit des facteurs de l'environnement :

La température, l'humidité relative, la durée totale d'une solution et le vent . [9]

d. Existence des chimiotypes.

Les chimiotypes existent chez de nombreuses plantes aromatiques et fournissent des essences différentes par leur composition.

L'un des exemples le plus démonstratif est celui du THYM [Thymus vulgaris].

Cette espèce à sept chimiotypes différents :

Thymol, Carvacrol, Géraniol, Linalol, Terpinol, Myrcénol, Thyanol .[15] La composition chimique est variée selon la provenance. [voir annexe]

I- 6-1. Les Terpenoides.

Ils constituent la plus grande partie des H.E

Ils sont construits à partir de l'intervention d'un nombre variable d'éléments isoprèniques suivant le nombre d'unités pentacarbones (C₅) ,ramifié dérivé du méthylbutadiene (fig,1) [38]

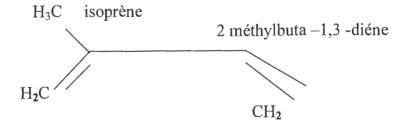


Fig .1 : Le squelette de base des Terpènes

I-6-2. Les composés phénoliques.

Ils sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus d'un métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un polyacétate avec au moins une fonction hydroxyle .[9] (voir annexe).

I-6-3.Les composés d'origine divers .

Ils renferment divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire tel que :

-Les composés azotés de Métabolisme secondaire :

a. Les acides aminés non constitutifs des protéines.

Les aminoacides et les amides se forment par décarboxylation des amines végétales ou par transfert du groupe aminé sur un aldéhyde. Ils ont une action antimétabolite et beaucoup d'entre eux sont toxiques. [9]

b. Les acides aminés constitutifs des protéines structurales et enzymatiques.

Ils peuvent donner naissance à une large variété de métabolisme secondaire.[9] (voir annexe).

c. Glucosinolate et hétérosides cyanogènes.

Le glucosinolate existe sous forme de sel de potassium. la structure comporte un glucose, un groupe sulfate et une génine variable, ils sont toxiques mais ils peuvent avoir un effet protecteur contre les substances cancérogènes. [9]

Les hétérosides cyanogènes sont utilisés dans le traitement des affections broncho pulmonaires . [9] (voir annexe).

I-7- Les procédés d'obtention des H.E.

I-7-1. Par entraînement à la vapeur d'eau.

a. Hydrodistillation simple.

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou broyé) dans un lambic d'eau rempli qui est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes chargées d'H.E sont entraînés vers le haut où elles seront condensées.[9]

b. Distillation à vapeur saturée.

La vapeur d'eau est injectée à travers la masse végétale disposée sur des plaques perforées [9].

c. L'Hydrodiffusion .

La vapeur d'eau est expulsée à très faible pression [0,02-0,15 bars] à travers la masse végétale du haut vers le bas . [9]

I-7-2. Par expression des épicarpes de citrus.

Consiste à exercer sous courant d'eau une action sur la surface du fruit, après élimination de déchets solides, l'H.E est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. Cette méthode est surtout réservée aux agrumes. [9]

I-7-3. Enfleurage.

C'est une méthode qui n'est plus guère utilisée. Elle consiste à déposer les fleurs sur des plaques de verre recouvertes d'une mince couche de graisse. Le parfum exhalé par les fleurs se dissolve dans le corps gras . [9]

Périodiquement, les fleurs étaient éliminées et remplacées par des fleurs fraîches jusqu'à saturation du corps gras, le lavage de ce dernier conduisait directement à une absolu.[9]

I-7-4. Extraction au CO2.

Consiste à faire passer un courant de CO2 à forte pression qui éclate les poches à essences et entraîne les H.E. que l'on récupère en l'état .[9, 4]

I-7-5. Macération.

On met les plantes dans de l'eau, de l'huile, de l'alcool, pour les macérer et en récupère les composés liposolubles [12]. La macération dans de l'eau ne doit pas dépasser les 12 h au risque d'aboutir à la fermentation des plantes .[7]

I-7-6. Extraction aux solvants.

Consiste à dissoudre le composé recherché dans un solvant non miscible à l'eau et à séparer la phase organique contenant le composé à extraire de la phase aqueuse [9]

L'inconvénient majeur de l'extraction par le solvant est sa toxicité qui affecte la qualité de l'H.E. [9]

I-8. Conservation des H.E.

L'instabilité des molécules constitutives des H.E rend leur conservation difficile mais il est possible de la limiter en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche. [38, 25]

Les H.E de *Thymus vulgaris* doivent être bien conservées car elles sont très volatiles notamment le thymol .[9]

CHAPITRE II

* Les fluiles Essentielles De Thymus vulgaris *

II-1- Classification [4]

Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledones

Sous classe : Gamopetals

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae ou labiacées

Genre : Thymus

Especes : Thymus vulgaris.L

II –2- Description de la plante :

Le *Thymus vulgaris* est une plante sous arbrisseau vivace à tiges ligneuses tortueuse dressées, atteignant rarement plus de 30 cm de hauteur.

Les rameaux blanchâtres, portent des feuilles opposées, lancéolées ou linéaires, enroulées sur les bords ; la face superieure est grisâtre, la face inférieure tomenteuse.

Les fleurs à calice velu et à corolle bilabiée rosée ou blanchâtre sont groupées en glomérules ovoides.(fig. **2**) [36,16,29]

II-2-1 *Odeur: Thymolée, chaude et puissante.[39,16]

II-2-2 *Saveur : Amère piquante et brûlante, aromatique, legerement âpre. [16]

II-2-3 *Biotope : Commun dans les regions montagneuses de l'Algérie.[8]

II-2-4 * Parties utilisées : les rameaux herbacés fleuris.[28]

II-2-5 *Floraison : De mai à octobre [16].

11-2-6 *Période de récolte : été (une en juin, l'autre en septembre)[16,12]

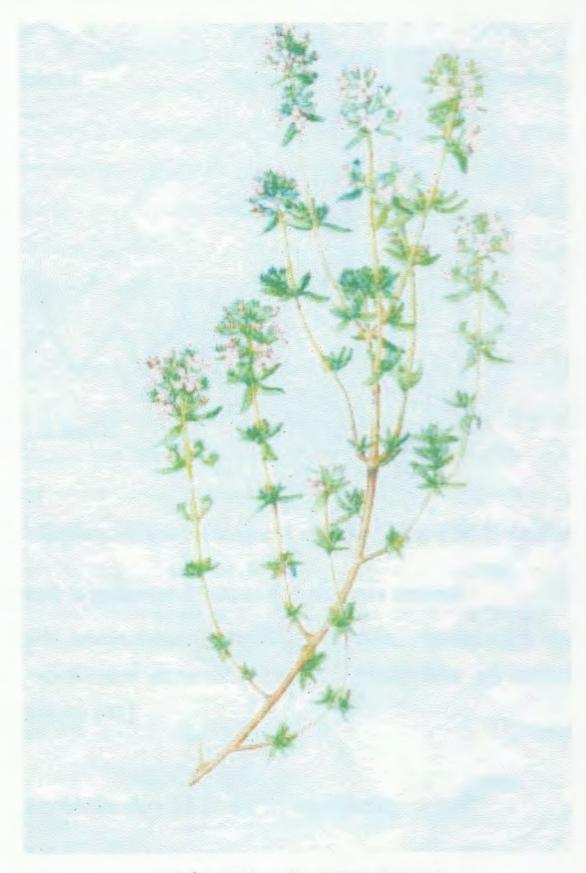


Fig 2: La Plante De Thymus Vulgaris

II-3-*Chémiotypes:

Selon les constituants de l'H.F. les thyms se répartissent en plusieurs chimiotypes : thymol, carvacrol, linalol, géraniol, a terpinéol, térpinéol-4, thymo l-4. [9]

14-CONSTITUANTS DES H.E DE (Thymus vulgaris)

La teneur en II.E de *T. vulgaris* varie de 0.5 à 2.5% et sa composition fluctue selon le chimiotype considérè • [4].

