



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE de l'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS MOSTAGANEM
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE & DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



THESE DE DOCTORAT LMD 3^{ème} Cycle (Doctorat LMD)

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

FILIERE : Sciences Biologiques

SPECIALITE : Plantes Médicinales et Phytothérapie

Laboratoire de pharmacognosie api phytothérapie

Laboratoire de parasitologie mycologie CHUO

THEME

L'effet de *Lawsonia inermis* L sur la flore dermique ; étude

In vitro et In vivo chez le rat

Présenté par :
M^{elle} ATTALA Nabila

Soutenu publiquement le 11 juin 2019

Devant le jury :

Président :	Pr Djebli Nouredine	Université Mostaganem
Rapporteur :	Pr Hammadi Kheira	Université Mostaganem
Examineur :	Pr Bekada Ahmed Mohamed Ali	Centre univ.de Tissemsilt
Examineur :	Pr Benmansour Zakaria	Université Oran
Examineur :	Dr MISSOUN Fatiha	Université Mostaganem

Année Universitaire 2018-2019

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de pharmacognosie api-phytothérapie université de Mostaganem ; Laboratoire de parasitologie et mycologie CHUO et le laboratoire de microbiologie CHU Oran.

Je remercie en premier lieu **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de cette thèse, il a été et sera toujours à côté de moi pour réussir à terminer n'importe quel travail.

A Madame le **Professeur HAMMADI Kheira** ; Mon excellente directrice de thèse, je n'aurais pas pu rêver meilleur encadrement. Merci de m'avoir proposé ce sujet de thèse épanouissant et novateur, merci pour ton soutien, ton savoir et ton excès de rigueur , Sois assurée de ma plus profonde reconnaissance pour la confiance que tu me témoignes, ainsi que de mon admiration.

Remerciements à Monsieur le **Professeur DJEBLI Noureddine** ; Pour l'honneur qu'il me fait de présider ce jury de thèse ; Pour votre disponibilité et votre souci constant afin que cette thèse se passe dans les meilleures conditions possibles. Soyez assuré de ma gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur le **Professeur BENMANSOUR Zakaria** ; Chef de service au niveau de laboratoire de parasitologie et mycologie au CHUO, Pour votre présence au sein du jury. Merci d'avoir accepté de vous déplacer pour y apporter votre regard de spécialiste. Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur le **Professeur BEKADA Ahmed Mohamed Ali**, professeur au Centre Universitaire de Tissemsilet, Pour avoir accepté de juger ce travail. Soyez assuré de ma profonde considération.

A Madame le **Docteur MISSOUM. Fatiha MCA** à l'Université de Mostaganem qui m'a fait l'honneur de participer au Jury de soutenance ; Soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier le chef de département et tous mes enseignants de l'université de Mostaganem particulièrement **Madame Douichene S** et **Monsieur Blhakem H**.

A tous mes collègues et amis de l'Université de Mostaganem et Oran, je les remercie pour l'ambiance chaleureuse et conviviale et pour l'aide qu'ils m'ont apportés dans le cadre de ce travail en particulier **Dr Reguieg Yssaad Athmen** pour son aide et son soutien moral.

Merci aux docteurs et biologistes de laboratoire de Parasitologie-Mycologie CHU d'Oran: et en particulier à **Dr Nacéri N, Dr Mahdani M, Dr Daas Kh , Dr Blidi A et Madame Houari S** pour leur implication dans l'étude et la préparation des milieux de culture.

Merci aux docteurs et techniciens de laboratoire de Biochimie CHU Oran Merci à **Dr Halili K , Dr Benai M, Dr Blaid H ,Dr Benaoumeur M A ; Dr Ghrib S , Dr Mrabet F , Dr Hamada K** et un grand merci à **M^{lle} Guermoul S et Sabria**

À l'équipe de laboratoire du Microbiologie CHU Oran qui m'ont fournies les souches des bactéries, Biologistes, techniciens, secrétaires, en particulier **M^{lle} Saidani Y , Madame Blahoul F et Madame Iftane A**

Mes sentiments de reconnaissance et de remerciements vont également à toute personne qui a participé de près ou de loin ; directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Pour mon trésor pour ma perle précieuse pour c'elle qui ma tous donner et qui a été la raison de mon être c'est **pour ma chère mère** que je dédie ce travail et pour mon **cher père** qui à été toujours à mes coté et qui m'a soutenu tout le long de ma vie

Je dédie se travail aussi à la lumière de mes yeux a la chaire de ma cher a mes frères **Ghouthi** et **Kheirddine** ;

Ainsi pour tous ceux qui ont été a mes coté de pré et de loin tous mes cousins et amis qui m'ont appuyé toujours avec leur présence et leurs conseils ;

A mes fidèles amies **Rachida, Samira, Manel, Yamna Ibtissem et Selma** et a tous mes collègues chacun par son nom.

Résumé

L'utilisation des plantes médicinales ou de leurs extraits pourrait constituer une excellente alternative aux problèmes de résistance aux antifongiques. Dans l'objectif de trouver des extraits de plantes à activité contre les infections dermiques, les feuilles de *Lawsonia inermis L.* ont été macérées dans l'éthanol ; après évaporation à l'aide d'un rotavapor, l'extrait hydroalcoolique obtenu a été soumis au criblage phytochimique par des méthodes standards et qui a révélé sa richesse en flavonoïdes, tannins, stéroïdes, terpénoïdes et en saponines.

L'analyse spectrale a mis en évidence des molécules de nature Flavonol, Flavone, et a mis en évidence la présence du Lawsone qui est la molécule bioactive de *Lawsonia inermis L.*

Par les méthodes d'incorporation en milieu solide et de dilution, l'évaluation du pouvoir antidermatophyte et antibactérien a été comparée avec celui de la myconazol pour les dermatophytes et deux antibiotiques de références Péniciline G et Gentamicine pour les bactéries. À la concentration la plus élevée l'extrait de la plante *Lawsonia inermis L.* a montré une activité antifongique et antibactérienne vis-à-vis de toutes les souches sélectionnées.

L'extrait hydroalcoolique de *Lawsonia inermis L.* a été plus actif avec la souche *T. mentagrophytes* a un diamètre d'inhibition de 60mm et pour *T. erinacei* le diamètre de la zone d'inhibition a été de 56 mm tandis qu'un diamètre de 32 mm a été observé avec la souche *M. canis*

Pour l'activité antibactérienne l'extrait du henné a développé une importante activité avec *E. coli* a un diamètre d'inhibition de 28mm suivie de *S. aureus* et *P. aerogenosa* a un diamètre de 22 et 21mm respectivement.

L'étude in vivo a montré que la pommade traditionnelle fabriquée avec l'extrait de *Lawsonia inermis L.* a un pouvoir sur les mycoses cutanées chez les rats.

Les résultats de cette étude justifient l'usage traditionnel de l'extrait de *Lawsonia inermis L.* dans le traitement des dermatoses. Cette plante mérite donc d'être protégée et valorisée.

Mots clés : *Lawsonia inermis L.*; activité antidermatophyte ; activité antibactérienne

Criblage phytochimique.

Abstract

The use of medicinal plants or their extracts could be an excellent answer solving to the problems of resistance to antifungals.

In order to find extracts of active plants against dermal infections, the leaves of *Lawsonia inermis L.* were macerated in ethanol; after evaporation with a rotavapor, the hydroalcoholic extract obtained was subjected to phytochemical screening by standard methods and which revealed its richness in flavonoids, tannins, sterols and terpenoids and saponins. Spectral analysis revealed Flavonol and Flavone molecules, and highlighted the presence of Lawsonone, the active biomolecule of *Lawsonia inermis L.*

By solid incorporation and dilution methods, the evaluation of antidermatophyte and antibacterial potency was compared with that of myconazol for dermatophytes and two antibiotics of reference Penicilline G and Gentamicine for bacteria. At the highest concentration the *Lawsonia inermis L.* plant extract showed antifungal and antibacterial activity against all selected strains. The hydroalcoholic extract of *Lawsonia inermis L.* was more active with the strain *T. mentagrophytes* with a diameter of inhibition of 60 mm and for *T. erinacei* the diameter of the inhibition zone was 56 mm. 32 mm was observed with the strain *M.canis*.

For the antibacterial activity the henne extract has developed an important activity on *E.coli* with a diameter of inhibition of 28mm compared to *S.aureus* and *P.aeruginosa* with a diameter of 22 and 21 mm respectively .

The in vivo study showed that the traditional ointment made with *Lawsonia inermis L.* extract has a power inhealing a cutaneous mycoses in rats.

The results of this study showed the traditional use of *Lawsonia inermis L.* extract in the treatment of dermatoses. This plant therefore deserve to be protected and valued.

Keywords: *Lawsonia inermis L.* ; antidermatophyte activity; antibacterial activity
Phytochemical screening

الملخص

إن استخدام النباتات الطبية أو مستخلصاتها يمكن أن يشكل بديلا ممتازا للمشاكل المترتبة عن مقاومة مضادات الفطريات. وبغية العثور على مستخلصات نباتات ذات نشاط مضاد للالتهابات الجلدية فقد تم نقع أوراق "لاوزونيا اينارميس L" في الايثانول وبعد عملية التبخر حيث تمت الاستعانة بمثبط البخار فإن المستخلص المائي-الكحولي الناتج خضع لفحص نباتي-كيميائي وفقا لأساليب معيارية نمطية ما أبان عن ثراء المستخلص ب: فلافونويد، تانينس، ستيروول، تارينيونيد و صابونين. وقد أبرز التحليل الطيفي بشكل جلي عن جزيئات من طبيعة: فلافونول، فلافون كما كشف عن وجود اللاوزون وهي الجزئي الحيوي النشط من "لاوزونيا اينارميس L".

من خلال أساليب الدمج في الوسط الصلب والتخفيف فإن تقييم القدرة المضادة للفطريات والمضادة للبكتيريا تم مقارنتها مع تلك الخاصة بالميكونازول فيما يخص الفطريات الجلدية، ومع مضادين حيويين معيارين هما: بينيسيلين و جونتاميسين فيما يخص البكتيريا. عند التركيز الأعلى فإن مستخلص نبتة "لاوزونيا اينارميس L" أظهر نشاطا مضادا للفطريات ومضادا للبكتيريا باتجاه مختلف السلالات المنتقاة.

لقد كان مستخلص "لاوزونيا اينارميس L" الأكثر نشاطا مع السلالة *T.mentagrophytes* مع قطر تثبيط 60ملم أما فيما يخص *T.erinacei* فإن قطر منطقة التثبيط كان 56ملم في حين تمت ملاحظة قطر 32ملم بالنسبة لسلالة *M.canis*

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا فإن مستخلص الحناء قد طُوّر نشاطا مع *E.coli* بقطر تثبيط 28 ملم متبوعا بـ *S.aureus* و *P.aerogenosa* بقطري 22ملم و 21 ملم على التوالي.

أظهرت الدراسة على الحيوان أن المرهم التقليدي المصنوع من مستخلص "لاوزونيا اينارميس L" يملك فعالية ضد الفطر الجلدي بعد تجربته على الفئران.

إن نتائج هذه الدراسة تبرر الاستخدام التقليدي لمستخلص "لاوزونيا اينارميس L" في معالجة الأمراض الجلدية ومنه فإن الضرورة تستدعي حماية هذه النبتة وترقيتها.

الكلمات المفتاحية: لاوزونيا اينارميس L، نشاط مضاد للفطريات الجلدية، نشاط مضاد للبكتيريا، فحص نباتي-كيميائي

Liste des tableaux

Tableau 1: Structure des squelettes des polyphénols.....	10
Tableau 2: :Principales propriétés pharmacologiques répertoriées des feuilles de <i>L. Inermis</i> <i>L</i>	25
Tableau 3: les souches bactériennes utilisées	57
Tableau 4 : identification morphologique macroscopique.....	67
Tableau 5 : identification morphologique microscopique	82
Tableau 6 : la composition phytochimique de l'extrait de <i>Lawsonia inermis L</i>	92
Tableau 7 : Composés détectés dans l'extrait de <i>L. inermis L</i> analysé par HPLC.....	95
Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i>	96
Tableau 9: Effet inhibiteur de l'extrait de <i>Lawsonia inermis L</i> sur les cultures des dermatophytes testés (exprimé en diamètre d'inhibition mm)	101
Tableau 10 : Effet inhibiteur de myconazol 2% et du DMSO (controle) sur les cultures des dermatophytes testés (exprimé en diamètre d'inhibition mm).....	101

Liste des figures

Figure 1 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes.....	11
Figure 2 : Structures des tanins hydrolysables et condensés.....	12
Figure 3 : Les coumarines simples	13
Figure 4 : Principaux classes des triterpènes.....	14
Figure 5: Description botanique de <i>L. inermis</i> L.....	19
Figure6 : Localisation de <i>Lawsonia inermis</i> dans le monde	20
Figure 7 : Structures de certains composés importants rapportés chez <i>L. inermis</i> L.....	24
Figure 8 : Coupe transversale de l'épiderme, du derme et de l'hypoderme.....	28
Figure 9 : Épidémiologie des dermatophytes agents de teignes du cuir chevelu.....	32
Figure 10 : Lésions du cuir chevelu.....	33
Figure 11 : Onychomycose disto-latérale sous-unguéale	35
Figure 12 : Lésion de la peau glabre ou dermatophytie circinée.....	37
Figure 13 : Orientation de la technique de prélèvement d'une infection mycosique superficielle en fonction de l'aspect clinique.....	40
Figure 14 : Aspect microscopique des cultures.....	43
Figure 15: Arbre décisionnel. Démarche diagnostique d'un dermatophyte au laboratoire.	48
Figure 16 : Atteinte de cuir chevelu	50
Figure 17 : Atteinte d'un ongle	50
Figure 18 : Atteinte de la peau	50
Figure.19: Partie aeriene de la plante <i>L.inermis</i> L.....	52
Figure20 : Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé	59
Figure21 : Répartition des rats dans les cages	61
Figure 22 : Pourcentage selon le type d'atteinte mycologique	63
Figure 23 : Pourcentage des prélèvement positives.....	64

Figure 24 : Poucentage des cas positives selon le type du prélevement	64
Figure 25 : Les formes obtenue apres un examen a l'état frais	76
Figure 26 :Chromatogramme des composés detecté dans l'extrait de <i>L.inermis L</i>	95
Figure27: Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i>	97
Figure 28 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>E.coli</i>	97
Figure 39: Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>S.aureus</i>	98
Figure 30 : Diamètre d'inhibition du DMSO et des deux antibiotiques de références vis-à-vis des trois souches bacterienne testées	98
Figure 31 : Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis l'extrait éthanolique de <i>L.inermisL</i>	99
Figure 32: Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis l'extrait ethanolique de <i>L.inermisL</i>	99
Figure 33: Sensibilité de <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis l'extrait éthanolique de <i>L.inermisL</i> ..	99
Figure 34:Sensibilité de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis des antibiotiques de référence utilisées	99
Figure 35 :Sensibilité de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis des antibiotiques de références utilisées	99
Figure 36 :Sensibilité de <i>E.coli</i> vis-à-vis des antibiotique de référence utilisées	99
Figure37 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>M.canis</i>	102
Figure 38 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>T.mentagrophytes</i>	102

Figure 39 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de <i>L.inermis L</i> vis-à-vis <i>T.eurinacei</i>	103
Figure 40 : Diamètre d'inhibition du DMSO et le Myconazol vis-à-vis des trois dermatophytes testées	103
Figure 41 :La sensibilité de <i>T.mentagrophytes</i> vis-à-vis l'extrait de <i>L.inermis L</i>	104
Figure 42 : la sensibilité de <i>M.canis</i> vis-à-vis l'extrait de <i>L.inermis L</i>	104
Figure 43 : la sensibilité de <i>T.erinacei</i> vis-à-vis l'extrait de <i>L.inermis L</i>	104
Figure 44 : Rat témoin (T) ;a : après 5 jours du début de l'expérimentation ;b : après 15 jours du début de l'expérimentation	108
Figure 45 : Rat avec une atteinte dermatophyte traité avec l'extrait de <i>Lawsonia inermis L</i> a 10% après 5 jours du début de l'expérimentation ;b : après 15 jours du début de l'expérimentation.....	108
Figure 46 : Rat avec une atteinte dermatophyte traité par la pommade à base d'extrait de <i>Lawsonia inermis L</i> a 80% après 5 jours du début de l'expérimentation ;b : après 15 jours du début de l'expérimentation.....	108
Figure 47 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.....	Annexe 2
Figure 48 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes...Annexe 2	
Figure 49 : Droite d'étalonnage du catechine pour le dosage des tanins	Annexe 2
Figure 50 :Les étapes de l'extraction	Annexe 3
Figure 51 : Appareil McFarland.....	Annexe 3

Liste des abréviations

-	Négatif
%	Pourcentage
+	Positif
°C	Degré Celsius
μl	Microlitre
μm	Micromètre
al	Collaborateurs
AlCl ₃	Trichlorure d'aluminium
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Centimètre
D	Diamètre
DMSO	Dimethyl sulfoxyde
DO	Densité Optique
DT	Dermatophytes Traité
E	Epidermophyton
E.	Escherichia
EG	Eau Gélosé
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EM	Extrait de Malt
FeCl ₃	Perchlorure de fer
g	Gramme
Genta	Gentamicine
h	Heure
HCl	Acide chlorhydrique

HPLC	Haute Performance Liquide Chromatographie
Kg	Kilogramme
KOH	Hydroxyde de potassium
<i>L.inermis L</i>	<i>Lawsonia inermis L</i>
<i>M</i>	<i>Microsporium</i>
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight
McF	McFarland
Mg	Milligramme
MHA	Muller-Hinton
min	Minute
ml	Millilitre
Mm	Milimetre
MS	Matiere Seche
n	nombre (effectifs)
Na Cl	Chlorure de sodium
Na ₂ CO ₃	Carbonate de sodium
NCCLS	« National Committee on Clinical Laboratory Standards », organisme américain chargé de définir les normes de biologie clinique.
Ø	Diamètre
OMS	Organisation Mondiale de Santé
ONAB	Organisation National d'Alimentation du Betail
<i>P</i>	<i>Pseudomonas</i>
PC	Pomme de terre-Carotte
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDA	Potato-Dextrose-Agar
Péni G	Pénicilline G
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
<i>S</i>	<i>Staphylococcus</i>

SAC	Saboraud cloramphrnicol actidionné
SC	Saboraud Cloramphenicol
sp.	Espèce non précisée
<i>T</i>	<i>Trichophyton</i>
T	Témoin
V	Volume

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction01

Partie bibliographique

Chapitre 1 : la phytothérapie

1. La phytothérapie.....	03
2. Les plantes médicinales	04
2.1. Définition.....	04
2.2. Parties de plantes médicinales utilisées.....	05
2.3. préparation des plantes médicinales et Conseils	06
2.3.1. La récolte des plantes.....	06
2.3.2. conservation des plantes et méthode de séchage	07
2.3.2.1.Séchage.....	07
2.3.2.2.Conservation.....	07
2.4. Les différentes modes de préparation des plantes.....	07
2.4.1. Infusion.....	08
2.4.2. Décoction.....	08
2.4.3. Macération.....	08
3. Les métabolites secondaires	09
3.1. Les composés phénoliques:.....	09
• Flavonoïdes.....	10
• Tanins.....	11

• Les coumarines	12
• Les quinones	13
• Les Terpénoïdes	14
4. Propriétés biologiques des polyphénols	15

Chapitre II :*Lawsonia inermis L*

1. <i>Lawsonia inermis L</i> (le Henné)	18
1.1. Présentation	18
1.2. Classification botanique	18
1.3. Description morphologique	19
1.4. Origine et répartition géographique.....	20
2. La composition chimique de <i>L.inermisL</i>	20
2.1. Les Composés phénoliques	21
➤ Les coumarines.....	21
➤ Les flavonoïdes.....	21
➤ Les tanins.....	21
➤ Les naphthalenes.....	21
➤ Les naphthoquinones.....	22
➤ Les xanthones.....	22
➤ Les lignanes.....	22
➤ Les alkylphénones.....	22
➤ Autres composés phénoliques.....	22
2.2. Les terpènes.....	23
➤ Terpènesvolatiles.....	23
➤ Terpénoïdes non volatiles	23
2.3. Les stéroïdes.....	24
2.4. Les alcaloïdes.....	24
3. Les Activité Pharmacologiques de <i>L. inermis L</i>	25
4. Les propriétés et les utilisations de <i>L.inemis L</i>	26

Chapitre 111 La flore dermique

1. La flore dermique	28
1.1. Généralités sur la peau humaine.....	28
1.2. Généralités sur la systématique des champignons	28
➤ Les champignons filamenteux	29
2. Les dermatophytes.....	29
2.1. Dermatophytes anthropophiles.....	30
2.1.1. Les mycoses des pieds.....	30
2.1.2. Les teignes.....	30
2.1.3. Les dermatophyte de la peau	31
2.2. Les dermatophytes zoophiles.....	31
2.3. Les dermatophytes géophiles	31
3. Les aspects cliniques des dermatophytes.....	32
3.1. Les teignes	32
3.1.1. Les teignes tondantes.....	33
3.1.1.1.Les teignes microscopiques.....	33
3.1.1.2.Teignes tondantes sèches à petites plaques.....	33
3.1.2. Les teignes faviques	34
3.1.3. Les teignes inflammatoires ou suppurées	34
3.2. Les onychomycoses	34
3.2.1. L'onychomycose disto-latérale sous-unguéale.....	35
3.2.2. Les leuconychies	
3.2.3. Les onychomycose sous-unguéale proximale	35
3.2.4. L'onychomycose endonyx.....	36
3.2.5. L'onychodystrophie totale.....	36
3.3. Les épidermophyties.....	36
3.3.1. Les dermatophyties circinées.....	36
3.3.2. Les atteintes des plis, ou intertrigos.....	36
3.3.2.1.L'intertrigo des grands plis.....	36
3.3.2.2.L'intertrigo des petits plis.....	37
4. Les diagnostic biologique.....	37
4.1. L'examen clinique du patient	37
4.2. Le prélèvement	38

4.2.1. Les lésions cutanées.....	39
4.2.2. Les teignes du cuir chevelu.....	39
4.2.3. L'onyxis.....	39
4.3. L'examen microscopique direct.....	40
4.3.1. Les produits éclaircissants.....	41
4.3.2. Les colorants et fluorochromes.....	41
4.4. La culture.....	41
4.4.1. Les milieux de culture.....	41
4.5. L'identification	42
4.5.1. Les milieux d'identification (laboratoires spécialisés).....	43
4.6. Les techniques complémentaires.....	44
4.6.1. La recherche d'organes perforateurs.....	44
4.7. Les techniques de biologie moléculaire.....	44
4.7.1. PCR-RFLP.....	45
4.7.2. PCR-ELISA.....	45
4.7.3. PCR en temps réel.....	45
4.7.4. PCR-séquençage.....	45
4.7.5. Technique d'avenir : le MALDI-TOF ?.....	45
5. Les aspects thérapeutiques.....	46
5.1. Les dermatophytoses des zones pileuses.....	46
5.2. Les dermatophytoses de la peau glabre et intertrigos.....	47
5.3. Les onychomycoses à dermatophytes.....	47

Partie expérimental

Chapitre 1V Matériels et méthodes

L'objectif du travail.....	49
1. Isolement et identification des dermatophytes.....	49
1.1. Prélèvement.....	50
1.2. Examen direct	50
1.3. Isolement	50
1.4. Repiquage sur milieux d'identification	51
1.4.1. Milieux d'identification	51
1.4.2. L'identification	51

➤ Exame macroscopique	51
➤ Examen microscopique	51
2. Activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	52
2.1. Matériel végétal.....	52
2.1.1. Protocole d'extraction général.....	53
2.1.2. Tests phytochimiques	53
✓ Principe.....	53
➤ La mise en évidence des polyphénols	53
➤ La mise en évidence des tanins	53
➤ La mise en évidence des flavonoïdes	54
➤ La mise en évidence des terpènes	54
➤ La mise en évidence des alcaloïdes.....	54
➤ La mise en évidence des saponosides	55
2.1.3. Dosage phytochimique.....	55
➤ Dosage des polyphénols totaux.....	55
➤ Dosage des flavonoïdes totaux.....	55
➤ .Dosage des tanins condensés.....	56
2.1.4. Techniques chromatographiques de séparation.....	56
➤ Mode opératoire.....	56
3. Etude invitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait de <i>L.inermis</i> L.....	56
3.1. Préparation des concentrations.....	56
3.2. Souches bactériennes utilisées.....	56
3.2.1. Préparation de l'inoculum.....	57
3.2.2. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques	58
3.2.3. Teste d'activité antibactérienne	58
3.3. L'évaluation de l'activité antifongique	59
4. L'étude in vivo.....	60
4.1. Matériel animal.....	60
4.2. Entretien des animaux.....	60
4.3. Répartition des lots	60
4.4. Préparation de la pommade a tester	60

Chapitre V Résultats et discussions

1. Isolement et identification des dermatophytes	63
1.1.Prélèvement.....	63
1.2.Examen microscopique direct	64
1.3.Isolement	66
1.4.Identification.....	66
1.4.1. L'identification morphologique macroscopique	66
1.4.2. L'identification morphologique microscopique	82
1.4.3. Interprétation de l'examen microscopique	82
2. L'activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L	92
2.1.Extraction	92
2.2.Screening phytochimique	92
2.3.Dosage spectrophotométrique des polyphénols.....	93
➤ Dosages des phénoliques totaux.....	93
➤ Dosage des flavonoides totaux.....	94
➤ Dosage des tanins condensés.....	94
2.4.Identification des composés actives de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L par analyse HPLC.....	95
3. Effets antimicrobiens de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	96
3.1.Activité antibactérienne de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	96
3.2.Activité antifongique de l'extrait de <i>Lawsonia inermis</i> L.....	100
4. Etude in vivo.....	106
 Conclusion	 109

Références bibliographiques

Annexes

Publication

Travaux scientifiques



Introduction

INTRODUCTION

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux microscopiques qui se caractérisent principalement par leur affinité particulière pour la kératine. Ce sont des eumycètes appartenant à la classe des ascomycètes ; leur reproduction asexuée, observée sur les cultures du laboratoire, permet de décrire trois genres : Epidermophyton, Microsporum et Trichophyton. Ils sont à l'origine, chez l'homme et l'animal, de lésions superficielles touchant la peau glabre (épidermophyties), les ongles (onyxis), les poils (folliculites) ou les cheveux (teignes). Les infections causées par les dermatophytes sont relativement fréquentes. **(Padhye A et al,2005 ; Fidel PI et al 2006)**

Par ailleurs, les dermatophyties restent localisées au niveau des couches superficielles de l'épiderme ; les atteintes profondes, y compris chez les patients immunodéprimés, sont exceptionnelles. **(TanyaGreywal Sheila FallonFriedlander ;2018)** Cependant, en raison de la difficulté à différencier cliniquement une dermatophytie d'une autre dermatose (ceci est particulièrement vrai pour les ongles dystrophiques), le recours au laboratoire s'impose. En effet, il est important de poser avec certitude le diagnostic d'onyxis à dermatophytes avant de mettre en route tout traitement, surtout systémique, en raison de la durée prolongée de celui-ci (de 3 à 6 mois), de son coût élevé et des effets indésirables potentiels des antifongiques. En outre, la connaissance de l'origine de la contamination permettra éventuellement d'instaurer un traitement antifongique correct ainsi que des mesures prophylactiques, comme le traitement des animaux de compagnie dont les maîtres présentent des lésions dermatophytiques

Cependant, la complexité chimique de beaucoup de produits issus de la nature fait qu'actuellement le développement de la chimie organique s'associe à la chimie des produits naturels dans lesquels les techniques d'extraction, de séparation, de détermination de la structure et particulièrement de synthèse ont été développées pour comprendre la variation structurale des produits naturels afin d'identifier les composés biologiquement actifs pour l'usage médicinal.

La plante *Lawsonia inermis* L appelée couramment « le Henné » est un arbuste très populaire en Algérie qui appartient à la famille des Lythracées ;Elle est très utilisée comme colorant naturel des cheveux, des mains et des pieds depuis l'antiquité. Le henné est aussi connu en médecine traditionnelle pour ses vertus pharmacologiques.

Du fait du potentiel démesuré qu'offrent les produits naturels, en particulier ceux d'origine végétale, et de l'intérêt de leur étude tant du point de vue fondamental qu'appliqué, nous avons fixées au cours de ce travail quatre grands objectifs

- l'isolement et l'identification des souches dermatophytes
- l'étude phytochimique des composés de l'extrait de *Lawsonia inermis L*
- L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de différents concentrations de l'extrait des feuilles de la plante *Lawsonia inermis L* (Henné), cultivé dans la région d'Adrar.
- L'étude *in vivo* chez le rat (application d'une pommade fabriquée à base de henné)



Partie

Bibliographique



Chapitre I

La phytothérapie

1. La phytothérapie

La phytothérapie se définit comme l'utilisation à des fins thérapeutiques de plantes (du grec : phutos), dans leur intégralité, en partie (fleur, feuille, tige, racine) ou sous la forme d'extraits divers (décoctions, distillats, huiles essentielles). Le livre « The Divine farmer's classic of herbalism », conçu il y a plus de 2800 ans par un auteur chinois (Shen Nong), serait la première trace écrite de cette pratique médicale. (Benzie IFF, 2011).

La phytothérapie fait partie de la médecine traditionnelle appelée aussi médecine alternative ou parallèle. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques (Iserin et al., 2001). Environ 35 000 espèces de plantes sont employées à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et al., 2007).

Cette consommation de plantes par l'être humain s'exerce schématiquement selon deux axes : une vision holistique qui s'intéresse aux effets des plantes sur l'individu dans sa globalité et qui correspond plutôt à l'herboristerie et une vision plus scientifique centrée sur l'analyse des actions de plantes sur les symptômes des maladies et la recherche des molécules actives : la phytothérapie proprement dite. (Laccourreye, O et al 2017).

La recherche en phytothérapie fait appel à des études d'efficacité réalisées in vitro et in vivo, chez l'homme comme chez l'animal. Sa particularité réside dans l'existence de substances actives ayant des effets synergiques dans des mélanges de végétaux mais aussi parfois au sein d'un seul végétal et également dans la difficulté à isoler ces principes actifs. L'écueil principal rencontré dans les études phytothérapeutiques est le manque de standardisation de ces études, défaut récurrent des médecines alternatives. En phytothérapie, ce manque de standardisation concerne les systèmes sur lesquels un extrait végétal est testé, la teneur précise de cet extrait végétal, sa provenance, sa fraîcheur, etc. Ces éléments constituent autant de variations empêchant les études d'être complètement reproductibles et surtout comparables entre elles (Wyllie 2006).

Il y'a différents types de phytothérapie :

- Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les extraits aromatiques de plantes (essences et ou huiles essentielles), ce sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.(**Couic-Marinier, F.,2016**)
- Gemmothérapie : , la gemmothérapie est une méthode thérapeutique qui utilise des bourgeons végétaux (foliaires ou floraux) mais également d'autres tissus embryonnaires vivants en voie de croissance (jeunes pousses, radicules). Ces tissus sont obligatoirement recueillis frais et employés sous forme de macérats glycéринés buvables(**M. Tétau et al.,2011 ; P. Adrienne.,2011**)
- Herboristerie : consiste dans la préparation et la commercialisation de plantes médicinales ou de préparations dérivées. La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. (**Zeghad, 2008**)
- Homéopathie : (du grec ómoioz/hómoios, « similaire » et páuoз/páthos, « souffrance » ou « maladie »), inventée par Samuel Hahnemann en 1796,elle consiste à traiter une maladie par des substances susceptibles de produire des troubles semblables à ceux déterminées par la maladie elle-même.(**Philibert C et al.,2015 ; De Nonneville, A et al.,2018**)
- Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant.Après transformation chimique, les plantes sont vendues sous forme de tisanes, de liquide, de sachets, ou de gélules(**Zeghad, 2008**) .

2. Les plantes médicinales

2.1 Définition

La **Pharmacopée française (2010)** donne une définition claire des plantes médicinales : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales qui possèdent des propriétés médicamenteuses.

Les plantes étaient autrefois la principale source de médicaments dans le monde. Depuis, les plantes continuent de fournir aux humains de nouveaux remèdes.Dans le monde, 50% des médicaments en usage clinique sont dérivés de produits naturels,produits, dont les plantes supérieures représentent 25% du total (**Van Wyk et al., 2013 ; Van Wyk et al 2018**). Les plantes médicinales jouent un rôle essentiel dans les soins de santé de base dans

de nombreux pays en développement, y compris l'Afrique du Sud (Fullas, 2007), environ 80% de la population utilise des médicaments en raison de son prix abordable et de son acceptabilité culturelle (Maroyi, 2013).

2.2. Parties de plantes médicinales utilisées

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

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

- **Racine:** Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues
- **Rhizome:** Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol.
- **Bulbe :** Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail.
- **Tubercule:** Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse.

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

- **Écorce:** L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice. Exemple : (*Cinchona* sp., Rubiaceae) et (*Cinnamomum camphora* et *C. camphora* , les deux de la famille Lauraceae).
- **Bois:** Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même. Exemple : *Santalum album* de la famille Santalaceae.

- **Feuilles** : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole. Exemple : Ginkgo biloba de la famille Ginkgoaceae
- **Gommes** : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains. Exemple (Acacia Senegal; Terminalia bentzoe).
- **Huiles essentielles** : Exemple (Mentha x piperita; Cananga odorata).
- **Les parties aériennes**: Toutes les parties de la plante qui se trouvent au dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison. Exemple : Hypericum perforatum de la famille Hypericaceae.
 - **Fleurs** : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle.
 - **Fruits** : Exemple (Punica granatum ; Citrus sp).
 - **Graines** : Exemple (Ricinus communis; Foeniculum vulgare).

2.3. préparation des plantes médicinales et Conseils d'utilisation

2.3.1. La récolte des plantes

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

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

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

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

2.3.2. conservation des plantes et méthode de séchage

2.3.2.1.Séchage

Le séchage est une opération caractérisée par les transferts couplés de chaleur, de masse et de quantité de mouvement (**D. Djerroud, 2010**). Il s'agit d'une séparation thermique, où il faut fournir l'énergie de vaporisation de l'eau pour qu'elle quitte le produit. Habituellement, pour conserver les plantes aromatiques et médicinales, le séchage traditionnel est la méthode la plus commune et fondamentale, il permet la conservation des qualités médicinales de manière simple et naturelle. (**Nesrine OUAFI et al.,2015**)

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) (**Boulemtafes, 2011**).

2.3.2.2.Conservation

Il existe diverses méthodes de conservation, les plus courantes et les plus simples étant le séchage à l'air ou au four (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les plantes séchées sont coupées grossièrement et disposées dans des bocaux de verre ou dans des sacs en papier, à l'abri de l'air et de la lumière. Les boîtes en fer sont naturellement proscrites (**Berton, 2001**).

Les plantes séchées peuvent être conservés pendant une année dans de bonnes conditions. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue sensiblement et l'action thérapeutique disparaît. C'est pourquoi il faudra renouveler le stock de plants chaque année (**Berton, 2001**).

Il existe également d'autres méthodes pour la conservation des propriétés médicinales des plantes (**Larousse des plantes médicinales, 2001**) telles que l'aspiration de l'humidité des plantes par un déshumidificateur ou la congélation dans des sacs en plastique.

2.4.Les différentes modes de préparation des plantes

Le mode de préparation d'une plante médicinale est la méthode d'extraction des principes actifs responsables d'action guérisatrice. Il peut avoir un effet sur la quantité ces produits chimiques présents.

Les modes de préparation les plus courants sont : l'infusion, la décoction et la macération.

2.4.1. Infusion

Une infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minutes (**Sofowora, 2010 ; Fotakis, C et al 2016**).

2.4.2. Décoction

Le processus de décoction, implique de faire bouillir le matériel végétal permettant l'extraction de plus de substances mais aussi permet à plus d'arômes de s'échapper dans l'air. La décoction a tendance à être utilisée lorsque les propriétés médicinales ou l'activité biologique des plantes sont plus importantes que la saveur ou l'arôme (**Visht and Chaturvedi, 2012**).

2.2.3. Macération

Le liquide de macération peut être de l'eau, de l'alcool ou du vinaigre.

Dans le cas de la macération à l'eau, les plantes doivent être versées dans le liquide froid ou tiède pendant quelques heures (10 ou 12 heures) (**Pierre et Lis, 2007**).

Les macérations à l'eau ne doivent pas dépasser une douzaine heures par risque d'oxydation et de fermentation du liquide (**Pierre et Lis, 2007**).

Pour l'alcool, le vinaigre, huiles, cette macération peut se prolonger plusieurs jours sans inconvénients (**Pierre et Lis, 2007**).

Les trois modes de préparation ont été testés par l'équipe de recherche **Konkon et al., 2006** afin d'identifier les groupes de constituants chimiques présentant un intérêt pharmacologique.

Ils ont trouvé que la méthode d'extraction utilisée en médecine traditionnelle (décoction) est du point de vue qualitatif aussi efficace que les autres méthodes d'extraction étudiées (macération et infusion).

3. Les métabolites secondaires :

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminés et glucides) (**Ferrari J., 2002**). Les plantes produisent, en plus, un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés : métabolites secondaires. Ils constituent un groupe de produits naturels qui sont exploré pour des propriétés très diverses : antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anticancéreuses etc... (**Epifano et al., 2007**).

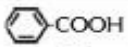
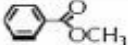



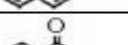

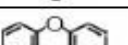
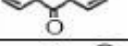
Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (**Hartmann., 2007**). Ils sont classés en plusieurs composants chimiques dont les plus répandus sont : les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes (**Vermerris., 2006**).

3.1. Les composés phénoliques:

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimate et celle de l'acétate (**Hennebelle., 2006**).

Plusieurs milliers ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. Bien qu'étant très diversifiés, ils ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques, portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, auxquelles est directement lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton.,1999 ; Macheix et al., 2005**). Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) à des proportions variables. Les plus représentés sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, et les tanins (**Lugasi et al., 2003**).(tableau 1)

Tableau 1 : Structure des squelettes des polyphénols (Crozier et al., 2006).

Nombre de carbones	Squelette	Classification	Exemple	Structure de base
7	C ₆ -C ₁	Acides phénols	Acide gallique	
8	C ₆ -C ₂	acétophénones	Gallacetophénone	
8	C ₆ -C ₂	Acide phénylacétique	Acide p-hydroxyphénylacétique	
9	C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide p-coumarique	
9	C ₆ -C ₃	Coumarines	Esculitine	
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferine	
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resveratrol	
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Naringénine	

- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments très largement répandus dans le règne végétal (les fruits, les légumes, les graines ou encore les racines des plantes), souvent responsables de la coloration des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993 ; Ghestem et al., 2001). A l'état naturel ils existent le plus souvent sous forme d'hétérosides : les flavonosides (Ghestem et al., 2001 ; Marfak, 2003). C'est-à dire des dérivés de génines sur lesquelles un ou plusieurs oses sont greffés (Hadi, 2004).

Les flavonoïdes sont formés d'un squelette de base à 15 carbones (C₆-C₃-C₆), correspondant à la structure du 2-phényl-benzopyrone (Fiorucci, 2006). Ce groupe comprend plusieurs classes, subdivisées selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (Marfak, 2003).

Ces composés sont connus pour être de puissants antioxydants, leurs mécanismes d'action peut être directe ou indirecte : piégeant les radicaux libres réactifs et les chélateurs d'ions métalliques, sont les effets directs les plus importants,

Ils ont un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la phospholipase etc...), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension, des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (Anderson et al., 1996 ; Cowan., 1999 ; Yao et coll., 2004).(fig 1)

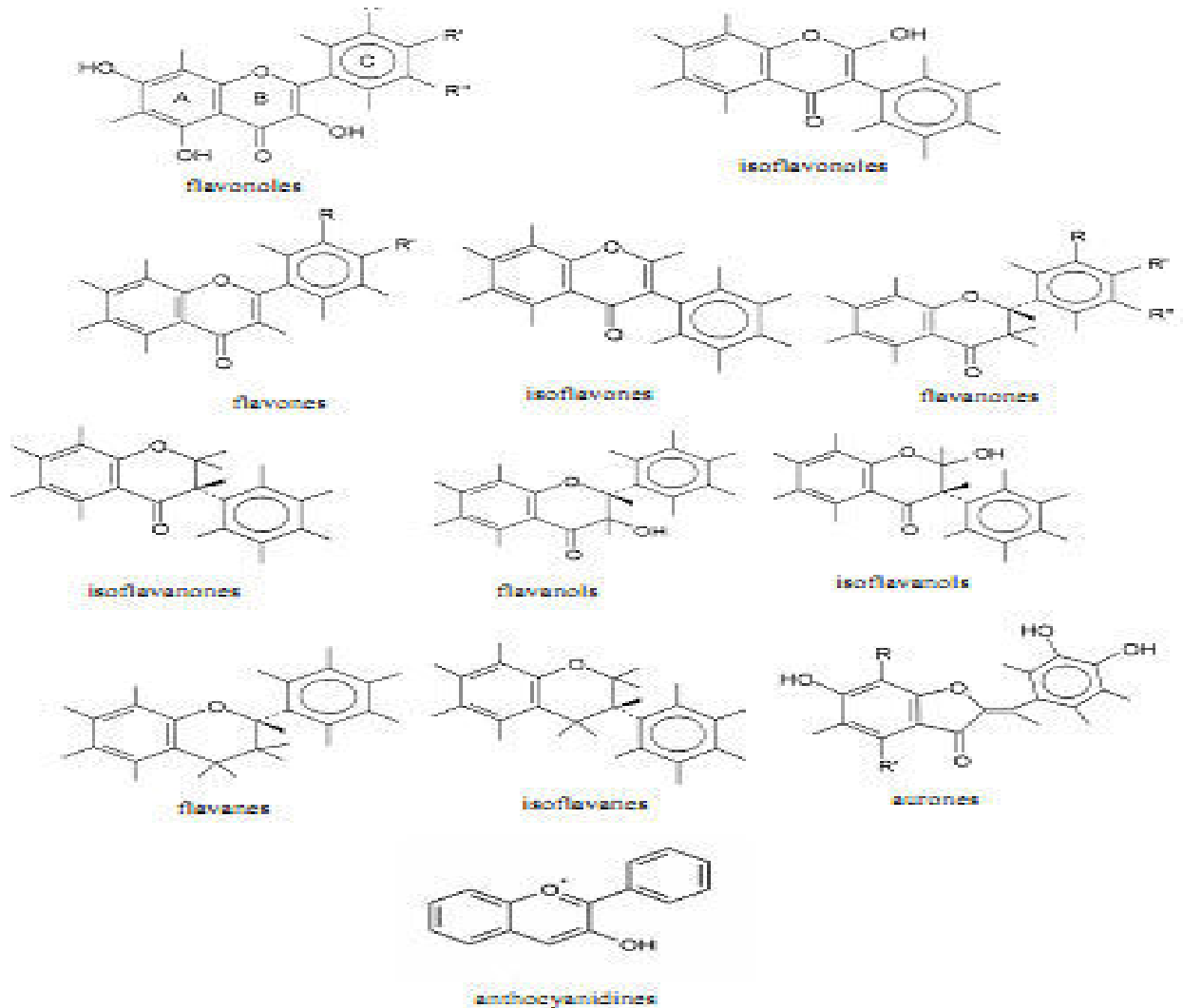


Figure 1 : Structures des squelettes de base des flavonoïdes (Havsteen, 2002)

- **Les tannins :**

Ils sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau. Ils présentent les réactions caractéristiques des phénols en général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, et les autres protéines (Stevanovic., 2005 ; Merghem., 2009).

D'après leurs structures et leurs propriétés, deux types de tannins sont distingués: les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

Les tanins hydrolysables : sont des dérivés de l'acide gallique ; ils sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est généralement le D-glucose, l'acide phénol et soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins soit l'acide ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton., 1993 ; Cowan., 1999).

