



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**HAMRI Abir & BRINIS Aicha**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: Microbiologie Fondamentale**

THÈME

**Effets antimicrobiens des extraits de *Thymus vulgaris* chez  
*Candida albicans* responsable des infections uro-génitales**

Soutenue publiquement le 04/07/2018

DEVANT LE JURY:

<b>Président :M AIT SAADA.D</b>	MCA	Université de Mostaganem
<b>Examineur :M BEKADA.A</b>	Professeur	Centre universitaire de Tissemsilet
<b>Encadreur : M<sup>me</sup> AIT CHABANE.O</b>	MCB	Université de Mostaganem
<b>Invitée : M<sup>me</sup> NAAS.A</b>	Doctorante	Université de Blida

Thème réalisé au Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) Université de Mostaganem

**Année universitaire : 2017/2018**

## Remerciement

Nous exprimons tout d'abord nos profonds remerciements à Allah qui nous a donné le courage et la volonté de mener à terme cette étude.

Nous adressons nos sincères remerciements à **M<sup>me</sup> Ait chabane** d'avoir accepter de nous encadrer, et pour ses conseils et orientations fructueuses.

Nos remerciements s'adressent aussi à **M Bekada.A** et **M<sup>me</sup> Naas** d'avoir accepter de faire partie des membres du jury et d'examiner cette modeste étude.

Nous tenons à remercier, également, **M Ait Saada Djamel** qui nous a aidé tout au long de l'étude et de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de soutenance et de juger notre travail.

Nous tenons à remercier aussi tous les techniciens du laboratoire de biologie et spécifiquement **M Abed** qui a été toujours présent à nos cotés dans des moments difficiles et surtout pour leurs patiences et leurs gentilleses.

Nous remercions tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Enfin, nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à toutes les personnes qui nous ont aidées de prés ou de loin à la réalisation de ce document.

# Dédicace

*En premier lieu et avant tout, je prie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage d'achever mes études.*

*J'ai l'honneur de dédier ce travail:*

*À mes très chers parents (Lakhdar et Fatiha) qui m'ont soutenus et encouragés durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie, que Dieu les protège et me donne la force pour que je puisse leurs rendre un petit peu de leurs bien faits malgré que je ne peux jamais arriver à faire ça.*

*À mes sœurs Amina, Hayet et Yasmin, et mes chères nièces Asae, Israe e, Aridj et Jouri*

*À mes chère(s) copin(e)s*

*En fin, à tous ceux qui j'aime*

*Aicha*

*Je dédie cette thèse*

*À mes très chers parents Mohamed et Malika Les deux personnes qui ont toujours été présentes pour me chérir, me protéger et me soutenir tant matériellement que moralement pour que je puisse atteindre mon but. Vos bénédictions ont été pour moi le meilleur soutien durant ce long parcours. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer la reconnaissance et la gratitude que j'ai envers vous. Veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon amour et de mon attachement indéfectibles.*

*À mes deux frères Bilal et Merouane Pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour vos soutiens, vos compréhensions et vos encouragements.*

*Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et que je sois toujours la sœur dont vous serez fiers. Que Dieu vous protège et consolide les liens sacrés qui nous unissent.*

*À ma famille HAMRI et MODERBER et toutes les personnes qui m'aime et que j'aime .*

*Abir*

## Table des matières :

---

➤ Liste des tableaux	
➤ Liste des figures	
➤ Liste des abréviations	
➤ Résumé	
➤ Introduction .....	01

### Partie 1 : Revue bibliographiques

#### Chapitre I : *Thymus vulgaris*

1-1-1 Définition .....	03
1-1-2 Historique .....	03
1-1-3 Classification .....	03
1-1-4 Habitat .....	04
1-1-5 Description botanique.....	04
1-1-6 Propriétés du thym.....	05
1-1-7 Production.....	06
1-1-8 Répartition géographique dans le monde.....	06
1-1-9 Composés bioactifs.....	06
1-1-10 Activités biologiques des flavonoïdes.....	07
1-1-10-1 Activités antimicrobienne.....	07
1-1-10-2 Activités antiparasitaires.....	08
1-1-10-3 Activités estrogéniques et anti-estrogénique.....	08
1-1-10-4 Potentiel antioxydant.....	08
1-1-11 Utilisation.....	08
1-1-12 Extrait hydro alcoolique de plantes fraîches.....	09
1-1-13 Types d'extraits végétaux.....	09
1-1-13-1 Huiles essentielles.....	09
1-1-13-2 les oléorésines .....	10
1-1-13-3 autres types d'extrait.....	10

#### Chapitre II : Généralités sur *Candida albicans* :

1-2-1 Définition.....	12
1-2-2 Historique.....	12
1-2-3 Habitat.....	13
1-2-4 Classification.....	13
1-2-5 Caractères morphologiques .....	14
1-2-6 Forme de résistance.....	15
1-2-7 Caractères physiologiques.....	16

1-2-8	Pouvoir pathogène.....	17
1-2-9	Critères d'identification.....	17
1-2-10	Sérologie.....	17

### **Chapitre III : Les infections candidosiques :**

1-3-1	Introduction .....	19
1-3-2	Définition.....	19
1-3-3	Facteurs de risque d'infection candidosique.....	19
1-3-3-1	Intrinsèques .....	20
1-3-3-2	Extrinsèques .....	20
1-3-4	Les différents types de candidose.....	20
1-3-4-1	Candidoses cutanées .....	20
1-3-4-2	Infections urogénitales.....	21
1-3-4-3	Candidoses buccales et digestives.....	28
1-3-5	Traitements chimiques des candidoses.....	29
1-3-6	Sensibilités aux antifongiques.....	30
1-3-7	Traitements naturel des candidoses.....	30
1-3-7-1	le lait.....	30
1-3-7-2	Berberis vulgaris.....	30
1-3-7-3	les épices.....	30

### **Partie 2 : matériels et méthodes**

2-1-1	Objectifs.....	32
2-1-2	Zone de prélèvement.....	32
2-1-3	Extraction des composés bioactifs.....	32
2-1-4	Etude des effets antimicrobiens des extraits de Thymus.....	34
2-1-4-1	activations des inocula microbiens.....	34
2-1-4-2	Méthode de contact direct.....	34
2-1-4-3	Méthode des disques par diffusion par gélose.....	34
2-1-4-4	Déterminations de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	36
2-1-4-5	Déterminations de la concentration minimale fongicide (CMF).....	36
2-1-5	Traitement statistiques.....	37

#### **1- Résultats :**

2-2-1	Croissance du germe <i>Candida albicans</i> .....	39
2-2-2	Taux de croissance du germe <i>Candida albicans</i> .....	39
2-2-3	Test de diffusion sur disque chez <i>Candida albicans</i> .....	44