- Tbl 1: PRINCIPAUX CONSTITUANTS D'II.E De Thymus Vulgaris[31]

| CHIMIOTYPES | TENEUR EN H.E |
|---|---------------|
| - <u>Isomére monoterpénique</u> : thymol— methyl- | 25-50% |
| 5-iso-propyl 2 phénol | |
| -Carvacrol – méthyl – 6- isopropyl – 3 –phérol | 3-10% |
| -Phénol sous forme d'hétérosides notamment de | L'ABLE |
| galactosides | |
| Lutres monoterpénique : | |
| = ρ-cyméne | / |
| ≈ y- terpinéne | / |
| ■ Linalol | / |
| Camphre et limonéne | / |
| -Autres constituants : | |
| Les flavonoides : thymonine-eirsi linéol et | |
| 8- methoxy-cirsi linéol caractéristique. | |
| Acides rosmarinique et caféique, tanins | |
| triterpéne, saponine, fe ,k ,mg ,ea | |

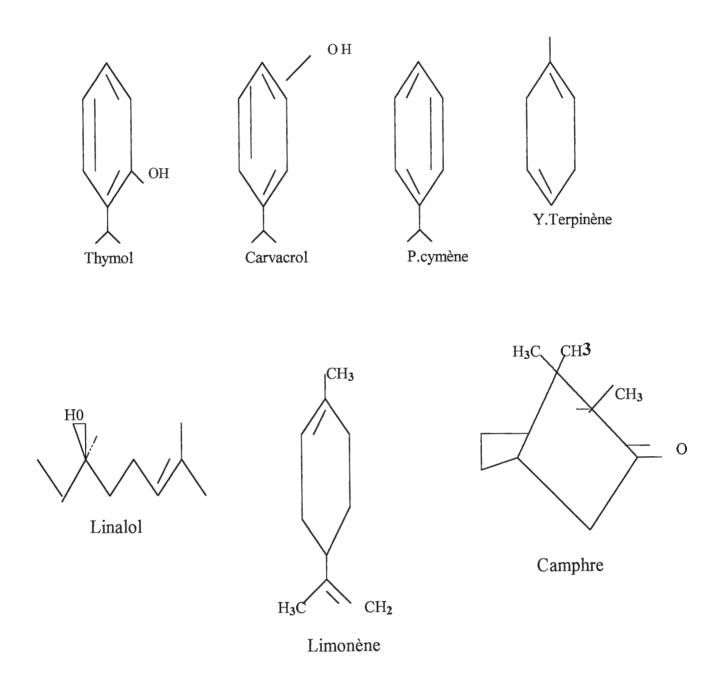


Fig 3 :« Les principaux constituants d'HE de T.vulgaris » [31]

I-5 Les propriétés des H.E de thymus vulgaris

I-5-1 Effet sur les procaryotes :

a-les propriétés antibactériennes :

L'activité antimierobienne concerne surtout le thymol et le carvaerol :

Elle a été demontrée vis-à-vis des bactéries **Gram** + et **Gram**- sans developper aucun effet mutagène en détruisant la paroi cellulaire des bactéries. [31]

b- Propriétés antivirales:

Les H.E de *Thymus vulgaris* possédent un pouvoir antiviral égal ou superieur aux phénols, elles stoppent la progression virale et elle est compté parmi les plus importantes d'H.E utilisées dans l'aromathèrapie des maladies virales comme la grippe, la varicelle, etc... [31].

I-5-2.Effet sur les eucaryotes.

a-les propriétes antifongiques :

Autre leur potentiel antibacterienne. Les H.E de *Thymus vulgaris* sont un moyen de lutte contre la prolifération des levures et des champignons responsables des mycoses tel que : *Trichophyton*.

D'après l'étude de Paul et KRO BLOC (1987) le carvacrol et le thymol exercent une activité antifongique très élevée. [31]

b-Propriétés anti parasitaire :

Le groupe d'H.E phénolé a contribué à éliminer les parasites spécialement les amibes responsables de certaines colites intestinales qui contaminent les aliments [12,4].

I-5-3- Effet sur l'organisme.

a- Expectorant:

Par voie interme, principalement indiqué dans les bronchites aiguës et chroniques et la coqueluche, et d'une façon générale dans les états inflammatoires des voies respiratoires supérieures. [38].

b- Cicatrisant et stimulant.

Entre dans la composition de certains cicatrisants, de plus elle a une action de stimulant, prévient la fatigue mentale comme : stress, sumenage, de plus elle stimule la circulation capillaire. [39,9,31].

c- Anti-infectieux.

Agissant comme un désinfectant des voix respiratoires aériennes, elle est conscillée dans le cas des bronchites, sinusite, toux ... [31, 39]

d- Anti-inflammatoire.

L'acide rosmarinique est également un anti-inflammatoire, inhibant la biosynthèse des prostaglandines. [31].

e- Anti-oxydant.

DROMAN et **AL** (2003) ont montré que les H.E inhibent ou retardent l'oxydation des lipoprotéines à faible densité du corps humain [4].

1-5-4. Effet spasmolytique:

L'H.E de *T.vulgaris* est employée pour son activité spasmolytique comme stomachique et carminatif, mais aussi comme diurétique désinfectant urinaire et vermifuge. [9, 31].

I-6 Les domaines d'utilisation des H.E de T.vulgaris.

I-6-1 Domaine cosmétique.

*En cosmétique:

les H.E sont utilisées en fumigation (bain de vapeur pour le visage), agissent contre les inflammations et les impuretés cutanées. employées dans les formations des rouges à lévres, dentifrice, champoings [39, 26].

*En parfumerie:

l'essence de THYM entre dans la composition des parfums et des déodorisants aussi bien pour homme que pour femme. [26, 39].

I-6-2 Domaine agroalimentaire:

*En cuisine:

le THYM est très utilisé comme épice, des aromes alimentaires, dans la fabrication des liqueurs. [26,29].

*En industrie agro-alimentaire:

Les H.E de *T. vulgaris* sont utilisées comme conservateurs alimentaires grâce à la propriété antibactérienne, anti-fongique et anti-fermentaire, [4].

I-6-3. Domaine biologique:

Les H.E de *Thymus vulgaris* ont une activité insecticide, pesticide, Cette activité est dûe à la présence de thymol et carvacrol. [38].

I-6-4. Domaine pharmaceutique.

Les H.E de *Thymus vulgaris* entrent dans la formulation de diverses spécialités : pommade antiseptique et cicatrisant, sirops pour le traitement des affections des voies respiratoires, gouttes, gélules etc... [9,25,26].

CHAPITRE III * Les dermatophytes *

I-1. Généralité.

Le vaste ensemble des champignons est sensiblement différent de l'idée que l'on s'en fait habituellement en pensant aux grosses fructifications des champignons supérieurs. [33]

La grande majorité des dermatophytes est en effet représentée par des organismes filamenteux parfois submicroscopiques ou même unicellulaires; leur morphologie, leur reproduction, leur mode de vie sont si diversifié que les champignons sont souvent regardés comme formant plusieurs embranchements distincts. [33]

Les champignons sont des organismes eucaryotes dépourvus de chloroplaste, l'absence de ce dernier en fait des organismes hétérotrophes soit parasites ou saprophytes.[17,33]

Morphologie:

L'élément de base de l'appareil végétatif est le Thalle ou mycélium qui est constitué par des hyphes septés ou siphonnés. [1,17]

Reproduction:

Elle s'effectue selon deux modes : multiplication sexuée ou asexuée [1]. De nombreuses espèces de champignons sont impliquées en pathologie humaine ou animale, car de plus en plus d'espèces considérées comme saprophytes deviennent capables de provoquer des infection appelées Mycoses.[17]

Ces Mycoses sont classées en trois catégories : [17,23]

- > Mycoses profondes
- Mycoses sous-cutanées
- Mycoses superficielles ou « dermatohytes »

I-2. Historique.

En 1837 **REMAK** a soupçonné la nature cryptogamique du **Favus** connu depuis l'antiquité[24]. **GRUBY** en 1842 affirme l'origine mycosique de la teigne.

RAYMOND SABOURAUD a beaucoup contribué à la connaissance tant clinique que biologique de dermatophyte. Il publie son traité « les teignes » en 1910 [24].

Après lui de nombreux mycologues se sont intéressés aux dermatophytes, les plus connus sont LARGON en France, STOCK DALE en Angleterre.[24]

1959-1961, la connaissance de la forme sexuée de dermatophyte a permi de les classer parmi les *Ascomycètes*.[24,5]

I-3. Définition.