Les tanins condensés : sont distingués en procyanidine (dérivé de catéchine, épicatechine et leurs esters galliques) et en prodelphinidines (dérivés de gallocatéchine, épigallocatéchine et leurs esters galliques) (valls et al., 2009 ; Ignat et al., 2011).

Les tanins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (Kansole., 2009).(fig.2)

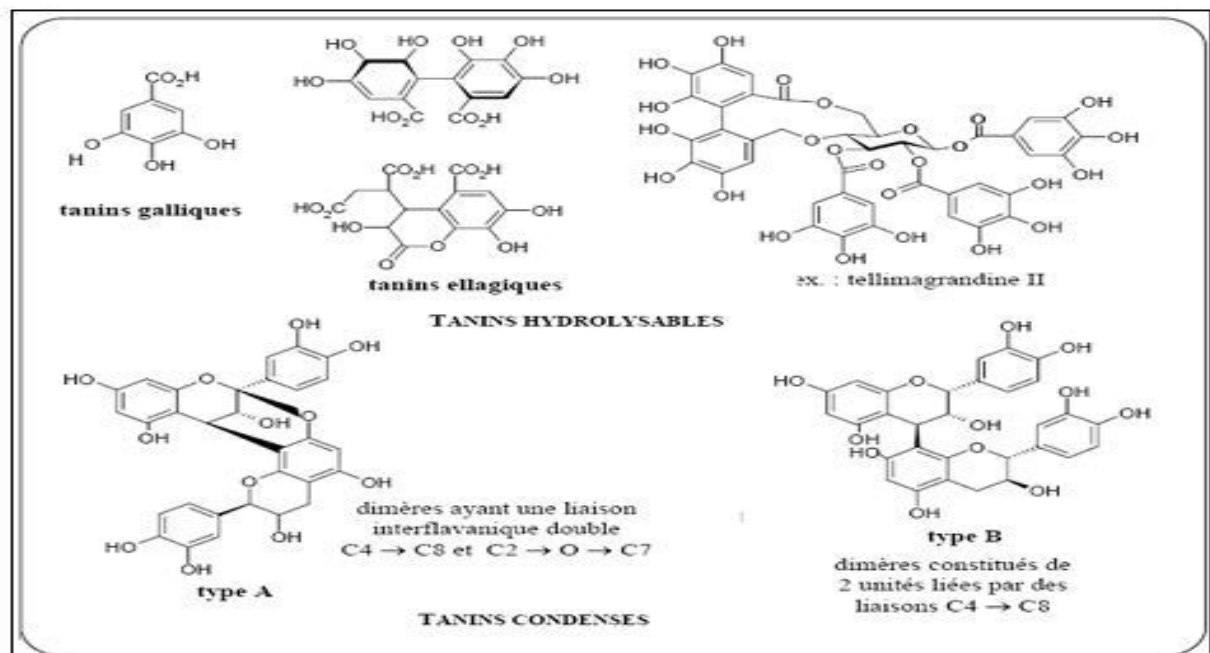


Figure 2 : Structures des tanins hydrolysables et condensés

- Les coumarines :

Les coumarines sont des substances naturelles connues, Il s'agit de composés à neuf atomes de carbone possédant le noyau benzo pyranon-2. Certaines familles d'Angiospermes élaborent des structures très variées Fabaceae, Asteraceae et surtout

Apiaceae et Rutaceae chez lesquelles sont rencontrées les plus complexes (Brenrton., 1993)

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus ; se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (Igor., 2002). Ils sont connus par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, hypotensives ; ils sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (Gonzalez et Estevez., 1997)(fig.3).

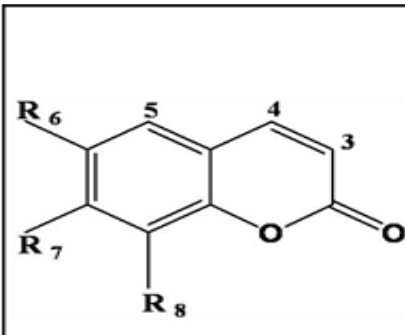
	<i>Composé</i>	<i>R₆</i>	<i>R₇</i>	<i>R₈</i>
	<i>Daphnétine</i>	H	OH	OH
	<i>Erioside</i>	OH	OH	O-Glc
	<i>Esculétine</i>	OH	H	OH
	<i>Esculine</i>	O-Glc	H	OH
	<i>Fraxétine</i>	OCH ₃	OH	OH
	<i>Scopolétine</i>	OCH ₃	H	OH
	<i>Umbélliférone</i>	H	H	OH

Figure3 : les coumarines simples

- Les quinones :

ou la benzoquinone (C₆H₄O₂), C'est l'un des deux isomères de la cyclohexadienedione. L'orthobenzoquinone est la 1,2-dione, alors que la parabenzoquinone, est la 1,4-dione. Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (Kansole., 2009). Elles assurent souvent des fonctions biologiques essentielles chez les être vivants, en particulier le transfert des électrons dans les mitochondries et les chloroplastes(Macheix et coll., 2005).

• Les Terpénoïdes :

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes (Bruneton., 1999 ; Harbone., 1998).

Ils existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits. Le terpénoïde le plus simple est un hydrocarbure, l'isoprène (C₅H₈). ils sont classés en fonction de leurs unités isoprène (Peter et coll., 2003). On dénombre aujourd'hui 600 classes utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et cosmétique (Lucienne., 2010). (fig.4)

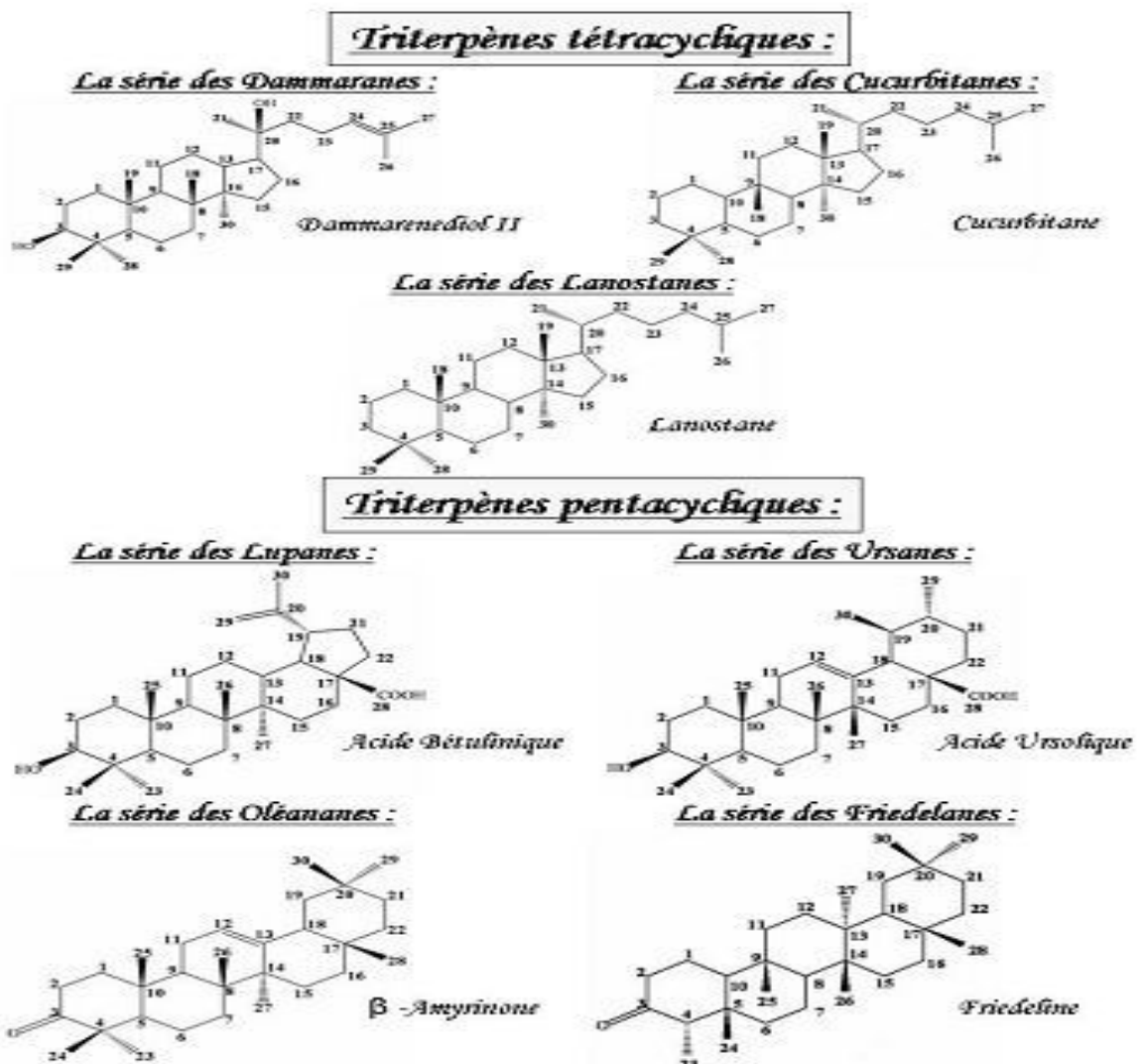


Figure 4 : Principaux classes des triterpènes

4. Propriétés biologiques des polyphénols :

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-atherogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire (**Middleton et al., 2000 ; Ksouri et al., 2007**). Ces actions sont attribuées à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Nijveldt et al., 2001**).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (**Leong et Shui, 2002**). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Hennebelle et al., 2004**).

En ce qui concerne les flavonoïdes, ces composés peuvent empêchés les dommages oxydatifs par différentes mécanismes d'actions : soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxyles et peroxydes (**Hodek et al., 2002**) ; soit par chélation des métaux (le fer et le cuivre) qui sont d'importance majeure dans l'initiation des réactions radicalaires ; soit l'inhibition des enzymes responsables de la génération des radicaux libres (**Van Acker et al., 1996 ; Benavente-Garcia et al., 1997**). Ils jouent un rôle très important dans le traitement du diabète (inhibant l'aldose réductase), de la goutte (inhibant la xanthine oxydase), des inflammations (inhibant la lipoxigénase, la phospholipase et la cyclooxygénase), des hépatites, des tumeurs, de l'hypertension (quercétine), des thromboses (flavonols), des allergies et des affections bactériennes et viraux (anti-HIV) (**Anderson et al., 1996 ; Cowan, 1999 ; Yao et al., 2004**). Mais, on attribue également

aux flavonoïdes des propriétés neurosédatives, antispasmodiques, diurétiques, anti-œstrogènes (isoflavones), contre la sénescence cérébrale et ses conséquences telle l'altération de la mémoire et la confusion.

D'autres part, les citroflavonoïdes (flavonoïdes provenant de divers Citrus) et le fragilité capillaire (insuffisance veino-lymphatique, crise hémorroïdaire) (**Hennebelle et al., 2004**).

Les anthocyanes sont également utilisés dans les troubles de la fragilité capillaire (vigne rouge, *Vitis vinifera* L.), mais aussi comme diurétiques, voire même antiseptiques urinaires. Leur plus grande spécificité reste cependant leur propriété d'améliorer la vision nocturne en facilitant la régénération du pourpre rétinien (myrtille, *Vaccinium myrtillus* L. ; cassis, *Ribes nigrum* L.) (**Hennebelle et al., 2004**). Présente comme des couleurs brillant dans les fruits et les légumes, les anthocyanidines ont montré leur effet inhibiteur de la croissance des lignées cellulaires humaines (**Zhang et al., 2005**).

Les tanins sont considérés comme des anti-nutriments grâce aux divers effets nuisibles à savoir la digestion réduite des aliments, la faible biodisponibilité des micronutriments et les dommages du foie (**Chung et al., 2010**). Ils sont dotés d'un certain pouvoir astringent, par lequel on explique leurs propriétés vasculoprotectrices, cicatrisantes et anti-diarrhéiques (chêne, *Quercus* spp.). Les proanthocyanidines dimères de l'aubépine (*Crataegus* spp.) seraient de bons sédatifs cardiaques (**Hennebelle et al., 2004**). Concernant le pouvoir antioxydant des tannins, cette propriété est très remarquable due à leurs noyaux phénols et la présence des groupes di- ou trihydroxyles sur le cycle B et les groupes méta 5, 7 dihydroxyles sur le cycle A. Les tannins catéchiques du thé vert : gallate d'épicatéchine, gallate d'épigallocatechine et l'épicatéchine sont des puissants extracteurs des radicaux libres (**Rahman et al., 2006**), ils inhibent les ions Cu^{2+} qui catalysent l'oxydation des lipoprotéines dans les macrophages in vitro (**Yoshida et al., 1999**).

Les coumarines sont utilisées pour leurs propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques, stomachiques et carminatives (**Hennebelle et al., 2004**). Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires (**Anderson et al., 1996**).

Les acides phénols et ces dérivés sont considérés comme responsables de l'activité cholérétique de l'artichaut et les propriétés antipyrétiques et anti-inflammatoires des

dérivés salicylés (**Hennebelle et al., 2004**). Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique (**Bossokpi, 2002**). Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (**Cowan, 1999**). Alors, l'acide gallique a pour pouvoir de réduire la viabilité des cellules cancéreuse du poumon chez les souris in vitro et que la combinaison de cet acide avec les médicaments anticancéreux tels la cisplatine peut être un traitement efficace pour ce type de cancer (**Kawada et al., 2001 ;Rangkadilok et al., 2007**). Il peut aussi prévenir les dommages oxydatifs d'ADN cellulaire à une faible concentration et exerce une forte activité antiproliférative tels que la quercétine sur les cellules humaines cancéreuses du colon et les cellules épithéliales du foie chez les rats normaux (**Lee et al., 2005**).

Certaines quinones, dérivant de l'antraquinone, sont des laxatifs stimulants. Elles sont rencontrées dans la bourdaine (*Rhamnus frangula* L.), les sénéés (*Cassia* spp.) et les aloès (*Aloe* spp.). D'autres activités antidépressives (hypericin), anti-protozoaires, antivirales, antibactériennes, fongicides et antiallergiques ont été décrites et plusieurs molécules du groupe ont une toxicité non négligeable. (**Bruneton, 1993 ; Hennebelle et al., 2004**).



Chapitre II

Lawsonia inermis L

1. Lawsonia inermis L**1.1. Présentation**

Plante de la famille des Lythracées Cette dernière est connue pour sa possession d'un potentiel colorant important (**Orwa C et al 2009**). Elle est cultivée sous le nom de Henné en Afrique du Nord, au Moyen- Orient et en Inde occupant une aire partant de l'Afrique de l'Ouest jusqu'en Asie du sud-est. La plante est retrouvée sur tout type de sol cependant elle tolère mal les sols alcalin, elle pousse principalement le long des cours d'eau et dans les régions semi-arides et a besoin de températures élevées pour sa germination ; le henné est largement utilisé pour la médecine traditionnelle et prophétique en Afrique, Asie et Moyen-Orient(**Tauheed AM et al 2016**)

1.2. Classification botanique :

L.inermis L est la plante la plus connue de la famille des Lythracées. Cette famille est connue pour sa possession d'un potentiel colorant important. Elle est cultivée sous le nom de Henné en Afrique du Nord, au Moyen- Orient et en Inde occupant une aire partant de l'Afrique de l'Ouest jusqu'en Asie du sud-est.

Lawsonia inermis (Henné ou mehendi) appelé également Lawsonia alba-Lam appartient à :

L'Embranchement : Spermaphytes

La Sous-embranchement : Angiospermes

La Classe des : Magnoliopsida

La Sous-classe des : Magnoliidae

L'Ordre des : Myrtales

La Famille de : Lythraceae: qui se compose d'environ 500 espèces

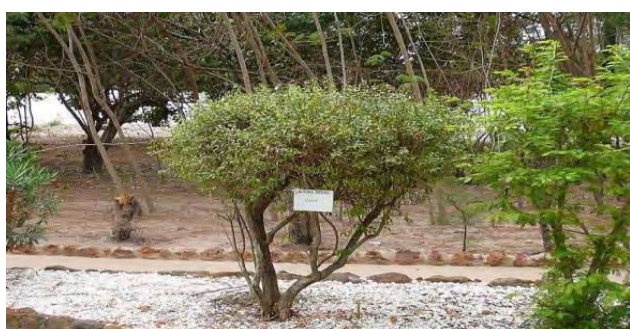
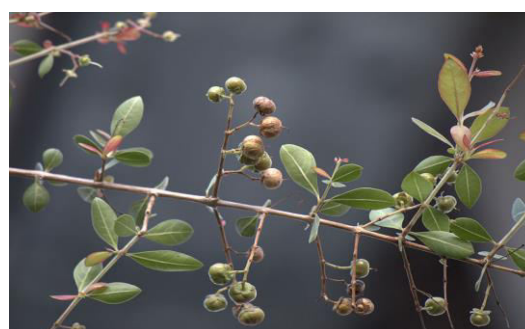
Le Genre : Lawsonia qui ne comporte qu'une seule espèce (**Musa et Gasmelseed 2012 ; Sharma A et Sharma K 2013**).

Espèce : *L.inermis L*.

Nom binomiale : *Lawsonia inermis*

1.3. Description morphologique

Lawsonia inermis est un arbuste ou petit arbre fortement ramifié, glabre, atteignant 6 m de haut, à écorce marron-grise. Ses feuilles opposées décussées, simples et entières, sont presque sessiles à stipules minuscules; limbe elliptique à oblong ou largement lancéolé; inflorescence: panicule terminale de grande taille, pyramidale, atteignant 25 cm de long, à nombreuses fleurs bisexuées régulières et odorantes. Son fruit est une capsule globuleuse de 4-8 mm de diamètre, violet-vert, indéhiscente ou s'ouvrant irrégulièrement, contenant de nombreuses graines longues de 2-3 mm, à tégument épais (Chauhan et Pillai, 2007 Jallad and Jallad, 2008)

**A] : Arbuste de *L. inermis*****B] : Partie aérienne avec fruit****C] : Fleurs****D] : Fruit****E] : Feuilles****F] : Poudre des feuilles séchées****Figure 5: Description botanique de *Lawsonia inermis* L (Kadiatou, malle (2011)**

1.4. Origine et répartition géographique

En effet, la région d'origine du henné correspond à la savane tropicale et aux régions arides originaire de l'Inde ou de l'Afrique de l'Est ; le henné est naturalisée principalement dans les régions tropicales et sub-tropicales de l'Asie, de l'Afrique et de l'Australie, d'où sortent les meilleures qualités tinctoriales quand il est cultivé dans les températures comprises entre 35°C et 45°C. (Akoègninou et al., 2006 ; Musa et Gasmelseed 2012 ; Philippe 2013)

La poudre de ses feuilles, appelé également henné, a été largement diffusé en Europe depuis 1890 (El Babili et al., 2013), actuellement elle est l'objet d'un commerce intense entre l'Afrique du nord, l'Inde et l'Europe (Botineau 2010).

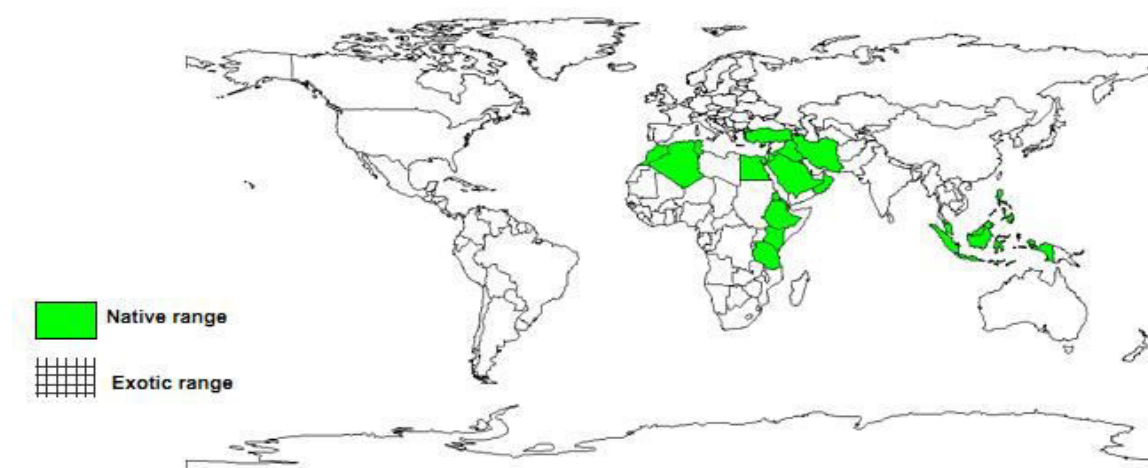


Figure6 : Localisation de *Lawsonia inermis L* dans le monde (Orwa C et al ;2009)

2. La composition chimique de *L.inermis L*

Près d'une centaine de phytoconstituants, représentant une variété de classes, ont été identifiées à partir de toutes les parties de *Lawsonia inermis*. Les composés phénoliques, notamment les coumarines, les flavonoïdes et les naphthoquinones, sont particulièrement présents dans les extraits de henné. Cette abondance de composés biologiquement actifs implique que le henné a diversifié son arsenal chimique au cours des millénaires une gamme de menaces auxquelles les individus ont été exposés. Le semi-aride environnement d'où provient la plante a peut-être favorisé les voies évolutives vers la production de métabolites phytopharmaceutiques. Bien que les conditions climatiques favorisant la

production de colorant (Lawsonie) (Phirke et Saha, 2013), des études phytochimiques approfondies sont en cours.

2.1. Les Composés phénoliques

➤ Les coumarines

La coumarine (5-allyloxy-7-acétoxy coumarine) a été isolée de la plante mère (Bhardwaj et al., 1976), tandis que fraxétine, scopolétine ; esculétine (Chakrabartty et al., 1977; Chaudhary et al., 2010), daphneside , daphnorin et agrimono lide-6-O-β-D-glucopyranoside (Cuong al, 2010) ont été identifiés dans les feuilles.

➤ Les flavonoïdes

Un grand nombre de flavonoïdes ont été isolés principalement des parties aériennes du henné. Ceux-ci incluent l'acacétine, également connue sous le nom de linarigénine, linarisénine ou 4-méthoxyapigénine , acacétin-7-O-glucoside , lutéoline , lutéoline-7-O-glucoside (Mahmoud et al., 1980), apigénine-7-O-β-D-glucopyranoside , apigénine-4-O-β-D-glucopyranoside (, lutéoline-30-O-β-D-glucopyranoside (Afzal et al., 1980), apiine , cosmosiine (Mikhaeil et al., 2004), l'isoscutellarine (Cuong et al., 2010), lawsochrysin (5-hydroxy-6-n-pentyl-7-n-pentyl-oxylavone) ,lawsochrysinin (5-hydroxy-7-4"-pentényloxy-avfone) , lawsonaringénine (4 , 5-dihydroxy-7- (4" -pentényloxy) -favanone) , 3,4,7-triméthoxyflavone ,7-hydroxyflavone , 3,3',4',7-tétrahydroxyflavanone et rhoifoline (apigénine-7-O-β-neohesperidose) (Uddin et al., 2011), qui ont été isolés de la feuilles. Les racines velues produisent de la catéchine (Bakkali et al., 1997), alors que la lutéoline-40-O-β-D-glucopyranoside , l'apigénine , lutéoline-7-O-rutinoside, diosmétine-7-O-rutinoside et la lutéoline-7-O-β-D-glucopyranoside ont été rapportés des tiges et des feuilles (Liou et al., 2013)

➤ Les tanins

La racine doit pouvoir produire le 1,2,3,6-tétra-O-galloyl-β-D-glucose et les 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose (Bakkali et al., 1997). L'acide tannique est apparemment l'un des des principaux constituants de la plante (Ostovari et al., 2009).

➤ Les naphthalènes

Un petit nombre de naphthalènes, à part Lawsonie (1,2,4-trihydroxynaphthalène-1,4-di-O-β-D-glucopyranoside) (Takeda et Fatope, 1998), 1,2,4-trihydroxynaphthalène-1-O-β-D-glucopyranoside (Hsouna et al., 2011), trois carboxylates de méthyl-naphthalène, le lawsonaphtoate AC (Liou et al., 2013) et le 1,2-dihydroxy-4-O-glucosyloxy naphthalène (Afzal et al., 1984; Kawamura et al., 2000) ont été isolés des tiges et des feuilles de henné. Les naphthoquinones, abondantes au henné, sont dérivées des naphthalènes.

➤ Les naphthoquinones

Un certain nombre de naphthoquinones, notamment la 2-méthoxy-3-méthyl-1,4-naphthoquinone (Mikhaeil et al., 2004) et la lawone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone sur e) (Ashnagar et Shiri, 2011; Almeida et al., 2012) sont présents dans les feuilles de *Lawsonia inermis* L et particulièrement concentrée dans les pétioles des feuilles (Cartwright-Jones, 2006). Le lawsone est instable lorsqu'il est exposé à la lumière et à l'oxygène, rendant nécessaire de stocker le henné sec de manière appropriée (Cartwright-Jones, 2006). Beaucoup de propriétés biologiques affichées par la plante ont été attribués à son principe actif le Lawsone. L'écorce de la tige du henné donne l'isoplumbagine (2-méthyl-8-hydroxyl-1,4-naphthoquinone) (Gupta et al., 1993), tandis que le rendement lawsonadeem (1-méthoxy-13H dibenzo [b, i] xanthène-5,7,12,14-tétraenon) (Siddiqui et al., 2003), 4S-4 - l'hydroxy- α -tétralone, La 3-amino-2-méthoxycarbonyl-1,4-naphthoquinone et la 3 α , 4 α -dihydroxy- α -tétralone (Liou et al., 2013)

➤ Les xanthones

Des fourmis entières ont été utilisées comme méthode de préparation de l'isolement de 1,3-dihydroxy-6,7-diméthoxyxanthone (également appelé laxanthone-I) ; 1-hydroxy-3,6-acétoxy-7-méthoxyxanthone (laxanthone-II) (48) et 1-hydroxy-3,7-diméthoxy-6-acétoxyxanthone (laxanthone-III) (Bhardwaj et al., 1977; 1978; Mahmoud et al., 1980).

➤ Les lignanes

Cuong et al. (2010) ont isolé le syringaresinol-O- β -D-glucopyranoside, le pinorésinol-di-O- β -D-glucopyranoside et syringaresinol-di-O- β -D-glucopyranoside provenant des feuilles de henné.

➤ Les alkylphénones

Lalioside (2,3,4,6-tétrahydroxyacétophénone-2-O-D-glucopyranoside) (Takeda et Fatope, 1998), lawsoniaside A (1-butanoyl-3,5-diméthylphloroglucinyloxy-6)- β -D-glucopyranoside (Cuong et al., 2010) et le 2,4,6-trihydroxyacétophénone-2-O- β -D-glucopyranoside (Hsouna et al., 2011) ont été rapportés des feuilles.

➤ Autres composés phénoliques

Le dérivé obtusifuran, la lawsonicine (2,3-dihydro-5-hydroxy-3-(hydroxyméthyl)-2-[4-((3-hydroxypropyl)-3-méthoxy)phényl]-6-méthoxy-1-benzofurane) (Siddiqui et al., 2003) acide p-coumarique (Mikhaeil et al., 2004) et l'acide gallique (Ostovari et al., 2009). En outre, trois dérivés du 1,5-diphényl-pent-3-en-1-yne, la lawsochylène A – C, 4-hydroxy-benzaldéhyde et alcool dihydrodédihydrodiconyférylique ont été isolés à partir des tiges et des feuilles (Liou et al., 2013)

Des composés phénoliques ont été isolés: le lawsoniaside B et le syringinosinol di- β -D-glucopyranoside à partir des feuilles (Cuong et al., 2010).

2.2. Les terpènes

➤ Terpènes volatiles

Bien que l'huile est présent à faible rendement, il est utilisé comme parfum dans les industries (Guru Prasad, 2011), avec l'odeur caractéristique attribuée à la présence de β -ionone. L'huile essentielle comprend principalement les terpénoïdes α -ionone et β -ionone et ses dérivés, mais contient également du 2-phényléthanol et du benzyle l'alcool, ainsi que d'autres alcools et aldéhydes (Anita et Kaushal, 1950; Wong et Teng, 1995). Les substances volatiles présentes dans les feuilles comprennent le méthyl- α -D-glucopyranoside, le 2-hydroxy-1,4-naphtalène-dione (Hema et al., 2010), l'hexadécanoate d'éthyle, cinnamate, isocaryophyllène et linoléate de méthyle (Oyedeji et al., 2005). Ogunbinu et al. (2007) ont identifié le 1,8-cinéole, l' α -pinène et le p-cymène comme constituant majeur des huiles de feuilles et de fruits alors que Kidanemariam et al. (2013) ont rapporté du bisabolène, eugénol, acide hexadécanoïque, phytol, α -terpinéol et étherphénylvinylyle en tant que composés majeurs de l'huile des feuilles.

➤ Terpénoïdes non volatiles

Une variété de peptides non volatiles a été identifiée dans Lawsonia inermis. Lupéol, bétuline, acide bétulinique et 30-norlupan-3 β -ol-20-one ont été isolés des feuilles (Chakrabartty et al., 1977; Chaudhary et al., 2010), tandis que l'écorce a donné le 3 β , 30-dihydroxylup-20-ène (hennadiol) et le (20 S)-3 β , 30-dihydroxylupane (Chakrabartty et al., 1982). Le Lawnerm est identifié comme acide (acide 3 β , 28 β -dihydroxy-ursa-12,20-diène-23 α -oïque) et ester méthylique d'acide de Lawnermis (Handa et al., 1997). Acide Lawsonique (3 α -E-ferulyl oxy-lup-20-en-28-oïc acid), lawsonin (3 α -E-ferulyoxy-urs-11-en-13 β -ol) (Siddiqui et Kardar, 2000), vomifolol (4 S)-4-hydroxy-4-[(1 E, 3 R)-3-hydroxybut-1-ényl]-3,5,5-triméthylcyclohex-2-én-1-one (Siddiqui et al., 2003), lawsoweem (3 β -hydroxy-24-pE-coumaroyloxyolean-12-en-28-oïc acid) et lawoshamim (Acide 2-acétoxy-3 β -hydroxy-oléanique-12-èn-28-oïque) (Siddiqui et al., 2005) ont été isolés des parties aériennes. Liou et al. (2013) ont identifiées 9-hydroxy-4-megastigmen-3-one dans les tiges et les feuilles.

2.3. Les stéroïdes

Pour autant que l'on puisse en vérifier un seul stérol, le lawaritol (24 β -ethylcholest-4-en-3 β -ol), a été isolé des racines de Lawsonia inermis (Gupta et al., 1992, 1994).

2.4. Les alcaloïdes

Deux alcaloïdes harmala harmine et harmaline ont été isolés de l'extrait à l'éthanol de graines mûres de lawsonia inermis (Jacob et Saral, 2013).

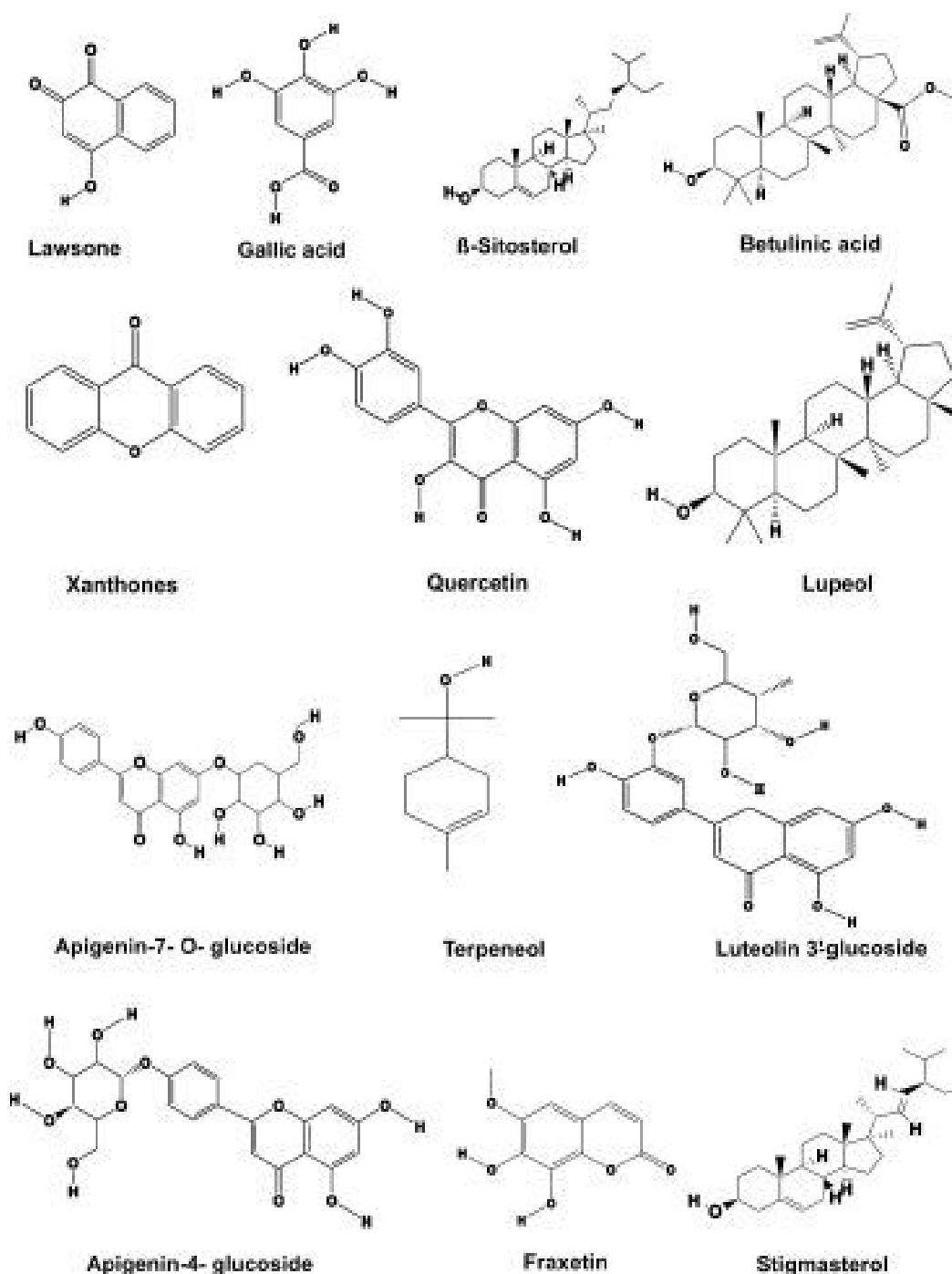


Figure 7 : Structures de certains composés importants rapportés chez *L.inermis L*

3. Les activités pharmacologiques de *L.inermis L*

Un large éventail d'activités biologiques a été attribué au henné, l'activité antifongique (Sagar, K, 2013 ; Subbaiah and Savithramma, 2012), antibactérienne (Mina et al., 2012 ; Rahiman et al., 2013), virucide (Mouhajir et al., 2001), antiparasitaire, propriétés anti-inflammatoires (Imam et al. (2013) ; Liou et al., 2013), antalgiques et anticancéreuses (Priya et al., 2011 ; Kumar et al., 2014), ainsi que l'activités hépatoprotectrices (Iqbal et al., 2011; Sharma et al., 2012), immunomodulatrices, anthelminthiques, antitrypanosomal et anti-oxydantes (Adetutu et al., 2013 ; Al-Damegh, 2014)

Tableau 2 : :Principales propriétés pharmacologiques répertoriées des feuilles de *L.inermis L*

Forme d'utilisation	Activités	Références
Décoctée des feuilles et tiges feuillées	Contre les dysménorrhées	Akoegninou et al 2006
Extrait chloroformique des feuilles	Anti cancérigène	Endrini et al 2002 Ling LT et al 2010
Infusion des feuilles avec senna alata	Antipaludique	Oladele et Adwunmi 2008
Extrait éthanolique brute des feuilles	Anti-inflammatoire et analgésique	Ali et al 1995
Extrait aqueux et méthanolique des feuilles	Antibactérienne	Ghosh et al 2008
Extrait éthanolique des feuilles ,extrait aqueux des feuilles	Antioxydantes	Anis et al 2011 Hosein HKM 2007
Etrait des feuilles	Antitrypanosomienne	Atawodi et al 2002
Extrait brute de feuilles fraîches ou séchées	Atimicrobienne	Babu ey subhasree 2009 Al-Rubiay KK 2008
Etrait hydro-éthanolique des feuilles	Hépatoprotectrice	Sanni et al 2010

4. Les propriétés et les utilisations de *L.inermis L*

À l'échelle mondiale, *Lawsonia inermis* est utilisé comme médicament traditionnel pour le traitement d'un large éventail de maladies apparemment non liées. Cependant, un dénominateur commun indiquant des utilisations par divers groupes culturels, est évident dans de nombreux cas.

La Décoction demi cuillère à thé préparée à partir de la racine de *L. Inermis* pris oralement deux fois par jour pendant 10-15 jours était fréquemment utilisé pour le traitement de la jaunisse par les anciennes tribus de la communauté Bhoja de l'Inde (**Sharma et al., 2012**). Des feuilles de *L. inermis* ont également été prescrites contre la trypanosomose africaine en Côte d'Ivoire et au Nigéria. (**Atawodi et al., 2002; Okpekon et al., 2004**). Dans les régions du sud de l'Inde il a été utilisé comme médicament traditionnel pour traiter les infections par la teigne et les maladies de la peau (**Ponnusamy et al., 2010; Kamaraj et al., 2012**). Les guérisseurs traditionnels yéménites ont utilisé du henné pour traiter les infections bactériennes et les brûlures (**Ali et al., 2001**). Il également inclus dans les textes médicaux du papyrus Ebers (**Bryan et al., 1974**) à Rome pendant l'Empire romain et en Espagne pendant Convivencia (**Fletcher, 1992**). La médecine du prophète mentionnée le henné est utilisé de manière spécifique dans le traitement des migraines, de la lèpre, des ulcères, variole, varicelle, tumeurs, etc. (**Ibn Qayyim et al., 1998**). Les premières études scientifiques réalisées avec des extraits de plantes au henné et constituants purifiés attribués à un antibactérien (**Malekzadeh, 1968**), antifongique (Tripathi et al., 1978), antioxydant, immunomodulateur (**Hsouna et al., 2011; Mikhaeil et al., 2004**), glycation de protéines inhibition (**Sultana et al., 2009**), anti-drépanocytose (**Chang et Suzuka, 1982; Clarke et al., 1986**), stimulant les macrophages (Wagner et al., 1988), hépatoprotecteur (**Anand et al., 1992**), analgésique, anti-inflammatoire, antipyrétique (Alia et al., 1995), anti-complémentaire (**Handa et al., 1997**) et actions cytotoxiques (**Ali et Grever, 1998**) dans diverses fractions Les actions bactéricides et fongicides ont été attribué à l'effet tannant de la plante (Wessjohann et al., 2003) sans effet secondaire allergique ou cancérogène (**Nayak et al., 2007**). Traditionnellement, la pâte de feuilles de henné était également appliquée pour prévenir inflammation de la peau (Chopra et al., 1956), infusion diarrhéique et lithiases rénales (**Bellakhdar, 1997**) tandis que la décoction de feuilles était trouvée utile dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies (**Kumari et al., 2011**). le feuilles de *L. inermis* avec *Hibiscus rosa-sinensis*, *Eclipta prostré* et des graines d'*Abras* précatoriales en quantités égales broyées dans pâte et imbibée d'huile de sésame pendant 5

jours a été fréquemment appliquée comme huile de cheveux par les tribus de la région d'Andhra Pradesh en Inde pour prévenir pellicules et chute de cheveux (**Suneetha et al., 2011**). Tribus nigérianes utilisées feuilles pour traiter la poliomyélite et la rougeole (**Oladunmoye et Kehinde, 2011**) et comme tonique sanguin (**Idowu et al., 2010**)

Le principal agent de coloration présent dans les feuilles de henné est un rouge-orange. pigment Lawsonsone (2-hydroxy-1, 4-naphtoquinone). Lawsonsone se présente sous la forme d'un précurseur glycosidique qui se sépare de manière adéquate le lien glycosidique lorsqu'il est appliqué sur la peau avec de l'eau (**Gallo et al., 2008**). Le colorant se lie à la protéine de kératine de la peau et en toute sécurité tache la peau de orange pâle à brun noir en fonction de comment bien la peau le prend (**Al-Tufail et al., 1999; Lekouch et al., 2001; Cartwright, 2006; Hanna et al., 1998**). Lawsonsone est également un réactif adapté à la détection de marques de doigts latentes sur le papier preuve de contact en criminologie et pourrait donc servir de substitut à la ninhydrine utilisée jusqu'à présent (**Khan et Nasreen, 2010**).



Chapitre III

La flore dermique

1. La flore dermique :**1.1. Généralités sur la peau humaine**

La peau et les muqueuses constituent l'enveloppe du corps humain (A Ostojic ,2017) ,elle est l'organe le plus important de l'organisme, avec une surface d'environ 1,8 m² et un poids d'environ 4 kg pour un adulte de 70 kg (Roberts, et Walters 2008). C'est un organe hétérogène, composé de plusieurs couches et annexes. Structurellement, la peau est divisée en deux régions très différentes : l'épiderme comportant plusieurs strates cellulaires et le derme formé essentiellement de tissu conjonctif (Fig.11) (Smith et Maibach 2006; Monteiro-Riviere 2010).

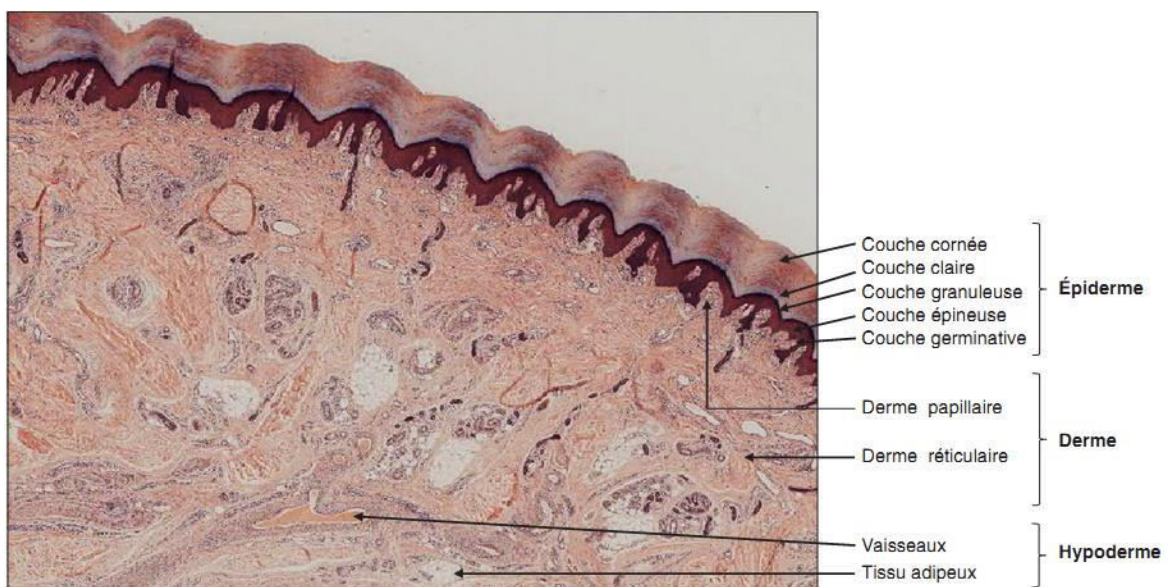


Figure 11 : Coupe transversale de l'épiderme, du derme et de l'hypoderme. Microscopie optique.(Source : Anne-Marie Courtot 2011)

1.2. Généralités sur la systématique des champignons

Les Champignons encore appelés "Fungi" (du latin) ou Mycètes (du grec mukês, champignon), constituent aujourd'hui le cinquième règne du monde vivant appelé règne Fongique, c'est un large groupe diversifié qui possède des caractéristiques communes avec les plantes inférieures et les animaux inférieurs (Nikoh N et al., 1994 ; Bouchet P et al., 1999 ; 2005). Le Règne fongique comprend actuellement environ 70 000 espèces recensées (parmi lesquelles 13 500 sont lichénisées et font l'objet d'une science autonome : la Lichénologie) mais les estimations actuelles, proposées par

extrapolation, évaluent le nombre effectif de champignons à la surface de la planète, à plus d'un million d'espèces (Bouchet et al., 2005).