2-2-4	Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice.....	49
2-2-6	Détermination de la Concentration Minimale Fongicide.....	51
2-2-7	Type d'inhibition des extraits de Tyum.....	54
<b>2-</b>	<b>Discussion :</b> .....	<b>55</b>
➤	Conclusion.....	58
➤	Références bibliographiques	
➤	Annexe	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Classification botanique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	04
<b>Tableau 2.</b> Classification botanique de <i>Candida albicans</i> .....	14
<b>Tableau 3.</b> Sensibilité aux antifongiques de <i>Candida albicans</i> .....	30
<b>Tableau 4.</b> Effets des extraits de la <i>T. vulgaris</i> sur la croissance de <i>Candida albicans</i> .....	42
<b>Tableau 5.</b> Effets des extraits de la <i>T. vulgaris</i> sur le diamètre d'inhibition de <i>Candida albicans</i> .....	43
<b>Tableau 6.</b> Effets des extraits de la <i>T.vulgaris</i> sur le taux de croissance de <i>Candida albicans</i> .....	45
<b>Tableau 7.</b> Effets des extraits de la <i>Thymus vulgaris</i> sur le taux d'inhibition de <i>Candida albicans</i> .....	48
<b>Tableau 8.</b> Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de <i>Thymus vulgaris</i> sur la croissance de <i>Candida albicans</i> .....	50
<b>Tableau 9.</b> Effet inhibitrice de l'extrait des composants bioactifs de <i>T. vulgaris</i> sur la croissance de <i>Candida albicans</i> .....	54

## Liste des figures :

<b>Figure 1 :</b> <i>Thymus vulgaris</i> .....	3
<b>Figure 2 :</b> Aspect morphologique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	5
<b>Figure 3 :</b> <i>Candida albicans</i> .....	12
<b>Figure 4 :</b> Morphologie de <i>Candida albicans</i> .....	14
<b>Figure 5 :</b> Formation de biofilm chez <i>Candida albicans</i> .....	16
<b>Figure 6 :</b> Appareil Urinaire .....	22
<b>Figure 7 :</b> Appareil Génitale féminin .....	26
<b>Figure 8 :</b> Mélange de l'échantillon avec les solvants .....	33
<b>Figure 9 :</b> Filtration avec de papier filtre .....	33
<b>Figure 10 :</b> Evaporation dans un Rotavapeur sous vide .....	33
<b>Figure 11 :</b> Dilution des extraits à l'eau distillée .....	33
<b>Figure 12 :</b> Activation de la souche .....	34
<b>Figure 13 :</b> Ensemencement sur milieu Sabouraud.....	34
<b>Figure 14 :</b> Test de la sensibilité au 5-Fluorocytosine.....	35
<b>Figure 15 :</b> Activité antifongique .....	35
<b>Figure 16 :</b> Effet des extraits de <i>T.vulgaris</i> prélevé de Mostaganem chez <i>C.albicans</i> .....	40
<b>Figure 17 :</b> Effet des extraits de <i>T.vulgaris</i> prélevé de Naama chez <i>C.albicans</i> .....	41
<b>Figure 18 :</b> Effet des extraits de <i>T.vulgaris</i> de Mostaganem sur le diametre d'inhibition chez <i>C.albicans</i> ..	46
<b>Figure 19 :</b> Effet des extraits de <i>T.vulgaris</i> de Naama sur le diametre d'inhibition chez <i>C.albicans</i> .....	47
<b>Figure 20 :</b> CMI des extraits à l'hexane .....	49
<b>Figure 21 :</b> CMI des extraits éthanoliques .....	49
<b>Figure 22 :</b> CMI des extraits aqueux .....	49

<b>Figure 23</b> : CMI des extraits méthanoliques.....	49
<b>Figure 24</b> : CMF des extraits à l'hexane de <i>T.vulgaris</i> de Mostaganem chez <i>C.albicans</i> ...	51
<b>Figure 25</b> : CMF des extraits au méthanol de <i>T.vulgaris</i> de Mostaganem chez <i>C.albicans</i> ..	52
<b>Figure 26</b> : CMF des extraits à l'éthanol de <i>T.vulgaris</i> de Mostaganem chez <i>C.albicans</i> .....	52
<b>Figure 27</b> : CMF des extraits aqueux de <i>T.vulgaris</i> de Mostaganem chez <i>C.albicans</i> .....	52
<b>Figure 28</b> : CMF des extraits à l'hexane de <i>T.vulgaris</i> de Naama chez <i>C.albicans</i> .....	53
<b>Figure 29</b> : CMF des extraits au méthanol de <i>T.vulgaris</i> de Naama chez <i>C.albicans</i> .....	53
<b>Figure 30</b> : CMF des extraits à l'éthanol de <i>T.vulgaris</i> de Naama chez <i>C.albicans</i> .....	53
<b>Figure 31</b> : CMF des extraits aqueux de <i>T.vulgaris</i> de Naama chez <i>C.albicans</i> .....	53

## Liste des abréviations :

<b>CMI</b>	Concentration Minimale Inhibitrice
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>5FC</b>	5 Fluoro-Cytosine
<b>AMB</b>	Amphotéricine B
<b>ANI</b>	Anidulafungine
<b>Cm</b>	Centimètre
<b>CMF</b>	Concentration Minimale Fongicide
<b>df-di</b>	Différence de la densité optique finale et initiale des solutions expérimentales
<b>Df-Di</b>	Différence de la densité optique finale et initiale des solutions témoins
<b>ECBU</b>	Examen Cytobactériologique des Urines
<b>FCZ</b>	Fluconazole
<b>g</b>	Gramme
<b>h</b>	Heure
<b>IEP</b>	Immunoélectrophorèse
<b>ITZ</b>	Itraconazole
<b>Kg</b>	Kilogramme
<b>Min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>Mm</b>	Millimètre
<b>MTL</b>	Mating Type Locus

<b>N°</b>	Numéro
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène
<b>POS</b>	Posaconazole
<b>PTK</b>	Phi Theta Kappa
<b>S</b>	Taux de Survie
<b>TNF</b>	Facteur de Nécrose Tumorale
<b>UFC</b>	Unité Formatrice de Colonie
<b>VCZ</b>	Voriconazole
<b>VIH</b>	Virus de l'Immunodéficience Humaine

## Résumé :

Ce travail s'intéresse à l'étude de l'activité antifongique des extraits de *Thymus vulgaris* récolté de deux régions différentes du pays (Mostaganem et Naama) sur la croissance de *Candida albicans* impliqué dans les infections urogénitales particulièrement chez les patients de sexe féminin. Les extraits ont été obtenus par macération dans différents solvants à polarités croissante dont : l'hexane, le méthanol, l'éthanol et l'eau. Les extraits ont été ensuite testés à différentes concentrations différentes ; (0, 20, 40, 60, 80 et 100 %) respectivement. Différentes méthodes de mesures ont été employées : la méthode directe, la méthode des disques par diffusion, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF). D'après les résultats obtenus, il apparait que l'espèce *Thymus vulgaris* autochtone, est dotée d'un bon nombre de composés bioactifs antifongiques présentant une action de type fongicide contre l'espèce de levure étudiée ; *Candida albicans*.

**Mots clés :** *Thymus vulgaris*, activité, solvant, polarité, antifongique, extraits, *Candida albicans*, infection, urogénitale, CMI, CMF

## Abstract :

This work investigates the antifungal activity of extracts of *Thymus vulgaris* collected from two different regions of the country (Mostaganem and Naama) on the growth of *Candida albicans* involved in urogenital infections, particularly in female patients. The extracts were obtained by maceration with various solvents with increasing polarities including: hexane, methanol, ethanol and water with different concentrations; (0, 20, 40, 60, 80 and 100% respectively). Different methods of measurement were used: the direct method, the diffusion disc method, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicidal concentration (CMF). According to the results obtained; it appears that the native *Thymus vulgaris* species is endowed with a good number of bioactive antifungal compounds having a fungicidal action against the yeast species *Candida albicans*.