Les dermatophytoses ou dermatophytie sont des affections cosmopolites très fréquentes dues à des champignons filamenteux à mycélium cloisonné rattachés aux *Ascomycètes*.[23,13]

Selon BADILLET il y'a 4 critères qui caractérisent ces champignons

- -Ils s'adaptent à la vie parasitaire en attaquant avec prédilection la Kératine humaine ou animale de la couche cornée de l'épiderme et des phanères (poils, cheveux et ongles) donc ils sont Kératinophiles.[3,18]
- -Ils se développent facilement sur les milieux peptones et sucrés comme celui de Sabouraud.[18]
- -Ils produisent diverses substances antigéniques groupées sous le nom de « Trichophytine ».[18,17]

I-4. Classification.

La classification actuellement utilisée est celle d'**EMMONS** (1934). Elle est basée sur les caractères botaniques.[18,24]

-Classe: Ascomycète

-Famille: Arthroderma

-Genre: Microsporum

Trichophyton

Epidermophyton

I-5. Structure morphologique.

Les dermatophytes sont des champignons dont le thalle est constitué de filaments ou hyphes de section régulière, divisé en article : il s'agit d'un thalle articulé. Selon les espèces, il sera possible d'observer différentes structures.

La plus simple correspond à l'apparition de vésicules, qui sont de simples renflements des articles.[18]

I-6. Reproduction.

I-6-1 . Reproduction as exuée .

Les dermatophytes sont souvent des chlamydospores qui naissent sur le mycélium sous forme de cellules rondes à double contour, terminales, latérales ou intercalaires qui sont des spores de résistances. Comme ils peuvent aussi produire des spores externes appelées : conidies. [18,1]

Il existe des microconidies qui ont entre 3 et 7 μm de long non cloisonnées, pyriformes chez la plupart des dermatophytes [18]

A côté, on peut trouver des Macroconidies qui vont de 15 à 150 μm cloisonnées à paroi minces ou épaisses, ornementées ou non [18].

I-6-2. Reproduction sexuée.

Depuis 1961, on a mis en évidence la forme sexuée de nombreux dermatophytes.

Les asques sont arrondies et contiennent 8 ascospores, incolores, de forme lenticulaire. Les asques et les ascospores sont contenus dans des enveloppes filamenteuses peu structurées appelées : « gymnothèces ».[18]

Les dermatophytes sont hétérothalliques et ne produisent leur forme sexuée que sur des milieux particuliers tel que le milieu Sabouraud.(18]

I-7. Epidémiologie.

I-7-1. Mode de contamination.

Le mode de contamination varie selon l'origine des espèces de dermatophyte, cependant on distingue 3 espèces :

a. Espèces anthropophiles.

Parasites obligatoires de l'homme, leur transmission est interhumaine : soit direct par contact soit indirect par l'intermédiaire d'objet de toilette, instrument de coiffure, ou la fréquentation de lieux publics contaminés tels que : Piscine, douche commune etc...[24]

b. Espèces zoophiles.

Parasites des animaux, notamment les domestiques et les rongeurs, ils sont transmis accidentellement à l'homme. [24].

c. Espèces telluriques.

Parasite habituel du sol, est transmis à l'homme à l'occasion de travaux de jardinage ou par l'intermédiaire des animaux.[17,24]

I-7-2. Facteur favorisants.

- -Ils sont relativement très nombreux :[11,21,24]
- -Les facteurs climatiques, locaux et généraux : chaleur, humidité.
- -Hygiène et mode de vie.
- -Modification du terrain : pathologie associée, immunodépression (sida) prise de médicaments comme les corticoïdes.

I-8. Aspect clinique.

Les dermatophytes sont responsables de dermatophyties dont les aspects cliniques sont divers :

I-8-1. lésion de la peau glabre

a .Intertrigo des grands plis .

Le plus souvent plis inguinaux connue sous le nom d' " **Eczéma** " marginé 'Herba', parfois inter fessiers, plus exceptionnellement plis abdominaux, sous mammaires ou axillaires. [19.24,35]

b. Intertrigo des petits plis.

Intertrigo **palmaires** ou **plantaires**. L'atteinte plantaire est soit isolée et **vésiculo- squameuse**, soit généralisé à toute la surface de la paume de mains ou de la plante des pieds. [22,24,35]

c. Herpés circiné.

Maladie caractérisée par des lésions vésiculeuses circulaires, érythémateuses, bien démarquées et couvertes de squames.[10.23.34]

I-8-2. Teigne du cuir chevelu.

a. Teignes tondantes:

-Teignes microsporiques

Dues à des champignons du genre *Microsporum*. Elle se caractérise par une grande plaque d'alopécie, peu squameuse avec cheveux cassés régulièrement à quelques centimètres de tégument.[22,24]

- Teignes trichophytiques.

Dûes à des champignons du genre *Trichophyton*. Elle sont caractérisées par des petites plaques d'alopécie, disséminées, très squameuses.[24]

b- teigne favique

Maladie cosmopolite très contagieuse dûe à *T.schoenleinii* caractérisé par la présence du « Godet favique » : croûte friable jaune à odeur de souris ; Les cheveux sont fins et décolorés.[24,35]

c. teigne inflammatoire ou kérion.

Elle se présente sous forme de Macaron en relief, ponctué d'orifices d'où sorte du pus avec expulsion des cheveux.[2, 24, 35]

I-8-3 .Les Onyxis.

C'est une dermatophyte des ongles qui se manifeste surtout, par l'apparition de petites tâches blanches, jaunes ou brunes.[22, 24, 35]

I-9.Genre de dermatophytes responsables de Mycoses superficielles.

- Le genre : Mycrosporum

Le terme à déjà été utilisé par **GRUBY** en 1843 puis par **Sabouraud** en 1910 pour désigner les champignons donnant le parasitisme microscopique des cheveux. La caractéristique essentielle du genre *Microsporum* est la présence de macroconidies 8-1 µm à paroi épaisses, multiseptées. [22, 24]

M.gypseum

Champignon d'origine tellurique, transmis à l'homme par l'intermédiaire des animaux ou à l'occasion des travaux au sol [6,18,24]

Il parasite rarement les cheveux ou les poils mais dans ce cas, il donne des teignes très inflammatoires : kérions [18, 24], Les cheveux ne sont pas fluorescents sous la lumière de Wood [30].

-Le genre : Géotrichum

Le *Géotrichum* a été creé par **LINK** en 1809 pour des champignons blancs dont les filaments se d2sarticulent en cellules rectangulaires : arthrospores. [24]

Le genre *Geotrichum* est cosmopolite et peut se retrouver chez les animaux (laitage), dans les végétaux (légumes et fruits), dans le sol et chez l'homme dont le tube digestif est le réservoir habituel on peut le retrouver également au niveau de la peau et des voies respiratoires [1, 24]

G.capitatum

G.capitatum est un champignon relativement peu fréquent dans l'environnement, il semble plutôt associé à l'homme et aux animaux à sang chaud. [1,24]

Les infections dûes à ce champignon surviennent chez des maladies profondément immunodéprimés. Sa porte d'entrée est digestive, respiratoire ou cutanée [1, 24]. Il parasite les cheveux et les poils ;dans ce cas il donne des teignes [1, 24]

I-10. Traitement antifongique des MYCOSES.