➤ **Les champignons filamenteux**

Pour ces Champignons le thalle est constitué de filaments (cloisonnés ou non) appelés aussi hyphes. L'ensemble des filaments enchevêtrés constitue le mycélium. Il s'agit d'éléments tubulaires, d'un diamètre de deux à dix μm . Ces champignons filamenteux regroupent également un grand nombre de micromycètes médicalement importants. Selon les effets, ils sont divisés en deux groupes : dermatophytes (*Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Epidermophyton floccosum*.) et moisissures ou contaminants (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, etc.).

Les mycoses cutanées, qui atteignent la couche externe de la peau, sont généralement appelées mycoses inflammatoires ou dermatophytoses. Ces maladies sont cosmopolites et très fréquentes (Pfaller, M. A., Sutton, D. A., 2006). Les dermatophytoses sont provoquées par un groupe de champignons appelés dermatophytes composé des genres *Trichophyton*, *Microsporum*, et *Epidermophyton*. Ces champignons sont kératinophyles et ont une affinité pour les cheveux, les poils, la peau et les ongles. La prévalence des infections unguéales atteint des taux de 10 à 20%, faisant de son agent pathogène principal, *Trichophyton rubrum*, un des champignons infectieux le plus répandu (Aly, R., 1994).

Les maladies fongiques cutanées peuvent grossièrement être divisées en deux groupes :

- Superficielles limitées au stratum corneum, pilosités et/ou ongles.
- Profondes dermiques et/ou sous-cutanées.(anonyme 2018)

2. Les dermatophytes :

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux spécialisés capables de dégrader la kératine. Ils sont la cause de la plupart des mycoses de la peau, des cheveux et des ongles (Hoog GS 2017). On distingue trois groupes écologiques de dermatophytes :

2.1. Les dermatophytes anthropophiles

La répartition est cosmopolite et la contamination pour ces espèces est toujours interhumaine ; Les dermatophytes anthropophiles le plus souvent isolés sont *T. rubrum*, *T. mentagrophytes var. interdigitale* et *E. Floccosum* (**Faway, E et al 2017**).

2.1.1. Les mycoses des pieds

La contamination se fait à partir des sols (rebordsdes piscines, tatamis, etc.), sur lesquels se trouvent des débris de squames parasitées ou fragments d'ongles provenant d'individus infectés. Cette affection généralement bénigne peut être à l'origine de complications à type d'érysipèle et de contagions possibles dans les établissements et lieux publics tels que les piscines, hammams, douches, mosquées, salles de sport, etc (**Angora, K. E et al 2017 ; Halim I et al 2013**).

Cette mycose désigne une infection fongique de l'appareil unguéal. L'atteinte unguéale s'accompagne presque toujours de celle des espaces interdigitaux et des plantes des pieds (**Kiki-Barro, P. C. M et al 2017**).

2.1.2. Les teignes

Les teignes désignent les infections dermatophytiques comportant un parasitisme pileaire du cuir chevelu, de la barbe ou de la moustache.

Les agents pathogènes des teignes du cuir chevelu appartiennent à deux genres : *Microsporum (M)* et *Trichophyton (T)* (**Khosravi AR et al 2016**).

Quatre types de teigne du cuir chevelu sont distingués :

les teignes tondantes microsporiques ou trichophytiques, les faviques et les suppuratives. ; La transmission s'effectue soit directement d'individu à individu, soit par l'intermédiaire d'objets comme

- ✓ Des bonnets,
- ✓ Des instruments de coiffage (peignes, brosses à cheveux, tondeuses, etc.).

Ces atteintes sont retrouvées majoritairement chez les enfants puis les femmes enceintes mais elles touchent rarement les hommes (**B.Soutou et al 2017 ;Gharbi, H et al 2017 ; Kallel, A et al 2017**)

La contamination, due à l'inoculation de spores, peut se produire longtemps après le contact entre l'objet et la cuir chevelu de l'individu infecté en raison de la longue durée de vie des spores dans le milieu extérieur.

2.1.3. Les dermatophyte de la peau

On observe des localisations cutanées des agents des teignes anthropophiles, il s'agit le plus souvent d'une localisation secondaire. une entité clinique, le tokélau (du *Trichophyton concentricum*), donne des épidermophyties très extensives et fortement contagieuses (**Chabasse D et al 2011**). les épidermophyties regroupent les dermatophyties (ou intertrigos) des grands plis et des petits plis, ainsi que la dermatophytie circinée, connue autrefois sous le nom d'herpès circiné ou roue de sainte Catherine, termes aujourd'hui obsolètes (**Elandaloussi, K et al 2017**)

2.2. Les dermatophytes zoophiles

La contamination peut être la conséquence d'un contact direct avec le pelage d'un animal, avec une localisation préférentielle dans les zones « d'échanges » comme le visage pour les enfants (embrassent leur animal familier) ou les bras pour les adultes (**Moretti A et al 2013**) ; La contamination peut être aussi indirecte par les poils virulents de l'animal laissés sur un coussin pour *M. canis* (par exemple) ou dans une étable à bovidés (contact ou frottement sur une porte, une chaîne, un harnais) pour *T. Verrucosum*.

La majorité des dermatophytoses inflammatoires de la peau et des cheveux sont causées par plusieurs espèces de dermatophytes zoophiles, à savoir *Microsporum canis* (provenant du chat et du chien), *Trichophyton verrucosum* (provenant du bétail), *Trichophyton equinum* (provenant des chevaux) et Chez les petits mammifères (cobaye, hamster, souris, lapin) on isole volontiers *T. mentagrophytes*, et avec le hérisson *T. erinacei*, la contamination directe chez l'homme est donc plus limitée (**Guillot, J et al 2015**).

2.3. Les dermatophytes géophiles

Certaines espèces saprophytes ont un habitat tellurique qui vivent aux dépens de la kératine animale abandonnée (fragments de poils, plumes, sabots, carapaces d'insectes, etc.), quasiment jamais impliquées dans des lésions humaines et animales Parmi ces espèces, seuls *Microsporum gypseum* et *T. mentagrophytes* ont un pouvoir pathogène reconnu.

La contamination de ces dermatophytes géophiles peuvent être véhiculés par un animal transporteur (Gholami-Shabani M et al 2015, Zamani, S. Et al 2016)

3. Les aspects cliniques des dermatophytes

Les dermatophytes peuvent déterminer des infections de la peau glabre, des onyxis, des teignes du cuir chevelu ainsi que des folliculites (Chabasse D et al., 2011). Les aspects de ces lésions doivent être parfaitement connus du biologiste.

3.1. Les teignes

Les teignes du cuir chevelu sont des infections fongiques fréquentes chez l'enfant d'âge scolaire (Elandaloussi, K et al 2016) . La contamination est le plus souvent d'origine humaine ou animale (les animaux peuvent être malades ou simplement porteurs de spores), rarement d'origine tellurique (N Contet-Audonneau ;2003 ; Abid, R et al 2017 ; Kallel, A et al 2016)(fig.9)

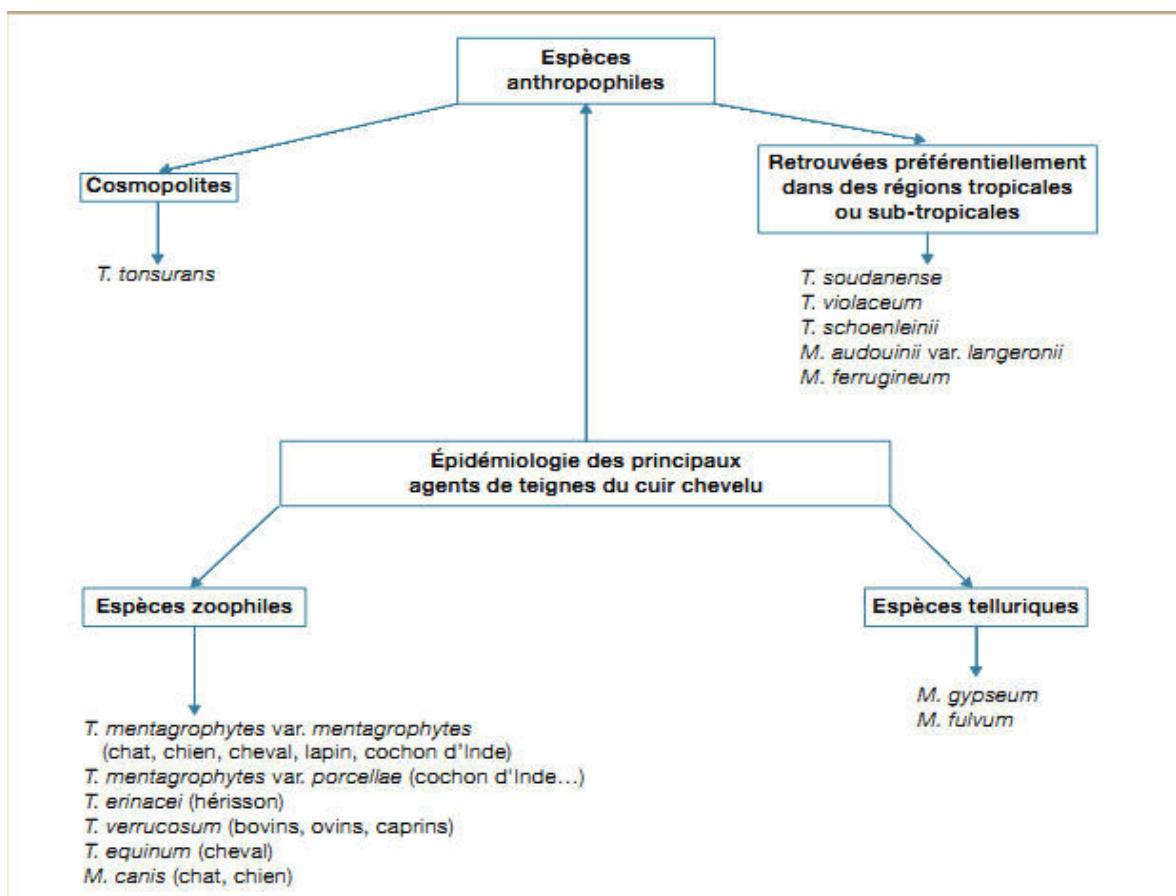


Figure 9 : Épidémiologie des dermatophytes agents de teignes du cuir chevelu.(chabasse 2013).

3.1.1. Les teignes tondantes

Ces teignes touchent principalement l'enfant entre 4 et 10 ans , surtout les garçons où la guérison à la puberté est la règle surtout les garçons où la guérison à la puberté

est la règle mais aussi parfois la femme adulte. Il existe aussi de nombreux « porteurs sains », assurant la dissémination de l'infection dans l'environnement familial ; Elles régressent spontanément à l'âge adulte. Elles se caractérisent par l'apparition de plaques (Arrache, D et al., 2015)

d'alopécie. Selon la taille de ces plaques et le type de parasitisme du cheveu, on distingue :



Figure 10 : Lésions du cuir chevelu : teigne tondante microsporique (A), Teigne favique étendue (B) (Collection du Dr Guy Badillet)

3.1.1.1. Les teignes microscopiques

Ses teignes sont caractérisées par la cassure des cheveux entraînant une ou plusieurs zones d'alopécie de plusieurs centimètres de diamètre ; les plaques d'alopécie sont peu nombreuses avec une surface recouverte de squames ,les plaques d'alopécie bien limitées peu ou pas inflammatoire grisâtres(fig 10 A) .Les deux principaux agents sont *M. canis* (zoophile) et *M. langeronii* (anthropophile)(Benmezdad A et al .,2012)

3.1.1.2. Les teignes tondantes sèches à petites plaques

Les agents les plus fréquents en sont *Trichophyton tonsurans*, *T. violaceum*, *T. soudanense*, tous anthropophiles(G.E. Piérard et al 2017)., ce sont les teignes trichophytiques, qui peuvent générer des petites plaques d'alopécie éparses de forme irrégulière avec des cheveux coupés au ras du cuir chevelu et mêlés à des squames. Ces plaques peuvent fusionner en constituant de grandes plaques incomplètement alopéciques.

3.1.2. Les teignes faviques

Elles se rencontraient aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte, La contamination interhumaine, souvent familiale, survient habituellement dans l'enfance (**G.E. Piérard et al 2017**) . La puberté n'entraîne pas la guérison. L'agent responsable est *Trichophyton schoenleinii*.(fig 10 B) Elles sont caractérisées par la formation d'un« godet favique » à la base du cheveu, lésion en cupule de 0,5 à 1,5 cm de diamètre, de couleur jaune soufre, constitué par l'accumulation du mycélium. En tombant, les croûtes laissent un cuir chevelu cicatriciel où les cheveux ne repoussent pas, Une odeur fétide est souvent présente. La formation des plaques d'alopecie nécessite plusieurs années.(**Kalus, A .,2017**).

3.1.3. Les teignes inflammatoires ou suppurées

Les agents responsables les plus fréquents en sont des dermatophytes zoophiles (*T. mentagrophytes*, *T. ochraceum*, plus rarement *M. canis*) ou parfois géophiles (*M. gypseum*) (**G.E. Piérard et al 2017**);débutent par une tache squameuse qui évolue très rapidement, Elles touchent l'adulte comme l'enfant, et sont appelées kériens.. Ces plaques se couvrent de pustules, suppurent et provoquent l'élimination des cheveux. L'évolution est spontanément régressive en quelques semaines ou quelques mois. Les cheveux repoussent habituellement.

3.2. Les onychomycoses

L'onychomycose dermatophytique débute sur le bord libre ou les bords latéraux de l'ongle(**Rosen T. et al, 2015**).Les dermatophytes et les levures ne sont pas les seuls agents fongiques en cause. D'autres champignons filamenteux appelés moisissures sont aussi impliqués dans la pathologie fongique unguéale.(**M. Iken et al, 2016**). leur prévalence dans la population générale varie entre 2 et 26 % . Selon les études, la forme sous-unguéale distolatérale est la forme clinique prédominante(**Kouotou EA, et al,2017 ; Nkondjo Minkoumou S et al, 2012**). Elles touchent essentiellement les orteils et sont dues principalement à des dermatophytes cosmopolites (*T. rubrum* et *T. mentagrophytes var.interdigitale*) ; Elles soulèvent de véritables problèmes de diagnostic et de thérapeutique, en effet, des causes les plus diverses déterminent des aspects cliniques très proches voire identiques (**E'DITORIAL ;2014**); Pour réaliser une infection fongique sur l'appareil unguéal, un champignon peut emprunter

différentes voies dont chacune définit un type particulier (Hay RJ et al ,2011 ; Baran R,2006).

3.2.1. L'onychomycose sous-unguéale distolatérale

est la forme la plus courante. Le dermatophyte envahit le lit unguéal à partir du bord latéro-distal, vers la matrice, ce qui entraîne une hyperkératose sous-unguéale friable et poudreux. Cette hyperkératose entraîne le décollement de la tablette unguéale qui peut parfois aboutir à la chute spontanée de l'ongle (Chabasse D, et al, 2008). L'aspect clinique est celui d'une tache jaune à brune , plus ou moins foncée (figure 14 A) (Baran R, et al ;2004).

3.2.2. Les leuconychies

Elle se manifeste par de petits îlots blancs , opaques, à limites nettes (Zagnoli A,2003) correspondant à une atteinte superficielle de la tablette unguéale (figure 14 B), Ce type de lésions se retrouve chez des patients diabétiques, immuno déprimés ou présentant un chevauchement des doigts (R. Baran ;2014).

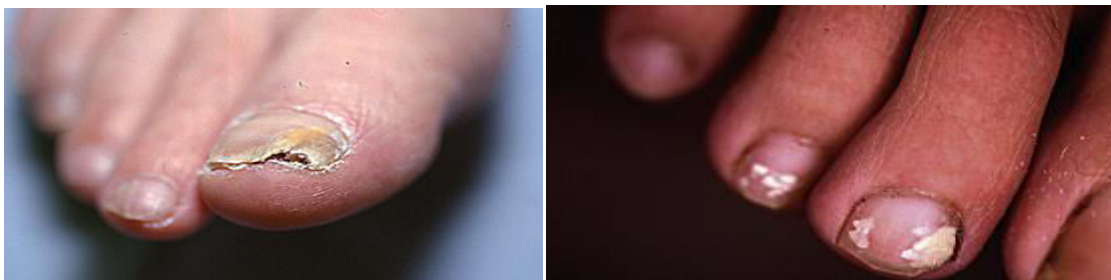


Figure 11 : Onychomycose disto-latérale sous-unguéale (A), : Leuconychies (B) (Feuilhade M et al 2014)

3.2.3. Les onychomycose sous-unguéale proximale

sont la traduction d'un envahissement à partir de la face profonde des replis sous unguéaux. Cette forme clinique s'observe de plus en plus souvent chez des patients immunodéprimés mais aussi chez des patients immunocompétents, l'ongle n'est pas contaminé par son bord libre mais par son extrémité proximale au niveau de la lunule (Chabasse D,2011).

3.2.4. L'onychomycose endonyx

Dans ce type d'atteintes également rares, les agents pathogènes pénètrent dans la tablette unguéale par voie pulpaire, comme c'est le cas pour l'onychomycose disto-latérale, mais n'envahissent pas le lit unguéal. Ceci rend l'ongle diffusément blanc et opaque, sans onycholyse, ni hyperkératose sous-unguéale.(Monkassa B et al ,2000 ; D Chabasse,2011)

3.2.5. L'onychodystrophie totale

peut résulter de toutes ces atteintes unguéales. Elle traduit l'envahissement progressif et la destruction de toute la tablette unguéale par le champignon. Toute la lame devient friable, en « bois pourri » et s'effrite peu à peu complètement(F. Leslé et al ,2013)

3.3. Les épidermophyties

Les épidermophyties sont les lésions localisées à la peau glabre. Sont donc exclues les lésions du cuir chevelu et de la barbe ainsi que celles des lésions unguéales. Ils sont dus le plus souvent à des espèces anthropophiles, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* et *Epidermophyton floccosum* (D.Chabasse et al ,2003).

3.3.1. Les dermatophyties circinées

Ce sont des plaques érythémato-squameuses, superficielles s'étendant d'une façon centrifuge. Elle constitue la forme primaire de la lésion dermatophytique. Elle peut se situer à n'importe quel point du corps(D Chabasse ,2008) ; Au début, l'affection commence par une petite macule rosée, finement squameuse (fig 12 A) (d'où le terme inapproprié d'«herpès circiné »). Au cours de l'évolution, le centre des lésions pâlit et peut prendre une teinte bistre. Les localisations préférentielles sont les zones découvertes : face, cou, mains, avant-bras, jambes ; Elles sont le plus souvent dues à *M. canis* ou *M. Langeronii* (Zagnoli A. et al 2003).

3.3.2. Les atteintes des plis, ou intertrigos**3.3.2.1. L'intertrigo des grands plis**

désigne le plus souvent une atteinte inguinale, anciennement appelée eczéma marginé de Hébra. Il détermine une lésion bilatérale et prurigineuse, avec une bordure périphérique érythémato-vésiculeuse ; les autres localisations sont plus rares.

La contamination est interhumaine par l'intermédiaire de vêtements ou de linges de toilette. Les agents responsables sont les dermatophytes anthropophiles : *Trichophyton rubrum*, *Epidermophyton floccosum* et *Trichophyton interdigitale*. (**Garcia-Romero M.T. et al ,2015 ; Mochizuki T. et al,2015**).

3.3.2.2. L'intertrigo des petits plis

L'intertrigo inter-digitoplantaire, aussi appelé « pied d'athlète », se distingue par des lésions pouvant être localisées au niveau plantaire ou palmaire (**D Chabasse et al , 2008**) On note classiquement une fissuration et une macération de la peau, puis une plaque blanchâtre se forme et la peau desquame (fig 12 B), mais il existe d'autres présentations cliniques. Enfin, la lésion peut se développer et toucher plante et ongles des pieds (**F. Leslé et al 2013**). Les mains sont plus rarement touchées ; la lésion est sèche et peut entraîner un épaissement cutané de la paume par extension ainsi qu'un onyxis ; À ce niveau, l'intertrigo est habituellement sec, non érythémateux, peu prurigineux. Il peut s'étendre et provoquer un épaissement cutané de la paume de la main lui donnant une consistance cartonnée. Les ongles de la main, comme ceux du pied, sont secondairement atteints(**Chabasse D., Contet-Audonneau N ,2011**).



Figure 12 : Dermatophytie de la peau glabre :A lésion circinée caractéristique avec bordure vésiculeuse active.B Intertrigo dermatophytique du 4ème espace interdigitoplantaire

4. Les diagnostics biologiques

4.1. L'examen clinique du patient

Avant tout, il convient de recueillir par écrit les données de l'anamnèse, afin de préciser l'histoire de la lésion, son évolution et l'existence d'autres localisations. Il est nécessaire, en outre, de définir le contexte épidémiologique :

activités sportives, professionnelles, culturelles et religieuses, séjours dans d'autres pays, et contacts avec des animaux, de pathologie sous-jacente, (**Hongcharu W et al 2000 ; anofel^h ., 2017**) , notion de traitement antifongique, etc. contribue déjà à l'orientation du diagnostic vers une infection fongique et parfois même dans certains cas vers l'espèce fongique suspectée. (**Groupe de travail de la Société française de dermatologie ;2007**).

Mais la question fondamentale reste celle de la prise d'un traitement antifongique. En effet, il doit exister une marge thérapeutique de 15 jours en cas d'application d'un antifongique topique de type crème ou pommade, et de trois mois en cas de prise d'un antifongique systémique (griséofulvine, terbinafine) ou de l'application d'un vernis (**F. Leslé ,2013**).

Le diagnostic d'une mycose superficielle passe donc par plusieurs étapes : prélèvement de l'échantillon, examen direct au microscope, mise en culture sur des milieux de référence, surveillance des cultures, identification du ou des champignons.

4.2. Le prélèvement

Un examen mycologique de qualité repose en premier lieu sur un prélèvement mycologique de qualité (**Chabasse D ,2016**), le prélèvement, étape capitale du diagnostic mycologique, doit être effectué par un praticien expérimenté (figure 12), (**anofel^a .,2017**). Il devra recueillir suffisamment de matériel pour réaliser un examen direct microscopique et une culture (**Chabasse D et al ,2008**), le recueil de l'échantillon nécessite divers instruments : . Il devra surtout respecter un principe essentiel : lampe de Wood : elle permet d'apprécier l'étendue des lésions, parfois sous-évaluée à l'œil nu ; pinces à épiler ou à ongle, sans griffe, de différentes tailles ; curettes de Brocq, grattoir de Vidal ; ciseaux droits fins ou courbés, à bouts pointus ; une paire de très forts ciseaux courbes ; écouvillon stérile à usage unique ; boîte de Pétri en plastique ou mieux, en verre ;

La technique du prélèvement dépend de la présentation clinique de la lésion cutanée et du champignon recherché, en tenant compte de son mode de pénétration dans la peau (**Chabasse D, Pihet ;2008**)

4.2.1. Les lésions cutanées

Sur la peau glabre , le prélèvement se fait à la curette préférentiellement où le champignon est « en activité », c'est-à-dire à la périphérie des lésions à la limite de la peau saine, à l'aide d'un grattoir de Vidal ou d'une curette de Brocq, de préférence à une lame de vaccinostyle.

4.2.2. Les teignes du cuir chevelu

Il est nécessaire de le réaliser avant tout traitement spécifique. Dans le cas contraire, une fenêtre thérapeutique de 15 jours du traitement topique est nécessaire pour le cuir chevelu(**Chabasse D et al ,2013**).

L'examen complet du cuir chevelu sous lampe à ultra-violet (Wood) permet de mettre en évidence une teigne microsporique (fluorescence verte) ou favique (fluorescence vert foncé).,le prélèvement est effectué à l'aide d'une pince à épiler ou d'une curette des cheveux suspects (fluorescents) et des squames du cuir chevelu. En cas de teigne inflammatoire (ou kérion) le préleveur utilise plutôt des écouvillons à frotter sur les zones suintantes, quelques cheveux ou poils peuvent être retirés à la pince à épiler. En cas de favus, le fond des godets es raclé pour prélever les cheveux parasités enchâssés dans les croûte (**Zagnoli A ,2003**), le dépistage des porteurs sains (hommes ou animaux) peut être effectué en frottant le cuir chevelu (ou le pelage) à l'aide d'un morceau de moquette stérile ou d'un écouvillon.

4.2.3. L'onyxis

La partie distale et malade de l'ongle atteint doit être coupée avec une forte pince à ongle, il importe de découper l'ongle à la limite de la zone saine (Figure11), et de recueillir les produits de grattage du lit de l'ongle(**Foulet F et al ,2003**) , ce qui évite de récupérer les moisissures saprophytes non pathogènes. Il existe aussi une technique alternative : le micro-forage de l'ongle, développé par Qureshi (**Qureshi HS et al ,2004**).

En cas de leuconychies, il est nécessaire de gratter l'ongle à sa surface. Enfin, dans les onychodystrophies, avec destruction quasi totale de l'ongle, il faut éliminer les fragments superficiels potentiellement souillés par des moisissures avant de prélever les quelques fragments d'ongles disponibles.(**A Zagnoli et al 2003 ; F. Leslé et al 2013**).

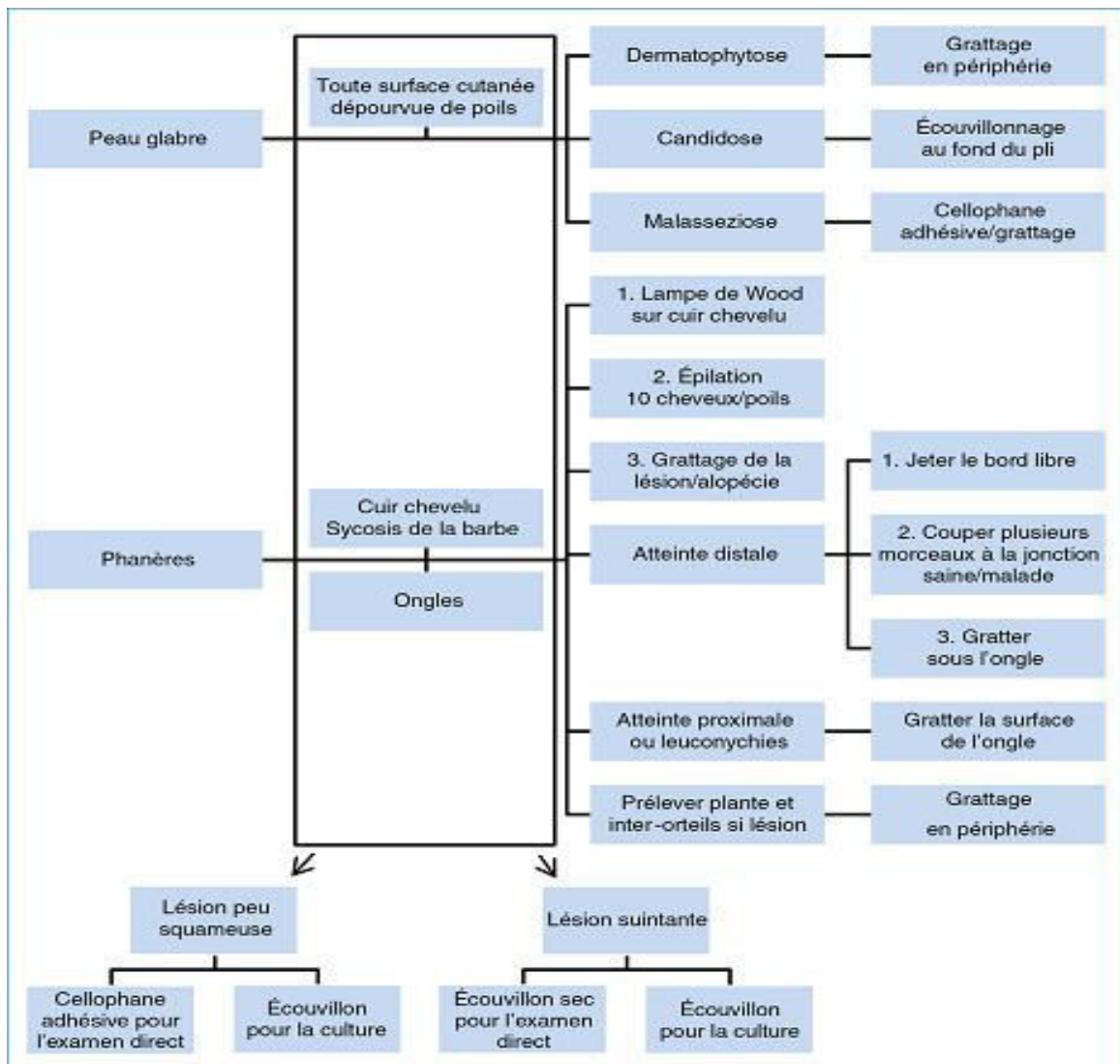


Figure 13 : Orientation de la technique de prélèvement d’une infection mycosique superficielle en fonction de l’aspect clinique.(Anofel.,2017)

4.3. L’examen microscopique direct

Il est indispensable et doit être réalisé rapidement afin d’apporter une réponse rapide au clinicien prescripteur(Feuilhade et al 2005). Malgré un taux de faux négatif variant de 5 à 15 % selon l’expérience du préleveur, cette étape reste un test de dépistage très efficace(Panasiti V et al 2006 ; Chabasse D et al 2003)) . L’examen direct microscopique de l’échantillon biologique s’effectue soit à l’état frais (entre lame et lamelle), soit après fixation et coloration sur une lame porte-objet sa mettra en évidence le type de parasitisme pileaire lors de teignes, et des filaments mycéliens pour les autres atteintes.(Chabasse D 2004 ; Chabasse D, Contet-Audonneau N 2011)

Selon la pratique du laboratoire, plusieurs réactifs peuvent être utilisés.

4.3.1. Les produits éclaircissants

Ils permettent de visualiser au microscope le filament fongique et/ou les spores parmi les squames, en digérant la kératine. Le plus utilisé reste la potasse comme produit éclaircissant (KOH à 10 % pour les squames ou à 30 % pour les ongles, avec un léger chauffage au bec Bunsen de la préparation) (Anofel^b., 2017) mais l'observation doit être immédiate car ce réactif dégrade rapidement le prélèvement. L'emploi de bleu coton, de lactophénol ou de chloral lactophénol d'Amman permet d'éclaircir et de conserver indéfiniment les préparations ; Il est surtout utilisé pour la lecture des squames, des cheveux et des poils

4.3.2. Les colorants et fluorochromes

L'utilisation de colorants permet d'augmenter la sensibilité de l'examen direct en facilitant la détection des éléments fongiques. Par exemple,

- le noir chlorazol \Rightarrow colore spécifiquement les filaments mycéliens de même que (DB, Warshaw EM, 2006)
- le rouge Congo \Rightarrow se fixe aux polysaccharides de la paroi cellulaire fongique, et permet une coloration sélective .
- le Calcofluor White, ou l'Uvitex 2B \Rightarrow confère une fluorescence bleue au champignon , sa permete la détection d'hyphes mycéliens et de spores.

Cependant, cette approche nécessite un microscope à fluorescence. (Weinberg JM et al, 2003)

4.4. La culture

La mise en culture du prélèvement pathologique est un complément indispensable de l'examen microscopique direct. Sont utilisés des milieux de cultures permettant l'isolement des dermatophytes, et d'autres milieux permettant leur identification (S.F.M.. Rémic ,2007) .

4.4.1. Les milieux de culture

Les prélèvements seront systématiquement ensemencés préférentiellement dans des tubes (puisque ceux-ci sont gardés plusieurs semaines) en plusieurs points sur :

- Un tube contenant une gélose de Sabouraud + antibiotiques ;
- Un tube contenant une gélose de Sabouraud + antibiotiques + cycloheximide. Ce dernier inhibe la croissance de la plupart des moisissures et aide ainsi à l'isolement des dermatophytes. (Arrache, D et al 2015).

Les tubes non vissés à fond seront incubés à 25 ± 2 °C (ou à une température de 30-32°C, si la lésion fait suspecter *T. verrucosum*), au minimum pendant 4 semaines et seront examinés au moins une fois par semaine, jusqu'au moment où l'agent fongique sera identifié. (Gromadzki S et al, 2003 ; Anofel^b., 2017).

Les dermatophytes poussent plus ou moins rapidement selon les espèces, les colonies d'*E. floccosum* auront un aspect caractéristique en une semaine, alors que deux semaines seront nécessaires pour les autres espèces. Il faut donc respecter une durée d'incubation de trois semaines au minimum avant de rendre un résultat négatif.

4.5. L'identification

L'identification des dermatophytes se fait selon :

- la vitesse de pousse d'une colonie adulte : (Zagnoli, A et al 2005 ; anofel^c., 2017)
 - ✓ rapide (5 à 10 jours) pour *Trichophyton (T.) mentagrophytes*, *Microsporum (M.) gypseum*, *M. canis* ;
 - ✓ moyenne (10 à 15 jours) pour *T. rubrum*, *T. violaceum*, *Epidermophyton (E.) floccosum* ;
 - ✓ lente (15 à 21 jours) pour *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. schoenleinii* et surtout *T. ochraceum* ;
- l'aspect macroscopique des cultures : (Zagnoli, A et al 2005 ; Michel monod 2017)
 - ✓ couleur de la surface (brune, rouge : *T. rubrum*, noire, verte, grise, blanche...)
 - ✓ aspect (duveteux : *T. rubrum* ; plâtré : *T. mentagrophytes* ; laineux : *M. canis*, broussailleux ...)
 - ✓ relief (plat : *M. audouini* ; cérébriforme : *T. schoenleinii* ; cratère : *T. tonsurans*), consistance (friable, élastique, dure, molle ...)
 - ✓ forme des colonies (arrondies, étoilées)

- ✓ taille des colonies (petites, extensives)
- ✓ présence d'un pigment (couleur,diffusion) au verso de la boîte de culture .

Elle se fait à partir d'un fragment de culture dissocié au bleu lactique ou lactophénol et examiné entre lame et lamelle. Ce procédé peut se faire à partir d'un ruban adhésif appliqué à la surface de la colonie coloré avec du bleu de lactophénol et examiné entre lame et lamelle. Trois éléments servent de base à l'identification du champignon :

les filaments mycéliens, la présence d'organes de fructification et les formations environnementales à type de vrille (fig 14)

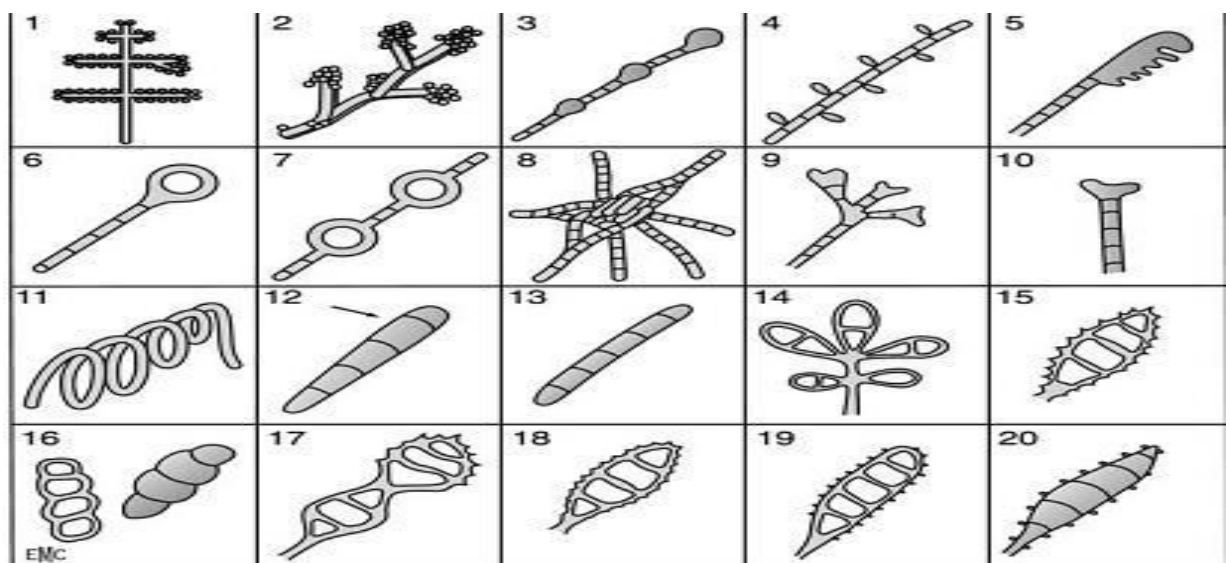


Figure 14 : Aspect microscopique des cultures : 1. Aspect du mycélium (hyphe) en « croix de Lorraine » (avec microconidies rondes, Trichophyton mentagrophytes) ; 2. micronidies sphériques en « amas » ; 3. mycélium en « raquette » ; 4. micronidies allongées disposées selon le type Acladium ; 5. mycélium pectiné ; 6. Chlamydospore terminale, à l'extrémité d'un filament mycélien ; 7. chlamydospore intercalaire sur le trajet d'un filament mycélien ; 8. organe nodulaire (Trichophyton mentagrophyte) ; 9. Chandelier favigue (Trichophyton schoenleinii) ; 10. clou favigue ; 11. vrille(Trichophyton mentagrophytes, Microsporum persicolor) ; 12. macronidie en « quenouille » de Trichophyton mentagrophytes ; 13. macronidie de Trichophyton rubrum ; 14. macronidie en « bouquet » d' Epidermophyton ; 15. macronidie de Microsporum canis ; 16. macronidie de Trichophyton tonsurans ; 17. macronidie de Trichophyton audouinii ; 18. macronidie de Microsporum gypsum ; 19. macronidie de Microsporum fulvum ; 20. macronidie de Microsporum persicolor .

4.5.1. Les milieux d'identification (laboratoires spécialisés)

Le milieu de Borelli (au lactrimel) stimule la sporulation de la majorité des dermatophytes, notamment celles des *Microsporum*, et renforce la production de pigments (rouge vineux

pour *T. rubrum* et jaune pour *M. canis*) ; d'autres milieux favorisent également la fructification : le milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar), le milieu de Baxter, le milieu de Takashio (Sabouraud dilué), de même que la gélose au malt et l'eau gélosée (**Arrache, D et al 2015 ; Khebizi, S et al 2014 ; Alinio A et al 2014 ; Contet-Audonneau, N et al 2010 ; anofel^c 2017 ; A. Kallel et al 2017**).

Le milieu peptoné à 3 % (Sabouraud conservation) permet de différencier *Microsporum persicolor*, dont les colonies deviennent roses en 8 jours, de celles de *T. mentagrophytes*, qui restent blanches. (**chabasse D et al 2008**).

Le milieu gélose à l'urée de Christensen permet de distinguer la variété autochtone de *T. Rubrum* de *T. mentagrophytes var. interdigitale* : ce dernier possède une uréase qui fait virer la gélose par alcalinisation au rose fuschia après une semaine d'incubation. (**Contet-Audonneau, N et al 2010**).

Le milieu au bromocrésol pourpre (BCP caséine), initialement gris, vire au bleu-violacé avec *T. mentagrophytes*, mais pas avec *T. rubrum* ou *M. persicolor*. (**Chabasse 2008**).

Le milieu gélosé BHI (Brain Heart Infusion) est un milieu riche qui favorise la croissance de *T. verrucosum* (à une température d'incubation de 32°C). (**Chabasse D et al 2013**).

4.6. Les techniques complémentaires

4.6.1. La recherche d'organes perforateurs

Cette technique est utile pour différencier les souches autochtones de *T. rubrum* de *T. mentagrophytes var. interdigitale*. Seule la seconde espèce produit des organes perforateurs après 8 à 15 jours d'incubation en présence de cheveux préalablement stérilisés .

4.7. Les techniques de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire s'intègrent progressivement aux côtés des méthodes mycologiques classiques, et tendent à se généraliser dans les laboratoires spécialisés dans le diagnostic et le suivi des infections fongiques (**De Hoog GS 2007 ; Marie-Elisabeth Bougnoux 2003 anofel^d., 2017**).

4.7.1. PCR-RFLP

Dans cette technique, l'amplification par PCR d'un gène cible est suivie d'une digestion enzymatique, ce qui donne, après migration sur gel, un profil de fragments d'acides nucléiques qui est caractéristique (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP). Appliquée à l'ADN ribosomique, cette technique a donné des résultats comparables (sinon meilleurs) à la culture, quant à la détection et l'identification des dermatophytes. (**Bontems O 2009 ; He G 2005**).

4.7.2. PCR-ELISA

La PCR est couplée ici avec des méthodes immuno-enzymatiques de type ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), également appelé EIA (enzyme immuno assay) est une technique de détection immunoenzymatique des complexes antigènes-anticorps d'intérêt grâce à une réaction colorée produite par l'action d'une enzyme préalablement fixée à un anticorps ou à un antigène sur un substrat il faut savoir que ce test ne permet pas de déterminer le genre et l'espèce du dermatophyte détecté (**Anofel^e., 2017 ; Savin C 2007**).

4.7.3. PCR en temps réel

En raison de sa rapidité et de sa simplicité technique, cette technique a été développée par de nombreuses équipes.. Cette technique, sensible et spécifique, permet d'obtenir un résultat d'espèce en moins de 24 heures (**Gräser Y 2008**). la PCR en temps réel à l'avantage d'être plus rapide, avec une moindre exposition aux contaminations. Cependant, le coût de la machine et le coût de l'examen d'un échantillon doivent être pris en compte (**Gräser Y 2012 ; anofel^f., 2017**).

4.7.4. PCR-séquençage

Le séquençage détermine l'enchaînement des nucléotides d'un fragment d'ADN après PCR. La première étape pour cette techniques consiste à obtenir un ADN de qualité en quantité suffisante. L'extraction sur colonne permet d'obtenir dans la majorité des cas les quantités d'ADN requises. (**Anofel^g., 2017 ; Li HC 2008 ; J.-P. Gagneux 2014**).

4.7.5. Technique d'avenir : le MALDI-TOF

Le MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight) associe la spectrométrie de masse et le laser. À la différence des techniques moléculaires, elle ne peut

s'effectuer sur les squames et nécessite l'obtention de cultures (Theel ES 2011). Son principe repose sur une amplification par une polymérase thermostable et la détection de particules magnétiques agglutinées. Ainsi, aucune étape d'extraction n'est nécessaire (Pfaller MA 2015) ; Toutefois, une limite de ces nouvelles technologies fondées sur le multiplexage est la difficulté à dessiner des amorces capables d'amplifier chaque champignon avec la même efficacité, ce qui pose des problèmes de sensibilité, en particulier dans les mélanges plurimicrobiens.(Alanio A 2013,2015 . ; Francisco Franco-Álvarez de Luna 2018)

5. Les aspects thérapeutiques

Le choix du traitement (antifongiques, mesures d'accompagnement) dépend de la localisation de la lésion et du type de dermatophyte isolé. Il faut souligner que l'administration de corticoïdes est formellement à proscrire, car ces produits favorisent le développement des derma-tophytes dans les tissus profonds.