**Key words:** *Thymus vulgaris*, activity, solvent, polarity, antifungal, extracts, *Candida albicans*, infection, urogenital, CMI, CMF

## ملخص :

يبحث هذا العمل في النشاط المضاد للفطريات لمستخلصات الزعتر البري التي تم جمعها من منطقتين مختلفتين من البلاد (مستغانم وناعامة) على نمو خميرة الكانديدا المشاركة في التهابات الجهاز البولي التناسلي ، وخاصة لدى الإناث.

تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع بمختلف المذيبات ذات القطبية المتزايدة بما في ذلك: الهكسان والميثانول والإيثانول والماء بتركيزات مختلفة ؛ (0 و 20 و 40 و 60 و 80 و 100% على التوالي).

تم استخدام طرق مختلفة للقياس: الطريقة المباشرة ، وطريقة بث الانتشار ، والحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) والحد الأدنى من تركيز فطريات (CMF).

وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها ؛ يبدو أن نوع *Thymus vulgaris* الأصلي يحتوي عدد جيد من المركبات المضادة للفطريات النشطة بيولوجيًا التي لها عمل مضاد للفطريات *Candida albicans*.

**الكلمات المفتاحية:** الزعتر البري ، النشاط ، المذيب ، الأقطاب ، المضادات الفطرية ، المستخلصات ، *Candida albicans* ، العدوى ، البولي التناسلي ، CMI ، CMF

### Introduction :

Depuis des milliers d'année, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant, l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (**Hans, 2007**).

Le *Thymus vulgaris* est une plante médicinale et aromatique très utilisée en médecine traditionnelle ; elle contient plusieurs composés bioactifs dont le thymol, le carvacrol et les flavonoïdes utilisés dans les domaines pharmaceutiques, alimentaires et en parfumerie. A la fois antibactériennes et fongicides, ils possèdent des propriétés antispasmodiques et antioxydants (**Teuscher et al., 2005**).

L'augmentation des infections fongiques montre que, c'est au sein de l'embranchement des mycètes que se trouvent les microorganismes, potentiellement, les plus adaptés à un tel comportement. Les candidoses, dues aux levures du genre *Candida*, sont les infections opportunistes les plus fréquentes, et leur fréquence a doublé ces dernières années. Du coup, elles représentent désormais plus de 80% des infections à levures (**Eggimann et al., 2003**).

C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier les effets antimicrobiens des principaux composés bioactifs de *Thymus vulgaris*, des labiées très fréquemment employées dans le pourtour méditerranéen chez particulièrement espèce *Candida albicans* la plus incriminée dans les infections uro-génitales et dont le traitement conventionnel aux antifongiques semble être atténué.



## Généralité sur le *Thymus vulgaris* :

### 1. Définition :

*Thymus vulgaris* est une espèce de plante toujours verte de la famille des Lamiacées originaire des régions méditerranéennes et a été adaptée à de nombreux climats différents à travers le monde. C'est un arbuste touffu, ligneux, de 10 à 40 cm de haut, avec de petites feuilles ovales gris-vert très aromatiques contenant de nombreuses petites glandes avec des grappes de fleurs roses ou violettes. Le genre *Thymus* comprend environ 400 espèces, dont plusieurs sont largement utilisées en médecine traditionnelle (Teuscher et al., 2005).

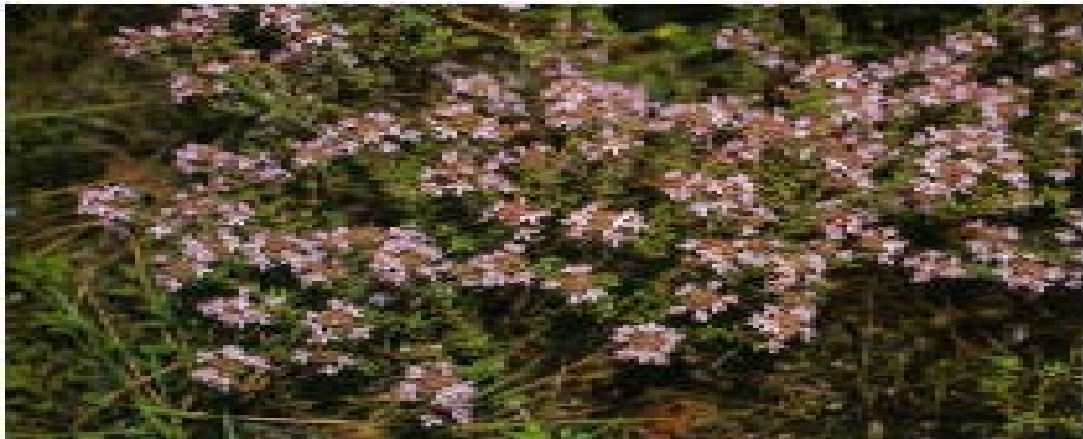


Figure 1. *Thymus vulgaris* (Teuscher et al , 2005)

### 2. Historique :

Dans ses divers pays d'origines, le Thym était connu en qualité d'aromate depuis l'antiquité, bien que l'on ne sache pas exactement quelle espèce de Thym étaient utilisées à cette époque. Discorde (2<sup>e</sup> moitié de 1<sup>er</sup> siècle) et Hippocrate (460 à 370).

Le mentionnent déjà dans leurs écrits. Ce sont les Romains qui l'ont introduit en Angleterre. Comme de nombreuses autres plantes médicinales et aromatiques, son usage s'est répandu dans toute l'Europe, dès le début du moyen âge, grâce au moine bénédictin.

Le Thym entrerait dans la composition de diverses préparations (alcoolature vulnéraire, baume tranquille, baume opodeldoch....) et faisait partie des espèces vulnéraires (Teuscher, 2005).

### 3. Classification :

Le *thymus vulgaris* est aussi nommé par : saatar, zaatar, Thym vulgaire, Thym des jardins, Farigoule, Thym commun, Thym cultivé (Goetz et Ghedira, 2012).

**Tableau 1.** Classification botanique de *Thymus vulgaris*

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	Thymus
<b>Espèce</b>	Thymus vulgaris L

(Morales, 2002)