Les mycoses ont pendant très longtemps été considérées comme des affections dont le traitement était décevant depuis quelques années. L'arsenal thérapeutique s'est notablement enrichi et on dispose actuellement de produits efficaces capables de traiter les dermatophytes [1,35]

Ces produits se répartissent en deux catégories

Les antibiotiques antifongiques qui sont des produits naturels [1]

Les antifongiques chimiques de synthèse - [1]

-Tbl 2 : Différentes classes des antifongiques [1, 11, 17, 37]

| Classe des antifongiques | Propriétés physicochimique | Mode d'action |
|---|---|---|
| I- Antibiotiques antifongiques Cl ₁ / <i>Griséofulvine</i> | -Isolée de : Penicillium griséofulvum -Présenté sous forme de poudre blanche cristalline de saveur amère -Insoluble dans l'eau mais soluble dans l'alcool et les solvants organiques.[1] | -Inhibe la synthèse des acides nucléïques, affecte la mitose cellulaire.[1.37] |
| Cl ₂ / Polyéne -La <i>Nystatine</i> | -Isole d'un <i>Streptomycès</i> -Très peu soluble dans l'eau et complètement soluble dans les solvants organiques [1] | -Stimule la consommation d' O ₂ [1]. |
| -l'Amphotéricine B | -Isolé d'un <i>Streptomycès</i> -Poudre jaune insoluble dans l'eau et dans l'alcool. [1] = Soluble dans les solutés glucosés à 5% - Stable à 4°C Son activité diminue après 24 H et par l'expositon à la lumière [1]. | Actien fongicide qui tue les champignons par formation de tours dans la membrane cytoplasmique - Le spectre d'action est très large.[1, 17] |

| Il Antifongiques de synthèse Dérivés imidazolés: a- Kétoconazole: b- Miconazole c- Econazole | Poudre blanche -Légèrement soluble dans l'eau -Soluble dans le méthanol et les solvants organiques usuels [1] | -Inhibe la synthèse d'ergostérol indispensable à la constitution de la membrane cellulaire fongique.[1,11, 37] |
|--|---|---|
| 5-Fluorocytosine_(5fc) | Poudre blanche cristalline -Soluble dans l'eau ou dans l'alcool. [1] | C'est un antimétabolite de la cytosine en faisant intervenir une cytosine-permèase des champignons [1.11]. |

DEUXIEME PARTIE

ELIDE EXLEMINATE

I- Introduction.

Durant les deux dernières décennies, la demande en nouvelles molécules antifongiques spécifiques au traitement a augmenté de manière significative.

En effet plusieurs types de résistances aux antifongiques aux anciennes molécules sont souvent signalées, et on se retrouve devant l'obligation de rechercher de nouvelles substances non toxiques capables de traiter les mycoses profondes aussi bien que les mycoses superficielles tel est le but de notre travail qui vise la mise en évidence de l'effet antifongique des H.E de *Thymus vulgaris*.

II -Matériel et méthode.

II-1. Matériel.

II-1-1. Materiel biologique.

- -Cheveux d'un être humain malade
- -Les huiles essentielles : 5 types d'H.E sont préparés par hydrodistillation au niveau de l'université de Tlemcen à partir de la plante *Thymus vulgaris* (feuilles et tiges) récoltés à partir de 5 régions différentes de la wilaya de BECHAR.

II-1-2. Milieu de culture.

Le milieu de base le plus couramment employé tant pour l'isolement que pour l'identification des dermatophytes est le milieu « **Sabouraud** ».

II-1-3Autres matériels.

- -Etuve de marque « Binder » : pour l'incubation des cultures
- -La haute aspirante de marque : « TELSTAR AH-100 » pour éviter toute contamination.
- -Microscope optique pour l'identification des espèces lame et lamelles de dermatophytes.

- -Huile de vaseline, huile de paraffine.
- -Micropipettes de 100-1000 ,10-100 de marque 'NICHEPT EX' : pour la préparation des dilutions de 5 types d'H.E
 - -les épendoffs et les embouts.
 - -Tubes à essais
 - -Boites de pétri
 - -Pipettes Pasteur
 - -Anse de platine
 - -Pince
 - -Paire de ciseau
 - -Ecouvillons: pour l'ensemencement des souches.
 - -bain-Marie.

III-Méthode de travail.

III-1-Principe.

Les mycoses superficielles prennent une importance de plus en plus grande en pathologie humaine ce qui rend les méthodes de recherche fongique et du diagnostic , rapides et précises, nécessaires, en vue des traitements d'infection mycosiques.

Le diagnostic d'une mycose se fait par la mise en évidence du parasite dans les prélèvements, par l'isolement et l'identification en culture de l'agent causal[5].

L'identification du champignon se fait par l'aspect macroscopique des colonies, par ces formes microscopiques, par ces caractères physiologiques et pathologiques.

III-2.Le prélèvement.

Les cheveux sont arrachés d'un patient à l'endroit de l'infection à l'aide d'une pince non coupante, 4 échantillons sont acheminés au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences de la nature de l'Université de Jijel.

III-3. Préparation de la gélose dans les boîtes de pétri.

On fait fondre la gélose Sabouraud au bain-Marie à 100 c° on la laisse refroidire à 45 c°, puis on fait couler cette dernière dans les boites de pétri de diamètre 90 mm sur une épaisseur de 4 mm et on la laisse se solidifier.

Avant l'utilisation de la gélose, on doit la sécher 15 mn à 37 c° dans l'étuve.

III-4. Ensemencement.

Il se fait selon la méthode proposée par l'institut Pasteur production avec une légère modification.

A l'aide d'une pince stérile, on prend le poil et on coupe la partie folliculaire avec une paire de ciseau, puis on la dispose directement sur la gélose et on incube 6 à 15 jours à 25 c° dans une étuve « Binder ».

III-5.Purification.

III-5-1. Préparation de la gélose inclinée.

On fait fondre la gélose Sabouraud au bain-Marie à 100 c° et on la laisse refroidir à 45 c°, puis on la coule dans des tubes stériles en couche inclinée.

*A l'aide d'une anse de platine stérile, on prélève un fragment de la colonie choisie et qui a pris naissance au niveau de la follicule et on l'ensemence sur la gélose inclinée.

III-6. Identification des dermatophytes.

Elle est basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des dermatophytes obtenues en culture pure.

a. Caractères macroscopiques.

La description de l'aspect, de la couleur, de la forme, de l'existence des cloisonnements, du type de fructification, de la consistance des colonies obtenues sur les milieux d'isolement, ainsi que la vitesse de pousse permettent une orientation du diagnostic.

b. Caractères microscopiques.

L'examen microscopique des organes fongiques permet de compléter l'orientation du diagnostic et même de déterminer l'espèce des dermatophytes.

L'examen portera sur la présence, l'abondance et la forme de filaments mycéliens, le type d'organe de fructification.

-L'étude microscopique est effectuée par la méthode d'examen à l'état frais ensuite par une coloration simple au bleu de méthylène.

b-1.à l'état frais

Sur une lame on met une ance de culture fongique à l'aide d'une anse de platine stérile puis à l'aide d'une pipette pasteur on ajoute une goutte d'EP, on dépose une lamelle et enfin on l'observe au microscope optique.

b-2. Coloration simple.

Sur une lame on met une ance de culture fongiques à l'aide d'une anse de platine stérile puis on ajoute une goutte d'EP à l'aide d'une pipette Pasteur, on laisse sécher à l'air.

Après on ajoute une goutte de bleu de méthylène, on la laisse agir 30 mn puis on rince à l'eau de robinet.

Enfin on observe au microscope optique.

Les résultats d'analyse nous ont permis d'isoler deux espèces qui sont :

- -Microsporum gypseum [18]
- -Géotrichum capitatum [18]

VI. Méthode de détermination de l'effet antifongique.

L'étude de l'effet des H.E de *T.vulgaris* consiste à la recherche de la concentration minimale en H.E capable d'inhiber les souches isolées et mise en culture sur milieu Sabouraud.

IV-1. Préparation de l'inoculum : (suspension fongique)

A l'aide d'une anse de platine stérile, on prélève un fragment de culture et on le dépose dans 10 ml d'E.P puis on l'homogénéise convenablement.

IV-2. Ensemencement.

On prolonge l'écouvillon stérile dans l'inoculum, puis on ensemence la totalité de la surface de la gélose en frottant la tête de l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose.

IV-3. Confection des puits.

Les puits sont confectionnés dans la gélose Sabouraud déjà ensemencée par un emporte pièce et qui n'est que le bout d'une pipette Pasteur, puis on dépose une goutte de la gélose fondue au fond de chaque puit.

IV-4. Préparation des dilutions.

Les illusions des H.E doivent être effectuées dans un diluant qui n'affecte pas les effets des H.E et qui n'a pas d'effet sur les microorganismes ou les champignons; pour cela, nous avons choisi l'huile de vaseline et l'huile de paraffine.