5.1. Les dermatophytoses des zones pileuses

Qu'il s'agisse de teignes tondantes, suppurées ou faviques, les mycoses du cuir chevelu exigent un traitement oral qui sera prolongé quelques mois selon la nature du champignon et l'évolution de l'affection. La griséofulvine administrée pendant 1 à 2 mois à la dose de 15 à 25 mg/ kg/j est un traitement de choix (Borgers M et al 2005). La terbinafine (250 mg/j) en traitement continu et l'itraconazole en thérapie pulsée (2 × 200 mg/j) d'une semaine/mois sont efficaces bien que le temps nécessaire à l'éradication complète du champignon reste relativement long. Le fluconazole peut aussi être efficace. Les teignes dues à *M. canis* sont parmi les plus difficiles à traiter(P. Berbis, et al 2017). Un traitement local par des imidazolés, sous forme de shampooing ou de crème, peut être un complément du traitement général, mais n'en est pas un substitut.(P.-A.de Viragh ,2017). Aucun antifongique systémique ne doit être prescrit chez la femme enceinte ou allaitant, ainsi que chez le nourrisson de moins de 1 an.

Quel que soit le type de teigne (sèches, inflammatoires), un traitement local doit être institué dès la connaissance de la positivité de l'examen direct pour stopper tout risque éventuel de contamination dans l'entourage(M.Feuilhade de Chauvin.2018).

La désinfection des bonnets, cagoules par le lavage à 60°C, de matériels comme les peignes, brosses, etc., et de l'environnement à l'aide de poudre antifongique, est indispensable pour éviter les récurrences.

5.2. Les dermatophytoses de la peau glabre et intertrigos

Les imidazolés, triazolés et allylamines sont les classes d'antifongiques les plus utilisées pour le traitement topique ou oral des dermatophytoses superficielles. La ciclopiroxolamine topique est également efficace dans cette indication (**P. Berbis et al 2017**) Les applications topiques doivent être généreuses et dépasser de 2 à 3 cm les limites cliniques des lésions. Pour les mycoses des grands plis et des pieds, des mesures non pharmacologiques d'hygiène ont une importance capitale. Chez les individus à risque et en cas de récurrences fréquentes, l'usage d'une poudre antifongique peut être bénéfique à titre prophylactique (**C.Lenormand ,D.Lipsker, 2017**). Les antifongiques oraux sont indiqués pour les atteintes pluri-focales, étendues, chroniques ou récidivantes. Le fluconazole, l'itraconazole et la terbinafine ont fait preuve d'une efficacité remarquable (**Borgers M et al 2005**) alors que leurs effets indésirables sont très souvent mineurs et réversibles.

5.3. Les onychomycoses à dermatophytes

Le test de confirmation de l'onychomycose est obligatoire avant le début du traitement systémique(**Mikhailov A 2016**). Un traitement oral avec terbinafine ou itraconazole est recommandé, les effets secondaires potentiellement nocifs sont extrêmement rare.

La combinaison avec un traitement topique aide à obtenir des résultats plus efficace(**Welsh O et al 2010**), comme la carbamide (crème 40%) ou l'association de bifonazole 2% avec carbamide 40% et récemment l'utilisation de l'efinaconazole et le tavaborole pour traitement de l'onychomycose a été approuvé (**Saunders J et al 2016 ; Gupta AK et al 2016**) Dans une étude expérimentale récente, Thatai P et al. répété un gel à base de microémulsion (composé de huile, eau et Smix [mélange de surfactant et de cosurfactants]) comme véhicule pour l'administration transungual de terbinafine pour traiter l'onychomycose, avec une bonne solubilité du médicament et bonne pénétration sur les sabots des animaux.(**Thatai P et al 2017**). Par contre, beaucoup de patients ne sont pas éligibles à prendre des antifongiques oraux en raison de la polypharmacie et comorbidités. Par conséquent, de nouvelles thérapies sont recherchées pour les onychomycoses qui seraient exemptes effets. La thérapie photodynamique est l'un de ceux qui actuellement

étudié, qui implique l'utilisation de photosensibilisateur et d'une source de lumière pour exciter le photosensibilisateur générer des espèces réactives de l'oxygène(**Bhatta AK et al 2016**).Plusieurs facteurs ont été suggérés pour jouer un rôle dans l'incidence élevée de récurrence, y compris les facteurs familiale , profession, mode de vie ou physiologie sous-jacente, traitement, les propriétés du champignon infectant et les conditions environnementales (**Tosti A et al 2016**).

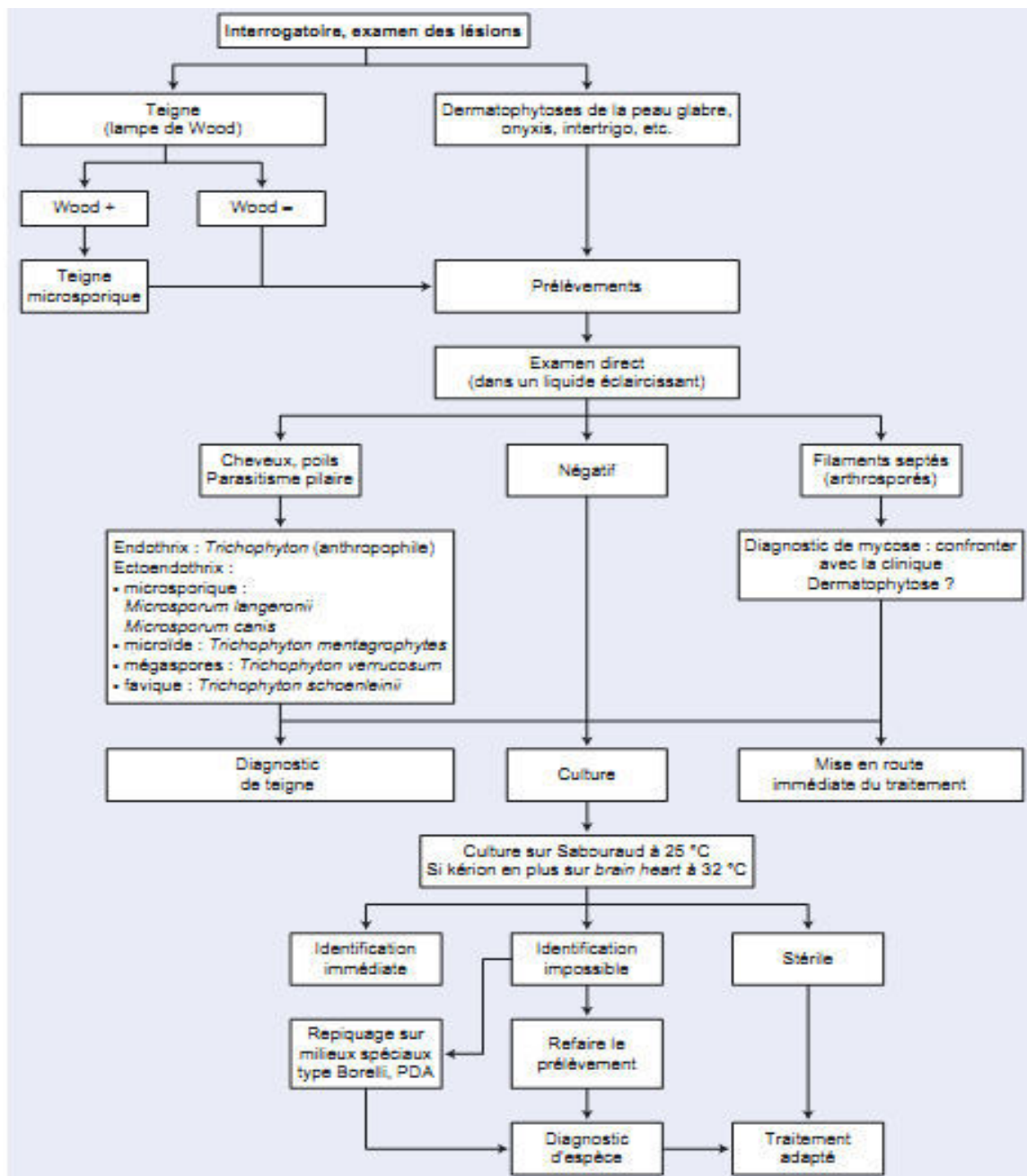


Figure 15 : Arbre décisionnel. Démarche diagnostique d'un dermatophyte au laboratoire. (Anofel .,2017)

A close-up photograph of a laboratory microscope. The microscope is white and black, with a prominent eyepiece and objective lenses. In the background, a rack of test tubes with grey caps is visible. The overall scene is set in a laboratory environment with white cabinets and equipment.

Partie

Expérimentale



Chapitre IV

***Matériel et
Méthodes***

✚ L'objectif du travail

La prévalence des infections cutanées, lors des vingt dernières années est devenue un sujet d'inquiétude majeur pour les instances sanitaires.

Les pistes de recherche sont nombreuses mais l'exploration des ressources naturelles apparaît comme une des plus prometteuses car celles-ci constituent, de par leur biodiversité, la plus grande réserve de substances actives. Donc il convient d'évaluer scientifiquement, l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

Notre travail s'articule sur


- Isoler et identifier les dermatophytes
- Préparer l'extrait de *Lawsonia inermis L*
- Le dosage phytochimique de l'extrait de *Lawsonia inermis L*
- Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Lawsonia inermis L* sur les dermatophytes isolé et sur les souches bactériennes.
- Évaluation in vivo de l'activité de l'extraits de *Lawsonia inermis L* sur quelques dermatophytes

1. Isolement et identification des dermatophytes

Cette étude a porté sur des patients de tous âges et des différents sexes habitant à Oran et ses environs, consultant pour des lésions dermatologiques pendant une période de 18 mois du 01/01/2015 au 30/06/2016

Ces prélèvements ont été adressés au service de parasitologie et mycologie médicale de CHU d'Oran pour une suspicion d'une atteinte mycologique :

- De cuir chevelu. (Figure.16)
- Des ongles. (Figure.17)
- La peau. (Figure.18)

		
Figure 16 : Atteinte de cuir chevelu	Figure 17 : Atteinte d'un ongle	Figure 18: Atteinte de la peau

1.1.Prélèvement :

Le prélèvement a été fait selon le type de la lésion ; soit un grattage simple pour les onychomycoses et les lésions sèches soit un écouvillonnage pour les lésions humides, avec enlèvement des cheveux atteints pour les teignes.

1.2.Examen direct

Le prélèvement est examiné entre lame et lamelle à l'aide d'un éclaircissant, c'est l'hydroxyde de potassium qui est la solution la plus universellement employée.

Pour beaucoup de biologistes cette option constitue ainsi le réactif de choix pour la recherche des dermatophytes (Abdelrahman T, 2006 ; Chabasse D,2008 ; Elewski BE. 1998) pour les prélèvements des ongles et par le Lactophénol pour les prélèvements des cheveux et squames de la peau, à l'objectif 40.

La culture est un complément indispensable de l'examen direct. En effet, l'isolement en culture du dermatophyte et son identification qui ne peut être réalisée que par l'examen direct.

1.3.Isolement :

En raison de la présence fréquente de nombreuses bactéries et de champignons saprophytiques au niveau de la peau ou des phanères, il est indispensable d'utiliser un milieu de culture sélectif. Ainsi, le milieu de référence pour les dermatophytes est le milieu de Sabouraud Chloramphénicol avec et sans actidione.

La température optimale de la culture est de 27°C. En primoculture, les tubes doivent être incubés pendant 12 à 21 jours, et examinés quotidiennement à partir du 3^{ème} jour.

1.4. Repiquage sur les milieux d'identification :

Un fragment de la culture a été prélevé du milieu de Sabouraud dans des conditions stériles pour être ensuite ensemencé sous une hotte dans le milieu d'identification préalablement préparé (**voir annexe 1**).

1.4.1. Milieux d'identification :

1. Milieu Lactrimel de Borelli.
2. Milieu PDA
3. Milieu de PC
4. Eau gélosée à 2%.
5. Gélose au malt.
6. Milieu de Takashio (Sabouraud dilué).
7. Milieu inositol-vitamines.
8. Milieu de Christensen.
9. Milieu de Vroey et Takashio.

L'incubation est faite à 27°C pendant 30 jours

1.4.2. L'identification

➤ Examen macroscopique

L'examen macroscopique consiste à étudier l'aspect de la culture ; Elle est basée sur un ensemble des critères dont :

- ✓ Vitesse de croissance.
- ✓ Aspect de colonie.
- ✓ Couleur du recto et du verso de la colonie.
- ✓ Couleur du verso.
- ✓ Taille et relief.
- ✓ Présence de pigment.

➤ Examen microscopique

L'observation microscopique, permet d'étudier l'aspect morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Elle est réalisée après un montage entre lame et lamelle dans le bleu de

coton, par dissociation, un fragment de la colonie a été prélevée à l'aide de l'anse de platine ou pipette de pasteur, ou bien par réalisation de la technique de Roth. (Cette technique consiste à appliquer en surface des colonies en développement un petit morceau de ruban adhésif que l'on appose ensuite sur une lame de microscope sur laquelle on a préalablement déposé une goutte de bleu de coton).

2. Activité Antimicrobienne de l'extrait de *Lawsonia inermis* L

2.1. Matériel végétal

Les échantillons des parties aériennes (feuilles et rameaux) figure 19, de *Lawsonia inermis* L ont été récoltés en avril 2015 dans la région de Tmaskht kssar Tmaskhi wilaya d'Adrar et les activités biologiques ont été réalisées au laboratoire de pharmacognosie Api phytothérapie ; laboratoire de parasitologie mycologie CHU Oran et le laboratoire microbiologie du CHU d'Oran.



Figure 19 : partie aérienne de la plante *Lawsonia inermis* L récolté (photo réelle)

2.1.1. Protocole d'extraction général

L'extrait de *Lawsonia inermis* L est préparé par macération selon le protocole de sharma,1990 ; 25g des feuilles fraîches sont mise en contact avec 100ml d'éthanol absolu. Le mélange est laissé à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h, l'extrait est ensuite filtré puis évaporé dans un rotavapor type HEIDOLPH (figure 50 ANNEXE 3). L'extrait est conservé à une température de 4°C Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = m_0/m_1 \times 100$$

m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale

2.1.2. Tests phytochimiques

✓ Principe

Les tests phytochimiques permettent de déterminer le type de molécules présent dans l'extrait brut. Pour cela, des réactions spécifiques aux propriétés de chaque famille sont réalisées selon les protocoles proposés par Botosoa. (**Botosoa 2010**).

➤ La mise en évidence des polyphénols

Les polyphénols sont des groupes de molécules de structures variées. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié des groupements hydroxyles (**Hennebelle et al., 2004**).

➤ La mise en évidence des tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles (soluble dans l'eau). On distingue des tanins galliques ou ellagiques qui sont des esters de l'acide gallique et du glucose. Ce sont des composés hydrolysables et des tanins catéchiques ou tanins condensés non hydrolysables. L'importance des drogues à tanins est liée à leur propriété tannante (**Diallo 2005**).

Les tanins sont mis en évidence à partir de 1 ml d'extrait placé dans un tube en présence de quelques gouttes de FeCl₃ (1% préparé au méthanol). Après agitation de l'extrait, la couleur

vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (Karumi et al., 2004).

➤ **La mise en évidence des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont très répandus chez les végétaux. Ils sont responsables de la coloration jaune de certaines fleurs et de certains fruits. Ils se trouvent le plus souvent sous la forme d'hétérosides ou de flavonosides. Leur présence ou leur absence dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide appelé " réaction de Shinoda" (Lock et al., 2006). Le test consiste à ajouter à 2ml de l'extrait, quelques gouttes d'HCl concentré (2N) et environ 0,5g de magnésium métallique. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur (rose, orange ou rouge) (Malec et Pamilio, 2003).

➤ **La mise en évidence des alcaloïdes**

La majorité des principes actifs des plantes médicinales est issue des alcaloïdes et des hétérosides. Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, qui se comportent comme des bases donnant des réactions de précipitations avec certains réactifs (Dohou et al., 2003).

Les alcaloïdes ont été caractérisés à partir des réactifs de Mayer ou Wagner. 10 ml d'extrait sont évaporés jusqu'à l'obtention d'un volume de 0,2ml, sur lequel 1,5 ml de HCl à (2%) sont ajoutés. Après agitation de la solution acide, 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer ou Wagner sont ajoutés. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre ou brun indique la présence d'alcaloïdes (Mojab et al., 2003).

➤ **La mise en évidence des terpènes**

La mise en évidence des stérols et triterpènes est fondée sur la réaction de Lieberman-Burchard. Les extraits des trois variétés sont additionnés chacun de 0.5ml d'anhydride acétique puis de 0.5ml de chloroforme, après dissolution, les solutions sont transférées dans des tubes à essai auxquels sont ajoutés 1ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid. La formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet, avec coloration de la couche surnageante de vert ou de violet, traduit la présence de stérols et de triterpènes (Bruneton, 1999)

➤ **La mise en évidence des saponosides**

Ce sont des hétérosides de stérols et de triterpènes très répandus chez les végétaux. Les saponosides sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives (abaisse la tension superficielle). Ils se dissolvent dans l'eau en formant une solution moussante (aphrogènes) (Bruneton, 1993).

Pour la détection des saponosides, 10 ml d'extrait placé dans un tube à essais sont agités pendant 15 secondes puis déposés durant 15 minutes. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides (Malec et Pamilio, 2003 ; Mojab et al., 2003 ; Koffi et al., 2009).

2.1.3. Dosage phytochimique

➤ **Dosage des polyphénols totaux**

La teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu adoptée par (Li HB et al ;2007). Brièvement 200µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 5 minutes à 25 °C. Après l'incubation 800µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 7.5 % (p/v) a été ajoutée dans les tubes. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 750 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des polyphénols totaux présents dans l'échantillon (George´ S, et al 2005).

➤ **Dosage des flavonoïdes totaux**

. La méthode du trichlorure d'aluminium (Bahruon et al. 1996) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits aqueux et alcooliques. Un millilitre de la solution d'ALCl₃ (2%) est ajouté à 1 ml de la solution de l'échantillon (extraits ou standard) contenant différentes concentrations. Le mélange est laissé réagir pendant 10 min puis la lecture est faite à 430 nm. La concentration des flavonoïdes dans les extraits est calculée à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (2-14 µg/ml) et exprimée en microgramme d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

➤ **Dosage des tannins condensés**

La méthode de vanilline décrite par (Ba K, et al ;2010), est utilisée pour quantifier le tanin dans les extraits de *L. inermis L*. Un volume de 50 µl de l'extrait brut est ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol (4 %, m/v) et puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) est additionné et laissé réagir à la température ambiante pendant 20 min. L'absorbance à 550 nm est mesurée contre un blanc. Les résultats obtenus ont permis de tracer des courbes des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des deux parties de la plante étudiée. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

2.1.4. Techniques chromatographiques de séparation

➤ **Mode opératoire**

La séparation est faite par un HPLC (HP 1100 Waldbronn, Allemagne). 10 µl de l'extrait a été injectés sur une colonne de type phase inverse Nucleodur® C18 Gravity (250 x 4,6 mm, ayant des particules de 5 µm et des pores de 110 Å) (Macherey Nagel, Allemagne), thermostatée à 30°C éluant : Les solvants (A) et (B) correspondent respectivement aux solutions eau/acide formique 95/5 (v/v) et acétonitrile/eau/acide formique 80/15/5 (v/v/v). Le gradient d'éluion appliqué est de type isocratique. Le débit est de 0.8 ml / min

3. Etude in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

3.1.Préparation des concentrations

L'extrait ont été repris avec du DMSO. Des dilutions en série de pourcentages ont été ensuite réalisées pour obtenir des concentrations de 2 à 100%.

3.2.Souches bactériennes utilisées

Pour cette étude, nous avons testé la sensibilité de trois souches bactériennes de référence provenant de laboratoire de microbiologie (tableau 3), CHU Oran, Leur croissance est réalisée

sur gélose nutritif. Ce sont des espèce Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques.(tableau 3) Elles sont revivifiées à 37 °C par repiquage sur Bouillon nutritif.

Tableau 3 : Les souches bactériennes utilisées

Genre et espèce	Gram
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	-

ATCC: American Type Culture Collection.

Tous les essais in vitro de recherche de l'activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis L* ont été réalisés au Laboratoire de microbiologie CHU Oran.

3.2.1. Préparation de l'inoculum

Les espèces cibles (souches bactériennes choisies) ont été revivifiées et repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à des températures optimales de développements (37C°) pendant 18 heures pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 3 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure à l'aide d'un appareil McFarland 0.5 McF qui corespond a unedensité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10⁸ UFC/ml (Athamena et al., 2010 ; Karatas et al., 2010 ; Sarac et al., 2007 ; Yen tan et al., 2006 ; Rahal et al.,2005).

3.2.2. Sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques :

On a utilisé le milieu de Mueller-Hinton coulé dans une boîte de Pétri de façon uniforme et jusqu'à une épaisseur de 3 mm Les géloses sont séchées avant l'emploi. L'ensemencement de l'inoculum par strille d'une façon uniforme sur toute la surface de la gélose deux antibiotique été utilisé à savoir la gentamicine (Genta) et pénicilline G (Péni G).

3.2.3. Teste d'activité antibactérienne

Au cours de cette étude la méthode de diffusion des disques choisis pour réaliser le test est comme suit :

- Une suspension de chaque germe est préparée dans l'eau physiologique stérile et ajustée à environ 0.5McF
- Chaque souche est ensemencée par inondation sur des boites de pétri contenant le milieu Muller – Hinton. La surface des milieux
- Dépôt de disques (papier Whatman stériles de 6mm de diamètre) **Awadh Ali et al., 2001 ; Nath et al., 2008** préalablement imprégnés de 10 µl de l'extrait de *Lawsonia inermis L* (**Elgorashi et Van Staden., 2004**) , principe de cette méthode consiste à utiliser des disques imprégnés dans différents dilutions de de l'extrait de *Lawsonia inermis L* (de 2 à 100%) dissoute dans le DMSO (Dimethylsulfoxyde) (Un disque imbibé par le DMSO est employé en tant que contrôle négatif). À la surface du milieu Muller–Hinton agar (MHA) contenant une souche donnée.
- Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

La mesure des zones d'inhibition pour la lecture est effectuée à l'extérieur de la boîte fermée à l'aide d'une règle graduée. Elle est réalisée en prenant la moyenne de trois mesures différentes de diamètre. La lecture des résultats a été faite par la mesure de la zone d'inhibition, qui est représentée par une auréole formée autour de chaque disque où aucune croissance n'est observée.

D'après l'expressions des résultats se fait comme suite

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 8 à 15mm.
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 20 mm.
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

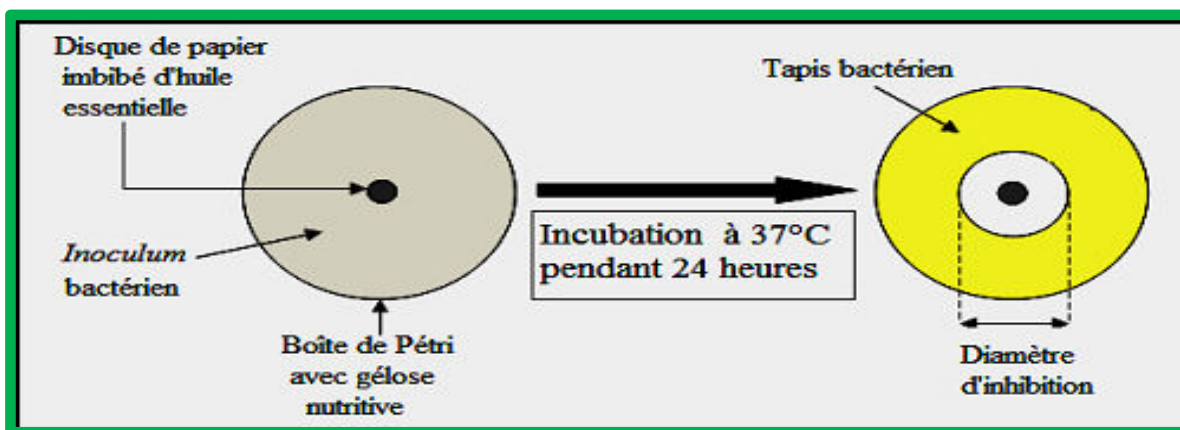


Figure20 : Principe de la méthode de diffusion en milieu gélosé (Ponce et al., 2003)

3.3.L'évaluation de l'activité antifongique

Trois dermatophytes ont été choisis *Microsporum canis* ; *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton erinacei* pour tester l'activité antifongique de l'extrait de *Lawsonia inermis* L.

Pour évaluer l'activité des produits vis-à-vis des souches sélectionnées la méthode de diffusion sur milieu solide inspirée d'une technique standardisée par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), a été réalisée (Espinell-Ingroff, 2007). Le milieu de culture utilisé est le milieu de saboraud chloramphenicol actidioné. L'inoculum équivalent à 0,5 McFarland est réalisé dans les mêmes conditions que les bactéries. Les disques sont déposés après séchage. Les boîtes sont incubées à 27°C pendant 3 à 14 jours. La lecture est réalisée de la même façon que celle décrite pour les bactéries.

4. L'étude in vivo

4.1. Matériel animal

Cette partie d'étude a été réalisée *in vivo* sur des rats Wistar. L'objectif étant d'évaluer l'effet antifongique de l'extrait de *Lawsonia inermis L* par application cutanée après provocation de lésion dermique à l'aide d'un agent pathologique (dermatophytes).

4.2. Entretien des animaux

Les six rats utilisés dans cette expérimentation sont des rats mâles adultes de souche Wistar, pesant entre 200 et 240g (au début de l'expérimentation), issus d'un élevage au niveau de l'animalerie de l'Université Abdel Hamid bnBadis Mostaganem dans des conditions optimales d'hygrométrie, de température de $25^{\circ}\text{C} \pm 5$, de cycle nyctémérale 12 h / 12h et une ration alimentaire journalière provenant de l'ONAB de la zone ben yahi Mostaganem avec un accès libre à l'eau distillée. Les rats sont logés dans des cages où chaque cage regroupe 2 rats. (Figure 21).

4.3. Préparation de la pommade à tester

L'extrait de *Lawsonia inermis L* est mis en suspension dans de la vaseline pure qui a subi une stérilisation dans un autoclave à 121°C le mélange vaseline/extrait est utilisé comme pommade à raison de 10 % et 80% de *Lawsonia inermis L* pour le traitement des lésions provoqué par l'agent pathogène (dermatophyte) au niveau cutané après rasage des poils couvrant le derme.

4.4. Répartition des lots

- ✓ **Lot 1** : le lot des rats témoins qui ont subi un rasage des poils de la partie dorsale suivi d'une blessure et une lésion dermatophyte, la provocation de la lésion se fait par un contact direct de fragment de dermatophyte déjà isolé en culture *in vitro* ; le fragment est déposé directement sur le derme en exerçant un léger frottement sur la partie libérée du derme (T) (n=2)
- ✓ **Lot 2** : le lot avec une lésion dermatophyte, à laquelle on a appliqué une pommade traditionnelle de *Lawsonia inermis L* à 10% sur la zone infectée de dermatophyte (DT 10%) (n=2)
- ✓ **Lot 3** : Lot des souris dermatophytes à laquelle on a appliqué une

pommade traditionnelle de *Lawsonia inermis L* a 80% sur la zone infecté de dermatophyte (DT 80%) (n=2).

Les rats ont été traités conformément au principe et directive énoncés dans le manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation.



Figure21 : Répartition des rats dans les cages.



Chapitre V

***Résultats et
Discussion***

1. Isolement et identification des dermatophytes

1.1. Prélèvements

Les prélèvements étaient effectués avant tout traitement antifongique local ou systémique, en respectant les précautions d'usage de stérilité, au moyen d'un matériel chirurgical particulier, stérile et en bon état.

Parmi les 306 prélèvements dermiques réalisés dans l'unité de mycologie CHU d'Oran, durant une période allant de 01/01/ 2015 jusqu'au 30/06/2016 dont l'origine dermatophytique était suspectée les prélèvements ont été repartis comme suite : figure 22

- 63 prélèvements de cuir chevelu
- 75 prélèvements de la peau
- 168 prélèvements des ongles

28,43 % des prélèvements étaient positifs (11,76% étaient des enfants (2 à 12 ans) ; 10,78% des femmes et 5,88% des hommes) figure 23.

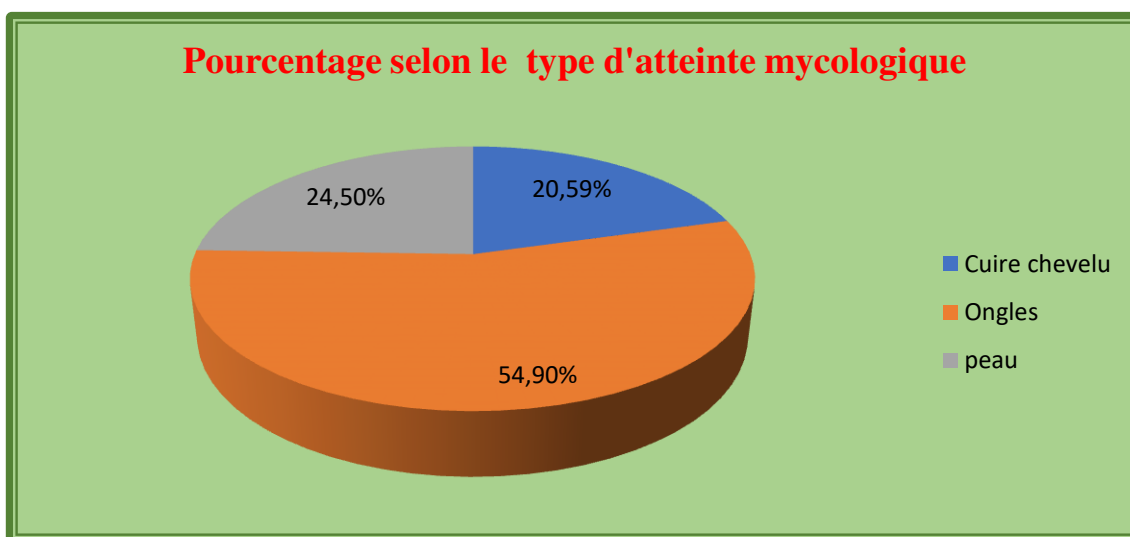


Figure 22 : Pourcentage selon le type d'atteinte mycologique .

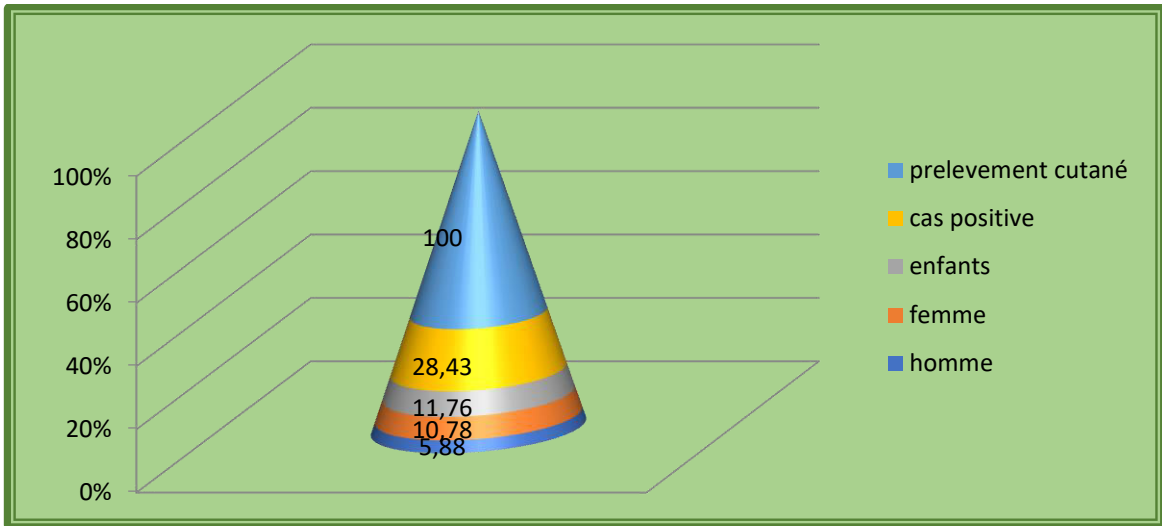


Figure 23 : Pourcentage des prélèvements positifs

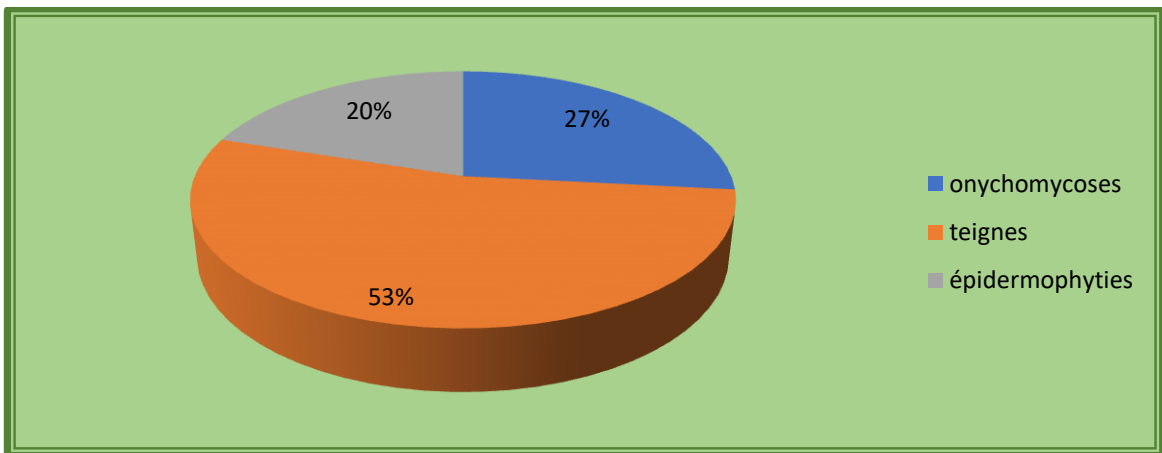


Figure 24 : Pourcentage des cas positifs selon le type du prélèvement

Chaque échantillon prélevé est partagé en deux parties sensiblement égales pour effectuer en parallèle un examen direct et culture.

1.2. Examen microscopique direct à l'état frais

Les prélèvements examinés à l'état frais nous montrent la structure, L'examen direct est indispensable et doit être réalisé rapidement afin d'apporter une réponse rapide au clinicien

Prescripteur, c'est l'étape incontournable de la démarche diagnostique biologique (**Chabasse D ;2003. Robert R ,2008 ; Bourgeois N ,2010**) ;Un examen direct positif permet d'indiquer seulement la présence d'un champignon, sans préjuger de son espèce, La présence des filaments mycéliens(**Chabasse,2011**) , Parasitisme endothrix ou ecto-endothrix oriente vers le diagnostic d'une mycose.

L'examen a l'état frais s'effectue à partir de fragments d'ongles, de cheveux ou squame de la peau issus du grattage, de squames ou de sérosités recueillies au niveau des replis unguéaux. Ces échantillons sont examinés directement après leurs prélèvements au microscope entre lame et lamelle, dans une goutte de produit éclaircissant qui es l'hydroxyde de potassium (KOH 10 %),le KOH est utilisé de préférence en association avec un colorant(**Zaki SM et al ; 2009**), qui améliore grandement le confort de lecture grâce à une meilleure visualisation des structures fongiques l'examen a l'état frais des prélèvement positive a montré la présence de Les filaments mycéliens, Parasitisme endothrix et des Parasitisme ecto-endothrix.figure.25

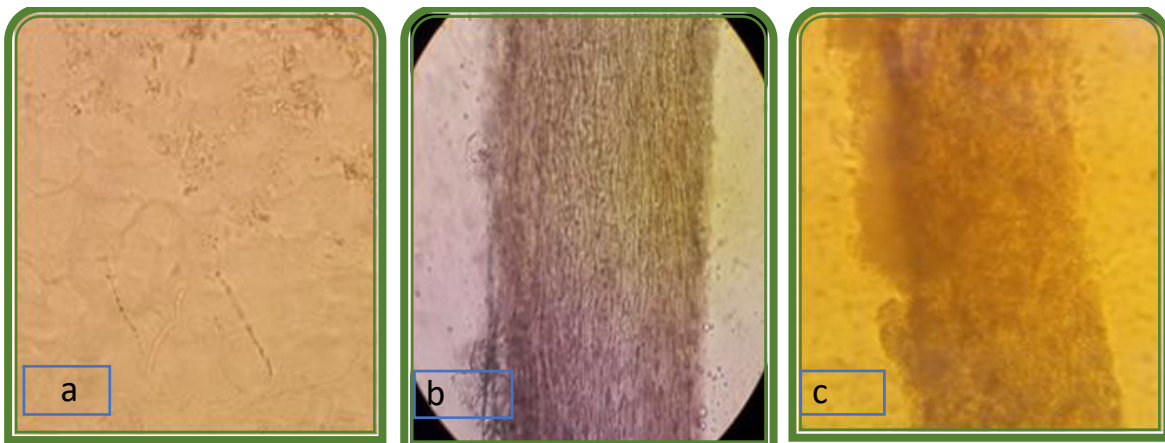


Figure 25 : les formes obtenue après un examen à l'état frais ; a : filaments mycéliens ;b : Parasitisme endothrix ; c : Parasitisme ecto-endothrix

Les limites de l'examen direct reposent essentiellement sur les difficultés de réalisation de certains prélèvements. Des prélèvements trop superficielle, réalisés au niveau des parties les plus friables de l'ongle peuvent révéler des filaments mycéliens ou des spores qui correspondent le plus souvent à une contamination de la tablette pathologique par des moisissures saprophytes et non à un parasitisme fongique (**Perrin C,2011**).

1.3. Isolement

Pour tous les patients, un prélèvement a été effectué au laboratoire et mis dans une boîte de pétri stérile ; un examen direct déjà effectué ; une culture est indispensable ; le milieu de référence est le milieu de Sabouraud, additionné d'antibiotiques (chloramphénicol) limitant la pousse des bactéries saprophytes de la peau. Ce milieu peut être rendu sélectif pour l'isolement des dermatophytes. En règle générale, les dermatophytes poussent à la température du laboratoire (ou mieux à 26-28°C), limitant la pousse des bactéries et celle des champignons non pathogènes. L'aération de cultures est nécessaire à cause du caractère aérobic des dermatophytes.

Les cultures ont été contrôlées toutes les semaines et ont été conservées un mois avant de rendre un résultat négatif (**N.Contet-Audonneau et al,2010**).

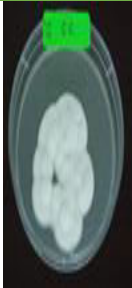
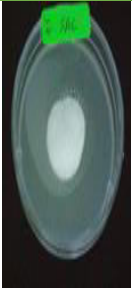


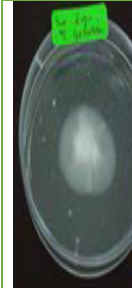
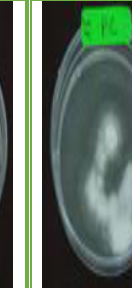
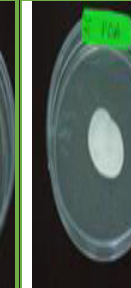
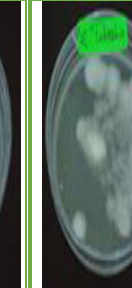
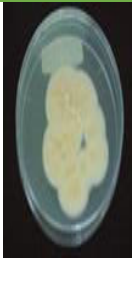



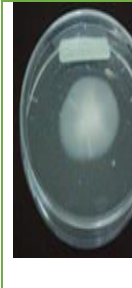
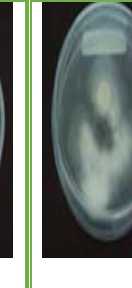
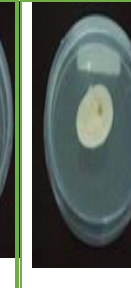
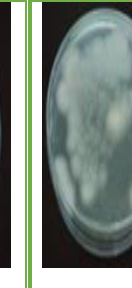
La culture est un complément indispensable de l'examen direct, dont elle permet de corriger les résultats faussement négatifs (**Contet-Audonneau N,2002 ; Weitzman I, 1995**).

