**4. Habitat :**

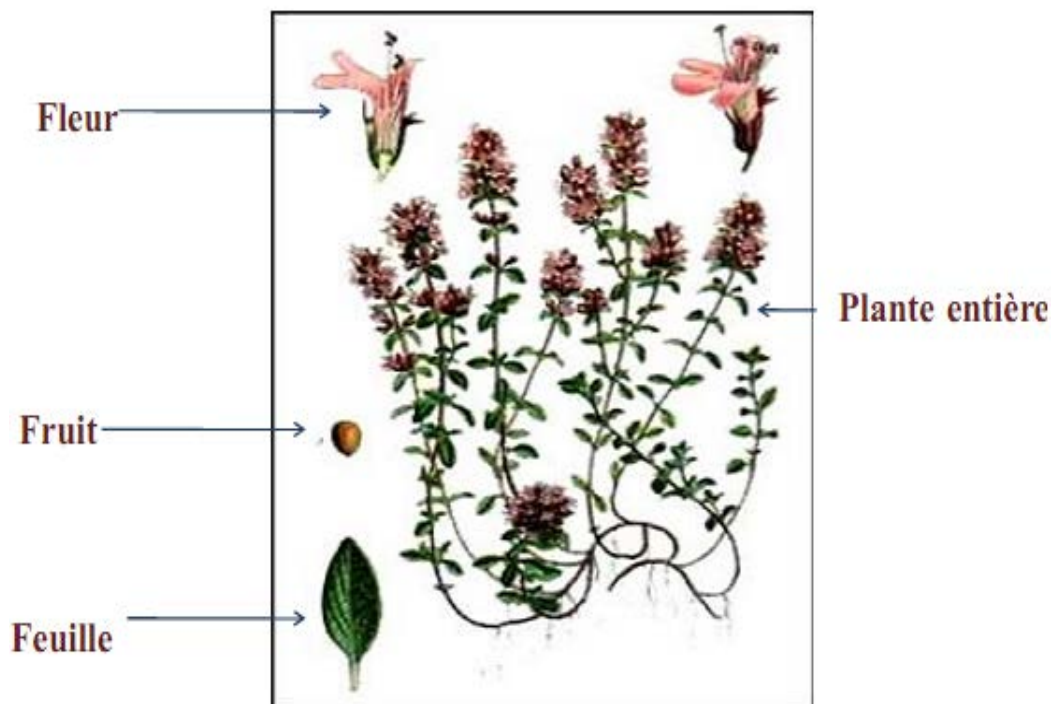
Le Thym pousse sur les endroits naturels, sols légers et calcaires, mais il prospère tout aussi bien sur sols fertiles argileux mais non détrempés. Il nécessite des endroits bien ensoleillés et supporte relativement bien la sécheresse. C'est d'ailleurs sur sols pauvres (maquis, rocaille de garrigue) que se développe le mieux son arôme. Dans les endroits de fortes gelées, une protection est recommandée durant l'hiver.

Sa multiplication se fait par semis superficiel (germination à la lumière), réalisé mi-avril ou plus rarement en août, en rangées écartées d'environ 20 à 30 cm, sur sol léger et sablonneux. (Goetz et Ghedira, 2012).

**5. Description botanique :**

*Thymus vulgaris*, est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30 en hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre. Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques, ces tiges ligneuses et très rameuses sont regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court et blanchâtres à leur face inférieure.

Ses fleurs sont presque roses ou presque blanches, font de 4 à 6 mm de longueur, sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois ç l'aisselle des feuilles supérieures. Le limbe du calice est bilabié, un peu bossu. La corolle de taille variable, un peu plus longue que le calice mais la partie tubulaires de la corolle ne dépasse pas celle du calice, les étamines sont incluses, la période de la floraison commence en mai-début de juin (Bruneton, 2009).



**Figure 2.** Aspects morphologiques de *Thymus vulgaris* L.  
(Iserin, 2001)

#### 6. Propriétés du thym :

- Assaisonnement des aliments et de boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicide (Bazylo et Strzelecka, 2007).
- Propriétés anti virales, antifongiques, anti inflammatoire, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des

parties aériennes de *thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) (Jiminez-Arellanes et al., 2006).

### 7. Production :

Durant la première année de culture, la récolte a lieu juste avant la floraison (jusqu'à fin de septembre) et dans la seconde année, de juin à début de septembre, à environ 10 cm au-dessus du sol. Deux coupes annuelles sont donc possible, la première en début de floraison en début d'automne. C'est en début d'après-midi que la teneur en huile essentielle est maximale.

Après séchage entre 35 et 40 °C, le montage et le tamisage sont réalisés, de manière mécanique. Pour un usage personnel, il est recommandé de récolter les feuilles fraîches et les tiges fleuries au fur à mesure des besoins. Dans un contexte industriel, le thym est récolté encore aujourd'hui en partie de pieds, à partir de pieds sauvages (Teuscher, 2005).

### 8. Répartition géographique dans le monde :

Les pays d'origine des espèces de *Thymus* sont partiellement ceux situés dans la méditerranée s'étalant de l'Ouest de l'Europe jusqu'au sud de l'Italie (Teuscher et al., 2005).

Les principaux pays producteurs sont surtout d'Europe, plus particulièrement la France, l'Espagne, la Grèce, le Portugal, l'Italie, la Tchétchénie, la Hongrie, la Pologne, l'Ukraine, le Maroc, l'Algérie et les Etats Unis, l'inde, l'Argentine, l'Afrique de l'Ouest et du Sud (Teuscher et al., 2005).

### 9. Composés bioactifs :

Un très grand nombre de genres de la famille des Lamiacées sont des sources riches en terpénoides, flavonoïdes, iridoïdes glycosylés et composés phénoliques (Naghbiet al., 2005).

Les acides phénoliques: acide caféique (Cowan, 1999), acide rosmarinique (Takeuchiet al., 2004).

Les flavonoïdes: hespéridine, eriotrécine, narirutine (Takeuchi et al., 2004), lutéoline (Bazytko et Strzelecka, 2007).

Les polyphénols: tannin (Cowan, 1999 ; Özcan et Chalchat, 2004).

Les terpènes :

Une étude effectuée sur les parties aériennes de l'espèce *Thymus vulgaris* L, a permis l'isolement de monoterpènes glycosylés, dont un nouveau (R)-p-cymen-9-yl beta-D-glucopyranoside et trois connus (**Takeuchiet al., 2004**).

**10. Activités biologiques des flavonoïdes :****10.1. Activités antimicrobiennes:**

## a) Activité antibactérienne :

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antibactériennes. Des isoflavones sont connus comme bactéricides ou bactériostatiques, en particulier vis-à-vis des bactéries Gram + (**Jimenez-Gonzalezetal., 2008**).

Les flavonoïdes agiraient à plusieurs niveaux. Il semblerait que le cycle B joue un rôle important dans l'intercalation avec les acides nucléiques et inhiberait ainsi la synthèse d'ADN et d'ARN (**Cushnie et al., 2005**).

## b) Activité antifongique:

De nombreux flavonoïdes possèdent des activités antifongiques, le plus grand nombre appartient aux flavanones et aux flavanes (Grayer et al., 1994). Une flavanone prénylée (5, 7,4'- trihydroxy-8-méthyl-6-(3-méthyl-[2-butényl])-(2S)-flavanone) ainsi qu'une flavane (7-hydroxy- 3',4'-(methylènedioxy)-flavane) sont actives contre *Candida albicans* (**Cushnieet al., 2005**).

Quelque soit la classe de flavonoïdes considérée, il apparait que le caractère lipophile des composés augmente l'activité, permettant aux molécules de pénétrer plus facilement à travers la membrane fongique (**Jimenez et al., 2008 ; Grayeret al., 1994**).

## c)Activité antivirale :

La génistéine, ainsi que d'autres flavonoïdes (quercétine, kaempférol, 5, 6,7-triméthoxyflavone, 3-méthylkaempférol) sont actifs in vitro sur plusieurs souches virales, que ce soit des virus non- enveloppés (poliovirus, adénovirus) ou des virus enveloppés (Retroviridae comme VIH, Flaviviridae, Herpes virus...). Le flavonoïde le plus étudié est de

loin la génistéine, néanmoins les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidé (**Andres et al., 2009**).

La génistéine pourrait être active en inhibant la PTK (inhibition de l'entrée du virus), en inhibant la phosphorylation de la glycoprotéine E et d'autres polypeptides viraux (inhibition de l'assemblage du virus), en inhibant la sécrétion du facteur TNF- $\alpha$ , ou en inhibant l'expression de certains gènes viraux (inhibition de la réplication virale) (**Andres et al., 2009**).