-Les dilutions sont effectuées selon les tableaux suivants :

Tbl 3 : Préparation des dilutions [1/5 - 1/20] d'H.E de *T. vulgaris*.

| Dilution | Volume de | Volume de | Total | V. dans les | Numérotation |
|----------|--------------|------------|-------|-------------|--------------|
| | diluant (μl) | l'H.E (μl) | | puits (μl) | des puits |
| 1/5 | 40 | 10 | 50 | 40 | 1 |
| 1/10 | 90 | // | 100 | // | 2 |
| 1/15 | 140 | // | 150 | // | 3 |
| 1/20 | 190 | // | 200 | // | 4 |

Tbl 4. Préparation des dilutions de [1/25-1/60] d'HE de T.vulgaris.

| Dilution | Volume de | Volume de | Total | Volume dans | Numération |
|----------|--------------|------------|-------|----------------|------------|
| | diluant (µl) | l'H.E (μl) | | les puits (µl) | des puits |
| 1/25 | 240 | 10 | 250 | 40 | 1 |
| 1/30 | 290 | // | 300 | // | 2 |
| 1/35 | 340 | // | 350 | // | 3 |
| 1/40 | 390 | // | 400 | // | 4 |
| 1/45 | 440 | // | 450 | // | 5 |
| 1/50 | 490 | // | 500 | // | 6 |
| 1/55 | 540 | // | 550 | // | 7 |
| 1/60 | 590 | // | 600 | // | 8 |

Tbl 5 : Préparation des dilutions [1/65-1/100] d'H.E de T.vulgaris.

| Dilution | V. de d. (μl) | V. de H.E (μl) | V.T (µl) | V. dans les puits[μl] | N. des puits |
|----------|---------------|----------------|----------|-----------------------|--------------|
| 1/65 | 640 | 10 | 650 | 40 | 1 |
| 1/70 | 690 | // | 700 | // | 2 |
| 1/75 | 740 | // | 750 | // | 3 |
| 1/80 | 790 | // | 800 | // | 4 |
| 1/85 | 840 | // | 850 | // | 5 |
| 1/90 | 890 | // | 900 | // | 6 |
| 1/100 | 990 | // | 1000 | // | 7 |

Tbl 6 : Préparation des dilutions [1/100-1/200] d'H.E de T.vulgaris.

| Dilution | V. de d. | V. de H.E | Total | V. dans les | N. des puits |
|----------|----------|-----------|-------|-------------|--------------|
| | (µl) | (µl) | | puits | |
| 1/100 | 990 | 10 | 1000 | 40 | 1 |
| 1/110 | 1090 | // | 1100 | // | 2 |
| 1/120 | 1190 | // | 1200 | // | 3 |
| 1/130 | 1290 | // | 1300 | // | 4 |
| 1/140 | 1390 | // | 1400 | // | 5 |
| 1/150 | 1490 | // | 1500 | // | 6 |
| 1/160 | 1590 | // | 1600 | // | 7 |
| 1/170 | 1690 | // | 1700 | // | 8 |
| 1/180 | 1790 | // | 1800 | // | 9 |
| 1/190 | 1890 | // | 1900 | // | 10 |
| 1/200 | 1990 | // | 2000 | // | 11 |

*Il faut noter que les 29 dilutions sont effectuées pour les 5 types d'H.E de *Thymus vulgaris* et pour les 2 espèces de dermatophytes

IV-5.Distribution des dilutions des H.E.

A partir de chaque dilution, on prend 40 µl d'H.E et on la dépose dans les puits correspondants et préalablement identifiés.

IV-6. Préparation du Témoin.

Dans une boîte de gélose ensemencée, on confectionne un seul puit qui recevra l'Huile de vaseline ou l'Huile de paraffine pure et qui sera la boîte témoin sans H.E.

« Résultats et discussion »

V. Résultat et discussion.

V-1. résultat de l'identification des dermatophytes.

V-1-1. Pour l'Espèce 1.

La culture:

Pousse rapide et plâtreuse après une semaine d'incubation, il y'a l'apparition des filaments mycéliens.

Aspect macroscopique:

Couleur beige à ocre au recto et au verso sur gélose sabouraud (fig 5)

Aspect microscopique:

L'examen microscopique de la culture à l'état frais montre la présence de très nombreuses macroconidies en forme de cocons ou de concombre à paroi mince et échimulées de 40 à 30 μ de long sur 12 à 13 μ de large avec 6 logettes au maximum.(fig 6).

D'après les formes obtenues au microscope optique l'espèce identifiée est Microsporum gypseum.

V-1-2. Pour l'Espèce 2.

La culture:

une pousse rapide sur gélose **Sabouraud** 25 c° après une semaine.

Aspect macroscopique:

Colonie glabre à finement duveteuse, de couleur blanc à crème sur gélose **Sabouraud.**(fig 5)

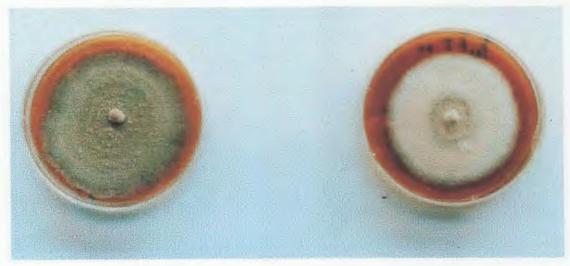
Aspect microscopique:

L'examen microscopique de la culture par une simple coloration au bleu de méthylène montre la présence d'un mycélium septé, ramifié avec de nombreux arthrospores à parois épaisse, rectangulaires puis s'arrondissent.(fig 7).

D'après les formes obtenues au microscope optique l'espèce identifiée est : Géotrichum capitatum.



fig 4 : Resultats de l'isolement de *MICROSPORUM gypsum* (P1) et *GEOTRICHUM capitatum* (P2) sur gelose inclinée



Espece 1 Espece 2

fig 5 : Aspect macroscopique de *MICROSPORUM gypsum* (Espece 1) et *GEOTRICHUM capitatum* (Espece 2)

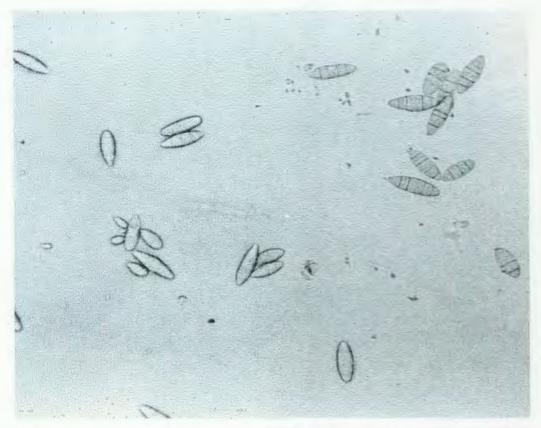


fig 6: Aspect microscopique de MICROSPORUM gypsum (x 100)

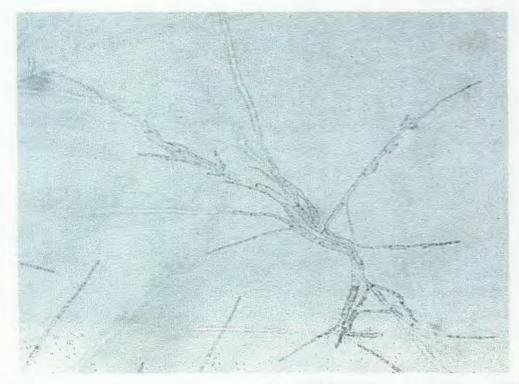


fig 7 : Aspect microscopique de GEOTRICHUM capitatum (x 100)

V-2. Résultats discussion.

Le test de la sensibilité des souches de dermatophytes isolées et caractérisées vis à vis des H.E par la méthode de diffusion sur gélose **PFALERRE et AL** (2000) a révélé que lorsque les dilutions des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* effectuées dans l'huile de paraffine (ou l'huile de vaseline) sont comprises entre 1/5 et 1/100, le développement des souches de *Géotrichum capitatum* et *Microsporum gypseum* sont totalement inhibés (fig 8, 9, 10)

-Ces résultats sont en accord avec les travaux de Mr BHASKARA et Al (1998) et qui ont montré que certains champignons comme *Botrytus* et *Rhizopus* sont totalement inhibés par les H.E de *T.vulgaris*.

-BAFI-YBOA et Al(2003) ont montré l'effet spectaculaire des plantes aromatiques surtout sur *Aspergillus* et *Candida albicans*.

-Les H.E de *T.vulgaris* peuvent inhiber in vitro certaines levures et moisissures. L'inhibition des levures in vitro peut être dûe soit à la diffusion des composants dans la gélose ou milieu de culture soit à l'évaporation des composants volatiles dans le micro-climat de la boite de pétri. [40]

V-2-1. Effet souche.

D'après nos résultats, on remarque une différence de la sensibilité des deux espèces de dermatophytes vis à vis des cinq extraits d'H.E étudiées.