1.4. Identification**1.4.1. L'identification morphologique macroscopique**

Parmi les 30 cas qui ont confirmé une atteinte dermatophytes ; 15 cas positifs ont été choisis pour une identification en utilisant des milieux spécifiques ; les cultures sont incubées à 27°C, elles sont observées 2 à 3 fois par semaine jusqu'à l'apparition d'une culture identifiable (**Chabasse D, Contet-Audonneau N ;2011**)







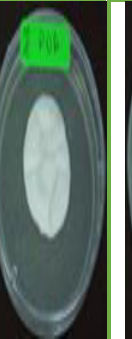





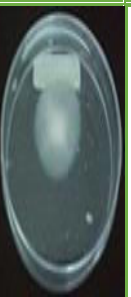

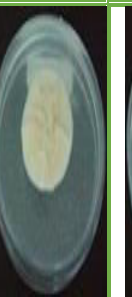

Dans cette étude nous nous sommes basés sur plusieurs critères dont la vitesse de pousse d'une colonie adulte, l'aspect macroscopique des cultures, la couleur de la surface des colonies (Brune rouge, noire, verte, grise, blanche) ; aspect (duveteux ; plâtré, laineux, broussailleux), le relief (plat), la consistance (friable, élastique, dure, molle...), la forme des colonies (arrondies, étoilées), la taille des colonies (petites, extensives), la présence d'un pigment (couleur, diffusion) au verso de la boîte de culture comme il est montré dans le tableau suivant :















Tableau 4 : Identification morphologique macroscopique















Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A	Takashio
1 ^{er} cas								
								
Vitesse de pousse	Rapide 6 jours	Rapide 6 jours	Rapide 4 jours	Rapide 5 jours	Rapide 5 jours	Rapide 4 jours	Rapide 4 jours	Rapide 4 jours
Aspect de colonie	duveteux	duveteux	duveteux	Duveteux	Duveteux	duveteux	duveteux	Duveteux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre
Verso	Brun	brun	Brun	Incolore	Incolore	incolore	Brun	Incolore
Forme	bombée	bombée	bombée	peu bombée	Bombée	bombée	bombée	peu bombée
Taille	petite	petite	Petite	Petite	Petite	petite	Petite	Petite
Relief	surélevé	surélevé	surélevé	Surélevé	Surélevé	surélevé	surélevé	Surélevé
Présence de pigment	Non	non	Non	Non	Non	non	Non	Non




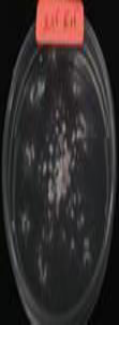










Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A	Takashi o
2 ^{ème} cas								
								
Vitesse de pousse	5 jours	5 jours	4 jours	4 jours	4 jours	4 jours	4 jours	7 jours
Aspect de colonie	laineux	laineux	laineux	Laineux	laineux	laineux	laineux	laineux
Couleur du recto	Blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	Incolore	incolore	blanchâtre	Crème	Incolore
Verso	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	Incolore	incolore	incolore	Incolore à brun	Incolore
Forme	étoilée	étoilée	étoilée	Etoilée	Etoilée	étoilée	Etoilée	Etoilée
Taille	Moyenne	grande	grande	grande	grande	grande	Grande	Grande
Relief	Plat	plat	Plat	plat	plat	plat	Plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	Non	Non	non	jaune orangé	Non















Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
3 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	Rapide 6 jours	Rapide 7 jours	Rapide 4 jours	Rapide 5 jours	Rapide 5 jours	Rapide 5 jours	Rapide 4 jours
Aspect de colonie	duveteux	duveteux	duveteux	Duveteux	duveteux	duveteux	duveteux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre
Verso	jaune orangé	brun clair	incolore	incolore	incolore	incolore	brun clair
Forme	Bombée	bombée	bombée	peu bombée	bombée	bombée	Bombée
Taille	Petite	petite	petite	petite	Petite	petite	Petite
Relief	surélevé	surélevé	surélevé	peu surélevé	surélevé	surélevé	surélevé
Présence de pigment	jaune orangé	brun clair	Non	non	Non	non	brun















Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A	Takashi o
4 ^{ème} cas								
								
Vitesse de pousse	Rapide 6 jours	N'a poussé qu'après repiquage	Rapide 4 jours	Rapide 5 jours	Rapide 5 jours	Rapide 5 jours	Rapide 4 jours	Rapide 4 jours
Aspect de colonie	Duveteux	duveteux	duveteux	Duveteux	Duveteux	duveteux	duveteux	Duveteux
Couleur du recto	Blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre
Verso	Chamois	chamois	chamois	Blanchâtre	Incolore	incolore	Chamois	Incolore
Forme	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée
Taille	Moyenne	moyenne	Petite	Petite	Petite	Petite	Grande disque	Petite
Relief	surélevé	surélevé	surélevé	Surélevé	surélevé	surélevé	surélevé	Surélevé















Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
5 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	5 jours	5 jours	4 jours	6 jours	5 jours	5 jours	4 jours
Aspect de colonie	laineux	Laineux	laineux	laineux	laineux	laineux	laineux
Couleur du recto	blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre	incolore	incolore	blanchâtre	brun clair
Couleur du verso	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	incolore	incolore	incolore	Incolore
Forme	étoilé	Etoilé	étoilé	étoilé	Etoilé	étoilé	Etoilé
Taille	moyenne	grande	grande	grande	grande	grande	Grande
Relief	plat	Plat	plat	plat	plat	plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	Non	Non	non	brun clair













Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
6 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	5 jours	6 jours	4 jours	5 jours	6 jours	4 jours	5 jours
Aspect de colonie	laineux	Laineux	laineux	laineux	laineux	laineux	laineux
Couleur du recto	blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	incolore	incolore	incolore	Crème
Couleur du verso	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	incolore	incolore	incolore	Incolore
Forme	étoilée	Etoilée	Etoilée	étoilée	Etoilée	étoilée	Etoilée
Taille	Grande	grande	grande	grande	grande	grande	Grande
Relief	plat	Plat	Plat	plat	plat	plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	Non	Non	non	Non





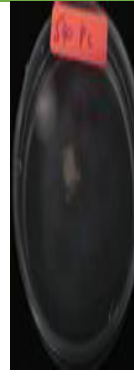

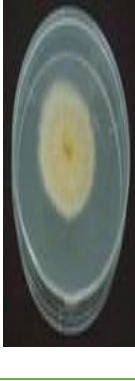




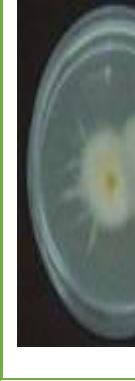
Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
7 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	4 jours	4 jours	4 jours	4 jours	5 jours	4 jours	4 jours
Aspect de colonie	Duveteux poudreux	poudreux	granuleux	granuleux	granuleux	granuleux	granuleux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre
Verso	Brun clair	Brun clair	Brun	incolore	Blanc	blanc	Brun clair
Forme	pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme	Pléomorphisme	Pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme
Taille	Grande	grande	grande	grande	grande	grande	grande
Relief	plat	plat	Plat	plat	plat	plat	plat
Présence de pigment	brun	brun	brun	Non	Non	non	brun













Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
8 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	4 jours	5 jours	4 jours	4 jours	5 jours	5 jours	4 jours
Aspect de colonie	granuleux	poudreux	granuleux	granuleux	poudreux	granuleux	Duveteux à poudreux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre
Verso	Brun clair	Brun	Brun	blanc	Blanc	incolore	Brun clair
Forme	Pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme	Pléomorphisme	Pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme
Taille	grande	grande	grande	grande	grande	grande	grande
Relief	Plat	plat	Plat	plat	plat	plat	plat
Présence de pigment	Brun	brun	brun	Non	Brun	non	brun







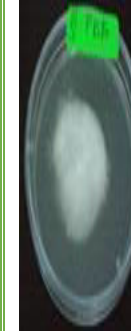






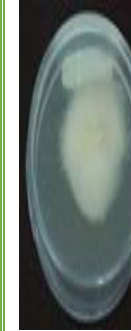
	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
9 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	4 jours	4 jours	5 jours	5 jours	5 jours	5 jours	4 jours
Aspect de colonie	poudreux	poudreux	duveteux	granuleux	duveteux et granuleux	duveteux	duveteux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre
Verso	jaune brun	Brun	incolore	blanc	Blanc	blanc	Brun clair
Forme	pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme	Pléomorphisme	Pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme
Taille	Grande	grande	grande	grande	Moyenne	petite	grande
Relief	plat	surélevé	Plat	plat	plat	plat	plat
Présence de pigment	brun	brun	Non	Non	Non	non	Brun





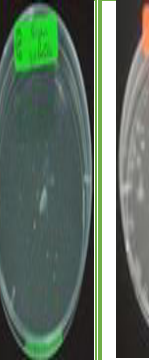
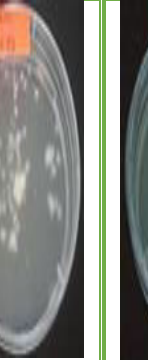





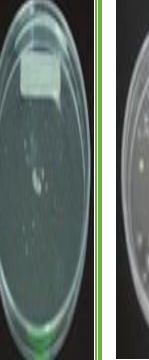
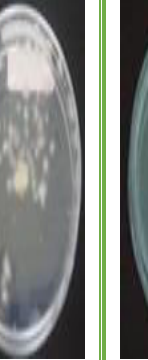

Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
10 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	4 jours	5 jours	5 jours	5 jours	6 jours	6 jours	5 jours
Aspect de colonie	laineux	laineux	laineux	laineux	laineux	laineux	Cotonneux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre
Verso	Brun	jaune	Brun clair	incolore	incolore	Blanc	Blanc
Forme	étoilée	étoilée	étoilée	étoilée	Etoilée	étoilée	étoilée
Taille	Grande	grande	grande	grande	grande	grande	Grande
Relief	plat	plat	Plat	plat	plat	Plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	jaune	brun	Non	Brun	non

Cas étudiant	S.C	S.A.C	E.M	E.G	P.C	P.D.A
11 ^{ème} cas						
						
Vitesse de pousse	6 jours	6 jours	5 jours	8 jours	5 jours	4 jours
Aspect de colonie	Duveteux	Duveteux	Duveteux	Duveteux	Duveteux	duveteux
Couleur du recto	blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre
Verso	Brun foncé	Brun foncé	Blanc	Incolore	Incolore	chamois
Forme	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée	Bombée
Taille	moyenne	Moyenne	Petite	Petite	Petite	Grande disque
Relief	surélevé	Surélevé	Surélevé	surélevé	Surélevé	surélevé
Présence de pigment	brun	Brun	Brun	Non	Brun	non

Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.G	P.C	P.D.A
12 ^{ème} cas						
						
Vitesse de pousse	5 jours	6 jours	4 jours	5 jours	5 jours	4 jours
Aspect de colonie	laineux	Laineux	Laineux	laineux	Laineux	laineux
Couleur du recto	blanchâtre	Blanchâtre	Blanchâtre	incolore	Incolore	Blanchatre
Verso	jaune orangé	jaune orangé	jaune orangé	incolore	Incolore	Incolore
Forme	étoilée	Etoilée	Etoilée	Etoilée	Etoilée	étoilée
Taille	Moyenne	Grande	grande	grande	Grande	moyenne
Relief	plat	Plat	Plat	plat	Plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	Non	Non	Non	Jaune orangé

Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C
13 ^{ème} cas						
						
Vitesse de pousse	5 jours	6 jours	4 jours	5 jours	6 jours	4 jours
Aspect de colonie	poudreux	Toile d'araignée saupoudrée de farine	poudreux	Duveteux et peu poudreuse	duveteux	Poudreuse
Couleur du recto	blanchâtre	Blanchâtre	jaune	incolore	incolore	Incolore
Verso	jaune orangé	jaune orangé	Incolore	incolore	incolore	Incolore
Forme	étoilée	Etoilée	étoilée	étoilée	Etoilée	Etoilée
Taille	moyenne	grande	moyenne	moyenne	moyenne	Moyenne
Relief	plat	Plat	plat	plat	plat	Plat
Présence de pigment	jaune orangé	jaune orangé	jaune vif	Non	Non	Non

Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
14 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	6 jours	6 jours	4 jours	5 jours	5 jours	4 jours	5 jours
Aspect de colonie	cotonneux	Laineux	laineux	laineux	laineux	Laineux	Laineux
Couleur du recto	Blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre	incoloré	incoloré	Incoloré	Blanchâtre
Verso	Brun clair	Brun clair	incoloré	incoloré	incoloré	Incoloré	Incoloré
Forme	étoilée	Etoilée	étoilée	étoilée	Etoilée	Etoilée	Etoilée
Taille	Grande	grande	grande	grande	grande	Moyenne	Grande
Relief	plat	Plat	plat	plat	plat	Plat	Plat
Présence de pigment	brun	Brun	non	Non	Non	Non	Non

Cas étudiant	S.C	S.A.C	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A
15 ^{ème} cas							
							
Vitesse de pousse	18 jr	19 jr	14jr	14jr	21 jr	14jr	12 jr
Aspect de colonie	verruqueux	verruqueux	verruqueux	Verruqueux	verruqueux	verruqueux	verruqueux
Couleur du recto	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	blanchâtre	Blanchâtre	blanchâtre
Verso	Brun clair	brun	Brun clair	blanc	incolore	Brun clair	Brun clair
Forme	Pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme	pléomorphisme	Pléomorphisme	Pléomorphisme	pléomorphisme
Taille	Petite	petite	petite	petite	Petite	Petite	Petite
Relief	Plat	Plat	plat	plat	plat	Plat	Plat
Présence de pigment	Non	non	non	non	Non	Non	non

1.1.1. L'identification morphologique microscopique

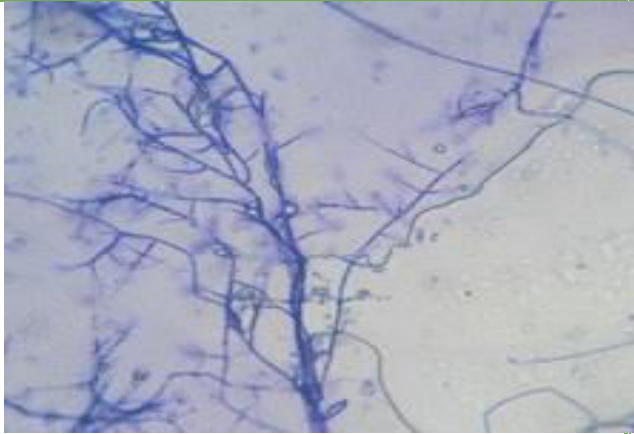
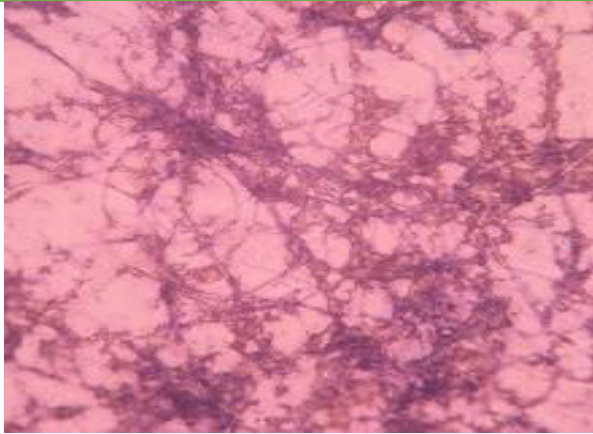
Le principe été de prélevé un fragment de culture le dissocié au bleu lactique ou lactophénol et examiné entre lame et lamelle. Ce procédé peut se faire à partir d'un ruban adhésif appliqué à la surface de la colonie coloré avec du bleu de lactophénol et examiné entre lame et lamelle l'analyse microscopique nous a donné les formes présentées dans le tableau 5.

1.1.1. Interprétation de l'examen microscopique

L'interprétation de l'examen microscopique est illustrée dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Identification morphologique microscopique et interprétation de l'examen microscopique :

	SC	SAC	Borelli	E.M	E.G	P.C	P.D.A	Takashio
1 ^{er} cas	Filaments mycéliens	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Microconidies	+	+	++	+	+	++	+
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	+	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-

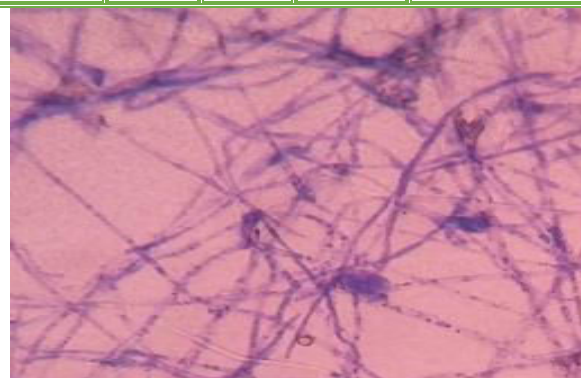
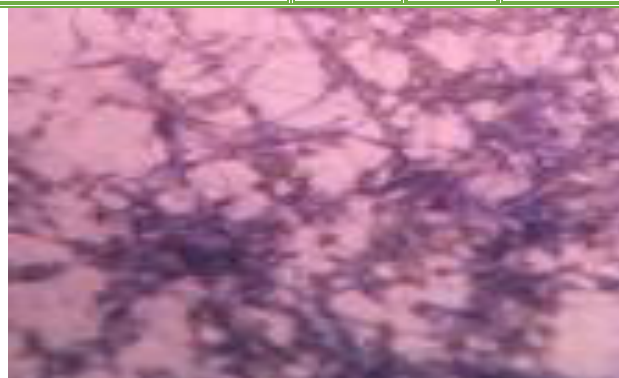
2 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++	+
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++	+
	Macroconidies	-	-	+++	++	++	+++	+++	++
	Vrilles	-	-	+	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	+	+	-	-	-	-	+	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférant	-	-	-	-	-	-	-	-



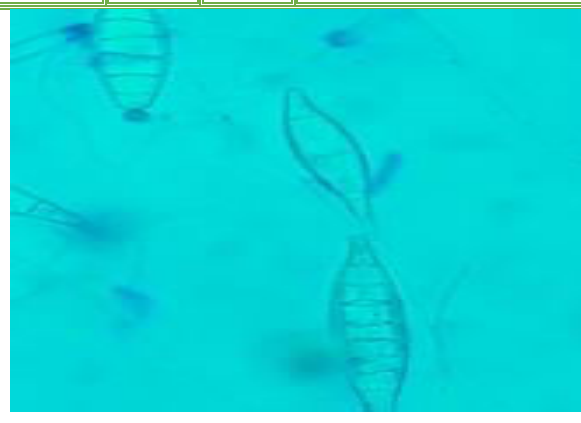
3 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Microconidies	++	++	+++	++	++	++	+++
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	--
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-

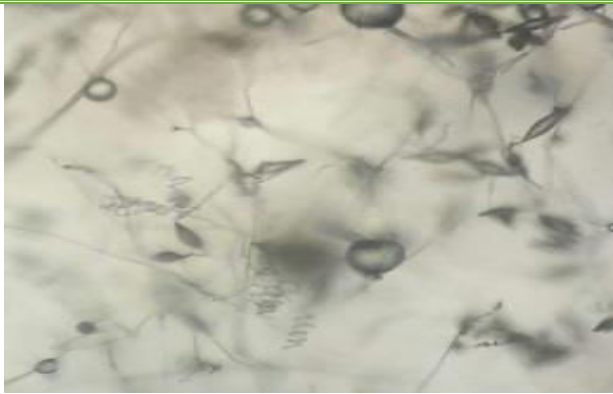

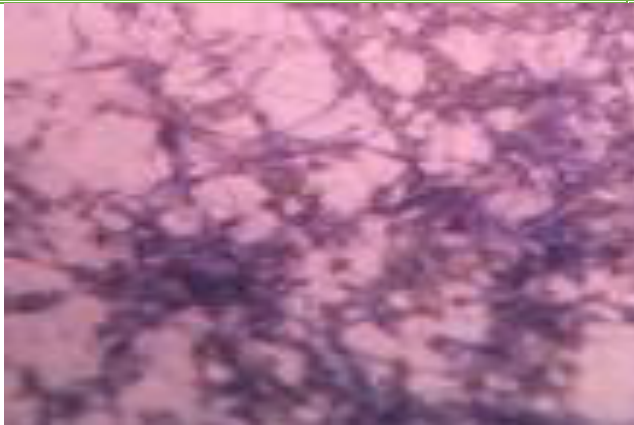



4 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
	Microconidies	++	++	+++	++	+++	+++	++	+
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	+	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-	-

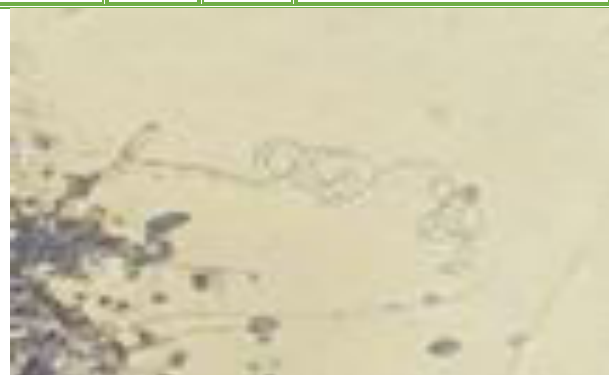


5 ^{ème} cas	Filaments myceliens	++	++	++	++	++	++	++
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++
	Macroconidies	+	+	+++	++	++	+++	+++
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	+	+	+	+	+	+	+
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-

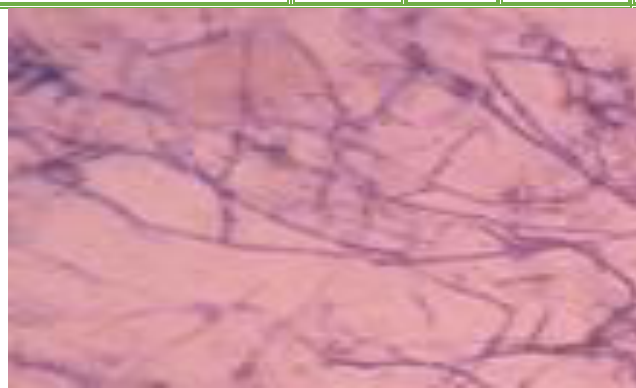


6 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++	
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++	
	Macroconidies	+	-	+++	++	++	++	+++	
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-	
	Chlamydozoospores	+	-	+	-	-	+	-	
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-	
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-	
									
7 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	+++	+++	++	++	+++	
	Microconidies	++	++	++	++	++	++	++	
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-	
	Vrilles	-	-	+	-	+	+	-	
	Chlamydozoospores	-	-	-	-	-	-	-	
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-	
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-	
									

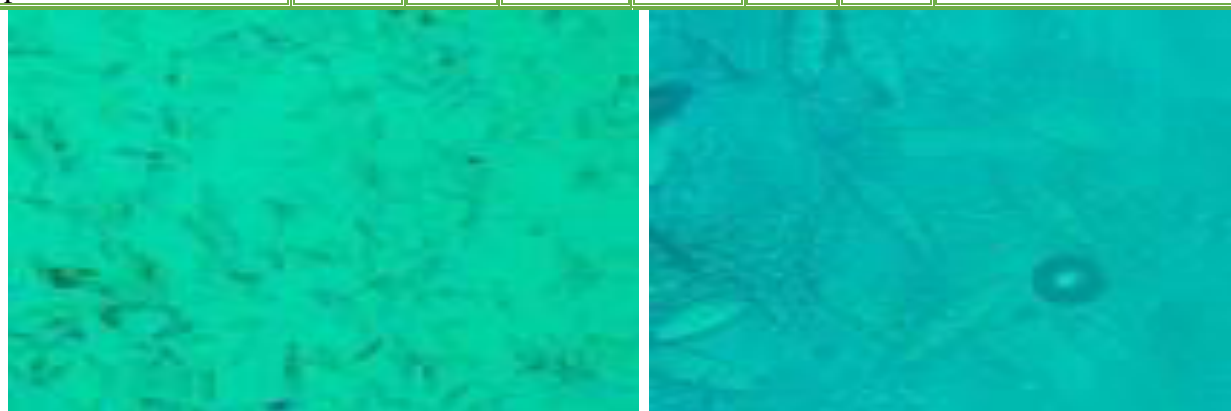
8 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	+++	++	++	++	++
	Microconidies	++	++	+++	+++	++	++	++
	Macroconidies	+	+	++	++	-	+	+
	Vrilles	+	+	++	+	+	+	++
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-



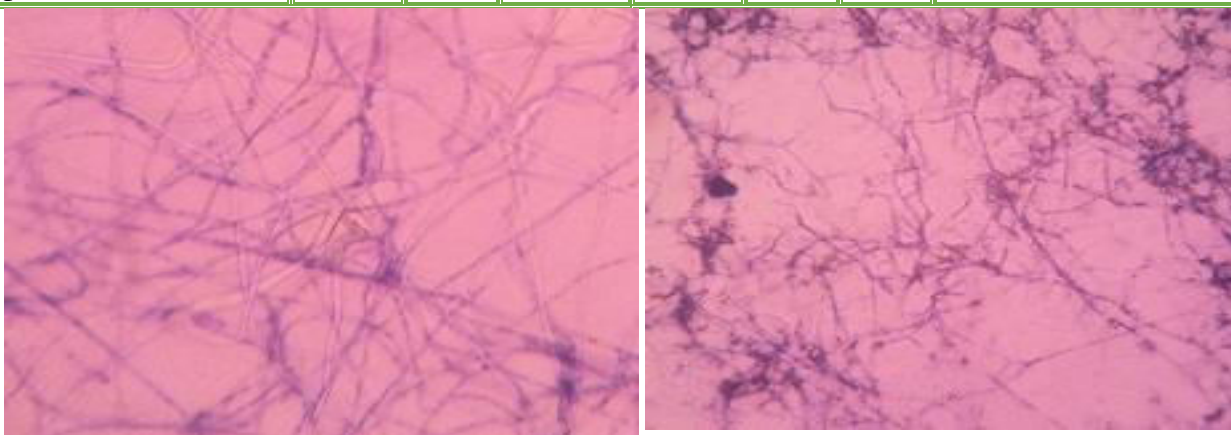
- 9 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	+++	+++	++	++	+++
	Microconidies	++	++	+++	++	++	++	+++
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-



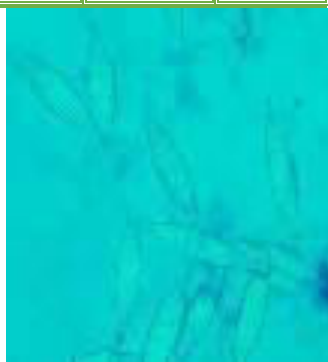
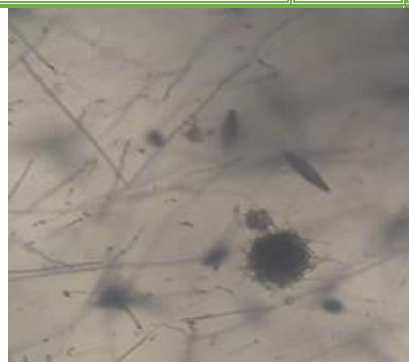
10 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++
	Macroconidies	+	+	+++	+++	++	++	+++
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	+	+	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-



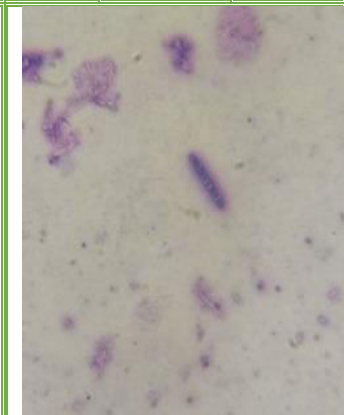
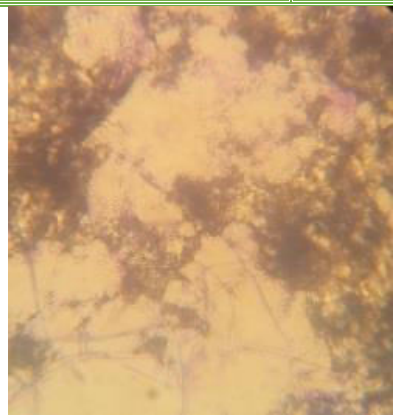
11 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Microconidies	++	++	+++	++	++	++	+++
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-






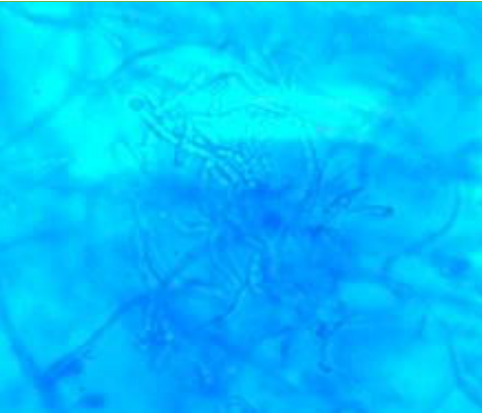


12 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++
	Macroconidies	+	+	+++	++	++	+++	+++
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	+	-	+	-	-	+	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-



13 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++
	Microconidies	++	+++	++	++	++	++	++
	Macroconidies	-	-	+	-	-	-	-
	Vrilles	-	+	-	+	-	-	+
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	+	-	-	-



14 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	++	++	++	++	++	++	++
	Microconidies	+	+	++	++	+	++	++
	Macroconidies	+	-	+++	++	++	++	+++
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	-	-	-	-	-	-	-
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-
								
15 ^{ème} cas	Filaments mycéliens	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Microconidies	+	-	-	-	-	-	-
	Macroconidies	-	-	-	-	-	-	-
	Vrilles	-	-	-	-	-	-	-
	Chlamydozspores	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Excroissance	-	-	-	-	-	-	-
	Structure proliférante	-	-	-	-	-	-	-
								

Dans cette étude nous avons trouvé un taux de 28.43% d'atteintes fongique dont 9.80 % confirmées comme étant des dermatophytes, ce qui est inférieur a la prévalence mondiale qui est estimée entre 20 à 25% (Ilkit M. 2010), et il est faible par rapport à d'autre pays africains comme chez les Tunisiens dont le taux était de 39,2% et presque le même taux est retrouvé en Sénégal (D.Ndiyae et al 2013)

Sur les 87 cas positives trouvé ; 30 cas étaient confirmés porteurs de mycose superficielle, soit une prévalence de 9.88 %. Ailleurs en Afrique, dans une étude tunisienne, Chakeret al. avaient obtenu un résultat supérieur au nôtre avec 53,7 % de mycoses superficielle tandis que dans une autre zone intertropicale une prévalence de 50,6 % a été obtenue au Brésil (Di Chiacchio et al ,2014)En Europe, plus particulièrement en Malte, en France et en Turquie des prévalences respectives de 32 %, 63,1 % et 70 % ont été obtenus (Faure-Cognet O,2016 ; Koksall F,2009 ; Zahra LV,2003)

Différents aspects cliniques ont été retrouvés, les atteintes isolées touchant les cheveux (teignes) étaient de loin les plus importantes avec 16 teignes du cuir chevelu (53 %), suivis des atteintes des ongles avec 8 onychomycoses (27 %) et des épidermophyties avec 20%.

Une étude menée au Sénégal en 2013, montre que les atteintes du cuir chevelu isolées sont de loin les plus représentées avec 66,09 % (D.Ndiyae et al ,2013)comme dans d'autres études menées au Nigeria par Nweze en 2010, et au Tchad par Philpot en 1978

D'après les critères d'identification morphologique on a confirmé la présence de 6 dermatophytes :

- *Microsporum canis* 50%
- *Trichophyton mentagrophytes* 10%
- *Trichophyton rubrum* 26.67%
- *Trichophyton erinacei* 3.33%
- *Trichophyton virrucosum* 3.33%
- *Trichophyton violaceum* 6.66%

Concernant les dermatophytes, les espèces les plus retrouvées varient selon la zone géographique. Nous avons trouvé comme dermatophyte prédominant *M.canis* avec un pourcentage de 50% qui se rapproche de résultat trouvé par D. Arrache avec une prédominance de *M.canis* de 60%(**D. Arrache et al ,2015**) ; le deuxième dermatophyte de notre série et *T.rubrum* avec 26.67% Des résultats similaires ont été rapportés par Diongue K décrivant *T.rubrum* comme deuxième dermatophyte agent de mycoses superficielles dans sa série d'étude (**Diongue K ;2016**) ; contrairement à plusieurs études qui ont montré *T. soudanaise* comme le principale espèce rencontrée en Afrique sub-sahélienne (**Ayanbimpe GM et al 2008 ;Develoux M,2002 ; Ndiaye D,2009 ; Nzenze -Afene S,2009 ; Ameen M;2010; Testa J,1994**), et *T. Violaceum* qui touche surtout les individus originaires de l'Afrique du Nord (**Oudaina W ;2011. Mseddi M, 2005 ; Mebazaa A, 2010 ; Boumhil L ;2010**).

Par ailleurs, d'autres études ont trouvé *T.rubrum*, toujours prédominant, en Tunisie, en Turquie, en Chine, en France, au Brésil, en Malte et en Guyane française(**Di Chiacchio N,2014 ; Faure-Cognet O,2016 ; Koksall F,2009 ; Neji S,2009 ; Simonnet C,2011 ; Wenying C,2016**).

Dans notre étude l'extension de *M.canis* peut être expliquée par la facilité de sa transmission en comparaison avec d'autres espèces zoophiles, ainsi que par le changement des modes de vie de la population avec une cohabitation avec les animaux domestiques

Dans notre étude le milieu Lactrimel de Borelli était le meilleur et favorable pour toutes les souches identifiées et qui a stimulé la fructification et la production des pigments surtout pour le *T.rubrum* et *M.canis* et même pour le *T.erinacei* . En deuxième place le milieu PDA qui est un milieu riche donnant des bons résultats pour toutes les souches et surtout pour le *T.verrucosum* qui a poussé plus rapidement dans ce milieu par rapport aux autres milieux. Le milieu PC et EM ont aussi donné des bons résultats mais d'un degré moins que celle de Lactrimel de Borelli et PDA ; ces résultats sont en accord avec ceux de Arrache, Khebizi et Kallel (**Arrache, D et al 2015 ; Khebizi, S et al 2014 ;A. Kallel et al 2017**).

2. Activité antimicrobienne de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

2.1. Extraction

25 g de matière végétale fraîche été mis en contact avec 100 ml d'éthanol, Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait évaporé du solvant et la masse de la matière végétale initiale ayant servi pour l'extraction. Exprimé en pourcentage, le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{rendement} = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

m0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;

m1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

Le rendement de l'extrait des feuilles de *Lawsonia inermis L*. était de 8.1%. Cette valeur est conforme aux résultats (N. Rahmoune ,2013)

2.2. Screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique des parties aériennes traitées de l'extrait de *Lawsonia inermis L*, par des réactions qualitatives de caractérisation, a permis de mettre en évidence la présence de différents groupes chimiques. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux suivants

Tableau 6 : la composition phytochimique de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

Composés phytochimiques recherchés		<i>Lawsonia inermis L</i>
		Résultats
Alcaloïdes	Réactif de Mayer	+
Tanins	Réaction avec FeCl3	++++
	Tanins galliques	+++
Flavonoïdes	Flavonoïdes libres	+++
Stérols et terpenoïde		+++
Saponosides		+++

Réaction franchement positive : + + + + ; Réaction positive : + + + ; Réaction moyennement positive : + +

Réaction louche : + ; Réaction négative : -

Le tableau ci-dessus (tableau 6) présente les résultats du criblage phytochimique de l'espèce *Lawsonia inermis L.* Nous constatons que les feuilles et les tiges de cette plante contiennent, avec des intensités plus ou moins variables, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins.

Les résultats de screening phytochimique ont confirmé la présence des tanins, des saponosides et des flavonoïdes ainsi que des stérols et terpénoïdes avec des taux importants. En revanche, les composés alcaloïdes ont révélé une teneur très faible dans la plante étudiée. Ses résultats ont été confirmés par (Gagandeep et al., 2010 ; Cuong et al., 2010) qui ont trouvé les mêmes composés bioactifs dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Lawsonia inermis L.*

Les résultats de notre évaluation chimique concordent avec de nombreux travaux publiés ;

En 2012, une analyse phytochimique des constituants polyphénoliques des extraits de feuilles de *Lawsonia inermis L.* a permis l'isolement et l'identification des tanins (Musa et Gasmelseed, 2012). En 2013, un criblage phytochimique des extraits de feuilles de *Lawsonia inermis L.* a montré la présence de glycosides, phytostérols, des stéroïdes, des saponines, des tanins et des flavonoïdes (Raja et al., 2013). Ces résultats ont été affirmés par Trigui et al., (2013) qui a mis en évidence des flavonoïdes, des quinones, des tanins et des terpènes lors de son analyse chimique sur les feuilles de *Lawsonia inermis L.*

2.3. Dosages spectrophotométriques des polyphénols

➤ Dosages des phénoliques totaux

Les phénoliques totaux ont été déterminés à partir d'une courbe de régression obtenue à partir d'une solution d'acide gallique (200 mg/L solution mère) (Annexe 2) ; L'acide gallique a été utilisé comme standard. Pour déterminer la quantité des polyphénols totaux de *Lawsonia inermis L.* L'extrait éthanolique a été dosé. La partie aérienne de la plante est caractérisée par une teneur élevée en polyphénols, les moyennes des valeurs varient de (35.03±1.05 mg EAG/g d'extrait) une étude a montré que l'extrait éthanolique des graines de *Lawsonia inermis L.* révèle une teneur importante (41,65±0,29 mg EAG/ g d'extrait). (Philip Jacob et al. 2010) On a confirmé nos résultats avec ceux trouvés par Tawaha et al. (2007), les teneurs en phénols totaux obtenues dans les extraits méthanoliques sont de l'ordre de 17.3 ± 1.0 mg EAG/ g poids sec. La variabilité des teneurs en polyphénols chez ces espèces végétales est du probablement à la composition phénolique des extraits (Hayouni et al. 2007), les conditions biotiques

(espèce, organe et l'étape physiologique) et abiotiques (facteurs édaphiques), la nature du sol et le type du microclimat et aussi des étages bioclimatiques où poussent ces plantes (**Atmani et al. 2009**).

➤ **Dosage des flavonoïdes totaux**

Pour déterminer la quantité de flavonoïdes totaux dans *Lawsonia inermis L* nous avons utilisé comme standard la quercétine (QE) (Annexe 2). L'étude de la teneur en flavonoïdes chez cette plante a montré que les feuilles présentent les teneurs moyennes les plus élevées en flavonoïdes de l'ordre de 20.5 ± 1.4 mg QE/g MS, Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Arun et al. (2010)** qui ont démontré que l'extrait méthanolique de *L. inermis L* renferme des teneurs en flavonoïdes totaux élevées (25.05 ± 0.18 mg QE /g MS).

➤ **Dosage des tanins**

Pour déterminer la quantité de tanin dans l'extrait de *Lawsonia inermis L* nous avons utilisé comme standard le catéchine (Annexe 2). L'étude de la teneur en tanin au niveau de *L. Inermis L* explique bien la répartition de tanin entre les trois parties de la plante (Feuilles, tiges et racines). En effet, le tanin est présent à teneur plutôt élevée pour les feuilles (17.93 ± 0.67 mg EC/g MS ; exhibant 57.8% de la teneur en tanins totaux), de henné réalisés par (**Musa et Gasmelseed 2012**) montre que les tanins condensés représentent 11% des tanins totaux. Des travaux similaires réalisés montrent qu'il contient 4.5% MS de tanins (**Barroso et al. 2001**).

Les tanins confèrent aux plantes tannifères (Anacardiaceae, Combretaceae, Fabaceae-Mimosoideae etc.) des propriétés curatives contre les maladies gastriques (indigestion, diarrhée, ulcère), les maladies vénériennes, les dermatoses et l'hypertension artérielle (**Sereme et al. 2008**).

2.4. Identification des composés actifs de l'extrait de *Lawsonia inermis L* par analyse HPLC

Dans l'objectif d'identifier tous les composés présents dans les feuilles de *Lawsonia inermis L* récoltées à la région d'Adrar en vue d'une meilleure caractérisation de cette espèce, une analyse HPLC a été réalisée.

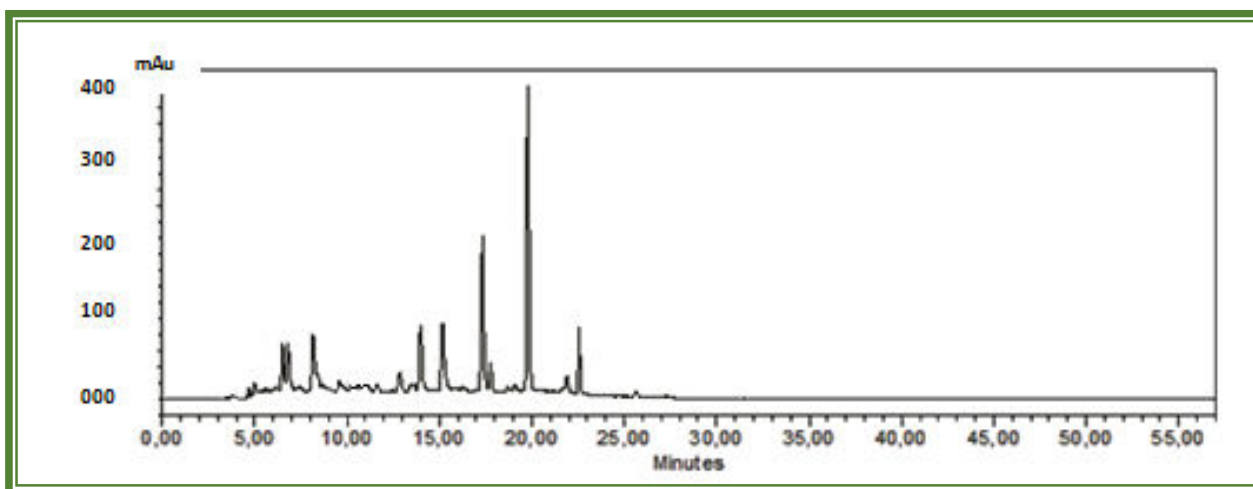


Figure26 : Chromatogramme des composés détectés dans l'extrait de *Lawsonia inermis L*

Tableau7 : Composés détectés dans l'extrait de *L. inermis L* analysé par HPLC

Composés détectés	Temps de rétention
Acide gallique	4.8
Acide caféique	7.1
Acide ellagique	8.2
Lawsonone	15.2
Lutéole	19.70
Diosmétine	21.90
Apigénine	22.6

Dans cette étude nous avons pu identifier 07 composés, les acides phénoliques constitutifs des tanins gallique et ellagique ; trois flavones: la lutéoline, la diosmétine et l'apigénine on a pu par cette analyse identifier la Lawsonone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone) qui est la molécule active de *Lawsonia inermis L* (Shaukat et al., 2008 ; El-Shaer et al., 2007).

En effet, de nombreux travaux ont associé les propriétés pharmacologiques du henné à la Lawsonsone (Rani et al., 2007) et ses dérivés notamment l'isoplumbagin responsable de son activité cytotoxique (Ali et Grever, 1998 ; Endrini et al., 2007).

3. Effets antimicrobiens de l'extrait de *Lawsonia inermis L* :

3.1. Activité antibactérienne de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

Dans un criblage primaire, les souches de références sensibles aux médicaments sont de préférence employées et devraient représenter les souches pathogènes communes des différentes classes.

De ce fait, trois bactéries pathogènes sensibles ont été choisies au cours de cette étude dont deux gram négatives : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 et une a gram positive : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fournie par le laboratoire de microbiologie CHU Oran.

Les résultats du test préliminaire de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion des disques montrent que l'extrait de *Lawsonia inermis L* présente une activité antibactérienne vis-à-vis des trois souches de bactéries. En effet, une forte activité a été signalée vis-à-vis les trois souches *E.coli* et *S.aureus* et *P.aeruginosa* .

Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait éthanolique de *L. inermis L*

Souches bactérienne	2%	10%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>P.aeruginosa</i>	22±0.01	23±0.02	23±0.13	24±0.09	25±0.08	20±0.001	21±0.05
<i>E.coli</i>	8±0.06	8±0.05	22±0.12	19±0.11	19±0.2	28±0.05	28±0.2
<i>S.aureus</i>	8±0.002	8±0.06	9±0.08	20±0.05	20±0.1	22±0.09	22±0.1

(*) Diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques par l'ajout de 10 µL d'extrait

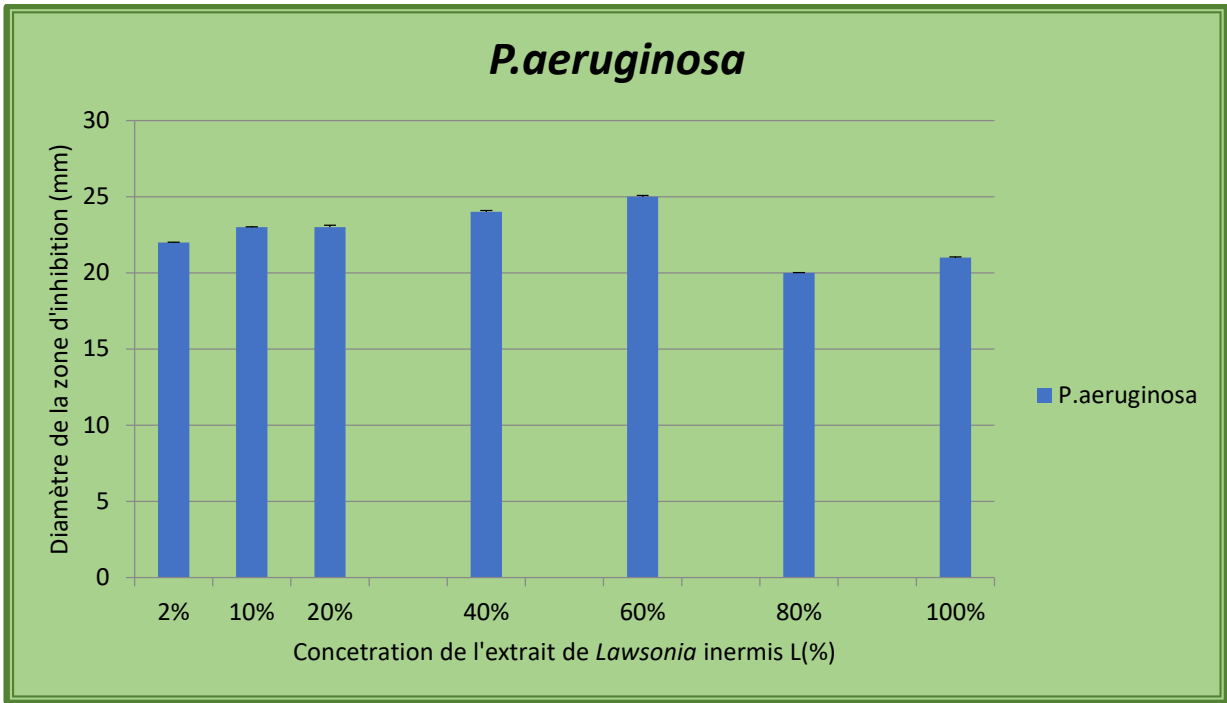


Figure 27 : Diamètre d’inhibition de l’extrait éthanolique de *L. inermis L* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

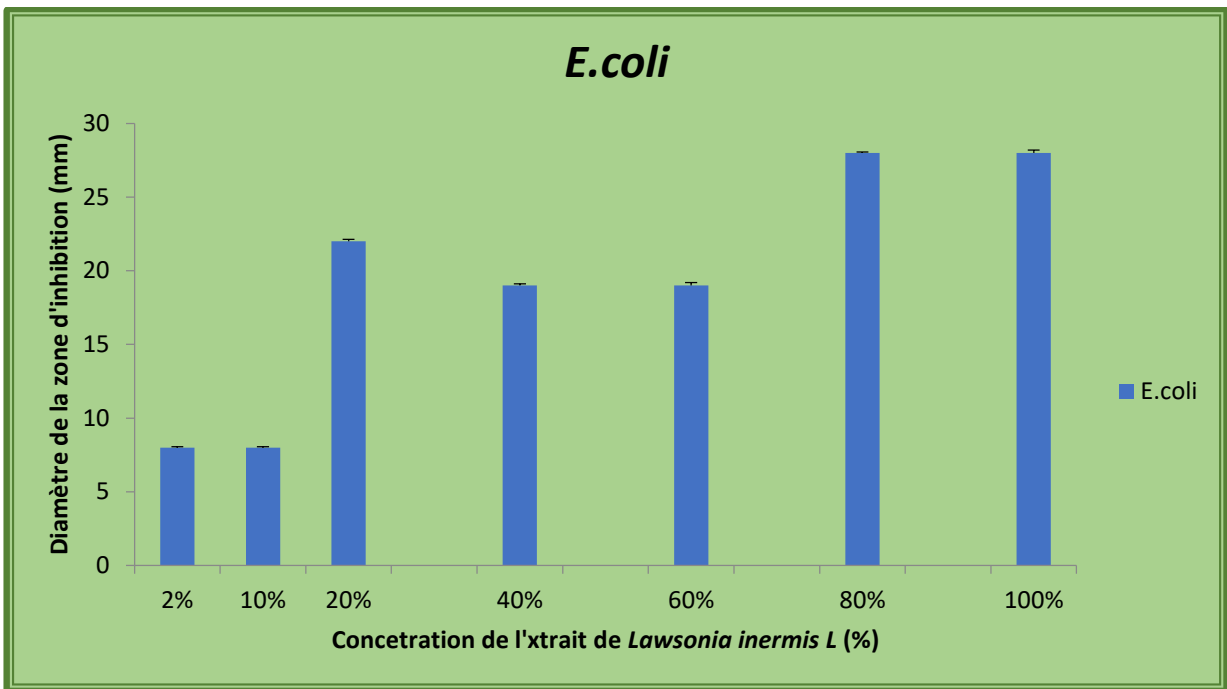


Figure 28 : Diamètre d’inhibition de l’extrait éthanolique de *L. inermis L* vis-à-vis *E.coli*

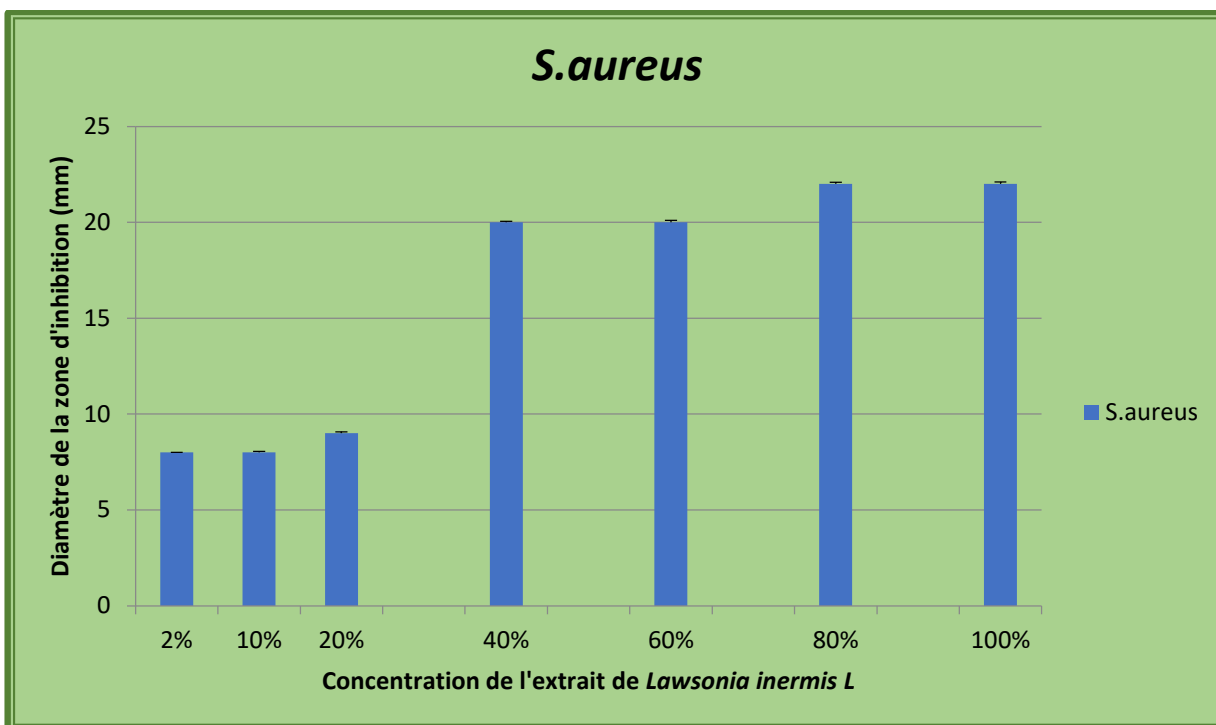


Figure 29 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de *L. inermis L* vis-à-vis *S.aureus*.

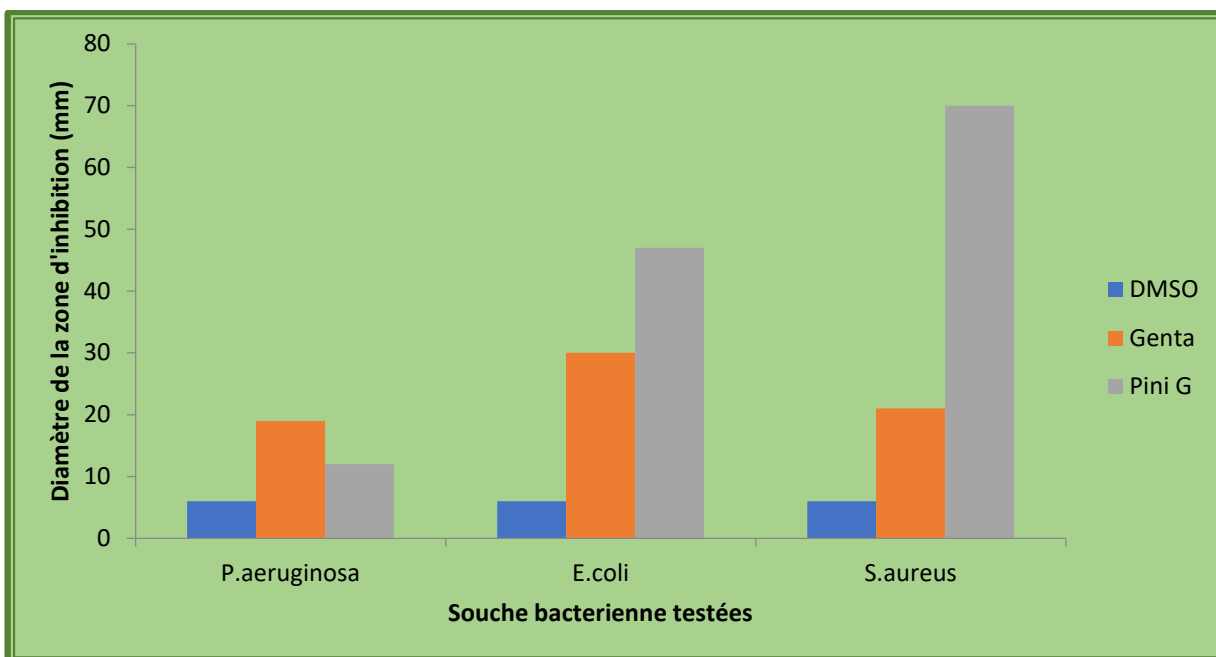


Figure 30 : Diamètre d'inhibition du DMSO et des deux antibiotiques de références vis-à-vis des trois souches bactériennes testées .



Figure 31 : Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis l'extrait éthanolique de *L. inermis*L.



Figure 34 : Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des antibiotiques de références utilisées.

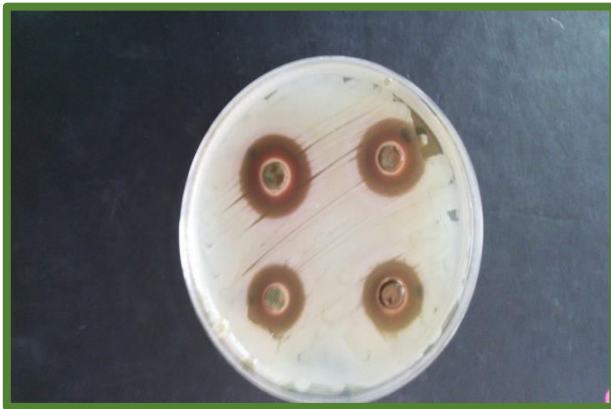


Figure32 : Sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis l'extrait éthanolique de *L. inermis*L.

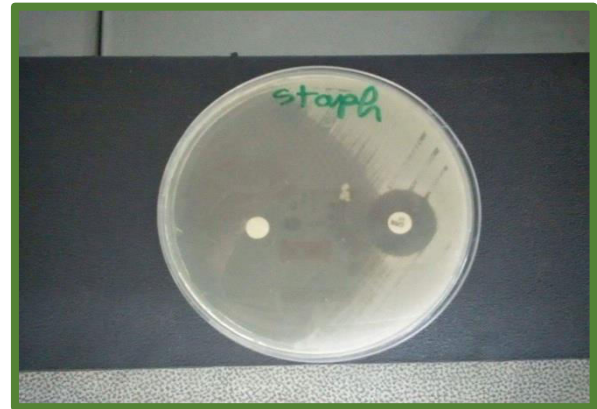


Figure 35 : Sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des antibiotiques de références utilisées.



Figure 33 : Sensibilité de *Escherichia coli* vis-à-vis l'extrait éthanolique de *L. inermis*L



Figure36 : Sensibilité de *Escherichia coli* vis-à-vis les antibiotiques de référence.

Au regard des résultats obtenus tableau et des figures nous avons observé pour :

P. aeruginosa et *E.coli* l'extrait éthanolique a eu une activité considérable avec une inhibition d'un diamètre de 26mm à 28mm pour les deux bactéries respectivement (figure 31 ;33)

Par contre, nous avons constaté une activité antibactérienne impeu plus faible contre la souche *S.aureus* avec un diamètre d'inhibition de 22mm (figure 32).

Cette activité importante est confirmée par les travaux de **EL-kamali et al 2009 ; Akter et al 2010 ; mastanaih et al 2011 et hussain et al 2011.**

La forte activité inhibitrice enregistrée revient probablement du fait de la présence des naphthoquinones (la lawsone) qui est la molécule active dans la plante *Lawsonia inermis L*

Par comparaison des résultats obtenus avec l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis L* et ceux obtenus avec les deux antibiotiques de références utilisés : la Pénicilline G et la Gentamicine, nous remarquons que les zones d'inhibitions sont très écartées dans le cas de *S.aureus* . Ce qui nous amène à dire que l'extrait de *Lawsonia inermis L* a un potentiel d'activité qui est faible comparativement aux deux antibiotiques utilisés par contre l'activité inhibitrice de l'extrait de *Lawsonia inermis L* A montré une moyenne activité vis-à-vis de *E. coli* une forte activité vis-à-vis de *S. aureus* comparativement aux résultats obtenus par les antibiotiques utilisés.

Rahmoun et al., (2010) a confirmé l'activité antibactérienne du Lawsone contre quatre souches de bactéries pathogènes, à savoir *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

3.2. Activité antifongique de l'extrait de *Lawsonia inermis L*

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antifongique de l'extrait de *Lawsonia inermis L* sur la croissance in-vitro de trois dermatophytes, *Trichophyton erinacei*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Microsporum canis* ses dermatophytes ont été choisis à partir des souches isolées et identifiées précédemment. L'analyse des données expérimentales montre une

activité antifongique notable de l'extrait de *Lawsonia inermis L* végétaux comparativement au témoin qui es le Myconazol et au contrôle.

Les résultats obtenus ont révélé une activité antifongique remarquable vis-a-vis les dermatophytes testés.

Tableau 9 : Effet inhibiteur de l'extrait de *Lawsonia inermis L* sur les cultures des dermatophytes testés (exprimé en diamètre d'inhibition mm).

Dermatophytes	Concentrations de l'extrait de <i>L. inermis L</i> (%)						
	2%	10%	20%	40%	60%	80%	100%
<i>M. canis</i>	17±0.32	19±0.29	20±0.35	30±0.2	32±0.22	32±25	32±0.15
<i>T.Mentagrophytes</i>	17±0.62	17±0.56	18±0.79	30±0.35	40±29	50±0.11	60±0.31
<i>T.erinacei</i>	19±0.08	31±0.15	30±0.2	18±0.17	19±0.21	44±0.71	56±0.47

Tableau 10: Effet inhibiteur de Myconazol 2% et du DMSO (contrôle) sur les cultures des dermatophytes testés (exprimé en diamètre d'inhibition mm)

	<i>M.canis</i>	<i>T.Mentagrophytes</i>	<i>T.erinacei</i>
	D(mm)	D (mm)	D (mm)
DMSO	6	6	6
Myconazol	20	18	12

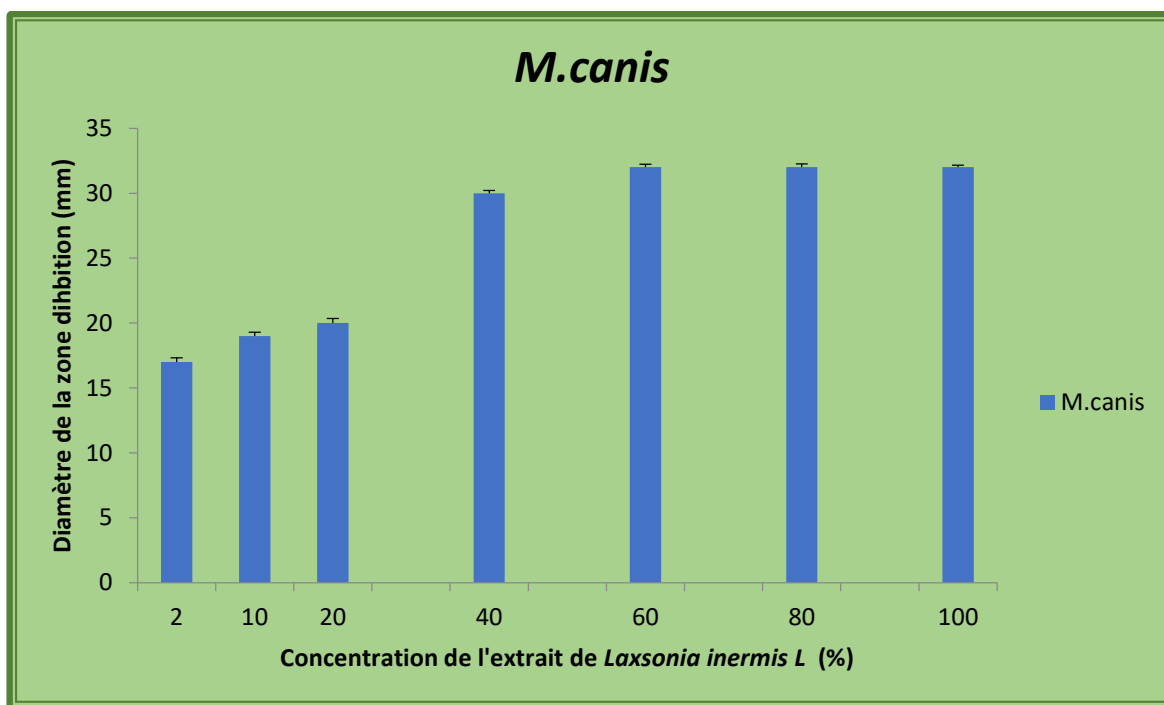


Figure 37 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de *L. inermis* L vis-à-vis *M.canis*.

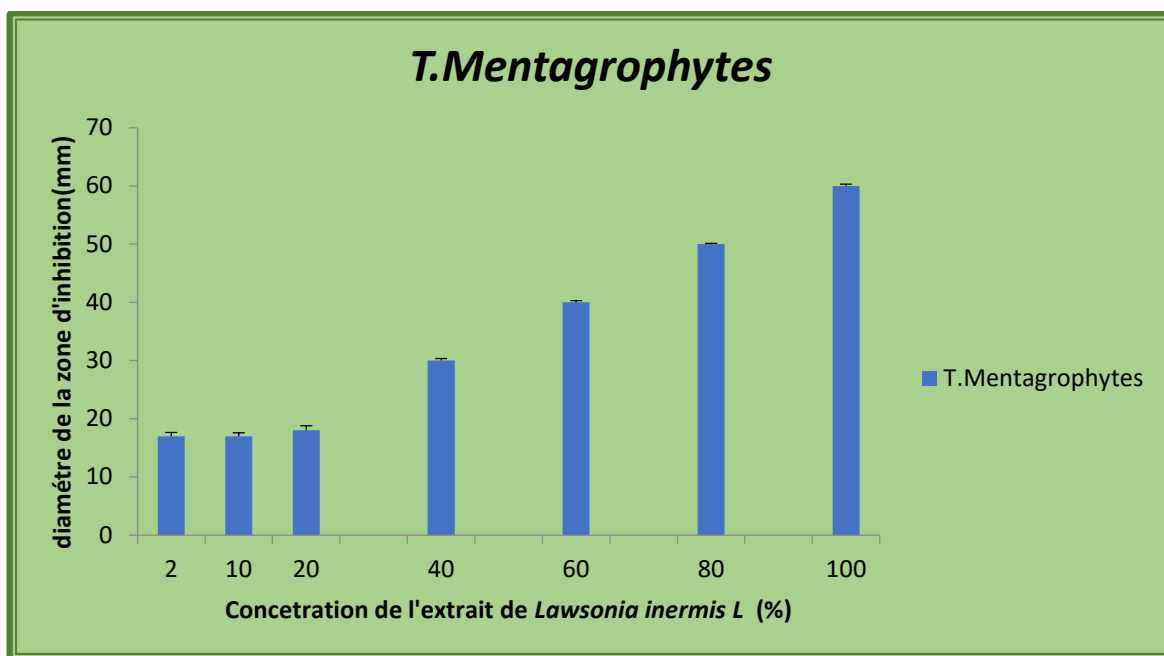


Figure 38 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de *L. inermis* L vis-à-vis *T.mentagrophytes*.

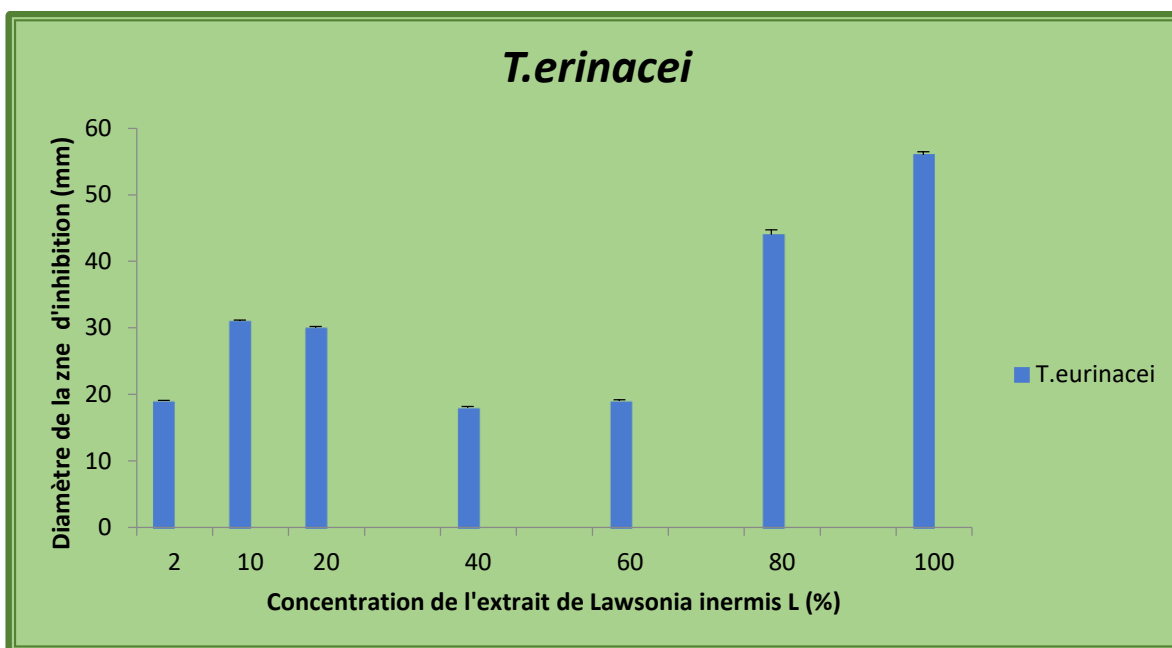


Figure 39 : Diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique de *L. inermis L* vis-à-vis *T.erinacei*.

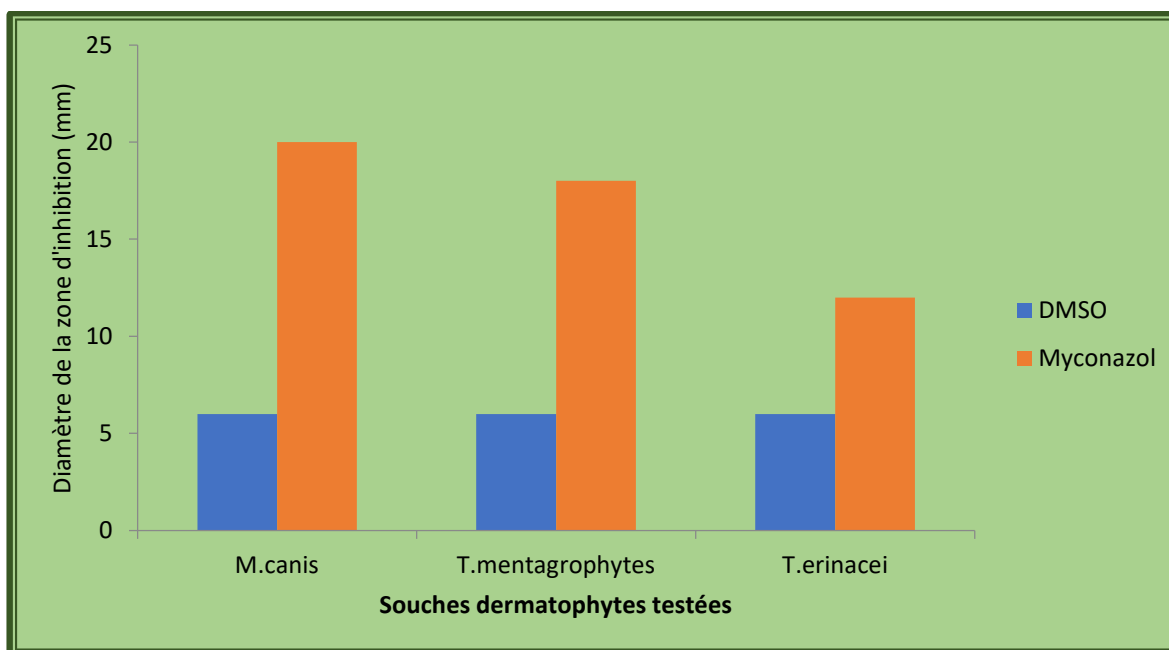


Figure 40 : Diamètre d'inhibition du DMSO et le Myconazol vis-à-vis des trois dermatophytes testées.



Figure 41 : La sensibilité de *T.mentagrophytes* vis-à-vis l'extrait de *Lawsonia inermis L.*



Figure 42 : La sensibilité de *M.canis* vis-à-vis l'extrait de *Lawsonia inermis L.*

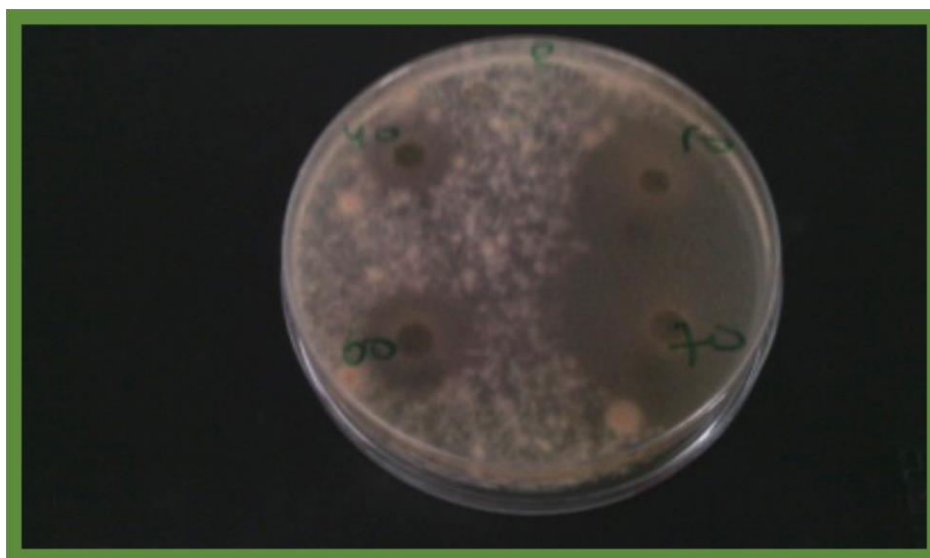


Figure 43 : La sensibilité de *T. erinacei* vis-à-vis l'extrait de *Lawsonia inermis L.*

Actuellement, peu de médicaments efficaces sont disponibles pour le traitement des infections fongiques et plus particulièrement pour les dermatomycoses. Depuis la connaissance des principes actifs, contenus dans des plantes supérieures, et qui sont doués de propriétés pharmacologiques, plusieurs auteurs se sont orientés vers la recherche de plantes à activité antifongique. Dans la présente étude nous avons testé la sensibilité de trois souches fongiques, isolées cliniquement, à l'action de l'extrait d'une plante très connue en médecine traditionnelle algérienne c'est *Lawsonia inermis L.*

Les résultats ont montré que cette plante possède des propriétés antifongiques, ce qui justifie l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle.

Misra et Dixit (1979) ont rapporté que l'extrait éthanolique de *Lawsonia inermis L* possède une activité antifongique. Des analyses phytochimiques de cette plante ont révélé la prédominance de composés phénoliques (coumarines, flavonoïdes, naphthalène et les dérivés de l'acide gallique) (Siddiqui et al., 2003 ; Chaudhay et al.,2010 ;Liou et al.,2013 ;Ostovari et al.,2009). D'autres composés comme les triterpénoïdes, les stéroïdes et les hydrates de carbone aliphatiques ont été également isolés (Siddiqui et Kardar, 2001 ; Siddiqui et al., 2003, Abulyazid et al.,2010 ; Almeida et al.,2012) ont signalé la richesse de cette plante en naphthoquinones dont les principaux composants sont la Juglone, la Lawsonsone et la plumbagone.

Des études portées sur les naphthoquinones naturelles (Binutu et al., 1996; Gafner et al.,1996; Brigham et al., 1999 ; Ashangar et Siri .,2011) et celles obtenues par synthèse (Bogdanov et al., 2001 ; Riffel et al., 2002) ont démontré que ces molécules inhibent la croissance de souches fongiques et bactériennes pathogènes(Sagar K.,20013 ;Mina et al.,2012 ;Rahiman et al 2013). A l'optique de ces travaux, on pourrait attribuer l'activité antifongique de *L. inermis L* principalement aux naphthoquinones.

Les résultats concluants de notre étude nous permettent de rattacher l'activité antidermatophyte de l'extrait de *Lawsonia inermis L* à sa richesse en métabolites mis en évidence lors du criblage phytochimique caractérisant les molécules naturelles responsables de cette activité antifongique.

4. Etude in vivo

Les feuilles de *Lawsonia inermis* L, connues sous le nom de henné, ont longtemps été utilisées dans médecine, le henné est largement cultivé dans les régions tropicales d'Asie, d'Amérique et d'Afrique.

Le henné a été utilisé à de nombreuses fins médicales, comme un agent de refroidissement, astringent, antimicrobien, antihémorragique, hypotenseur, sédatif et utilisé comme colorant et agent de conservation pour les cheveux, la peau et les ongles. Les principaux composants chimiques du henné sont : 2hydroxy-1,4-naphtoquinone (lawones), acide tannique, mucilage et acide gallique (Nayak et al ;2007)

Toutefois ; peu de recherche a discuté des avantages du henné en tant que médicament contre les mycoses superficiels (dermatophytes) dans le monde. Cette partie de travail a pour but d'évaluer l'effet du henné (*Lawsonia Inermis* L) sur un dermatophyte zoophile (T.mentargophytes) chez le rat.

Six rats Wister mâles adultes (200-240 g et âgés de 6 à 8 semaines environ) ont été utilisés dans cette expérimentation. Les animaux ont été anesthésiés par du chloroforme avant infliger des blessures à la peau, après rasage des poiles, ses blessures favorisent la pousse du dermatophyte. La région de la peau de la partie dorsale était désinfectée avec de l'alcool (70%). Le diamètre de la plaie était de 3 centimètres, ce qui généré à l'aide d'un bistouri et ciseaux stériles pour couper soigneusement la peau. Ensuite, la surface de la plaie a été contaminé avec la souche *T.mentargophytes* . Le groupe 1 (2 rats de contrôle) ont été laissés sans traitement Groupe 2 et 3 (chacun avec 2 rats) ont été traités avec une faible dose (10%) et une forte dose (80%) de henné respectivement par application topique quotidiennement pendant 15 jours à partir du jour de la pousse du dermatophyte qui a été analyser, l'analyse microscopique a montré, un grand nombre de micro conidies sous-sphériques à pyriforme, hyphes spirales et chlamydoconidies sphériques confirmé être *T. mentargophytes*. La contraction de la plaie et la guérison de la lésion dermatophytique ont été observé ; Les poiles repoussent après que le microorganisme soit devenu sensible aux traitements.

La repousse des poiles dans les lésions traitées a été remarqué pour la première fois 10 jours après le traitement. Par la suite, la disparition de la lésion et la repousse complète des poiles étaient observé à 30 jours après le traitement.

Au jour 15, la taille moyenne de la lésion fongique a diminué dans le groupe 1 de 10mm (figure 44) et dans le groupe 2 et le groupe 3 à 12 et 25 mm respectivement (Figure 45et 46) Cela peut être attribuée à l'existence de la molécule de 1,4 Naphthoquinones (Lawson) qui es la molécule active dans la plante du henné ces résultats sont en accord avec ceux réalisés par **Kelmanson et al** en 2000 qui a confirmé que la Lawsone a un grand pouvoir antimicrobien ; Lawsone, La [hydroxy] 1,4-naphtoquinone a été considérée par **Ahmadian S**,en **2009** comme étant responsable de l'activité fongicide du henné. Le résultat de **Wagini NH** en **2014** soutient l'utilisation traditionnelle du *L. Inermis L* et confirme que les extraits de henné possèdent des composés bioactifs utilisés dans la médecine traditionnelle. Bien que les résultats de **Fariba B** en **2010** aient démontré que les extraits de henné ont une activité antifongique in vitro contre le champignon responsable du *pityriasis versicolor*, du *pityrosporum foliculités* et des pellicules. Ils ont ajouté que les extraits aqueux sont plus efficaces sur Malassezia que les extraits méthanolique et chloroformiques. Par conséquent, Lawsone, la 2-hydroxy-1,4-naphtoquinone est responsable de l'activité fongicide du henné (**Ahmadian S,2009**).

Cependant, chez les animaux, la teigne généralement a une durée de vie de quelques semaines ou quelques mois est disparaît même sans traitement. Au contraire, à la teigne du cuir chevelu chez les enfants que, s'ils ne sont pas traités, restent actifs chez leurs hôtes jusqu'à ce qu'ils atteignent la puberté (**Mukhtar MD ;2005**).

Al-Ani et al,en **2002** ont rapporté que les animaux domestiques sont sensibles à la teigne. Les résultats ont montré que la guérison rapide et efficace des rats atteints a eu lieu avec l'application quotidienne de la pommade traditionnelle de *Lawsonia inermis L* dans une période de 15 jours et guérison totale dans 25a 30 jours. Cependant, il a été rapporté que quel que soit le sexe, l'extrait de formulation extrait d'huile du l'écorce de la tige de *Polyscias fulva Hiern (Araliaceae)* à 5% était capable de guérir les animaux infectés par la teigne après quatorze jours du traitement alors que la griséofulvine produisait le même effet après treize jours (**Keilah L et al ;2013**).

Le test in vivo nous a montré que le henné possède une activité antifongique contre tous la souche *T.mentagrophtes* identifié et a l'efficacité de guérir tous les animaux testés dans un délai raisonnable. Par conséquent, cette expérimentation a révélé que l'extrait de henné a des effets remarquables comme agent antidermatophyte vis-à-vis la souche zoophile *T.mentagrophytes*.

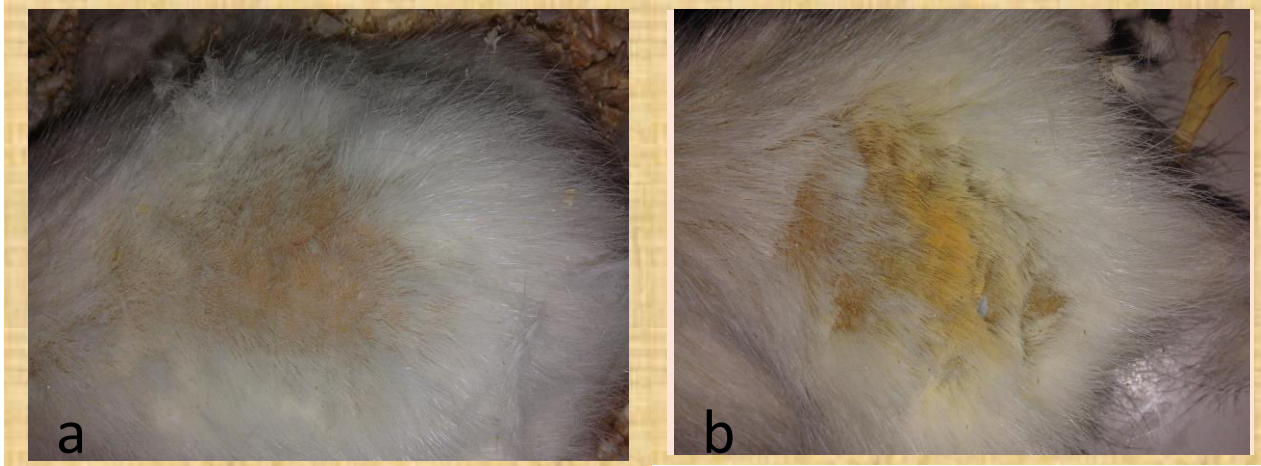


Figure 44 : rat témoin (T) ; a : après 5 jours du début de l'expérimentation ; b : après 15 jours du début de l'expérimentation.

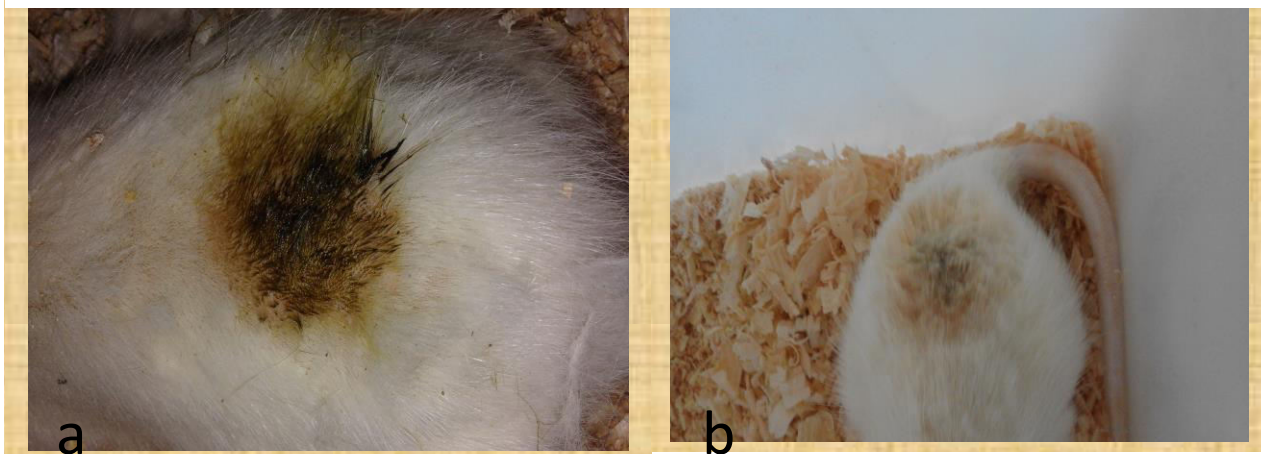


Figure 45 : un rat avec une atteinte dermatophyte traité avec l'extrait de *Lawsonia inermis L* a 10% après 5 jours du début de l'expérimentation ; b : après 15 jours du début de l'expérimentation.

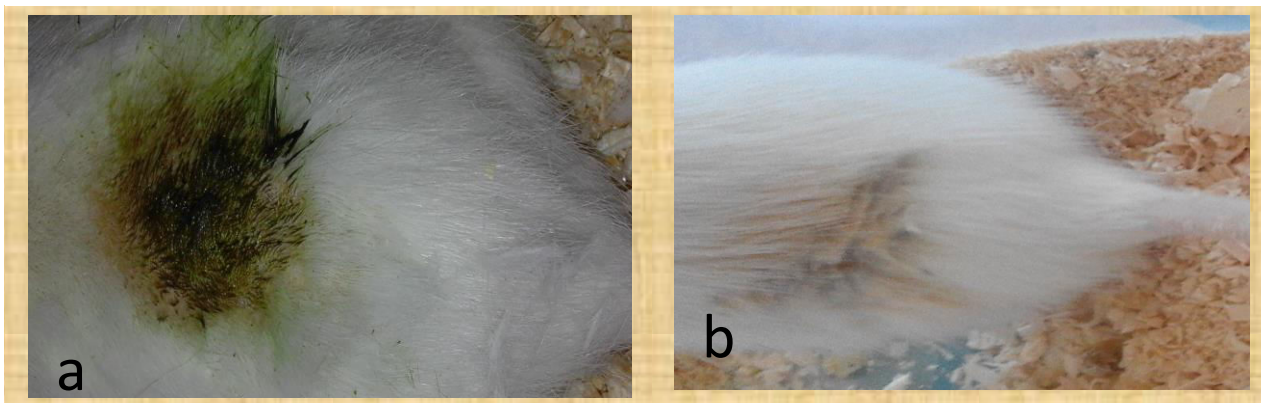


Figure 46 : rat avec une atteinte dermatophyte traité par la pommade à base d'extrait de *Lawsonia inermis L* a 80% après 5 jours du début de l'expérimentation ; b : après 15 jours du début de l'expérimentation.



Conclusion

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) de quelques produits de synthèses dérivées naphthoquinoniques et de l'extrait bruts de la plante *Lawsonia inermis* (le Henné)

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps au screening phytochimique et l'évaluation des composants chimique de la plante *Lawsonia inermis* L

Les résultats des tests antifongiques ont révélé une activité particulièrement intéressante de l'extrait de *Lawsonia inermis* L.

Les résultats des tests microbiologiques montrent que les différentes concentrations de l'extrait de *Lawsonia inermis* L présentent une grande activité inhibitrice sur les dermatophytes (*M.Canis* ; *T.Mentagrophytes T.eurinacei*) et la souche qui présente la plus grande sensibilité est *T.mentagrophytes* précisément dans les concentrations les plus élevées.

La méthode expérimentale employée a consisté à isoler la souche clinique, puis à réaliser une évaluation qualitative (méthode de disques) de l'activité antimicrobienne de l'extrait testée sur des isolats cliniques et sur des souches de références.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons résumer les conclusions issues de cette étude comme suit :

1. La première étape de « screening » pour l'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de l'extrait de la plante étudiées a montré un effet antimicrobien pour toutes les concentrations testées en mettant en évidence des zones d'inhibition avec des diamètres dépassant 20 mm, montrant ainsi une sensibilité non négligeable des bactéries et dermatophytes étudiées.
2. L'extrait de *Lawsonia inermis* L, riche en phénols, s'est avérée très efficace, ces résultats demeurent prometteurs, et pourraient servir de base pour des études cliniques ultérieures afin de confirmer l'efficacité antimicrobienne de ces produits naturels et de proposer leur utilisation en tant qu'agents antimicrobiens alternatifs effectifs dans les parodontites agressives, palliant aux effets secondaires des antibiotiques et antifongiques et aux résistances bactériennes accrues.

3. Les résultats de l'activité antifongique ont montré que cette plante possède des propriétés antifongiques, ce qui justifie l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle.

4. Peu de recherche ont prouvés les avantages du henné en tant que médicament traditionnel contre les mycose superficiels (dermatophytes) dans le monde . Ce travail a pour but d'évaluer l'effet du henné (*Lawsonia inermis* L) sur un dermatophyte zoophile (*T.mentagrophytes*) chez le rat ; le résultat de cette expérimentation a révélé que l'extrait des feuilles de henné a un effet remarquable comme agent antidermatophyte.

Les résultats concluants de notre étude nous permettent de rattacher l'activité antidermatophyte de l'extrait de *lawsonia inermis* L à sa richesse en métabolites mis en évidence lors du criblage phytochimique caractérisant les molécules naturelles responsables de cette activité antifongique.