Des isoflavanones ainsi que des isoflavonoïdes prénylés ont une activité antivirale sur le VIH, des études suggèrent qu'une absence de groupement hydroxyle en position 4' et une absence de tout substituant en position 5 est nécessaire à l'activité (**Botta et al., 2009**).

Des flavones (baicaléine, robustaflavone, hinokiflavone) sont décrites comme inhibant la reverse transcriptase du VIH-1, une autre flavone, la chryisine apparait comme la molécule présentant le meilleur index thérapeutique contre VIH-1 (**Cushnie et al., 2005**).

### **10.2. Activités antiparasitaires:**

De nombreux flavonoïdes possèdent des propriétés antiparasitaires contre:

- Plasmodiumsp (**Wright, 2010**).
- Leishmaniasp (**Tasdemir et al., 2006**).
- Trypanosomas (**Tasdemir et al., 2006**).

### **10.3-Activités estrogéniques et anti-estrogéniques :**

Ces activités sont dues essentiellement aux isoflavonoïdes qui font partie des phytoestrogènes qui peuvent être définis comme toute substance issue de plante qui est capable d'induire ou de moduler une réponse estrogénique chez les vertébrés en se liant à des récepteurs estrogéniques.

Les phytoestrogènes regroupent des flavanones, des lignanes, des coumestanes et beaucoup d'isoflavonoïdes (**Chatenet, 2008**).

### **10.4-Potentiel antioxydant:**

L'activité anti-radicalaire des flavonoïdes est conditionnée par (**Halbwirth, 2010 ; Kale et al., 2008 ; Mladinka et al., 2010 ; Rufer et al., 2006**).

## 11. Utilisation :

*Thymus vulgaris* est une des plus populaires plantes aromatique utilisées dans le monde entier, ces applications sont très vastes et touchent le domaine alimentaire et celui de la médecine traditionnelle (Adwan et al., 2006).

La feuille et la sommité fleurie de *Thymus vulgaris* sont traditionnellement utilisées par voie orale dans le traitement symptomatique de troubles digestifs tels que : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructation, flatulence ainsi que dans le traitement symptomatique de la toux et de la bronchite (Bruneton, 1999).

En usage local, elles sont traditionnellement utilisées en cas de nez bouché, de rhum pour le traitement des petites plaies après lavage abondant pour soulager les piqûres d'insectes et les douleurs rhumatismales, en bas de bouche pour l'hygiène buccale (Poletti, 1988 ; Brunton, 1999).

Ainsi comme additifs de bain préparé par décoction qui stimule l'écoulement de sang vers la surface du corps humain, soulageant de ce fait la dépression nerveuse (Ozcan et Chalchat, 2004).

## 12. Extraits hydro alcoolique de plantes fraîches ou alcoolatures :

L'extraction permet l'obtention d'une forme pulvérulente (extrait sec, atomisât), pâteuse (extrait mou) ou liquide (extrait fluide, teinture, teinture-mère) concentré en principes actifs. Après le broyage de la plante, la poudre obtenue est traitée par un solvant, par simple contact ou par lixiviation. On utilise généralement de l'eau ou un alcool, ou un mélange hydro-alcoolique de titre variable, le plus souvent à chaud. Cette extraction permet d'isoler tous les principes actifs et de conserver leur éventuelle synergie d'action. Le liquide ainsi obtenu est ensuite filtré afin d'éliminer le résidu insoluble.

Puis, une phase d'évaporation élimine tout ou une partie du solvant. La forme ainsi obtenue :

- est une forme concentrée en principes actifs.
- peut être ajustée à une teneur fixe en principe actifs (pour assurer une reproductibilité de l'action) et peut être incorporée dans une forme galénique permettant un usage aisé, y compris en ambulatoire (gélules, solution, etc.) buvable (Kabore et al., 1998).

### 13. Types d'extraits végétaux :

#### 13.1. Huiles essentielles :

On appelle huiles essentielles (ou parfois essences végétales) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Laurent et Delene, 2008**).

#### 13.2. Les oléorésines (concrète et résinoïdes) :

Les extraits obtenus à l'aide des solvants organiques volatils –éther de pétrole, hexane, éther éthylique, alcool éthylique, acétone, dioxyde de carbone, chlorure de méthylène, benzène, toluène, etc., sont plus complets que les huiles essentielles car ils contiennent non seulement les composés volatils mais aussi d'autres constituants qui n'étaient pas entraînés par la vapeur d'eau (triglycérides, cires, colorants de nature lipidique) et composés sapides. Notons que le solvant doit être éliminé avec le plus grand soin de manière à ne pas faire disparaître les constituants les plus volatils. Par ailleurs, la plupart des solvants utilisés ont l'objet d'une réglementation stricte dictée par des considérations de santé.

Par cette méthode d'extraction deux types de produits sont fabriqués :

- Les concrètes à partir de substances végétales fraîches.
- Les résinoïdes à partir des substances végétales sèches.

Le terme « oléorésine désigne indifféremment l'un ou l'autre de ces deux extraits (**Mathieu et Fonteneau, 2008**).

#### 1.1.13.3 Autres types d'extraits :

A des degrés moindres, d'autres techniques sont également utilisées pour la préparation d'extraits : Macération à froid, digestion à chaud, décoction à l'ébullition, lixiviation ou percolation à froid ou sous pression, infusion à chaud puis à froid, et teinture alcoolique (**Branger et Richer, 2007**).



### Généralité sur *Candida albicans* :

#### 1. Définition :

*Candida albicans* est une levure commensale de la voie orale, vaginale, gastro-intestinale, cutanée et des surfaces muqueuses. Elle est considérée comme pathogène fongique opportuniste le plus commun chez l'humain.

En réponse à des changements dans l'équilibre nutritif ; la température et le ph ; des transitions morphologiques entre la forme levure et la forme hyphe peuvent être subites.

Exceptionnellement et sous certaines conditions ; *candida albicans* peut former des chlamydospores (sudbery et al., 2004).

Cette levure possède des mécanismes d'adaptation complexes ; lui permettant de survivre dans diverses conditions environnementales et de causer une grande variété d'infection : superficielles (candidoses muco-cutanées) ou profondes (candidoses systémiques, souvent mortelles). La transition saprophyte-pathogène s'opère à la suite d'une baisse des défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales), permettant la multiplication des levures (Segal ,2005 ; Sarazin, 2010).

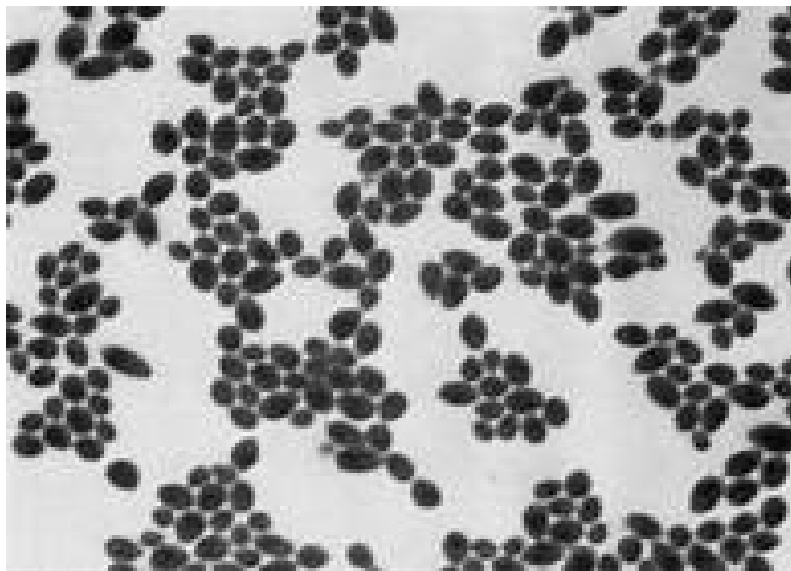


Figure 03. *Candida albicans* (sudbery et al., 2004).