Cette variabilité serait liée à la variation des chimiotypes des H.E de

Thymus .vulgaris .

La CMI recherchée par la méthode de diffusion sur gélose est comprise entre 1/100 et 1/200 pour *Microsporum gypseum* (fig 9)et elle semble être plus proche de la dilution 1/200 pour *Géotrichum capitatum* (fig 10)

Ces résultats sont en relation avec les travaux de **shahidi** (2004) et qui a montré que l'H.E de *T.vulgaris* peut inhiber même à de très faibles dilutions les genres *Candida* et *Rhizopus*.

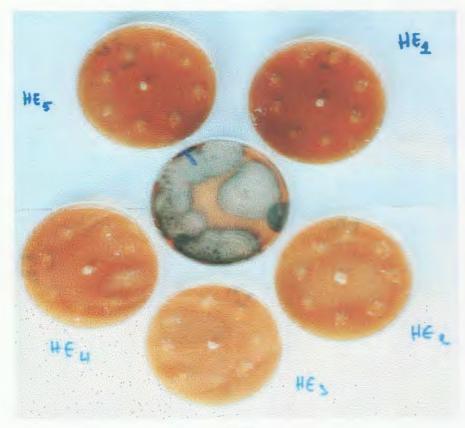


fig 8

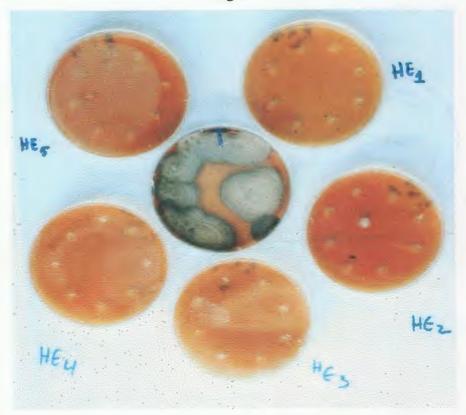
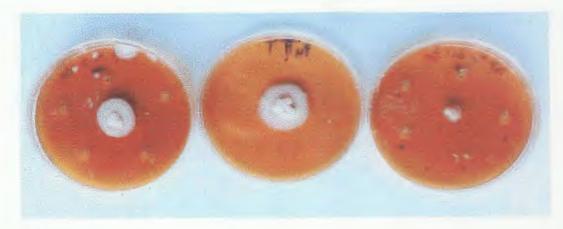
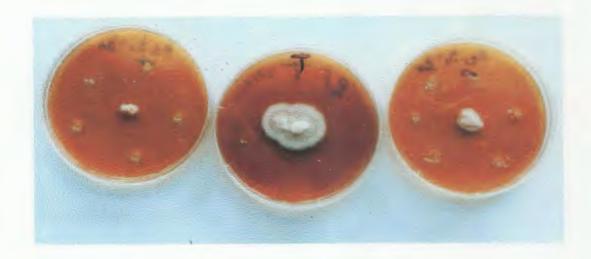


fig 9

fig 8 et 9: Effet de 5 types d' HE de T.Vulgaris sur MICROSPORUM gypsum



HE1



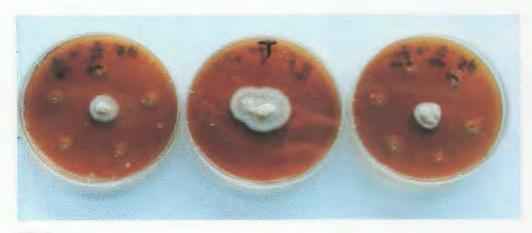
HE2



HE3 Fig 10: Effet de 5 Types d'H.E de Thymus vulgaris sur Géothichum capitatum.



HE4



HE5

fig10. Effet de 5 types d'HE de *TYMUS Vulgaris* sur GEOTRICHUM capitatum

V -2-2. EFFET HUILE

L'activité antifongique des différentes Huiles Essentielles de *T.vulgaris* étudiée sur les espèces de dermatophytes a été démontrée pour l'ensemble d'H.E. Cette activité semble être différente d'un extrait à un autre et leur différence pourrait être liée à la composition chimique des H.E; à leurs concentrations en principe actifs, notamment le thymol et le carvacrol.

La caractérisation des 5 Huiles Essentielles de *Thymus. vulgaris* par spectrophotométrie en UV et IR a montré une variation dans l'allure des courbes obtenues

La détermination des formules moléculaires des constituants d'extraits reste impossible à réaliser au niveau de l'Université de Jijel..

Ces analyses pourraient contribuer à l'explication des résultats retrouvés.

PANIZZI (2000) a montré que la composition chimique dépend de l'état physiologique et le cycle végétatif des plantes de *Thymus.vulgaris*.

Les travaux de **MUDAIB** et **Al** (2002) ont montré que la composition chimique des H.E de *T.vulgaris* varie selon la période la récolte et l'âge des plantes.

De même ,**JERKOVIC** et **Al** (2001) ont montré que la composition des H.E dépend de la région géographique , la variation de l'âge des plantes et la méthode d'accueil des récoltes.

Des travaux similaires sont effectués par KALOUSTIN et Al (2003), ISSAWI et AL (2000),ont confirmé la variation de la composition des H.E de *T.vulgaris*

En revanche, cette variation est liée à l'âge de la plante, les méthodes d'extraction, la période de récolte et même la méthode de séchage.

V-3. DISCUSSION GENERALE.

L'effet anti-fongique de 5 Types d'H.E de *T.vulgaris* a été rapporté par un grand nombre de publications scientifiques. Dans le but d'estimation de l'effet antifongique de 5 types d'H.E obtenues par hydrodistillation à partir des plantes de *T.vulgaris* récoltées à la fin du printemps de différentes régions de BECHAR, nous avons fait dans une première étape l'isolement et l'identification de deux souches de dermatophytes qui sont :

Microsporum gypseum et Géotrichum capitatum.

Dans une deuxième étape nous avons procédé à la détermination de la sensibilité de ces deux souches de dermatophytes vis à vis des cinq types d'H.E de *T. vulgaris* par la méthode de diffusion sur gélose.

Les résultats révèlent que les deux souches expriment une sensibilité variable vis à vis des cinq extraits, cette variabilité des résultats est probablement dûe à la variation des chimiotypes d'H.E de *T.vulgaris* et à la variation de la sensibilité des deux souches de dermatophytes vis à vis des cinq extraits de *T.vulgaris*.

La CMI des deux espèces pour les cinq extraits de T.vulgaris se situe généralement entre (1/100 - 1/200) pour Microsporum gypseum, mais pour Géotrichum capitatum, elle semble être proche de la dilution 1/200.

Ces résultats restent loin d'être précis dans la mesure où l'intervalle des dilutions est large.

Cette anomalie est probablement liée à l'action des composants volatiles présents dans l'H.E de *T.vulgaris*

En effet , certains de ces corps volatiles s'évaporent et restent dans le micro-climat de la boîte de Pétri tout en exerçant une action potentielle contre le mycélium et contre les spores [40] .

Les résultats retrouvés sont alors loin d'être finaux et d'autres travaux sont nécessaires pour déterminer la CMI de ces H.E vis à vis des dermatophytes par d'autres méthodes adéquates.

D'une manière générale, les résultats que nous avons obtenu révèlent l'activité anti-fongique des H.E de *T.vulgaris* par la méthode de diffusion sur

gélose, mais d'autres travaux sont nécessaires pour déterminer les valeurs exactes de la C.M.I et l'activité anti-fongique d'huile essentielle de *T.vulgaris* envers d'autres souches comme : *Candida albicans* , *Trichophyton* et *Microsporum rubrum* qui est très pathogène pour l'homme.

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE.

Les cinq types d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris* obtenus par hydrodistillation possédent une activité antifongique vis à vis de

Microsporum gypseum et Géotrichum capitatum.

Les résultats obtenus ont montré que cette activité dépend de plusieurs facteurs.

Les essais effectués sur milieu solide par diffusion sur gélose révèlent que les deux espèces de dermatophytes ont une sensibilité variable selon le type des Huiles Essentielles de *Thymus .vulgaris* d'une part et d'autre part à la concentration appliquée .