***Références
Bibliographiques***

Références bibliographiques

- ❖ A Ostojic, E Domergue, J-M Amici. Analyse structurale et biomécanique de la peau. Chirurgie dermatologique, Elsevier Masson SAS. 2017.
 - ❖ A. Alanio. La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF en mycologie clinique : avantages réels, écueils potentiels. Journal des Anti-infectieux (2013) 15, 71—82 <http://dx.doi.org/10.1016/j.antinf.2013.04.001>.
 - ❖ A. Sérémé, J Milogo-Rasolodimby, S Guinko, M. Nacro, propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso ; Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine ; 2008.
 - ❖ Abdelrahman T, Letscher-Bru V, Waller J, Noacco G, Candoli E. Dermatomycosis: comparison of the performance of calcofluor and potassium hydroxide 30% for the direct examination of skin scrapings and nails. J Mycol Méd 2006;16:87-91
 - ❖ Abid, R., Idy, S., El Mabrouki, J., & Abdallaoui, M. S. Profil épidémiologique des teignes du cuir chevelu au CHU Ibn Rochd de Casablanca. Journal de Mycologie Médicale, (2017). 27(3), e38. doi:10.1016/j.mycmed.2017.04.088 .
 - ❖ Abulyazid, I. Elsayed M.E. Mahdy b, Ragaa M. Ahmed., (2010). Biochemical study for the effect of henna (*Lawsonia inermis*) on *Escherichia coli*. Arabian Journal of Chemistry (2010), doi:10.1016/j.arabjc.2010.10.005 (In press).
 - ❖ Adetutu, A., Owoade, O.A., Oyekunle, O.S., 2013. Comparative effects of some medicinal plants on sodium arsenite-induced clastogenicity. International Journal of Pharma and Bio Sciences 4, B777 – B783.
 - ❖ Afzal, M., Al-Oriquat, G., Al-Hassan, J.M., Muhammad, N., 1984. Isolation of 1,2 dihydroxy-4-glucosyloxynaphthalene from *Lawsonia inermis*. Heterocycles 22, 813 – 816.
 - ❖ Ahmadian S and Fakhree MA. Henna (*Lawsonia inermis*) might be used to prevent mycotic infection. Med Hypotheses 2009; (2)73:629-30
 - ❖ Akoègninou A., Vander Burg W.J. and Vander Maesen L.J.G. (2006). Flore Analytique du Bénin, Backhuys Publishers, Leiden. Netherlands, p 1034
 - ❖ Akter A, Neela FA, Khan MSI, Islam MS, Alam MF, Screening of ethanol, petroleum ether and chloroform extracts of medicinal plants, *Lawsonia inermis* L and *Mimosa pudica* L. for antibacterial activity. Indian journal of pharmaceutical sciences 2010 ; vol-72 :388-392
 - ❖ Al-Ani F. K, Younes F. A., Al-Rawashdeh O. F (2002). Ringworm Infection in Cattle and Horses in Jordan . Journal Acta Veterinaria Brno 71: 55–60.
 - ❖ Alanio A, Garcia-Hermoso D, Mercier-Delarue S, et al. Molecular identification of Mucorales in human tissues: contribution of PCR electrospray-ionization mass spectrometry. Clin Microbiol Infect 2015;21(6):594.e1-5.
 - ❖ Alanio, A., Gomart, C., & Bretagne, S. (2014). Le milieu au malt en primoculture améliore et accélère l'identification des moisissures. Journal de Mycologie Médicale, 24(1), 78–79. doi:10.1016/j.mycmed.2014.01.059 .
 - ❖ Al-Damegh, M.A., 2014. Evaluation of the antioxidant activity effect of Henna (*Lawsonia inermis* Linn.) leaves and or vitamin C in rats. Life Science Journal 11, 234 – 241.
-

Références bibliographiques

- ❖ Ali M. and Grever M.R. (1998). A cytotoxic naphthoquinone from *Lawsonia inermis*. *Fitoterapia*. 69(2):181-183.
 - ❖ Ali Awadh N.A., Jülich W.D., Kusnick C. et Lindequist U., 2001. Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*; 74 : 173–179.
 - ❖ Ali BH AK Bashir and MOM Tanira (1995) Anti-inflammatory antipyretic and analgesic effects of *Lawsonia inermis* L (Henna) in rats. *Pharmacology*, 51: 356-363. DOI: 10.1159/000139347.
 - ❖ Almeida, P.J., Borrego, L., Pulido-Melian, E., Gonzalez-Diaz, O., 2012. Quantification of p-phenylenediamine and 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone in henna tattoos. *Contact Dermatitis* 66, 33– 37.
 - ❖ Al-Rubiay KK, Jaber NN, Al-Mhaawe BH, Alrubaiy LK. Antimicrobial Efficacy of Henna Extracts. *Oman Medical Journal* 2008; 23(4): 253-6.
 - ❖ Al-Tufail, M., Krahn, P., Hassan, H., Mahier, T., Al-Sedairy, S.T., Haq, A., 1999. Rapid identification of phenylenediamine isomers in henna hair dye products by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Toxicol. Environ. Chem.* 71,241–246.
 - ❖ Aly, R., 1994. Ecology and epidemiology of dermatophyte infections. *Journal of the American Academy of Dermatology* 31, S21-S25.
 - ❖ Ameen M. Epidemiology of superficial fungal infections. *Clin Dermatol* 2010; 28:197—201
 - ❖ Anand, K.K., Singh, B., Chand, D., Chandan, B.K., 1992. An evaluation of *Lawsonia alba* extract as hepatoprotective agent. *Planta Med.* 58, 22–25.
 - ❖ Anderson C.M., Hallberg A., hogberg T. (1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.* 28,65-180
 - ❖ Angora, K. E., Ira-Bonouman, A., Vanga-Bosson, A. H., Konaté, A., Kassi, F. K., Tuo, K., ... Offianan, A. T. (2018). Caractéristiques cliniques et mycologiques des onychomycoses à *Candida* à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. *Journal de Mycologie Médicale*, 28(1), 167–172. doi:10.1016/j.mycmed.2017.10.003 .
 - ❖ Anis Ben Hsouna, & Trigui, Mohamed & Culioli, Gérald & Blache, Yves & Jaoua, Samir. (2011). Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: Isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chemistry*. 125. 193-200. 10.1016/j.foodchem.2010.08.060.
 - ❖ Anita, M.B., Kaushal, R., 1950. Essential oil from the flowers of camphire or henna plant. *Current Science* 19, 284 (-284).
 - ❖ Anofel^a, Botterel, F., Dardé, M.-L., Debourgogne, A., Delhaes, L., Houzé, S.F.Morio C.Kauffmann-LacroixRoques, C. (2017). Dermatophytoses. *Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide Des Analyses et Des Pratiques Diagnostiques*, 409–416.doi:10.1016/b978-2-294-75363-3.00050-1
 - ❖ Anofel^b, Botterel, F., Dardé, M.-L., Debourgogne, A., Delhaes, L., Houzé, S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix ; Roques, C. (2017). Mycologie : techniques élémentaires. *Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide Des Analyses et Des Pratiques Diagnostiques*, 53–87.doi:10.1016/b978-2-294-75363-3.00003-3
-

Références bibliographiques

- ❖ Anofel^c, Botterel, F., Dardé, M.-L., Debourgogne, A., Delhaes, L., Houzé, S., ... Roques, C. (2017). Diagnostic par nature du prélèvement. *Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide Des Analyses et Des Pratiques Diagnostiques*, 95–155. doi:10.1016/b978-2-294-75363-3.00005-7
 - ❖ Anofel^d, Botterel, F., Dardé, M.-L., Debourgogne, A., Delhaes, L., S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix Roques, C. (2017). Applications en mycologie. *Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide Des Analyses et Des Pratiques Diagnostiques*, 221–225. doi:10.1016/b978-2-294-75363-3.00018-5
 - ❖ Anofel^e, Françoise Botterel M.- L.Dardé A.Debourgogne L.Delhaes S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix C.Roques. Techniques ELISA et apparentées. *Parasitologie et Mycologie Médicales*. Elsevier Masson SAS 2017 175_181 <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75363-3.00009-4>.
 - ❖ Anofel^f, Françoise Botterel M.- L.Dardé A.Debourgogne L.Delhaes S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix C.Roques. Techniques de PCR en point final et en temps réel . *Parasitologie et Mycologie Médicales*. Elsevier Masson SAS 2017 **205_207** <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75363-3.00014-8>
 - ❖ Anofel^g, Françoise ,Botterel M.- L.Dardé A.Debourgogne L.Delhaes S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix C.Roques. .Techniques de séquençage *Parasitologie et Mycologie Médicales*. Elsevier Masson SAS 2017.
 - ❖ Anofel^h, Botterel, F., Dardé, M.-L., Debourgogne, A., Delhaes, L., Houzé, S.Houzé F.Morio C.Kauffmann-Lacroix ; Roques, C. (2017). Introduction. *Parasitologie et Mycologie Médicales - Guide Des Analyses et Des Pratiques Diagnostiques*, 3–6. doi:10.1016/b978-2-294-75363-3.00062-8

 - ❖ Anonyme . *Maladies fongiques.dermatologie :l’essentiel* 613-633 2018 , Elsevier Masson SAS <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-75019-9.00064-4>.
 - ❖ Arrache, D., Sebai, K., Talzazet, L., Zait, H., Madani, K., & Hamrioui, B. (2015). Profil épidémiologique des teignes du cuir chevelu (2009–2014). *Journal de Mycologie Médicale*, 25(3), 243–244. doi:10.1016/j.mycmed.2015.06.064.
 - ❖ Arun P, Purushotham KG, Johnsy JJ, Vasantha K (2010). In vitro Antibacterial activity and Flavonoid contents of Lawsonia inermis (Henna). *International Journal of PharmTech Research* 2: 1178-1181
 - ❖ Ashnagar, A., Shiri, A., 2011. Isolation and characterization of 2-hydroxy-1,4 naphthoquinone (lawsone) from the powdered leaves of henna plant marketed in Ahwaz city of Iran. *International Journal of Chem Tech Research* 3, 1941–1944.
 - ❖ Atawodi SE, Ameh DA, Ibrahim S, Andrew, JN, Nzelibe, HC, Onyike E, Anigo KM, Abu EA, James DB, Njoku GC, Sallau AB (2002). Indigenous knowledge system for treatment of trypanosomiasis in Kaduna state of Nigeria. *J. Ethnopharmacol.* 79: 279 – 282.
 - ❖ Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité anti-oxydante et antimicrobienne d’extraits de Cuminum cyminum L. *Lebanese Science Journal* , 11 (1), pp. 69-81
-

Références bibliographiques

- ❖ Atmani D, Chaher N, Berboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, Debbache N (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* 112: 303-309
 - ❖ Ayanbimpe GM. Tinea capitis among primary school children in some parts of central Nigeria. *Mycoses* 2008;51:336—44.
 - ❖ B.Soutou S.Aractingi .Dermatoses de la grossesse. *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles (6^e édition)* 998-1004 2017, Elsevier Masson SAS
 - ❖ **Ba K, Tine E, Destain J, Cisse N, Thonart P (2010)** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol Agro Soc Environ*, Vol 14, pp 131-139
 - ❖ Babu PD, Subhasree RS. Antimicrobial Activities of Lawsonia inermis - A Review. *Acad J Plant Sci* 2009; 2 (4): 231-2.
 - ❖ Bahroun T, Gressier B, Trotin F, Brunet C, Dine T, Luyckx M, Vasseur J, Cazin M, Casin JC, Pinkas M (1996) Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organ and pharmaceutical preparations. *Arzneimittelforschung*, pp 1086-1089
 - ❖ Bakkali, A .T., Jaziri, M., Ishimaru, K., Tanaka, N., Shimomura, K., Yoshimatsu, K.,Homes, J., Vanhaelen, M., 1997. Tannin production in hairy root cultures of Lawsonia inermis. *Journal of Plant Physiology* 151, 505 – 508.
 - ❖ Baran R, Hay R, Haneke E, Tosti A. *Onychomycosis. The current approach to diagnosis and therapy.* Oxon UK: Taylor & Francis; 2006.
 - ❖ Baran R, Pierrard GE. *Onychomycoses.* Paris: Masson; 2004.
 - ❖ Barroso F, Martmhz TF, Paz T, Parra A, Alarcon FJ (2001) Tannin content of grazing plants of southern Spanish arid lands. *J Arid Environ* 49: 301-314.
 - ❖ Bellakhdar, J., 1997. *The traditional Moroccan pharmacopoeia: ancient Arabic medicine and popular knowledge.* Ibis press, Paris.
 - ❖ Benmezdad A, Moulahem T, Benyazzar M, et al. Les teignes du cuir chevelu au CHU de Constantine (Algérie). *J Mycol Med* 2012;22:354-6.
 - ❖ Benzie IFF, Wachtel-Galor S. *Herbal medicine: biomolecular and clinical aspects.* 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2011
 - ❖ Berton H. (2001) *Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles.* Editions De Borée (Clermont-Ferrand), France : 288
 - ❖ Bhardwaj, D.K., Murari, R., Seshadri, T.R., Singh, R., 1976. Lacoumarin from Lawsonia inermis. *Phytochemistry* 15, 1789 (-1789).
 - ❖ Bhatta AK, Keyal U, Wang XL. Photodynamic therapy for onychomycosis: a systematic review. *Photodiagnosis Photo-dyn Ther.* 2016;15:228–235.
 - ❖ Binutu, O.A., Adesogan, K.E., Okogun, J.I., (1996). Antibacterial and antifungal compounds from Kigelia pinnata. *Planta Med.* 62, 352– 353.
 - ❖ Bogdanov, P.V., Ortiz, C.S., Eraso, A.J., Albesa, I., (2001). Relationship between chemical structure and antibacterial activity in methylated isoxazolyl naphthoquinones. *Med. Chem. Res.* 10, 577–586
-

Références bibliographiques

- ❖ Bontems O, Hauser PM, Monod M. Evaluation of a polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism assay for dermatophyte and non dermatophyte identification in onychomycosis. *Br J Dermatol* 2009 ; 161 : 791-6.
 - ❖ Borgers M. et coll., *Curr Drug Targets*. 2005, 6, 849.
 - ❖ Bossokpi Igor Passi Lysette (2002) . Etude des activités biologiques de fagara zanthoxyloides Lam (Rutaceae). thèse Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Université de Bamako
 - ❖ Botineau., (2010) *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs* édition Lavoisier 501pp
 - ❖ Botosoa, J-A, Purification et Caractérisation chimique et biologique des principes actifs des extraits de feuilles de *Pechia madagascariensis* (Apocynaceae), in *Biochimie Fondamentale et Appliquée*. 2010, Université d'Antananarivo.
 - ❖ Bouchet PH., Guignard J. L., Villard J., (1999) *Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Abrégés de Pharmacie*, Paris : Masson.
 - ❖ Bouchet PH., Guignard J.-L. Pouchus Y.-F., Villard J., (2005) *Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée. Abrégés de Pharmacie*, Paris : Masson.
 - ❖ Boulemtafes-Boukadoum, A., & Benzaoui, A. (2011). Energy and exergy analysis of solar drying process of Mint. *Energy Procedia*, 6, 583–591. doi:10.1016/j.egypro.2011.05.067 .
 - ❖ Boumhil L, Hjira N, Naoui H, Zerrou A, Bhirich N, Sedra ti O, et al . Les teignes du cuir chevelu à l'hôpital militaire d'ins-truc tion Moh a mm ed V (Mar oc). *J Mycol Med* 2010;20: 97 — 100
 - ❖ Bourgeois N, Lachaud L, Dereure J, Rispaïl P. Diagnostic des der-matophytoses : épidémiologie, clinique, prélèvements, examen direct et cultures. Fascicule Bioformation, Montpellier, 13-15 octobre 2010, 91 p. + XV pl + CD Rom
 - ❖ Brigham, L.A., Michaels, P.J., Flores, H.E., (1999). Cell-Specific production and antimicrobial activity of naphthoquinones in roots of *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Physiol*. 119, 417–428
 - ❖ Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier. 915-211,338.
 - ❖ Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3e édition, Edition Lavoisier TEC et DOC
 - ❖ Bryan, Cyril, P.G., Smith, E., 1974. *Ancient Egyptian medicine: the Papyrus Ebers*. Chicago Ares Publishers.
 - ❖ C.Lenormand ,D.Lipsker *Médicaments topiques. . Dermatologie et infections sexuellement transmissibles (6^e édition)* 1103-1115 2017, Elsevier Masson SAS <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00143-4>.
 - ❖ Cartwright-Jones, C., 20 06. *Developing Guidelines on Henna: A Geographical Approach (Masters' dissertation)*. Masters of Liberal Studies. Kent State University, Kent, Ohio, USA. Available online at: < www.hennapage.com/henna/encyclopedia/mastersessay /index.html > .
-

Références bibliographiques

- ❖ Chabasse D, Bouchara JP, De Gentile L, et al. Les dermatophytes. Cahier de Formation, Biologie Médi-cale 2004 Vol. 31, Bioforma.
 - ❖ Chabasse D, Contet-Audonneau N, Bouchara J, Basile A. Moisissures, dermatophytes, levures. Du prélèvement au diagnostic. Marcy l'Etoile. 69280 Marcy l'Etoile: 2008.
 - ❖ Chabasse D, Contet-Audonneau N, Dunand J. Dermatoses superficielles tropicales (à l'exception des teignes). In: Chabasse D, Develoux M, editors. Mycoses d'importation. Paris: Guide Médi/Bio, Elsevier; 2003. p. 17-29.
 - ❖ Chabasse D, Contet-Audonneau N. Dermatophyte et dermatophytoses. EMC (Elsevier Masson SAS Paris), Maladies infectieuses, 8-614-A-10, 2011.
 - ❖ Chabasse D, Contet-Audonneau N. Examen direct et place de l'histologie en mycologie. Rev Fr Lab 2003;357:49—54.
 - ❖ Chabasse D, Contet-Audonneau N. Examen direct et place de l'histologie en mycologie. Rev Fr Lab 2003;357:49-54
 - ❖ Chabasse D, Pihet M. Les dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. Revue Francophone des Laboratoires 2008 ; vol 38-406 : 19-38.
 - ❖ Chabasse D. Épidémiologie et étiologie des onychomycoses. In : Baran R, Pierrard GE, editors. Onycho-mycoses. Paris : Masson. 2004, p. 1-35.
 - ❖ Chabasse D. Les principes et les pièges de l'identification des dermatophytes ; Résumés des communications en mycologie présentées aux 2 e journées franco-maghrébines de parasitologie-mycologie (Tunis, 28—31 octobre 2015) ; Journal de Mycologie Médicale (2016) 26 , 66—73 <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.02.001>.
 - ❖ Chabasse Dominique, Nelly Contet-Audonneau . Les teignes du cuir chevelu. Revue francophone des laboratoires - juillet-août 2013 - n°454 / 2013 – elsevier masson sas.
 - ❖ Chakrabarty, T., Poddar, G., Pyrek, J ., 1982. Iso la tion o f dihydroxylupene and dihydroxylupane from the bark of Lawsonia inermis. *Phytochemistry* 21, 1814–1816.
 - ❖ Chakrabarty, T., Podder, G., Deshmukh, S.K., 1977. Triterpenoids and other constituents of Lawsonia inermis . *Indian Journal of Chemistry B* 15, 96 – 97.
 - ❖ Chang, H., Suzuka, S.E., 1982. Lawsonsone (2-OH-1, 4-naphthoquinone) derived from the henna plant increases the oxygen affinity of sickle cell blood. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107, 602–608.
 - ❖ Chaudhary, G., Goyal, S., Poonia, P., 2010. Lawsonia inermis Linnaeus: a phytopharmacological review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 2, 91 – 98.
 - ❖ Chauhan MG and Pillai APG. (2007). Microscopic profile of powdered drug used in Indian system of medicine, Jamnagar, Gujarat. 84-85
 - ❖ Chung King-Thom A ,Tit Yee Wong, Cheng-I Wei, Yao-Wen Huang & Yuan Lin (2010) Tannins and Human Health ; *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* Pages 421-464 | Published online: 03 Jun 2010 <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>
 - ❖ Clarke, D.T., Jones, G.R., Martin, M.M., 1986. The anti-sickling drug lawsonsone (2-OH-1,4-naphthoquinone) protects sickled cells against membrane damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 139, 780–786.
 - ❖ Contet-Audonneau N. Les teignes du cuir chevelu. *J Pediatric Pueric* 2002;15:440—7
-

Références bibliographiques

- ❖ Contet-Audonneau, N., & Leyer, C. (2010). Émergence d'un dermatophyte transmis par le cochon d'Inde et proche de *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* : *T. mentagrophytes* var. *porcellae*. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(4), 321–325. doi:10.1016/j.mycmed.2010.08.001.
 - ❖ Couic-Marinier, F. (2016). Plaies et conseils en nutrition, aromathérapie et homéopathie. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(554), 30–33. doi:10.1016/j.actpha.2016.01.006
 - ❖ Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, 12 : 564-582.
 - ❖ Cuong, N.X., Nhiem, N.X., Thao, N.P., Nam, N.H., Dat, N.T., Anh, H.L.T., Huong, L.M., Kiem, P.V., Minh, C.V., Won, J.-H., Chung, W.-Y., Kim, Y.H., 2010. Inhibitors of osteoclastogenesis from *Lawsonia inermis* leaves. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20, 4782 – 4784 .
 - ❖ D. Chabasse ; Les dermatophytes : d'où viennent-ils ? Comment sont-ils devenus des parasites ?; *Journal de Mycologie Médicale* ;2008 , 18, 27—35 doi:10.1016/j.mycmed.2007.12.002
 - ❖ D.Ndiaye, M.Ndiaye, A.Badiane , M.C.Seck, B.Fay, J.L.Ndiaye, R.Tine, O.Ndir, Dermatophytosis diagnosed at the laboratory of parasitology and mycology of Le Dantec Hospital in Dakar between 2007 and 2011 *Journal de Mycologie Médicale* (2013) 23, 219—224 doi.org/10.1016/j.mycmed.2013.07.054
 - ❖ DB, Warshaw EM. Cost-effectiveness of diagnostic tests for toenail onychomycosis: a repeated-measure, single-blinded, cross-sectional evaluation of 7 diagnosis tests. *J Am Acad Dermatol* 2006 ; 55 : 620-67.
 - ❖ De Hoog GS, Nishikaku AS, Fernandez-Zeppenfeldt G, et al. Molecular analysis and pathogenicity of the *Cladophialophora carrionii* complex, with the description of a novel species. *Stud Mycol* 2007;58:219–34.
 - ❖ De Nonneville, A., & Gonçalves, A. (2018). Homéopathie et cancer, quelles sont les preuves ? *Bulletin Du Cancer*, 105(4), 426–430. doi:10.1016/j.bulcan.2017.12.005
 - ❖ Develoux M, Dieng MT, Ndiaye M, Ndir O, Ndiaye B. Les teignes de l'adulte au Sénégal — Étude prospective et rétrospective. *J Mycol Med* 2002;12:25—9.
 - ❖ Di Chiacchio N, Luiz Madeira C, Rosa Humaire C, Simon Silva C, Gomes Fernandes LH, Dos Reis AL. Superficial mycoses at the Hospital do Servidor Público Municipal de São Paulo between 2005 and 2011. *Ann Bras Dermatol* 2014;89:67—71
 - ❖ Diallo A. M., (2005). Etude des plantes médicinales de Niafunke (region tombouctou), phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* forsk. (Capparidacee). thèse de doctorat d'état. Université de Bamako
 - ❖ Diongue K, et al. Champignons agents de mycoses superficielles isolés à Dakar (Sénégal) : une étude rétrospective de 2011 à 2015. *Journal De Mycologie Médicale* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.08.003>
 - ❖ Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N., (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm.*, 142: 61-78.
-

Références bibliographiques

- ❖ Dominique Chabasse Réponses à Interprétez et commentez cet exam en direct ; Journal de Mycologie Médicale (2009) 19, 153
 - ❖ Dominique Chabasse ;Revue francophone des laboratoires - mai 2011 - n°432
 - ❖ E'DITORIAL, Les onychomycoses, quoi de neuf en 2014 ?, Journal de Mycologie Médicale (2014) 24, 245— 246.
 - ❖ El Babili F, Valentin A, Chatelain C., (2013). *Lawsonia Inermis*: Its Anatomy and
 - ❖ Elandaloussi, K., Chiguer, B., Lyaagoubi, M., & Aoufi, S. (2017). Les épidermophyties : profil épidémiologique actuel à travers les cas diagnostiqués à l'hôpital Ibn Sina de Rabat (2007–2015). *Journal de Mycologie Médicale*, 27(3), e36–e37. doi:10.1016/j.mycmed.2017.04.084.
 - ❖ Elandaloussi, K., Raiss, C., Amin, G. E., Moustachi, A., Lyaagoubi, M., & Aoufi, S. (2016). Les teignes du cuir chevelu : profil épidémiologique actuel à travers les cas diagnostiqués à l'hôpital Ibn Sina de Rabat (1997–2015). *Journal de Mycologie Médicale*, 26(2), e30.doi:10.1016/j.mycmed.2016.04.066.
 - ❖ Elewski BE. Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and manage-Onychomycosis: pathogenesis, diagnosis and manage-ment. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:415-29
 - ❖ El-Kamali HH and El-karim EMA.evaluation of antibacterial activity of somme medicinal plants used in sudanese traditional medicine for treatment of wound infections. *Academic journal of plant sciences* 2009 ;2(4) :246-251
 - ❖ Elqaj M., Ahami A., Belghyti D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
 - ❖ El-Shaer S.N., Badr M.J., Aboul-Ela M. et Gohar M., 2007. Determination of lawsone in henna powders by high performance thin layer. chromatography. *J. Sep. Sci*; 30: 3311 – 3315.
 - ❖ Endrini S., Rahmat A., Ismail P and Taufiq-Yap YH (2007). Comparing of the cytotoxicity properties and mechanism of *Lawsonia inermis* and *Strobilanthes crispus* extract against several cancer cell lines. *J Med Sci*. 7(7):1098-1102
 - ❖ Endrini S, Rahmat A, Ismail P, Hin TYY. Anticarcinogenic properties and Antioxidant Activity of Henna (*Lawsonia inermis*). *J Med Sci* 2002; 2(4): 194-7.
 - ❖ Epifano F., Genovese S., Menghini L., Curini M. (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites, Review. *Phytochemistry* 68, 939- 953.
 - ❖ Epsinel-ingroff.A., 2007. Standardized Disk Diffusion Method for yeasts. *Clinical Microbiology Newsletter* 29: 97-100
 - ❖ F. LESLÉ, L. GOLDRAJCH, G. CREMER, J. DUPOUY-CAMET, A. PAUGAM. Actualités des dermatophytoses.jornal de MYCOLOGIE Dermatophytoses ; feuillets deBiologie VOL LIV N° 314 - SEPTEMBRE 2013.
 - ❖ Fariba B, Hassan R and Homeyra E. In vitro study of the effects of henna extracts (*Lawsonia inermis*) on *Malassezia* species. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2010; 3(3):125-128
 - ❖ Faure-Cognet O, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Leccia MT. Superficial fungal infections in a French Teaching Hospital inGrenoble Area:
-

Références bibliographiques

retrospective study on 5470 samples from 2001 to 2011. *Mycopathologia* 2016;18(1-2):59—66.

- ❖ Faway, E., Cambier, L., Lambert De Rouvroit, C., Mignon, B., & Poumay, Y. (2017). Analyse de la réponse des kératinocytes face à l'infection par le dermatophyte anthropophile *Trichophyton rubrum* sur un modèle d'épiderme humain reconstruit. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(3), e12. doi:10.1016/j.mycmed.2017.04.034.
 - ❖ Ferrari J. (2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elle : *Gnidia involucrata* Steud. A. Rich. Thèse de doctorat de l'Université de Lausanne.
 - ❖ Feuilhade M. Traitement des onychomycoses. *Journal De Mycologie Médicale* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.009>.
 - ❖ Feuilhade de Chauvin M. New diagnostic techniques. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005; 19(Suppl.1) : 20-4.
 - ❖ Fidel PL, Huffnagle GB. *Fungal immunology: from an organ perspective*. Springer Science & Business Media; 2006
 - ❖ Fletcher, R., 1992. New York City, Moorish Spain.
 - ❖ Fotakis, C., Tsigrimani, D., Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Strati, I. F., Makris, C., ... Zoumpoulakis, P. (2016). Metabolic and antioxidant profiles of herbal infusions and decoctions. *Food Chemistry*, 211, 963971. doi:10.1016/j.foodchem.2016.05.124
 - ❖ Francisco Franco-Álvarez de Luna. Use of MALDI-TOF Mass Spectrometry in Fungal Diagnosis. *The Use of Mass Spectrometry Technology (MALDI-TOF) in Clinical Microbiology*. 2018 Elsevier Inc DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814451-0.00014-9>.
 - ❖ Fullas, F., The status of African medicinal plants and their future. *Afr. Renais* (2007)4 (3/ 4), pp102–112.
 - ❖ G.E.Piérard C.Piérard-Franchimont .mycoses. *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles (6^e édition)* 134-146 2017, Elsevier Masson SAS <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00007-6>.
 - ❖ Gafner, S., Wolfender, J.L., Nianga, M., Evans, H.S., Hostettmann, K., (1996). Antifungal and antibacterial naphthoquinones from *Newbouldia laevis* roots. *Phytochemistry* 42, 1315–1320
 - ❖ Gagandeep C., Sandeep G., Priyanka P., (2010). *Lawsonia inermis* Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* 2010; 2(2): 91-98. ISSN 0975-248.
 - ❖ Gallo, F.R., Multari, G., Giambenedetti, M., Federici, E., 2008. Chemical fingerprinting of *Lawsonia inermis* L. using HPLC, HPTLC and densitometry. *Phytochem. Anal.* 19, 550–559.
 - ❖ Garcia-Romero M.T. et coll., *J Invest Dermatol.* 2015, 135, 655.
 - ❖ George S, Brat P, Alter P, Amiot MJ (2005) Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *J Agric Food Chem* 53:1370-1373.
-

Références bibliographiques

- ❖ Gharbi, H., Boudaya, S., Neji, S., Miladi, S., Trabelsi, H., Makni, F., ... Turki, H. (2017). Les teignes du cuir chevelu chez l'adulte : à propos de 166 cas. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 144(12), S291–S292. doi:10.1016/j.annder.2017.09.484.
 - ❖ Ghestem A., Segun E., Paris M., Orecchioni A-M. (2001). *Le préparateur en pharmacie : Botanique-Pharmacognosie Phytothérapie - Homéopathie*. Lavoisier Tec et Doc, Paris, 273p.
 - ❖ Gholami-Shabani M, Shams-Ghahfarokhi M, Shidfar M, RazzaghiAbyaneh M. Medical mycology in Iran: past, present and future. In: Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Rai M, editors. *Medical mycology: current trends and future prospects*. CRC Press (Taylor & Francis Group); 2015. p. 356—417.
 - ❖ Ghosh A, Das BK, Roy A, Mandal B, Chandra G. Antibacterial activity of some medicinal plant extracts. *J Nat Med* 2008; 62(2): 259-62.
 - ❖ Gonzalez A. G., Estevez-Braun A. (1997). Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14: 465-475.
 - ❖ Gräser Y, Czaika V, Ohst T. Diagnostic PCR of dermatophytes-an overview. *J Dtsch Dermatol Ges* 2012;10:721—6.
 - ❖ Gräser Y, Scott J, Summerbell R. The new species concept in dermatophytes – a polyphasic approach. *Mycopathologia* 2008 ; 166 (5-6) : 239-56.
 - ❖ Gromadzki S, Ramani R, Chaturvedi V. Evaluation of new medium for identification of dermatophytes and primary dimorphic pathogens. *J Clin Microbiol* 2003;41:467–8.
 - ❖ Groupe de travail de la Société française de dermatologie. Recommandations pour la pratique clinique. *Onychomycoses : modalités de diagnostic et de prise en charge*. *Ann Dermatol Venereol* 2007 ; 134 : 5 Sup-plément 7-16.
 - ❖ Guillot, J., Crosaz, O., Botterel, F., & Chermette, R. (2015). Rôle des animaux vertébrés dans la transmission des champignons dermatophytes pathogènes pour l'homme. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2015(477), 53–60. doi:10.1016/s1773-035x(15)30316-6.
 - ❖ Gupta AK, Korotzer A. Topical treatment of onychomycosis and clinically meaningful outcomes. *J Drugs Dermatol*. 2016;15(10):1260–1266.
 - ❖ Gupta, S., Ali, M., Alam, M.S., Niwa, M., Sakai, T., 1994. Isolation and characterization of a dihydroxysterol from *Lawsonia inermis*. *Natural Product Letters* 4, 195 – 201 .
 - ❖ Gupta, S., Ali, M., Alam, M.S.A., 1993. Naphthoquinone from *Lawsonia inermis* stem bark. *Phytochemistry* 33, 723 – 724.
 - ❖ Gupta, S., Ali, Mohd., Sarwar Alam, M., Niwa, M., Sakai, T., 1992. 24 β -Ethylcholest-4-en-3 β -ol from the roots of *Lawsonia inermis*. *Phytochemistry* 31, 2558 – 2560 .
 - ❖ Gurib-Fakim A. (2006) *Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow*. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1-93.
 - ❖ Guru Prasad, B.R., 2011. Assessment of ethno-medicinal plants from Chamundi Hill, Mysore. *Journal of Medicinal Plants Research* 5, 5200 – 5202.
-

Références bibliographiques

- ❖ Hadi M., (2004). La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère peroxydant ou thérapeutiques. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I.155p.
 - ❖ Halim I, El- Kadioui F, Soussi Abdallaoui M. Les onychomycoses à Casablanca (Maroc). *J Mycol Med* 2013;23:9—14.
 - ❖ Handa, G., Kapil, A., Sharma, S., Singh, J., 1997. Lawnermis acid: A new anticomplementary triterpenoid from *Lawsonia inermis* seeds. *Indian Journal of Chemistry B* 36, 252 – 256.
 - ❖ Hanna, R., Maciej, J.N., Lapinsky, L., Adamowicz, L., 1998. Molecular structure and infrared spectra of 2-hydroxyl, 4-naphthaquinone: Experimental matrix isolation and theoretical. *Spectrochim. Acta* 54, 1091–1103.
 - ❖ Harborne J.B. (1998). *Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis*. Third Edition. ISBN: 0-412-57260-5 (HB) and 0-412-57270-2 (PB)
 - ❖ Hartmann T. (2007). From waste products to ecochemicals : Fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. 68 :2831-2846.
 - ❖ Hay RJ, Baran R. Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol* 2011;65:1219—27.
 - ❖ Hayouni EA, Abedrabba M, Bouix M, Hamdi M (2007) The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry* 105: 1126-1134
 - ❖ He G, Li J, Ding J, Tan Z. Identification of common species of dermatophytes by PCR-RFLP. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005 ; 25 (4) : 458-60.
 - ❖ He G, Li J, Ding J, Tan Z. Identification of common species of dermatophytes by PCR-RFLP. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005 ; 25 (4) : 458-60.
 - ❖ Hema, R., Kumaravel, S., Gomathi, S., Sivasubramaniam, C., 2010. Gas chromatography– Mass Spectroscopic analysis of *Lawsonia inermis* leaves. *Life Science Journal* 7, 48 – 50.
 - ❖ Hennebelle T. (2006). *Investigation chimique et chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiacées productrices d'antioxydants. Marrubium peregrinum, Ballota larendana, Ballota Pseudodictamnus (Lamiacées) et Lippia alba (Verbenacées)*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Chimie Organique et Macromoléculaire. Université des Sciences et Technologique de Lille, Lille 1. Ecole Doctorale Sciences de la Matière du rayonnement et de l'Environnement. France.
 - ❖ Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F., (2004), Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie* N° 1: 3-6.
 - ❖ Hodek, P., Trefil, P., & Stiborová, M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139(1), 1–21. doi:10.1016/s0009-2797(01)00285-x
 - ❖ Hongcharu W, Dwyer P, Gonzales S, Anderson R. Confirmation onychomycosis by in vivo confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol* 2000;42:214-6.
-

- ❖ Hoog GS, Dukik K, Monod M, et al. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia* 2017;182:5-31.
 - ❖ Hosein HKM, Zinab D. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Henna Leaves Extracts (*Lawsonia inermis*). *World J Dairy & Food Sci* 2007; 2(1): 38-41.
 - ❖ Hsouna, A .B., Trigui, M., Culioli, G., Blache, Y., Jaoua, S., 2011. Antioxidant constituents from *Lawsonia inermis* leaves: isolation, structure elucidation and antioxidative capacity. *Food Chemistry* 125, 193 – 200 .<https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00124-0>.
 - ❖ Hussain T, Arshad M, khan S , Sattar H and Qureshi MS in vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity pak .*J. Bot* 2011 ;43(1) :531-8
 - ❖ Ibn Qayyim al-Jawziyah, Muhammad ibn Abi Bakr, Penelope Johnstone, 1998. *Medicine of the Prophet*. Islamic Texts Society, Cambridge.
 - ❖ Idowu, O.A., Soniran, O.T., Ajana, O., Aworinde, D.O., 2010. Ethanobotanical survey of antimalarial plants used in Ogun State Southwest Nigeria. *Afr. J. Pharmacy Pharmacol.* 4, 55–60.
 - ❖ Ignat I., Volf I., Popa I.V. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry* 126: 1821-1835.
 - ❖ Igor Passi L.B. (2002). Etude des activités biologique de *Fagara zanthoxyloïdes*, lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, p 133.
 - ❖ Ilkit M. Favus of the scalp: an overview and update. *Mycopathologia* 2010;170:143–54. doi:10.1007/s11046-010-9312-7.
 - ❖ Imam, H., Uddin Mahbub, N., Khan, F., Kabir Hana, H., Rahman Sarker, M., 2013. Alpha amylase enzyme inhibitory and anti-inflammatory effect of *Lawsonia inermis*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 16, 1796 – 1800.
 - ❖ Iqbal , H. , She r, Z. , K ha n, Z. U. , 2011. Medicinal pl ants froms al t range Pind Dadan Khan ,district Jhelum, Punjab, Pakistan . *Journal of Medicinal Plants Research* 5 , 2157–2168.
 - ❖ J.-P. Gangneux , P. Comacle , S. Chevrier ,C. Ruaux , F. Jegou , F. Robert-Gangneux. Apport de la PCR et du séquençage au diagnostic de sinusite fongique : à propos de 42 cas diagnostiques au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU de Rennes . *j.mycmed*.2014.06.038 <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.06.038>.
 - ❖ Jacob, P.P., Saral, A .M., 2013. Two harmala alkaloids from *Lawsonia inermis* seeds. *Chemistry of Natural Compounds* 49, 780 (-780) .
 - ❖ Jallad KN and Jallad CE (2008) Lead exposure from the use of *Lawsonia inermis* (Henna) in temporary paint-on-tattooing and hair dying *Science of the Total Environment* 397:244-250. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.02.055.
 - ❖ Kadiatou, malle (2011) Durabilité de la culture du henné dans la région de Koulikoro, au Mali : cas des communes rurales du Méguétan et de Banamba (<http://archimede.bibl.ulaval.ca/archimede/fichiers/28428/28428.pdf>) ; Mémoire de maîtrise en agroforesterie pour l’obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.) ; Faculté des études supérieures et postdoctorales de l’Université Laval - voir page 24 sur 119
-

Références bibliographiques

- ❖ 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*, 27(3), 345-350. doi:10.1016/j.mycmed.2017.02.009.
 - ❖ Kallel, A., Hdider, A., Fakhfakh, N., Belhadj-Salah, N., Bada, N., Belhadj, S., & Kallel, K. (2016). Les teignes du cuir chevelu en Tunisie : problème toujours d'actualité. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(2), e34. doi:10.1016/j.mycmed.2016.04.075.
 - ❖ Kalus, A. (2017). Fungal Skin Infections. *The Travel and Tropical Medicine Manual*, 488–500. doi:10.1016/b978-0-323-37506-1.00038-6.
 - ❖ Kamaraj, C., Elango, G., Zahir, A.A., Rajakumar, G., Velayutham, K., 2012. Lousicidal activity of synthesized silver nanoparticles using Lawsonia inermis leaf aqueous extract against *Pediculus humanus capitis* and *Bovicola ovis*. *Parasitol. Res.* 111,2023–2033.
 - ❖ Kansole M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* Vahl et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
 - ❖ Karatas, H., & Ertekin, S. (2010). Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (12), pp. 1238-1240
 - ❖ Karumi, Y., Onyeyili, P.A. & Ogugbuaja, V.O., (2004). Identification of active principals of *M. balsamina* (Balsam apple) leaf extract. *J Med Sci* 4, 179-182.
 - ❖ Kawada Norifumi †, Dan Bach Kristensen ; Kinji Asahina, Kazuki Nakatani, Yukiko Minamiyama, Shuichi Seki and Katsutoshi Yoshizato. (2001) Characterization of a Stellate Cell Activation-associated Protein (STAP) with Peroxidase Activity Found in Rat Hepatic Stellate Cells. *Journal of biological chemistry*.
 - ❖ Kawamura, T., Hisata, Y., Okuda, K., Noro, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., 2000. Quality evaluation of plant dye henna with glycosides. *Natural Medicines* 54, 86 – 89
 - ❖ Keilah L. Guy Sedar Singor N., Donatien G., R M, P. and Jules-Roger K. In vitro and in vivo antidermatophytic activity of the dichloromethane-methanol (1:1 v/v) extract from the stem bark of *Polyscias fulva* Hiern (Araliaceae). *Complementary and Alternative Medicine* 2013, 19: 13:95.
 - ❖ Kelmanson JE, Jäger AK, van Staden J. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000 ;69(3):241-6.
 - ❖ Khan, Z.S., Nasreen, S., 2010. Phytochemical analysis, antifungal activity and mode of action of methanol extracts from plants against pathogens. *J. Agric. Technol.* 6, 793–805.
 - ❖ Khebizi, S., & Mansouri, R. (2014). Dermatophytose extensive et inflammatoire infantile due à *Trichophyton rubrum*. *Journal de Mycologie Médicale*, 24(3), e131-e136. doi:10.1016/j.mycmed.2014.02.004.
-

Références bibliographiques

- ❖ Khosravi AR, Shokri H, Vahedi G. Factors in etiology and predisposition of adult tinea capitis and review of published literature. *Mycopathologia* 2016;181:371—8.
 - ❖ Kidanemariam, T.K, Tesema, T.K, Asressu, K.H, Boru, A .D., 2013. Chemical investigation of *Lawsonia inermis* L. leaves from Afar region, Ethiopia. *Oriental Journal of Chemistry* 29, 129 – 134 .
 - ❖ Kiki-Barro, P. C. M., Konaté, A., Kassi, F. K., Angora, E. K., Bosson-Vanga, H., Bedia-Tanoh, A. V., ... Menan, E. I. H. (2017). Profil mycologique des onychomycoses des mains chez les vendeurs de « Garba » à Abidjan (Côte d’Ivoire). *Journal de Mycologie Médicale*, 27(4), 543–548.doi:10.1016/j.mycmed.2017.08.004.
 - ❖ Koffi, N., Beugré, K., Guédé, N., Zirihi, D. & Laurent, A., (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d’Ivoire). *Sciences & Nature* 6 (1), 1-15.
 - ❖ Koksall F, Er E, Samasti M. Causative agents of superficial mycoses in Istanbul, Turkey: retrospective study. *Mycopathologia* 2009;168:117—23
 - ❖ Konkon N G., Simaga D and Adjoungova A. (2006) Etude phytochimique de *mitragyna inermis* (willd.) o. ktze (rubiaceae), plante a feuille antidiabetique», *Pharm Méd Trad Afr. Vol. 14* , pp 73-80.
 - ❖ Kouotou EA, et al. Profil mycologique des onychomycoses vues en consultation de dermatologie à Yaoundé, Cameroun. *Journal De Mycologie Médicale* (2017), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.002>.
 - ❖ Ksouri, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4), 244–249.doi:10.1016/j.plaphy.2007.02.001
 - ❖ Kumar, M., Kumar, S., Kaur, S., 2014. Identification of polyphenols in leaf extracts of *Lawsonia inermis* L. with antioxidant, antigenotoxic and antiproliferative potential. *International Journal of Green Pharmacy* 8, 23 – 36 .
 - ❖ Kumari, P., Joshi, G.C., Tewari, L.M., 2011. Diversity and status of ethno-medicinal plants of Almora district in Uttarakhand, India. *Int. J. Biodivers. Conserv.* 3,298–326
 - ❖ Laccourreye, O., Werner, A., Laccourreye, L., & Bonfils, P. (2017). La phytothérapie en pratique clinique en otorhinolaryngologie : apport, limites et risques. *Annales Françaises d’Oto-Rhino-Laryngologie et de Pathologie Cervico-Faciale*, 134(2), 90–95.doi:10.1016/j.aforl.2016.08.009
 - ❖ Lekouch, N., Sedki, A., Nejmeddine, A., Gamon, S., 2001. Lead and traditional Moroccan pharmacopoein. *Sci. Total Environ.* 280, 29–34.
 - ❖ Leong, L. ., & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76(1), 69–75.doi:10.1016/s0308-8146(01)00251-5
 - ❖ Li HC, Bouchara JP, Hsu MML, Barton R, Su S,Chang TC. Identification of dermatophytes by sequence analysis of the rRNA gene internal transcribed spacer regions. *J Med Microbiol* 2008 ; 57: 592-600.
-

Références bibliographiques

- ❖ Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y (2007) Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry* 102: 771-776
 - ❖ Ling LT, Radhakrishnan AK, Subramaniam T, Cheng HM, Palanisamy UD. Assessment of antioxidant capacity and cytotoxicity of selected Malaysian plants. *Molecules* 2010; 15(4): 2139-51.
 - ❖ Liou, J.R., El-Shazly, M., Du, Y.C., Tseng, C.N., Hwang, T.L., Chuang, Y.L., Hsu, Y.M., Hsieh, P.W., Wu, C.C., Chen, S.L., Hou, M.F., Chang, F.R., Wu, Y.C., 2013. 1,5-Diphenylpent-3-en-1-ynes and methyl naphthalene carboxylates from *Lawsonia inermis* and their anti-inflammatory activity. *Phytochemistry* 88, 67–73.
 - ❖ Lock O., Cabello I., Doroteo V. H., (2006). analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry*. 20 : 6-11
 - ❖ Lucienne A.D. (2010). Les plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition Berti. 20-6
 - ❖ Lugasi A., Hovari J., Sagi K.V., Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica Szegediensis*. 1-4.125-119
 - ❖ M. Iken *, Z. Lemkhente , H. Naoui , L. Boumhil , B. Lmimouni. Les onychomycoses à moisissures et à pseudodermatophytes à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat (Maroc) ; *Journal De Mycologie Médicale* (2016) .<http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.04.071>
 - ❖ M. Tétou et D. Scimeca, Rajeunir nos tissus avec les bourgeons, Guy Trédaniel, 2011.
 - ❖ M.Feuilhade de Chauvin. Examen mycologique en dermatologie. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* Volume 145, Issue 10, October 2018, Pages 623-632 <https://doi.org/10.1016/j.annder.2018.05.006>.
 - ❖ Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses polytechniques*. 192-1
 - ❖ Mahmoud, Z.F., Abdel Salam, N.A ., Khafagy, S.M., 1980. Constituents of henna leaves (*Lawsonia inermis* L.) growing in Egypt. *Fitoterapia* 51, 153 – 155 .
 - ❖ Malec, L.S., Pamilio, A.B.,(2003). Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromus pictus*. *Molecular Medicinal Chemistry* 1, 30-38
 - ❖ Malekzadeh, F., 1968. Antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* L. *Appl. Microbiol.* 6, 663–664.
 - ❖ Marfak A., (2003). Radiolyse Gamma des Flavonoïdes. Etude de Leur Réactivité avec Les Radicaux issus des Alcools : Formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de LIMOGE. 187 p.
 - ❖ Marie-Elisabeth Bougnoux Florence Espinasse . Nouvelles applications des techniques de biologie moléculaire en mycologie médicale . Quantification moléculaire en biologie clinique. *Revue Française des Laboratoires*, mars 2003, No 351.
-

Références bibliographiques

- ❖ Maroyi, A., Traditional use of medicinal plants in South-central Zimbabwe. Rev. Perspect. J. Ethnobiol. Ethnomed. (2013) 9 (31) (18 pp.)
 - ❖ Mastanaiah J, Prabhavathi NB, Varaprasad B. In vitro anti bacterial activity of leaf extracts of lawsonia inermis. international journal of pharm tech research 2011; vol-3 : 1045-9
 - ❖ Mebazaa A, Fathallah A, El Aouamri K, Gaied Meksi S, Ghariania N, Belajouza C, et al. Profil épidémiologique des teignes du cuir chevelu dans le centre tunisien. Bilan d'une étude rétrospective de 16 années (1990—2005). J Mycol Med 2010; 20:91—6
 - ❖ Merghem R. (2009). Eléments de biochimie végétale. Edition Bahaeddine: 107-133
 - ❖ MICHEL MONOD. Récente révision des espèces de dermatophytes et de leur nomenclature. Rev Med Suisse 2017; 13 : 703-8.