#### 2. Historique :

Les vaginites mycosiques deviennent actuellement les principales causes de vaginite en général. Il est assez fréquent de mettre en évidence dans les sécrétions vaginales des filaments mycéliens divers.

**En 1840**, Wilkinson établit une corrélation entre une vulvo-vaginite et la présence.

**En 1875**, Haussamann prouve la pathogénicité de *candida albicans* pour les voies génitales féminines en provoquant, par inoculation des pertes de malades porteuses de champignons, une vulvo-vaginite chez les témoins sains.

**En 1909**, de nombreux auteurs décrivent des cas d'affections uro-génitales aigus ou chroniques en rapport avec la présence de *Candida albicans*.

**En 1938**, Jones Martin et Durant identifiaient les espèces suivantes :

*Candida albicans* 44 %

*Candida stelloïde* 43,7 %

*Candida tropicalis* 1,3 %

*Candida parakruessei* 1%

Depuis cette date, nombreuses publications sont faites dans ce domaine notamment par :

Feo et Dellette (1953), Halde et Dragon (1956) Drouhet(1965)

**En 1939**, le nom de candidose a été donné sur décision du congrès international de microbiologie à New York.

### 3. Habitat :

*Candida albicans* est une levure de forme variable ronde à allongé. Commensale dans le tube digestif de l'homme, des mammifères et des oiseaux. Il n'est normalement jamais retrouvé dans l'environnement à moins d'une contamination par l'homme ou l'animal. Cette levure est un opportuniste qui devient pathogène sous l'effet de facteurs favorisant généraux ou locaux (Segal, 2005).

### 4. Classification :

Le genre *candida* compte 196 espèces, dont seulement une dizaine ont été reconnues pathogènes pour l'homme, en raison de leur faculté d'adaptation à la température de 37 °C (Benmansour, 2012).

**Tableau 2** : classification botanique de *Candida albicans*

<b>Règne</b>	Champignons
<b>Division</b>	Eumycota
<b>Phylum</b>	Deuteromycotina
<b>Classe</b>	Blastomycete (levures asexuées)
<b>Ordre</b>	Moniliales
<b>Famille</b>	Moniliaceae
<b>Genre</b>	Candida
<b>Espèce</b>	Candida albicans

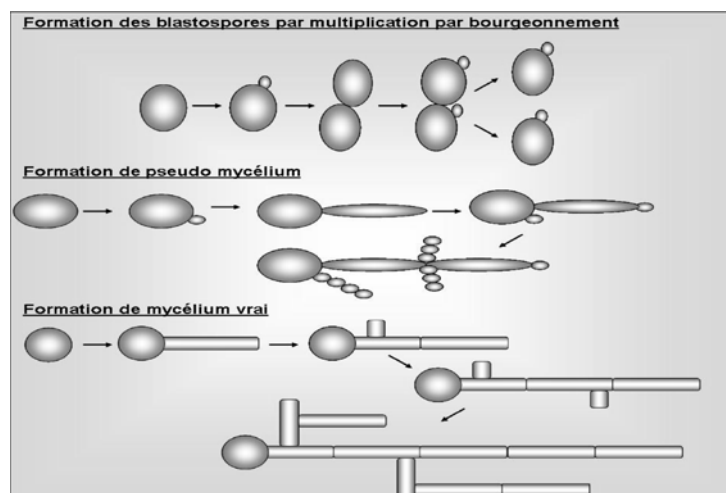
(Browser, 2007)

## 5. Caractères morphologiques et conditions de croissance :

### a- Reproduction asexuée :

Les blastospores ou blastoconidies c'est la forme la plus courante de multiplication de *C.albicans*. Elles se présentent sous forme de petites cellules ovoïdes de 3.5à 6 micromètres sur 6 à 10 micromètres.

Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille identique à la cellule mère (Benmansour ; 2012).



**Figure 4** .Morphologie de *Candida albicans*  
(Odds, 1988)

**b- Reproduction sexuée :**

*Candida albicans* a été considéré comme un champignon diploïde asexué. Mais depuis la découverte du Mating Type Locus (MTL) et des conditions nécessaires à la reproduction de *C.albicans*, un cycle parasexuel a été établi (reproduction et réduction du génome mais sans méiose) comme possible modèle de reproduction sexuée de *C.albicans* (**Johnson, 2003**).

En effet ; la croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7. Les températures de croissance entre 20°C et 30°C pour la majorité des levures. Les espèces pathogènes sont capables de croître à 37°C (**Benmansour, 2012**)

Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies. Il vit exclusivement sur les muqueuses, mais il peut cependant survivre dans le milieu extérieur : 7 à 8 semaines sur le sable des plages, même arrosé d'eau de mer. Mais elle est détruite par le lavage de la ligne, la stérilisation du matériel médical et des cathéters (**Euzeby, 1994**)

**6. Forme de résistance :**

Dans certaines conditions de cultures, chez *C.albicans*, des grosses spores peuvent apparaître sur les filaments mycéliens, ces spores sont rondes ou ovales, à paroi épaisse, de 6 à 12 micromètres de diamètre, se sont des chlamydospores (**Odds, 1979**).

**• La formation de biofilm :**

Le biofilm est un amas de microorganismes adhérant à un support, enrobés d'une matrice exopolysaccharidique (**Hawse et al., 1995**). Les biofilms se constituent sur toute interface solide/liquide et sur les tissus vivants. Ils constituent une barrière protectrice pour le tissu sous-jacent contre les agressions physiques, chimiques, thermiques et biologique.

Par contre lorsque l'organisme s'affaiblit et que ses défenses sont perturbées, les biofilms peuvent être des réservoirs microbiens à l'origine d'infections. La structure d'un biofilm est tout à la fois hétérogène, micellaire, filtrante, évolutive.

On distingue quatre étapes dans l'évolution d'un biofilm : (**Hawse et al., 1995**).

- ✓ **Une phase planctonique :** les microorganismes sont à l'état libre au sein de liquide dans lequel le support est immergé.
- ✓ **Une phase d'adhérence au support :** des microorganismes de la phase liquide se fixent sur le support et y forment des communautés pionnières.

- ✓ **Une phase de recouvrement (attachement)** : les communautés pionnières prolifèrent jusqu'à recouvrir toute la surface disponible du support avec formation d'une monocouche ; ceci facilite la fixation d'autres microorganismes sur de nouvelles couches.
- ✓ **Une phase de croissance ou phase sessile** : la prolifération des microorganismes.