D'après ces résultats on peut conclure que les Huiles Essentielles de T.vulgaris Pourraient être utilisées pour les traitements de certaines maladies infectieuses notamment les mycoses superficielles; mais ces résultats restent insuffisants dans la mesure ou d'autres travaux sont nécessaires pour déterminer les valeurs exactes de la C.M.I des Huiles Essentielles de

T. vulgaris afin d'éviter les effets indésirables aux fortes concentrations, ainsi que le mode d'action et la formule chimique de leurs composants.

REFERENCES BIRLIOGRAPHOUES

Références Bibliographiques

- **1- AMMAR. KHODJA,HAMRIOUI.B**, (1999). Cours de parasitologie, tome 3, ed. 3.01.3751.vol. 83 p3, 4,74,80.
- **2- AMORIC.JC, FRAITAG, BOUMERC, CAPOEN** (1995) ,parasity, folliculite, cicatricielles à *Malassisia furfur* chez l'enfant ,ANN dermatol verenol (supp 1) p121
- **3- ANDRE DOMART, JAQUES BOURNNEUF,** (1996)Petit Larousse de la médecine. Ed 2-03-501002-0 (tome 1),Paris. Vol. 480 p 292
- **4-ASSIA**, **SOUAD**, **NADIA** (2004), Effet de 5 types d' Huiles Essentielles de *Thymus vulgaris* sur l'évolution de la flore totale mésophile d'un produit carnée : Cas de la viande hachée refroidie à 4 c°; Mémoire de fin d'étude.
- **5-BADILET.G** (1982) les dermatopyhtes, atlas clinique et biologique,ed : varia ,Paris Vol .391 p253,254.
- **6-BONGES.C**, GALEAZZI.G (1992), Diagnostic mycologique des dermatophytes contaminants, 4^{ème} ed , Vol . 244 p137.
- 7-BELAIDI. F, HELLAL. H (1996). Plantes médicinales et phytothérapie 2éme éd. p16
- **8-BELOVED.A** (1998) . Plantes médicinales d'Algérie. 3éme ed p206

9-BRUNETON.J (1993)

Pharmacognosie « phytochimie plantes médicinales » 2^{éme} ed.Tec et doc. Lavoisier,Paris. p286, 293, 406, 427 **10-CERMAR.G** (1996). Les dermatophytes de la peau glabre ; les mycoses en dermatologie. Vol .372. p 108

11-CHIDIAC.C, BEAYCAIRE. G (1994) .Maladies infectieuses : guide de traitement. 4 éme ed. Vol. 296, p 192.

12-DJERROUMI. A, NACEF.N (2004).100 plantes médicinales d'Algerie 1ére ed p 135.

13-DURIEUX (1993) .Ecologie des champignons. 2éme ed Vol. 207, p 112.

14-EBERLIN. T (1994) .Les antibiotiques : classification, mode d'action, utilisation thérapeutique. e d Nathan, Paris p 86.

15-ELABED.D, **KAMBOUCHE.N** (2003). Complexité des Huiles Essentielles. ed Darell Gharb p 117.

16-ELIZABETH. Lemoine (1989).Plantes aromatiques et médicinales.4eme ed p 107.

17-ERIC perilleux (1996).Organisation et biologie des champignons.3eme ed Vol . 128 p 11, 14, 109, 110, 111, 117, 128.

18-EYQUEM. A, Alouf. J, MONTAGNIER. L (1998). Traité de microbiologie clinique.ed Piccin Nova Libraria S.P.A padove, Italie . p113, 1119, 1123

19-FEUILHADE DE CHAUVIN.(2000) .Mycoses métropolitaines. Encycl méd chir (édit. Scientifiques et médicales elseviers SAS, paris) dermatologie, 98-380-A-10. p 11

20-FRANCHOME. P, JOLLOIS.R (1990) .L'aromathérapie exactement.ed.Limoges France P 44.

21-GYEHO (1987) .Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes. TOME 1, vol . 499. p 216, 223.

22-HADJAM. R (2003) .GUIDE Médical de la famille, encyclopédia editions vol .380. p 83,85

(1999)

23-HARLEY, KLEIN. Introduction à la microbiologie. 3^{ème} éd.Vol. 945 p650,651.

24-HELEN KOENIG. Guide de mycologie médicale. Ed Marketing S.A (1995) Vol. 284. p 11, 97, 98, 147.

(1995)

25-JEANE VOLNET. Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes. $10^{\text{ème}}$ éd . p 49, 50.

26-LAFFONT TCHOU (1983). Mon herbier de santé. 5 eme ed . p285, 288.

27-LAURENT. KARILA et KIARASH. KHOSROTEHRMI (2001).Dermatologie. p 36, 37.

28-MALMOADI [1997]Les thérapeutiques par les plantes les plus connues en Algerie.2eme ed . p 18, 20.

29-MARCEL. MAZOYER (2002) .Larousse agricole : Le monde agricole aux XXI^{ème} siècle. p 619.

30-MARTINE. FERILHADE, MAZOUZ. BENDERDOUCHE (1999). Mycologie cutanée : fiche pratique . ed Novartis pharma . S.A vol . 31 p 9, 10.

(1996)

31-MAX.WICH, MARBING. Plantes thérapeutiques : tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique : 3ème éd TEC et DOC ,Paris. p 554, 557.

32-OMAR. BOUDGHENE, ABDELKADER.B (2000). Dermatologie en pratique quotidienne.ed Leropeenne. Vol 94. p 31

33-PAUL. OJENDA (2000).Les végétaux : organisation et diversité biologique. 2eme ed ,Du Nord, ParisVol . 516, p 85, 111.

34-PRESCOTT, HARLEY, KLEIN (1995)Mycologie. Second éd.de Boek – wesmael, Bruxelles, p 782, 783.

35-PUISSANT. A (1996).Dermatologie.ed ANN Dermatol Vérénol .V. 495. p 221, 223, 231, 232, 233.

36-VERLAGS. GESLLEXCHOFT. KONEMANN (1999).Botanica encyclopedie de botanique et d'horticulture plus de : 10.000 plantes du monde entier 2^{ème} éd. p 887.

37-VIGUIE. VALLANET (2001 Traitement antifongique en dermatologie. Encycl Méd chir (Ed. scientifiques et médicales elsevier SAS, Paris), Dermatologie, 98 – 906 – A – 10, p16.

Site d'internet :

- 38- www. SANOFLORE.com. Aromathérapie (2005)
- 39- www.sciencedirect.com (.2005)
- 40- www/crcdg. Culture.fr/culture/conservation/fr/laborato/crcdg/fr/tho4.htm.[2005]

ANNESSE

MILIEU DE CULTURE:

MILIEU SABOURAUD

Glucose 20 g

Néo-peptone Difco 10 g

Bacto-agar 20 g

Eau distillée 1000 ml

Tbl 7 . Classification des différents Terpènes. [$9\ ,\,14]$

| Groupe | Exemple | Plantes | Effet |
|----------------|----------------------|-----------|---|
| | 1- Acyclique : | | |
| | -Myrcéne | Laurier | -Stimulant du système immunitaire. |
| | -Géranol | Rose | |
| Monoterpènes | 2- Monocyclique: | | -Antalgique, anti-infectieux |
| | -Thymol | Menthe | -Action révulsive sur la peau. |
| | -Citral | Verveine | |
| | 3- Bicyclique | | -Antibactérien. |
| | -Carvacrone | Romarin | |
| | 1- Acyclique : | | -Anti-inflammatoire et calmant |
| | Farnesol | Néroli | |
| | 2- Bicyclique: | | -Antibactérien surtout pour Gram + |
| Sésquiterpènes | Humiléne | Houblon | |
| | 3- <u>Instable</u> : | ; | -Antifongique et anti-parasitaire |
| | Chamazuléne | Camomille | |
| | b-Cadinéne | Cade | |
| | Acyclique: | | |
| Diterpènes | Phytol | | Activité vitaminique |
| | florsholine | lamiaceae | K ₁ et A |
| Triterpène | squalène | Olive et | Contraceptifs |
| Tricipene | squarene | arachide | Anabolisants |
| | | artionide | Anti-inflammatoire |
| | Carotenoides | Plusieurs | -Activité vitaminique A |
| Tétraterpène | (ß-carotène) | plantes | -peuvent être utilisés comme |
| retratespesse | (is-caroteile) | Prantes | colorants naturels efficaces non |
| | | | toxiques |
| | | | toxiques |