 - ❖ Middleton Elliott, Chithan Kandaswami and Theoharis C. Theoharides(200). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacological Reviews December 2000, 52 (4) 673-751

 - ❖ Mikailov A, Cohen J, Joyce C, Mostaghimi A. Cost-effectiveness of confirmatory testing before treatment of onychomycosis. JAMA Dermatol. 2016;152:276–281.
 - ❖ Mikhaeil, B.R., Badria, F.A., Maatooq, G.T., Amer, M.M.A., 2004. Antioxidant and immunomodulatory constituents of henna leaves. Zeitschrift für Naturforschung C 59, 468–476.
 - ❖ Mina, B., Jeevani, V.C., Revathy, S., Pramod, C., Ragav, R., Manjula, S.N., Mruthunjaya, K., 2012. Phytochemical and microscopical investigations on Lawsonia inermis roots. International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research 3, 54–59.
 - ❖ Misra, S. B. et Dixit, S. N., (1979). Antifungal activity of leaf extracts of some higher plants. Acta Botanica Indica, 7(2), 147–150
 - ❖ Mochizuki T. et coll., J Dermatol. 2015, 42, 232.
 - ❖ Mojab, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N. & Vahidipour, H.R., (2003). Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 77-82
 - ❖ Monkassa B, Vandemeulebroucke E, Redlinski S, Jousserand P, Poujade F. Dermatophytes et teignes du cuir chevelu dans la banlieue nord de Paris. J Mycol Med 2000; 10:207-9.

 - ❖ Moretti A, Agnetti F, Mancianti F, et al. Dermatophytosis in animals: epidemiological, clinical and zoonotic aspects. Giornale italiano di dermatologia e venereologia : organo ufficiale, Societa italiana di dermatologia e sifilografia. 2013; 148: 563-572.
 - ❖ Mouhajir, F., Hudson, J.B., Rejdali, M., Towers, G.H.N., 2001. Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. Pharmaceutical Biology 39, 364–374.
 - ❖ Mseddi M, Marrakchi S, Sellami H, Mnif E, Boudaya S, Turki H, et al. Les teignes de l'adulte : étude rétrospective dans le Sud tunisien. J Mycol Med 2005; 15:93—6
-

Références bibliographiques

- ❖ Mukhtar MD and Huda M. Prevalence of Tinea capitis in primary school and sensitivity of etiological agents on Pistia stratiotes extracts. Nigerian Journal of Microbiology 2005; 1(19): 412-415.
 - ❖ Musa AE, Gasmelseed GA (2012) Characterization of Lawsonia inermis (Henna) as Vegetable Tanning Material. Journal of forest products & industries 1: 35-40
 - ❖ N Contet-Audonnet. Teignes du cuir chevelu. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), AKOS Encyclopédie Pratique de Médecine, 8-0926, 2003, 5p.
 - ❖ N. Contet-Audonnet, C. Leyer. émergence d'un dermatophyte transmis par le cochon d'Inde et proche de Trichophyton mentagrophytes var. erinacei : T. mentagrophytes var. Porcellae ; journal de mycologie médicale ; 2010 20, 321-325
 - ❖ Nayak BS, Isitor G, Davis EM, Pillai GK. The evidence based wound healing activity of Lawsonia inermis Linn. Phytotherapy Research. 2007; 21(9): 827-31.
 - ❖ Ndiaye D, Sène PD, Ndiaye JL, Faye B, Ndir O. Teignes du cuir chevelu diagnostiquées au Sénégal. J Mycol Med 2009; 19: 262—9.
 - ❖ Neji S, Makni F, Cheikhrouhou F, Sellami A, Sellami H, Marreck-chi S, et al. Epidemiology of dermatophytoses in Sfax, Tunisia. Mycoses 2009; 52: 534—8
 - ❖ Nesrine OUAFI , Houria MOGHRANI , et Rachida MAACHI. Influence du procédé de séchage des plantes aromatiques et médicinales sur le rendement en huile essentielle (cas de trois menthes). 5ème Séminaire Maghrébin sur les Sciences et les Technologies du Séchage (SMSTS'2015) Ouargla (Algérie), du 22 au 24 Novembre, 2015
 - ❖ Nijveldt Robert J, Els van Nood Danny EC, van Hoorn Petra G, Boelens Klaske van Norren Paul AM, van Leeuwen (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Volume 74, Issue 4, 1 October 2001, Pages 418–425, <https://doi.org/10.1093/ajcn/74.4.418>
 - ❖ Nikoh N., Iwabe N., Kuma K.I., Miyata T. (1994). Phylogenetic relationship of the kingdoms of Animalia, Plantae, and Fungi, inferred from 23 different protein species. *Mol Biol Evol*, 11 : 762-768
 - ❖ Nkondjo Minkoumou S, Fabrizi V, Papini M. Onychomycosis in Cameroon: a clinical and epidemiological study among dermatological patients: onychomycosis in Cameroon. *Int J Dermatol* 2012; 51: 1474—7.
 - ❖ Nweze EI. Dermatophytosis in West Africa: a review. *Pak J Biol Sci* 2010; 13: 649—56.
 - ❖ Nzenze-Afene S, Nkondjo E, Bouyou-Akoté M, Mabika Man-foumbi M, Kombila M. Les teignes du cuir chevelu en milieu scolaire à Libreville (Gabon). *J Mycol Med* 2009; 19: 155 — 60
 - ❖ Ogunbinu, A.O., Ogunwande, I.A., Walker, T.M., Setzer, W.N., 2007. Study on the essential oil of Lawsonia inermis (L) Lythraceae. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 10, 184 – 188.
-

Références bibliographiques

- ❖ Okpekon, T., Yolou, S., Gleye, C., Roblot, F., Loiseau, P., Bories, C., Grellier, P., Frappier, F., Laurens, A., Hocquemiller, R., 2004. Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *J. Ethnopharmacol.* 90, 91–97.
 - ❖ Bosoglu, A., Birdane, F., Solmaz, H., 1998. The effect of Henna (*Folium lawsoniae*) paste in ringworm in calves. *Indian Vet. J.* 75, 83–84.
 - ❖ Oladele AT, Adewunmi CO. Medicinal plants used in the management of malaria among the traditional medicine practitioners (TMP'S) in south western Nigeria. *Afr J Infect Dis* 2008; 2(1): 51-9.
 - ❖ Oladunmoye, M.K., Kehinde, F.Y., 2011. Etanobotanical survey of Medicinal plants used in treating Viral infection among Yoruba tribes of south western Nigeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 5, 2991–3004.
 - ❖ Orwa C, A Mutua, Kindt R, Jamnadass R, S Anthony. 2009 *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0* (<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>)
 - ❖ Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 2009*; <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>.
 - ❖ Ostovari, A., Hoseinie, S.M., Peikari, M., Shadzadeh, S.R., Hashemi, S.J., 2009. Corrosion inhibition of mild steel in 1 M HCl solution by henna extract: A comparative study of the inhibition by henna and its constituents (Lawsonic acid, Gallic acid, α -D-Glucose and Tannic acid). *Corrosion Science* 51, 1935–1949.
 - ❖ Oudaina W, Biounach H, Riane S, El Yaagoubil I, Tangi R, Ajdae L, et al. Épidémiologie des teignes du cuir chevelu chez les consultants externes à l'hôpital d'enfants de Rabat. *J Mycol Med* 2011;21:1—5
 - ❖ Oyedeji, A.O., Ekundayo, O., Koenig, W.A., 2005. Essential oil composition of *Lawsonia inermis* L. leaves from Nigeria. *Journal of Essential Oil Research* 17, 403 – 404.
 - ❖ P. Adrienne, *Traité de gemmothérapie - La thérapeutique par les bourgeons*, Amyris, 2011.
 - ❖ P. Berbis, J.-H. Saurat. *Médicaments systémiques des dermatoses. Dermatologie et infections sexuellement transmissibles (6^e édition)* 1143-1202 2017, Elsevier Masson SAS <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00148-3>.
 - ❖ P.A. de Viragh. *Maladies des poils, des cheveux et du cuir chevelu. Dermatologie et infections sexuellement transmissibles (6^e édition)* p 850-866 2017, Elsevier Masson SAS <https://doi.org/10.1016/B978-2-294-74649-9.00105-7>.
 - ❖ Padhye A, Summerbell RC. The dermatophytes. In: Merz WG, RJ H, editors. *Topley and Wilson's microbiology and microbial infections: medical mycology*. London: Hodder Arnold; 2005. p. 220—43.
 - ❖ Panasiti V, Borroni RG, Devirgillis V, Rossi M, Fabbri L, Masciangelo R, et al. Comparison of diagnostic methods in the diagnosis of dermatomycoses and onychomycoses. *Mycoses* 2006 ; 49 : 26-9.
 - ❖ Perrin C. Apport de l'histopathologie dans le diagnostic d'une onychopathie. *Rev Franc Lab* 2011;432:61—9.
-

Références bibliographiques

- ❖ Peter H., Raven R., Franklin E., Susan E.E. (2003). *Biologie végétale*, De Boeck Université, 968 p. (ISBN 2-7445-0102-6, 9782744501029).
 - ❖ Pfaller MA, Wolk DM, Lowery TJ. T2MR and T2 Candida: novel technology for the rapid diagnosis of candidemia and invasive candidiasis. *Future Micro-biol* 2015;11(1):103–17.
 - ❖ Pharmacopée française (2010). Xème éd (<http://www.afssaps.fr/Activites/Pharmacopée>).
 - ❖ Philibert C, Hoegy D, Philippe M, et al. A French survey on the resort of oral alternative complementary medicines used in children with cancer. *Bull Cancer (Paris)* 2015;102 (10):854–62.
 - ❖ Philip Jacob P, Sivaraj, Kumar S, Saral M (2010) Phytochemical screening and CNS activity of *Lawsonia inermis* L. seeds. *J Pharm Res* 3: 2163-2166
 - ❖ Philippe M., (2013). Les familles des plantes à fleurs d'Europe: its Antimalarial, Antioxydant and Human Breast Cancer Cells MCF7 Activities Botanique systématique et utilitaire. Presses universitaires de Namur. *Pharmaceut Anal Acta* 4: 203. Volume 4 Issue 1.
 - ❖ Philpot CM. Geographical distribution of dermatophytes: a review. *J Hyg (Lond)* 1978;80:301—13
 - ❖ Phirke, S. S., Saha, M., 2013. *Lawsonia inermis* L. : a rainfed ratoon crop. National Conference on Biodiversity: Status and Challenges in Conservation – FAVEO , 18 9–19 3.
 - ❖ Pierre M., Lis M (2007) *Secrets des plantes*. Editions Artemis, Paris 1: 463
 - ❖ Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684.doi:10.1016/s0023-6438(03)00088-4 .
 - ❖ Ponnusamy, K., Petchiammal, C., Mohankumar, R., Hopper, W., 2010. In vitro anti-fungal activity of indirubin isolated from a South Indian ethnomedicinal plant *Wrightia tinctoria* R. *Br. J. Ethnopharmacol.* 132, 349–354.
 - ❖ Priya, R., Ilavenil, S., Kaleeswaran, B., Srigopalram, S., Ravikumar, S., 2011. Effect of *Lawsonia inermis* on tumor expression induced by Dalton's lymphoma ascites in Swiss albino mice. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18, 353– 359.
 - ❖ R. Baran , R.-J. Hay . Nouvelle classification clinique des onychomycoses. *Journal de Mycologie Médicale* (2014) 24, 247— 260. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.004>
 - ❖ Rahal, K., Belouni, R., Benslimani, A., Tali Maamar, H., Missoum, M., Aboun, A., et al. (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. Fascicule de recommandations , 3ème Edition. Alger, Algérie: Ministère de l'agriculture nationale.
 - ❖ Rahiman, F.A ., M ahmad, N., Taha, R.M., Elias, H., Zaman, F.H., 2013. Antimicrobial properties of *Lawsonia inermis* syn. *Lawsonia alba* in vivo and in vitro . *Journal of Food Agriculture and Environment* 11, 502 – 504.
-

Références bibliographiques

- ❖ Rahmoun M.N., Benabdallah M., Villemin D., Boucherit K., Mostefa-Kara B., Ziani-Cherif C., Choukchou-Braham N., (2010). Antimicrobial screening of the Algerian *Lawsonia inermis* (henna). *Scholars Research Library. Der Pharma Chemica*, 2010, 2(6): 320-326. review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 38(6), 421-64.
 - ❖ RAHMOUN Mohammed Nadjib « évaluation de l'activité biologique de quelques produits naturels et de synthèse » these de doctorat .Tlemcen ;2013
 - ❖ Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., & Satayavivad, J. (2007). Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. *Food and Chemical Toxicology*, 45(2), 328–336.doi:10.1016/j.fct.2006.08.022 .
 - ❖ Rani Sauriasari, Da-Hong Wang , Yoko Takemura, Ken Tsutsui, Noriyoshi Masuokac, Kuniaki Sano, Masako Horita, Bing-Ling Wang and Keiki Ogino (2007). Cytotoxicity of lawsone and cytoprotective activity of antioxidants in catalase mutant *Escherichia coli* *Toxicology* 235: 103–111.
 - ❖ Rémic: référentiel en microbiologie médicale — bactériologie et mycologie, de la Société Française de Microbiologie (*SFM*), Vivactis Plus Ed, Paris 2007
 - ❖ Riffel, A., Medina, L.F.C., Stefani, V., Bizani, D., Brandelli, A., (2002). Antimicrobial activity of a new series of naphthoquinones. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35, 811–818.
 - ❖ Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of der-matophytosis. *Mycopathologia* 2008;166:295-306
 - ❖ Roberts,, M.S. & Walters, K.A, 2008. Human skin morphology and dermal absorption. In *Dermal Absorption and Toxicity Assessment*. Informa Healthcare, p. 1-15
 - ❖ Rosen T. et coll., *J Drugs Dermatol.*, 2015, 14, 223.
 - ❖ S.F.M.. Rémic : le référentiel en microbiologie médicale, . 3e ed., Paris: Vivactis; 2007. p. 232.
 - ❖ Sagar, K., Vidyasagar, G.M., 2013. Anti-dermatophytic activity of some traditionally used medicinal plants of north Karnataka region. *Journal of Applied Pharma-ceutical Science* 3, 77– 83 .
 - ❖ Sanni S, Thilza IB, Ahmed MT, Sanni FS, Talle M, Okwor GO, The effect of aqueous leaves extract of henna (*Lawsonia inermis*) in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in swiss albino mice, *Academia arena* 2010; 2(6): 87-89.
 - ❖ Sarac, N., & Ugur, A. (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences* , 4, pp. 28-37.
 - ❖ Saunders J, Maki K, Koski R, Nibo SE. Tavaborole, Efina-conazole, and Luliconazole: three new antimycotic agents for the treatment of dermatophytic fungi. *J Pharm Pract.* August 3, 2016. pii:0897190016660487.
 - ❖ Savin C, Huck S, Rolland C, Benderbouche M, Faure O, Noacco G, Menotti J, Candolfi E, PellouxH, Grillot R, Coupe S, Derouin F. Multicenter evaluation of a commercial PCR-enzyme-linked immuno-sorbent assay diagnostic kit (onychodiag)
-

Références bibliographiques

- fordiagnosis of dermatophytic onychomycosis. *J ClinMicrobiol* 2007 ; Apr ; 45 (4) : 1205-10. Epub 2007 Feb7.
- ❖ Sharma Ankita et Sharma Kanika (2013) Efficacy of lawsonia inermis linn. and eucalyptus citriodora hook. essential oils and their combination as antifungal and antiaflatoxin agent. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Research* 130-143.
 - ❖ Sharma V.K., 1990. Tuberculostatic activity of henna (*Lawsonia inermis* Linn.). *Tubercle*; 71, 293-295
 - ❖ Sharma, J., Gairola, S., Gaur, R.D., Painuli, R.M., 2012. The treatment of jaundice with medicinal plants in indigenous communities of the Sub-Himalayan region of Uttarakhand, India. *Journal of Ethnopharmacology* 143, 262 – 291 .
 - ❖ Shaukat A., Tanveer H. et Rakhshanda N., 2008. Optimization of alkaline extraction of natural dye from Henna leaves and its dyeing on cotton by exhaust method. *Journal of Cleaner Production* xxx : 1–6.
 - ❖ Siddiqui, B. (2001). Triterpenoids from *Lawsonia alba*. *Phytochemistry*, 58(8), 1195–1198. doi:10.1016/s0031-9422(01)00329-6 .
 - ❖ Siddiqui, B. S., Kardar, M. N., Ali, S. T. et Khan, S., (2003). Two new and a known compound from *Lawsonia inermis*. *Helvetica Chimica Acta*, 86(6), 2164–2169
 - ❖ Siddiqui, B. S., Rasheed, M., Ghiasuddin, Faizi, S., Naqvi, S. N. ., & Tariq, R. . (2000). Biologically Active Triterpenoids of Biogenetic Interest from the Fresh Fruit Coats of *Azadirachta indica*. *Tetrahedron*, 56(22), 3547–3551. doi:10.1016/s0040-4020(00)00244-1
 - ❖ Siddiqui, B.S., Kardar, M.N., Khan, S., 2005. Two new triterpenoids from *Lawsonia alba*. *Zeitschrift für Naturforschung B* 60, 37 – 40 .
 - ❖ Simonnet C, Berger F, Gantier J-C. Epidemiology of superficial fungal diseases in French Guiana: a three-year retrospective analysis. *Med Mycol* 2011;49:608—11.
 - ❖ Smith, E.W. & Maibach, H.I., 2006. Percutaneous penetration enhancers, CRC/Taylor & Francis.
 - ❖ Stevanovic T. (2005). *Chimie du bois*. CHM-22170. Université Laval. Québec.
 - ❖ Subbaiah, K.P.V., Savithramma, N., 2012. Bio-prospecting and documentation of traditional medicinal plants used to treat ringworm by ethnic groups of Kurnool district, Andhra Pradesh, India. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4, 251 – 254.
 - ❖ Sultana, N., Iqbal, M., Choudhary, A.K., 2009. Protein glycation inhibitory activities of *Lawsonia inermis* and its active principles. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 24.257–261.
 - ❖ Suneetha, J., Koteswara, J., Rao, T.V.V., Reddi, S., 2011. Herbal remedies for hair dis-order by the tribes of east Godavari district Andhra Pradesh. *Indian J. Exp. Sci.* 2,30–32.
 - ❖ Takeda, Y., Fatope, M.O., 1998. New phenolic glucosides from *Lawsonia inermis*. *Journal of Natural Products* 51, 725 – 729 .
-

Références bibliographiques

- ❖ TanyaGreywal Sheila FallonFriedlander Dermatophytes and Other Superficial Fungi Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition) 2018, Pages 1282-1287.e2
 - ❖ Tauheed AM et al. In vivo ameliorative effects of methanol leaf extract of *Lawsonia inermis* Linn on experimental *Trypanosoma congolense* infection in Wistar rats, *Int J of Vet Sci Med* (2016), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvsm.2016.10.005>.
 - ❖ Testa J, Traore LK, Compaore L, Sondo B. Les teignes en milieu scolaire dans la ville de Quagadougou. *J Mycol Med* 1994;4:42—4
 - ❖ Thatai P, Sapra B. Transungual gel of terbinafine hydro-chloride for the management of onychomycosis: formulation, optimization, and evaluation. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2017. <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0711-7>.
 - ❖ Theel ES, Hall L, Mandrekar J, Wengenack NL. Dermatophyte identification using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol* 2011 ; Dec ; 49(12) : 4067-71.Epub 2011 Sep 28.
 - ❖ Tosti A, Elewski BE. Onychomycosis: practical approaches to minimize relapse and recurrence. *Skin Appendage Disord*. 2016;2(1–2):83–87.
 - ❖ Trigui M., Ben Hsouna A., Hammami I., Culioli G., Ksantini M., Tounsi S., Jaoua S., (2013). Efficacy of *Lawsonia inermis* leaves extract and its phenolic compounds against olive knot and crown gall diseases. *Crop Protection*, Volume 45, March 2013, Pages 83-88 ;
 - ❖ Uddin, N., Siddiqui, B.S., Begum, S., Bhatti, H.A., Khan, A., Parveen, S., Choudhary, M.I., 2011. Bioactive flavonoids from the leaves of *Lawsonia alba* (Henna). *Phytochemistry Letters* 4, 454 – 458.
 - ❖ Valls J., Millan S., Marti M.P., Borrás E., Arola L. (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of chromatography A*, 1216: 7143-7172.
 - ❖ Van Acker, S. A. B. E., Van Den Berg, D., Tromp, M. N. J. L., Griffioen, D. H., Van Bennekom, W. P., Van Der Vijgh, W. J. F., & Bast, A. (1996). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(3), 331–342. doi:10.1016/0891-5849(95)02047-0
 - ❖ Van Wyk, A. S., & Prinsloo, G. (2018). Medicinal plant harvesting, sustainability and cultivation in South Africa. *Biological Conservation*, 227, 335–342. doi:10.1016/j.biocon.2018.09.018
 - ❖ Van Wyk, B.-E., Oudshoorn, B., Gericke, N., 2013. *Medicinal Plants of South Africa*, Second edition. Briza, Pretoria (336 pp.).
 - ❖ Vermerris W., Nicholson R. (2006). *Phenolic compound biochemistry*. Springer Dordrecht. ISBN: 1001-4020-5163-8.
 - ❖ Visht Sharad, Chaturvedi Swati. (2012) Isolation of Natural Products. *Current Pharma Research*. ISSN: 2230-7842 CPR 2(3), 2012, 584-599
 - ❖ Wagini NH, Soliman AS, Abbas MS, Hanafy YA, Badawy EM, *Phytochemical Analysis of Nigerian and Egyptian Henna (Lawsonia Inermis L.) Leaves using TLC, FTIR and GCMS*, *Plant*. 2014, 2(3), 27-32
-

Références bibliographiques

- ❖ Wasim Raja, M. Ovais and Amit Dubey(2013). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Lawsonia inermis Leaf Extract. *International Journal of Microbiological Research* 4 (1): 33-36, 2013 DOI: 10.5829/idosi.ijmr.2013.4.1.6679.
 - ❖ Weinberg JM, Koestenblatt EK, Tutrone WD, Tishler HR, Najarian L. Comparison of diagnostic methods in the evaluation of onychomycosis. *J Am Acad Dermatol* 2003 ; 49 : 193-Lilly KK, Koshnick RL, Grill JP, Khalil ZM, Nelson.
 - ❖ Weitzman I, Summerbell RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:240—59
 - ❖ Welsh O, Vera-Cabrera L, Welsh E. Onychomycosis. *Clin Dermatol.* 2010;28:151–159.
 - ❖ Wenying C, Changming L, Xiqing L, Junmin Z, Ping Z, Liyan X. Epidemiology of superficial fungal infections in Guangdong, Southern China: a retrospective study from 2004 to 2014. *Myopathologia* 2016; 181 (5-6) : 387—95
 - ❖ Wong, K.C., Teng, Y.E., 1995. Volatile components of Lawsonia inermis L. flowers. *Journal of Essential Oil Research* 7, 425 – 428 .
 - ❖ Wyllie M.G.,(2006). A groundswell for phytotherapy. *BJU International*, 97, pp. 1345-1346
 - ❖ Yao L.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R.,Chen S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr.* 59 : 113-122.
 - ❖ Yen Tan, T., & Siew Yong Ng, L. (2006). Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* , 58, pp. 864–867.
 - ❖ Yoshida Haruhiko, MD; Yasushi Shiratori, MD; Mitsuhiro Moriyama, MD; Yasuyuki Arakawa, MD; Tatsuya Ide, MD; Michio Sata, MD; Osami Inoue, MD; Michitami Yano, MD; Motohiko Tanaka, MD; Shigetoshi Fujiyama, MD; Shuhei Nishiguchi, MD; Tetsuo Kuroki, MD; Fumio Imazeki, MD; Osamu Yokosuka, MD; Shingo Kinoyama, MD; Gotaro Yamada, MD; Masao Omata, MD; for the IHIT Study Group(1999). Interferon Therapy Reduces the Risk for Hepatocellular Carcinoma: National Surveillance Program of Cirrhotic and Noncirrhotic Patients with Chronic Hepatitis C in Japan.*Annals of Internal Medicine*
 - ❖ Zagnoli A, Chevalier B et Sassolas B. Dermatophyties et dermatophytes. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), Maladies infectieuses*, 8-614-A-10, 2003, 14 p.
 - ❖ Zagnoli, A., Chevalier, B., & Sassolas, B. (2005). Dermatophyties et dermatophytes. *EMC - Pédiatrie*, 2(1), 96–115.doi:10.1016/j.emcped.2004.05.001.
 - ❖ Zahra LV, Gatt P, Boffa MJ, Borg E, Mifsud E, Scerri L, et al. Characteristics of superficial mycoses in Malta. *Int J Dermatol* 2003;42:265—71
-

Références bibliographiques

- ❖ Zaki SM, Ibrahim N, Aoyama K, Shetaia YM, Abdel-Ghany K, Mikami Y. Dermatophyte infections in Cairo, Egypt. *Mycopathologia* 2009;167:133–7. doi:10.1007/s11046-008-9165-5
 - ❖ Zamani, S., Sadeghi, G., Yazdinia, F., Moosa, H., Pazooki, A., Ghafarinia, Z., ... Razzaghi-Abyaneh, M. (2016). Epidemiological trends of dermatophytosis in Tehran, Iran: A five-year retrospective study. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(4), 351–358. doi:10.1016/j.mycmed.2016.06.007.
 - ❖ ZEGHAD N(2008).Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus Vulgaris, Rosmarinusofficinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire de magister de l'université Mentouri de Constantine.
 - ❖ Zhang Yuanbo ; Yan-Wen Tan ; Horst L. Stormer ; Philip Kim (2005)Experimental observation of the quantum Hall effect and Berry's phase in graphene*Nature* **volume438**, pages201–204 (10 November 2005)
-



Annexes

Annexe 1

Préparation des milieux d'identification

Ils sont indispensables quand une souche reste stérile sur milieu de Sabouraud. Pour la plupart, ces milieux favorisent la sporulation et la production de pigment.

A cet égard, le plus couramment utilisé en première intention est le milieu Lactrimel de Borelli d'autres permettent de différencier des espèces morphologiquement proches par le virage d'un indicateur coloré.

Les milieux d'identification préparés dans ce travail sont :

1. Milieu Lactrimel de Borelli
2. Milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar)
3. Milieu de Pomme de terre-Carotte(PC)
4. Eau gélosée à 2%
5. Gélose au malt
6. Milieu de Takashio (Sabouraud dilué)
7. Milieu inositol-vitamines
8. Milieu de Christensen
9. Milieu de Vroey et Takashio

❖ **MILIEU LACTRIMEL DE BORELLI :**

Ce milieu stimule la sporulation des dermatophytes et la production de pigment (rouge ou violet pour *T.rubum*, jaune-orangé pour *M.canis*).

Remarque : vu que on a pas trouvé l'actidione , on a préparé ce milieu sans l'utilistaion du cycloheximide

Composition :

- Farine de blé 14g
- Lait écrémé en poudre 14g
- Agar 20g
- Chloramphénicol 0,5g
- Eau distillée Qsp 1000ml

Mode opératoire :

On mélange le lait écrémé en poudre, Chloramphénicol et l'agar dans un litre d'eau distillée.

Porter à ébullition en chauffant doucement et en agitant jusqu'à ce que le milieu devienne d'un brun-rouge transparent.

Verser le mélange dans un flacon et l'autoclaver à 120C° pendant 45min .

Attendre que le flacon refroidisse un peu, puis répartir le mélange stérile dans des boites de pétri stériles et dans une ambiance aussi stérile (la haute).

La conservation est faite à température de +4C° pendant 1 mois à chaque fois que le milieu est préparé

❖ **MILIEU PDA (POTATO-DEXTROSE-AGAR):**

Favorise la sporulation et la pigmentation de nombreux dermatophytes (T.rubrum, M.canis, M.audouinii,...)

Composition :

- Glucose 20g
- Agar Agar 20g
- Extrait de pomme de terre 1000ml

Préparation :

Extrait de Pomme de Terre : laver et couper 200g de pommes de terre non pelées.

Les mettre dans 1 litre d'eau distillée, porter à l'ébullition 1 heure, filtrer sur gaz et compléter à 1 litre.

On mélange le glucose et gélose dans un litre d'extrait de pomme de terre.

Porter à ébullition en chauffant doucement et en agitant jusqu'à ce que le milieu devienne d'un brun-rouge transparent.

Verser le mélange dans un flacon et l'autoclaver à 120C° pendant 45min .

Puis répartir le mélange stérile dans des boites de pétri stériles et dans une ambiance aussi stérile (la haute).

La conservation est faite à +4C pendant 3 mois à chaque préparation.

❖ **MILIEU DE TAKASHIO (SABOURAUD DILUE) :**

Ce milieu favorise la sporulation des dermatophytes.

 **Composition:**

- Néopeptone 1g
- Glucose 2g
- Agar 20g
- MgSO₄ 1g
- KH₂PO₄ 1g
- Eau distillée Qsp 1000ml

 **Mode opératoire :**

On mélange la néopeptone, le glucose, MgSO₄, KH₂PO₄ et l'agar dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition en chauffant doucement et en agitant jusqu'à ce que le milieu devienne d'un brun-rouge transparent.

Verser le mélange dans un flacon et l'autoclaver à 120C° pendant 45min .

Puis répartir le mélange stérile dans des boites de pétri stériles et dans une ambiance aussi stérile (la haute).

La conservation est faite à +4C pendant 3 mois à chaque préparation.

EAU GELOSEE A 2% :

Est un milieu pauvre, l'eau gélosée à 2% stimule la sporulation pour de nombreuses moisissures. Il peut également être utilisé pour la recherche de la production d'organes perforateurs in vitro.

 **Composition :**

- Agar 20g
- Eau distillée Qsp 1000ml

 **Mode opératoire :**

On mélange l'agar dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition en chauffant doucement et en agitant jusqu'à ce que le milieu devienne d'un brun-rouge transparent.

Verser le mélange dans un flacon et l'autoclaver à 120C° pendant 45min .

Puis répartir le mélange stérile dans des boites de pétri stériles et dans une ambiance aussi stérile (la haute).

La conservation est faite à +4C pendant 3 mois à chaque préparation.

❖ MILIEU POMME DE TERRE-CAROTTE (PC) :

Favorise sporulation des dermatophytes.

✚ **Composition :**

- Pulpe de pomme de terre 20g
- Pulpe de carottes 20g
- Agar 20g
- Eau distillée Qsp 1000ml

✚ **Mode opératoire :** Faire macérer les pulpes de pommes de terre et de carottes dans 300ml d'eau distillée pendant 1 heure. Porter à l'ébullition 5 à 10 min, puis filtrer sur gaz pour éliminer la pulpe. Ajouter l'agar et maintenir au bain-marie bouillant jusqu'à solubilisation.

Compléter le filtrat à un litre avec de l'eau distillée.

Verser le mélange dans un flacon et l'autoclaver à 120°C pendant 45min .

Puis répartir le mélange stérile dans des boîtes de pétri stériles et dans une ambiance aussi stérile (la haute).

La conservation est faite à +4C pendant 3 mois à chaque préparation.

❖ GELOSE AU MALT :

Ce milieu stimule la sporulation pour de nombreuses moisissures.

Il peut également être intéressant pour les dermatophytes (recherche des structures proliférantes)

✚ **-Composition :**

- Extrait de malt 15g
- Agar 15g
- Eau distillée Qsp 1000ml

✚ **Mode opératoire:** On mélange l'extrait de malt et l'agar dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition en chauffant doucement et en agitant jusqu'à ce que le milieu devienne d'un brun rouge transparent, puis on verse le mélange dans un flacon de 1l, on autoclave pendant 45 min à 120°C.

On laisse les flacons se refroidir un peu puis on répartit la préparation stérile dans des boîtes à pétri stérile dans une ambiance stérile.

La conservation est faite à +4C° pendant 1 mois.

❖ **Milieu à l'urée de Christensen**

✚ **Composition :**

- ✓ Solution A
- Peptone tryptique 1 g
- Glucose 1 g
- Dihydrogénophosphate de potassium 2 g
- Chlorure de sodium 5 g
- Rouge de phénol 0,012 g
- Urée 20 g
- Eau distillée q.s.p. 100 ml
- ✓ Milieu de base
- Agar 15 g
- Eau distillée q.s.p. 900 ml

✚ **Mode opératoire :**

Préparer la solution A et la stériliser par filtration.

Préparer le milieu de base en solubilisant l'agar par chauffage à ébullition

Répartir en tubes à vis à raison de 9 ml par tube, et autoclaver pendant 45 min à 120°C.

❖ **Milieu de De Vroey et Takashio à base de
graines de niger (Guizotia abyssinica) :**

Il est utilisé pour la recherche des formes parfaites (mating-type).

Composition :

- Graines de niger écrasées 7,5 g
- Sulfate de magnésium 1 g
- Phosphate de potassium 1 g
- Chloramphénicol 0,5 g
- Agar 20 g
- Eau distillée q.s.p. 1000 ml

Annexe 2

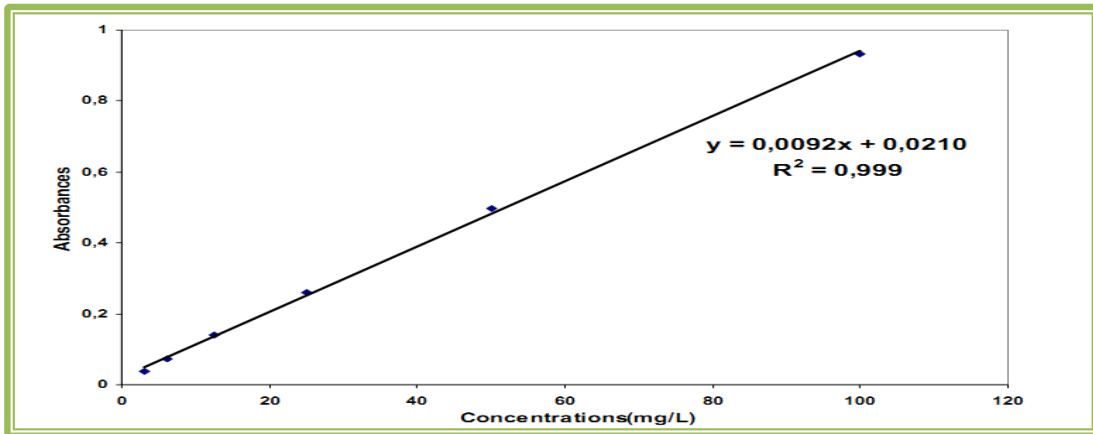


Figure 47 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

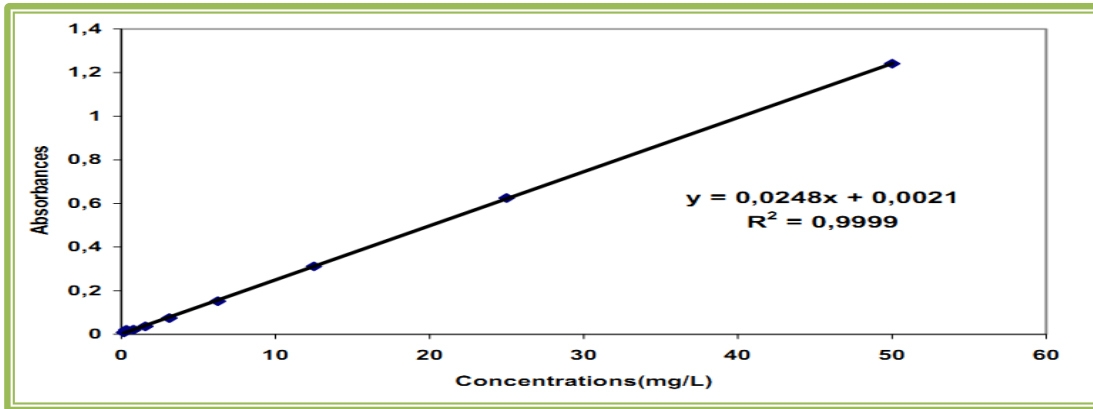


Figure 48 : Droite d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes

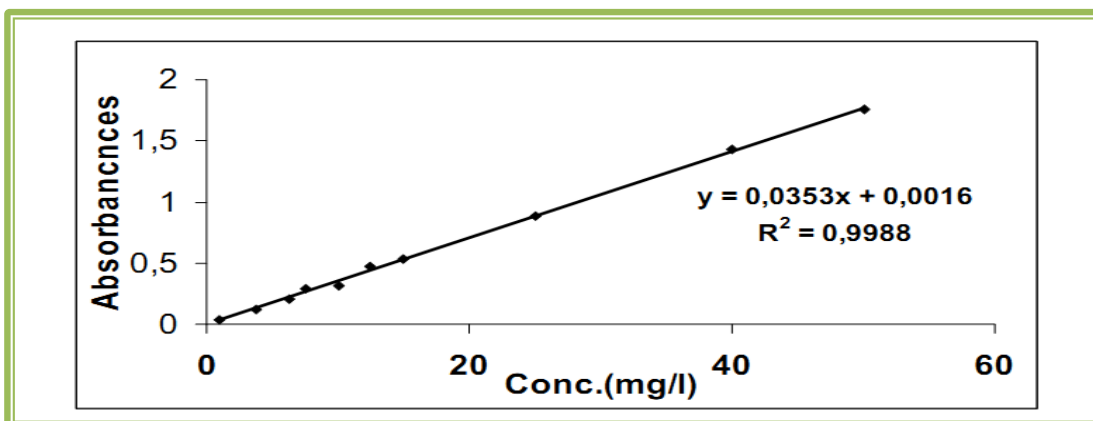


Figure 49 : Droite d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins

Annexe 3



Figure 50: Les étapes de l'extraction



Figure 51 : Appareil Mc Ferland



Publication



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Antifungal activity of *Lawsonia inermis* leaf extract against dermatophytes species

Attala Nabila^{*1,2}, Hammadi Kheira¹, Benmansour Zakaria², Djebli Nouredine¹

¹Laboratory of Pharmacognosis Api Phytotherapy, University Abdelhamid Ibn Badis of Mostaganem, Algeria

²Laboratory of Parasitology and Mycology, University Hospital Center of Oran, Algeria

Key words: *Lawsonia inermis*, Dermatophytes, Antifungal activity, Natural product

<http://dx.doi.org/10.12692/ijb/12.5.279-283>

Article published on May 30, 2018

Abstract

Plant extracts and plant-derived compounds are valuable sources as folk medicine for the treatment and prevention of a wide range of diseases including infectious diseases; Henna represent one of the most effective traditional remedy against multiple diseases that includes ulcer, skin disorders and infection malignacies. This study was carried out using 51 clinical isolates of dermatophytes representing three different species *Trichophyton mentagrophytes*; *Microsporum canis* and *Trichophyton eurinacei*, the antifungal activity of *Lawsonia inermis* was determined by agar diffusion and henna was used as ethanolic extract, henna extract showed the high antifungal activity against all dermatophytes species (17 to 60mm inhibition zone).

* Corresponding Author: Attala Nabila ✉ attalah.nabila@gmail.com



***Travaux
scientifiques***

Travaux scientifiques

Participation à des congrès et publication

➤ Communications Internationales

1. Attala N ;Hammadi K ;Djebli N : l'effet de lawsonia inermis sur la flore Dermique
1er Séminaire International de pharmacie (SIPS2016) Setif 2016

2. Nabila ATTALA, Kheira HAMMADI, Z. BENMANSOUR, Noureddine DJEBLI ;Evaluation de l'activité antifongique de lawsonia inermis sur certaines mycoses cutanées.Fourth International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants: SIPAM2016
16-18 December, 2016 Zarzis, Tunisia

3. Dris Ibrahim ; Bkkada Mohamed Ahmed Ali ; ATTALA NABILA : Study On
Antibacterial Activity Of Pistatcia Lenticus Essential Oil international congress on health
sciences and medical technologies 2018

➤ Communications Nationales

ATTALA N., Hammadi kh. Benmansour Z. Djebli N:Détermination de l'activité
antifongique de Lawsonia inermis sur quelques mycoses cutanées ;
7emes Journées Scientifiques de la Faculté SNV Université de Mostaganem 26-27 Avril
2017

➤ Publication international

Attala Nabila ;Hammadi Khrira ; Benmansour Zakaria ;Djebli Noureddine
« Antifungal activity of lawsonia inermis leaf extract against dermatophytes species » dans
le journal « international journal of biosciences/IJB »