**Figure 05** .Formation de biofilm chez *Candida albicans*  
(Hawse et al., 1995).

### 1.2.7. Caractères physiologiques :

Les différentes espèces de *candida* se distinguent par leurs caractères nutritionnels et biochimiques. Nous nous intéresserons plus particulièrement à *C.albicans* ; qui est la levure pathogène la plus fréquemment rencontrée (Benmansour, 2012) :

- Cette espèce possède la propriété de fermenter le glucose et le maltose mais pas le lactose, ni le raffinose, ni le saccharose.
- Elle est incapable de réduire les sels de tétrazolium et de transformer en un composé coloré (la colonie restera blanche)
- *C.albicans* n'est pas inhibé par l'actidione.
- *C.albicans* réduit le sulfite de bismuth (milieu de Nickerson Cator).
- *C.albicans* n'élabore pas d'uréase.

- *C. albicans* produit une protéase keratolytique, capable de digérer la couche cornée de l'épiderme, d'où la pathogénicité du champignon lorsqu'il est présent à la surface de la peau.

### 8. Pouvoir pathogène :

*Candida albicans* est saprophyte, elle devient pathogène s'il elle est retrouvée en grand quantité, elle provoque un érythème cuisant recouvert par fois de dépôts blanchâtre crémeux. Sur la peau *Candida* est pathogène, elle est source de placards érythémateux prurigineux émiétés (**Bouvenot et al., 1996**).

### 9. Critère d'identification :

Il existe plusieurs techniques qui permettent d'identifier *C. albicans* en laboratoire comme par exemple :

- Le test de germination positif, en effet *Candida albicans* formera un hyphes sans constriction lorsqu'elle est placée dans du plasma de lapin à 37°C.
- Le test de chlamydospore sera positif sur milieu RAT du à la présence de tween 80.
- Test de l'uréase négatif sur milieu Christensen.
- Colonie blanche crème, luisant et crémeuse sur gélose sang ou Saboraud (**Bennett et Johnson, 2003**).

### 10. Sérologie :

La détection des anticorps anti-*Candida* a un rôle limité. Bien que la production d'anticorps soit plutôt le reflet d'une colonisation, un élément dans la décision de prise en charge thérapeutique. Au laboratoire de parasitologie-mycologie de Grenoble, on utilise une technique d'immunofluorescence détectant des anticorps dirigés contre des antigènes (maison).

Si ce test est positif, il sera confirmé par une technique d'immunoélectrophorèse (IEP). D'après leurs caractères antigéniques et notamment la nature des peptidomannanes pariétaux, on considère deux syrotypes de *C. albicans* :

- ✓ Le syrotype A
- ✓ Le syrotype B (**Rispail, 2005**).

## Les infections urogénitales :

### 1. Introduction :

*C.albicans* est une endosaprophyte du tube digestif et des muqueuses génitales. Elle peut passer de l'état saprophyte à l'état pathogène sous l'influence de divers facteurs favorisant le plus souvent lié à une défaillance des systèmes de défense de l'hôte. *C.albicans* est capable de survivre comme commensal dans plusieurs sites anatomiques, chacun présentant ses propres pressions environnementales. Ceci explique les manifestations cliniques très diverses causées par ce champignon. Sur le plan clinique, il est habituel de distinguer les candidoses d'origine peut être endogène : des candidoses superficielles, localisées au niveau digestif (muguet, candidose œsophagienne, gastrique, intestinale, anale et péri-anale), génital (vulvo-vaginite à *Candida*, balanite), cutané et unguéal, (intertrigo, péri onyxis et onyxis). Voie exogène : candidoses invasives se produit un passage des *Candida* au travers de la barrière cutané muqueuse, se traduit par une candidémie ou une septicémie qui conduit à la dissémination, par voie hématogène (**institut pasteur**).

### 2. Définition :

Les candidoses sont les infections à champignons levuriformes les plus fréquentes et qui se développent en faveur de la chaleur et de l'humidité. Elles se manifestent aux mêmes endroits que les dermatophytoses, mais il existe aussi des formes buccales, génitales et systémiques (**Calderone et Fonzi, 2001**).

Il y a même eu rapport d'endocardites à *C. albicans* (**Maertens et al., 2001; Kaloterakis et al., 2003**).

### 3. Facteurs de risques d'infection candidosique :

Le champignon pathogène opportuniste *C.albicans* exprime de nombreux facteurs qui contribuent à sa virulence. Sa capacité d'adaptation qui est liée à sa variabilité structurale et antigénique ne considère que la capacité d'adhérer aux composés de l'hôte, le dimorphisme et la sécrétion de protéases et de phospholipases soit les trois facteurs de pathogénicité principaux chez *C.albicans* (**Calderone et al., 1994**).

Il existe de nombreux facteurs pour le développement des candidoses et des candidémies. Ils sont regroupés en deux catégories :

**a- Intrinsèques :**

Les facteurs intrinsèques sont : la colonisation : c'est le facteur de risque principal ; l'antibiothérapie, la neutropénie/immunodépression (sida) ; la hémopathie maligne/cancer ; les traumatismes ; l'influence rénale ; l'âge extrême ; le faible poids à la naissance ; et le nouveau-né prématuré (**Charles et al., 2005**).

**b- Extrinsèques :**

Les facteurs extrinsèques sont : la chirurgie (digestive principalement), l'iatrogène (antibiotique, prophylaxie par antifongiques, corticostéroïdes), l'chimiothérapie, l'épuration extra-rénale, le dispositif implantables ou matériels, la ventilation mécanique, la nutrition parentérale, et la durée d'hospitalisation (**Kourkoumpetis et al, 2011**).

**4. Différents types de candidoses :****4.1. Candidoses cutanées :**

Les candidoses cutanées sont très répandues chez l'homme (**Hay, 1999**). Elles sont favorisées par l'humidité et la macération, ce qui explique l'atteinte préférentielle des plis et leur fréquence chez l'obèse. Elles peuvent résulter de l'extension d'une candidose digestive ou génitale où l'on retrouve des facteurs favorisants comme le très jeune âge, le diabète, la prise d'antibiotique et des corticoïdes.

Il existe également une forme rare de candidoses appelée la candidose mucocutanée chronique qui touche les membranes muqueuses, mais qui peut s'étendre à la peau ou aux ongles. Cette forme de candidoses est associée à des problèmes de l'immunité cellulaire (**Garber, 2001**).

Des données récentes tendraient aussi à l'associer avec des déficient sélectives en anticorps (**Kalfa et al., 2003**).

Les groupes à fort risque de développer une candidose systématique opportuniste sont donc composés de patients ayant des atteintes hématologiques malignes ayant reçu la greffe d'un organe solide et sous une médication immunosuppressive, ceux ayant reçu une chimiothérapie immunosuppressive en prévision d'une greffe de moelle et ceux ayant été victimes de brûlures entraînant la perte de la protection fournie par la peau (**Garber, 2001**).

### **Diagnostic clinique :**

Une infection à *Candida albicans* atteint : les muqueuses frontière artificielles du tube digestif (bouche, anus) ; les zones périphériques de ces muqueuses (génitales) ; les plis (intertrigos) ; et les phanères (essentiellement les ongles, exceptionnellement les poils. (Garber, 2001).

## **4.2 Les infections urogénitales :**

Le système urogénital est composé de deux appareils qui ont chacun une fonction bien Précise :

**L'appareil urinaire** est chargé de purifier sang et de maintenir constante sa composition grâce à un triple mécanisme de filtration, de sécrétion et de réabsorption.