Tbl 8 . Les composé phénoliques les plus importants . [9, 14]

| Groupe de substance | Exemples | Propriétés pharmacologiques |
|---------------------|---------------------------|---------------------------------|
| Phénols simples | Catèchol,thymol: | Fortement anti-infectieux et |
| Acides phénols. | -Dérivès de l'acide | strimulants. |
| | benzoique :A.galliique | -Ils agissent |
| | -Dérivés de l'acide | en :Hyperthermisants. |
| | cinnamique :acide | Hypertensifs. |
| | caféique,acide | |
| | rosmarinique | |
| Coumarines | Coumarine | Neuro-sédatives. |
| | | Anticoagulantes. |
| Lignines | dibenzylbutanes | Propriétés cytostatiques et |
| | | antimitotiques |
| Dérivés du phényl – | -Stibénoides :Pinoxyline. | -Antifongique et antimicrobien. |
| [Shikimates]. | -Xantone: mangestine. | -Anti-inflammatoire |
| | -Styrylpyrones :kauvaine. | -Action sédative et |
| | | tranquillisante. |
| flavonoides | 5,4-dihydroxy-6,7,3-tri- | -Propriétés « vitaminique P » |
| | métoxy flavone. | -Anti-inflammatoire |
| | | -Anti-bactériens. |

Tbl 9.Métabolites secondaires azotés .[9, 14]

| Groupe de substances | Exemple | Propriétés pharmacologiques |
|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| -Acides aminés non | -Acide 4 méthyl glutarique. | -Beaucoup se révèlent |
| constitutifs des protéines | -Acide azétidine | toxiques à l'encontre des |
| | 2-Carboxylique | prédateurs. |
| Hétéroside de la moutarde | Sinigroside | -Toxiques, mais ils pourraient |
| (glucosinolates) | | avoir un effet protecteur à |
| | | l'encontre des substances |
| | | cancérogènes au niveau du |
| | | colon. |

Tbl 10.Chimiotypes du THYM selon la provenance. [31, 20]

| Lieux | Produits | |
|-------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| St .Tropez (France) | Tymol ,carvacrole | Odeur forte et phenolée |
| Arrière pays (France) | Thymol,carvacrol (Propriétés | Odeur forte et phénolée nuance |
| | différents) | de sariéhe. |
| Haute provence (France) | Linal et géraniol | Odeur douce et suave semblable à |
| | | la lavande |
| Languedoc (France) | 4-thyanol | Odeur rappelant la marjolaine |
| Corbière (France) | y-térpinéol | Odeur épicée comme le poivre |
| Espagne | 1,8-Cinéol | Odeur semblable à l'eucalyptus |
| | Citral | Odeur semblable à la verveine |
| | | citronnée |

GLOSSAIR

Héterothalliques : Processus de reproduction sexuée nécessitant la conjugaison de

thalles possédant des caractères génétiquement complémentaires.

Peau glabre : Peau dépourvue de poils

Intertrigo : Dermatose siégeant dans les plis de la peau.

Mammaire : Relatif aux mamelles : au sein.

Axillaire : Aisselle.

Plantaire : Plante du pied

Palmaire : Paume de la main

Squame : Lamelle épidermique qui se détache de la peau dans les

dermatoses.

Erythémateuses : Erythème : congestion de la peau ou des muqueuses qui

provoquent une rougeur.

Alopécie : Chute ou absence partielle ou généralisée, des cheveux ou des

poils.

Tégument : Ensemble des tissus qui couvrent la peau de l'homme.

Ascomycètes : Classe des champignons qui renferme environ 30.000 espèces

saprophytes ou parasites.

Kératinophile : Kératine :

Scléroproteine imperméable à l'eau, riche en soufre, substance Fondamentale des poils, des ongles, des cornes, des sabots, des

plumes.

Vésicules : Article ou cellule renflée contenant des endospores.

Chlamydospores : Spores asexuées de résistances, nées d'une portion de filament

mycélien, plus ou moins renflée, à paroi épaisse.

Conidies : Spores asexuées, uni-ou multicellulaires, nées sur le côté ou à

l'extrémité d'un filament.

Microconidies: Petites conidies unicellulaires.

Macroconidies: Grandes conidies pluricellulaires.

Asques : Vésicules à paroi mince contenant les spores séxuées des

Ascomycètes.

Ascospores Spores sexuelles des Ascomycètes se formants dans des asques.

Gymnothèce Ascocarpe (structure plus ou moins complexe contenant les

asques) sans ouverture dont la paroi est composée d'hyphes

entrelacées.

Eucaryotes : Possèdent un appareil mitochondrial, un noyau pourvu d'une

membrane nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole.

Hétérotrophes : Ne peuvent pas composer leurs propres constituants qu'à partir de

substances organiques.

Thalle Appareil végétatif

Hyphes Filament individuel du mycélium des champignons

Mycélium : Ensemble des filaments ou hyphes constituant la partie végétative

des champignons.

Mycose : Affection de la peau ou des viscères provoquée par des

champignons microscopiques.

Teigne : Mycose du cuir chevelu, très contagieuse et provoquant des chutes

de cheveux.

Favus : Dermatose parasitaire due à des champignons parasites de

l'homme et des animaux. Il entraîne la chute des cheveux.

Cryptogamie : Crypto= caché, gamie= mariage

Etat d'une plante cryptogames

Cryptogames : Plantes pluricellulaires qui n'ont ni fleurs, ni fruits ni graines,

Effets des huiles essentielles de *Thymus. vulgaris* sur quelques souches de dermatophytes

Date de la soutenance :

02 / 07 / 2005

Réalisé par :

- Chihoub Amel.
- Souiadi Widad.
- Abdelaziz Selma.

Résumé:

Dans le cadre d'une estimation de l'effet antifongique de cinq types d'huiles essentielles obtenues par hydrodistillation à partir des plantes de T.vulgaris récoltées de 5 régions différentes de Bechar, nous avons effectué dans un premier temps une étude mycologique qui nous a permis d'isoler et d'identifier deux souches de dermatophytes: *Microsporum.gypseum* et *Geotricum.capitatum.*puis nous avons procédé à la détermination de l'effet de cinq extraits d'HE de T.vulgaris sur deux souches ;ainsi que la détermination de la CMI par la méthode de diffusion sur gélose.

Les résultats obtenus ont révélé que les deux souches de dermatophytes montrent une sensibilité vis-àvis les cinq extraits et que la CMI se situe généralement entre 1/100-1/200 pour M.gypseum et elle semble être proche de 1/200 pour Geotricum.capitatum.

Summary:

In this setting of an evaluation of the antifongic effects of five essential oil types gotten by hydrodistillation from plant of T.vulgaris harvested of 5 regions different Bechar we did in a first time a mycology survey which permitted us to isolate and identify 2 stumps of dermatophyt : M.gypseum and G.capitatum as well as the determination of the CMI by the methods of diffusion on gloze.

The gotten results revealed that the 2 stumps of dermatophyt shows a variable sensitivity lives to screws of the 5 excerpts and that the CMI is generally located between 1/100 and 1/200 of *M. gypseum* and 1/200 of *G.capitatum*.

ملخص:

Г

5

5

في إطار تقدير تأثيرا الضد فطرى لخمسة أتواع من الزيت الأساسي المتحصل عليها بالتقطير البخاري الطلاقا من نبات الزعيترة Thymus vulgarise التي لخدنا من خمسة مناطق مختلفة لولاية بشار ، أنجزنا في أول الأمر دراسة ميكولوجية التي ممحت لنا بعزل و التعرف على سلالتين الفطريات الجلدية G.capitatum

و M.gypseum ثم قمنا بتحديد مدى تأثير خمس مستخلصات من الزيت الأساسي لنبتة T.vulgarise على هاتين السلالتين و كذلك تحديد التركيز الأدنى المثبط بطريقة الانتشار على الوسط الغذائي الصلب.

النتاقج المتحصل عليها بينت أن المملالتين أظهرت حساسية متغيرة بعد معاملتها بالخمس مستخلصات من الزيت الأساسي و أن قيمة التركيز الأدنى المثبط محصورة بين 100/1و 200/1 بالنسبة M.gypseum وتقارب 200/1 بالنسبة ل .G.capitatum

Mots clé: Thymus.vulgaris, huiles essentielles, dermatophytes, Microsporum.gypseum, Geotrichum capitatum, CMI.