**L'appareil génital** est chargé de la reproduction de l'espèce (Eline, 2008).

### **4.2.1 Appareil urinaire :**

L'appareil urinaire se compose de deux volumineux organes, les reins .Grâce à leurs fonctions de filtration, de sécrétion et de réabsorption, ils forment l'urine qui est acheminée vers la vessie grâce aux deux uretères. Une fois dans la vessie, l'urine est évacuée hors de l'organisme par l'urètre (Eline, 2008.Figure06).

### **4.2.2 Les éléments constituant l'appareil urinaire :**

#### **4.2.2.1 Haut appareil urinaire :**

**Les reins :** Ce sont deux organes en forme de haricot qui mesurent environ 12 cm de longueur, 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur Chaque rein pèse en moyenne 150gr , Ils sont situés en arrière du péritoine, de part et d'autre de la colonne vertébrale entre la 11ème vertèbre dorsale et la 3ème vertèbre lombaire A cause de la présence du foie, le rein droit est un peu plus basse que le gauche (Eline, 2008).

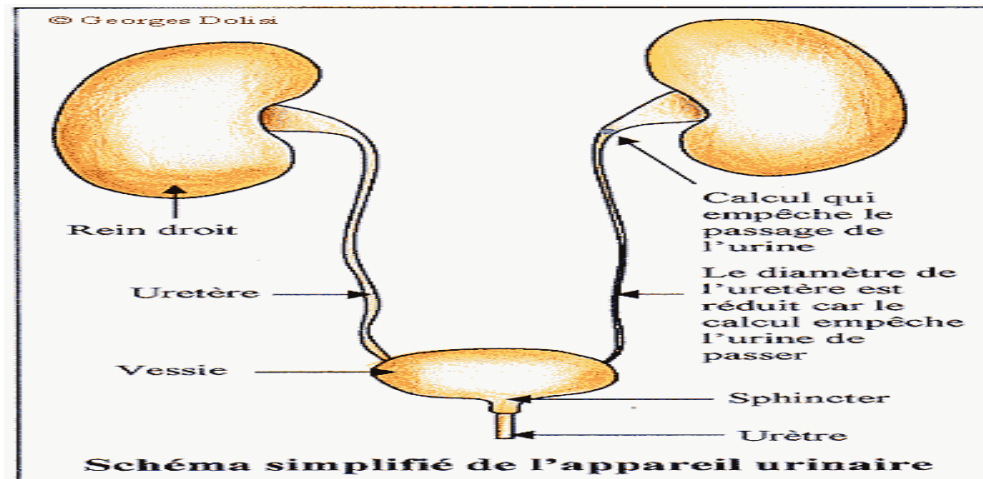
**L'uretère :** Un conduit musculo-membraneux d'environ 4à5 mm de diamètre et de 25mm de long qui véhicule les urines du bassinet à la vessie (Eline, 2008).

#### 4.2.2.2 Bas appareil urinaire :

##### La vessie :

Est un réservoir musculo-membraneux, qui reçoit et emmagasine l'urine dont l'évacuation est assurée par l'urètre (**Eline, 2008**).

**L'urètre** : Possède une tunique musculaire et des sphincters lisses et striée.



**Figure 06:**L'appareil urinaire (**Eline, 2008**)

##### Urine :

L'urine normale est un liquide jaune pâle, elle fonce lorsqu'elle est concentrée par insuffisance d'apport d'eau ou en cas de perte hydrique par transpiration, par exemple. Sa coloration est due à des pigments produits par le métabolisme de l'hémoglobine.

Sa production est le résultat de la fonction excrétrice du rein. Sa composition est liée à celle du plasma, dont elle est un filtrat. L'urine est acide (**Flèche, 2012**).

#### 4.2.3 L'infection urinaire :

L'infection urinaire est une maladie infectieuse très répandue. Il s'agit d'une colonisation des voies urinaires par un et ou plusieurs germes. Les bacilles à Gram d'origine entérique (colon), dans première étape vont coloniser la peau et les muqueuses génitales externes. Ensuite colonisent l'urètre distal. (**Gonthier, 2000**).

*E. coli*, C'est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires, elle représente 85% des cas positifs (**Minor, et Veron, 1989**).

#### 4.2.4. Les types des infections urinaires

L'appareil urinaire est un vaste système de filtration, composé notamment des reins et de la Vessie. Mais ce réseau peut être victime d'infections, de malformations ou d'autres maladies.

#### 4.2.5 Les infections du bas appareil :

##### **Cystite :**

Il s'agit de l'inflammation de la vessie. La plupart du temps l'inflammation est provoquée par la prolifération de bactéries intestinales de type *Escherichia coli*, qui est nombreuses aux environs de l'anus. Les bactéries passent de la région vulvaire à la vessie en remontant l'urètre. Tout ce qui gêne la vidange de la vessie augmente le risque de cystite. La cystite s'accompagne normalement d'une urétrite, l'inflammation de l'urètre (**Minor et Veron, 1989**).

##### **La Prostatite :**

Une prostatite est une inflammation de la prostate, affection fréquente chez l'homme âgé (hypertrophie ou hyperplasie bénigne de la prostate). Si la prostate se développe trop, elle peut resserrer l'urètre et ainsi perturber l'écoulement de l'urine, ce qui rend la miction difficile et douloureuse, voire complètement impossible dans des cas extrêmes (**Pilly, 2008**).

#### 4.2.6 Les infections du haut appareil :

##### **La pyélonéphrite :**

La pyélonéphrite est un état plus grave. Elle désigne l'inflammation du bassinet et du rein. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui permet la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite aiguë survient surtout chez la femme, et principalement la femme enceinte (**Minor et Veron, 1989**).

##### **Urétrite :**

Il est classique de distinguer les urétrites gonococcique, due à *Neisseria gonorrhoeae* et les urétrites non gonococciques due à *Chlamydia trachomatis*, à certains mycoplasmes génitaux (*Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*) et à *Trichomonas vaginalis* (**Minor., et Veron., 1989**).

### 4.3 Facteurs favorisant l'infection urinaire :

Sexe féminin :

- Grossesse
- Activité sexuelle
- Utilisation de spermicides
- Troubles du comportement mictionnel (mictions rares, retenues, incomplètes)
- Diabète déséquilibré et /ou compliqué (neuropathie vésicale)
- Anomalie organique ou fonctionnelle du tractus urinaire (**Brochard et al., 2008**).
- Modifications de la flore vaginale (antibiothérapie, spermicides, diaphragmes, ménopause) (**Tattwin, 2003**).

### 4.4. Causes de l'infection urinaire :

Pour que l'appareil urinaire soit infecté par un germe, il faut une interaction entre ce germe et son hôte. Pour cela, on a :

### 4.5 Facteurs liés à l'hôte :

Les voies de contamination, l'imaturité vésicale, facteurs urétéraux.

### 4.6. Facteurs liés à la bactérie:

Certaines bactéries, comme les colibacilles (ex: *Escherichia coli*), possèdent la capacité d'adhérence, par les organelles filamenteux, à l'épithélium urinaire.

Certains enfants – surtout les fillettes- sont plus susceptibles de développer des infections urinaires et cela est probablement lié à la densité et la disponibilité des récepteurs aux fimbriae (**Tattwin, 2003**).

### 4.7. Symptômes généraux des infections urinaires:

- Des douleurs et des brûlures au moment d'uriner
- Une fréquence anormalement élevée de mictions durant le jour et parfois le besoin d'uriner survient aussi la nuit
- Des urines troubles ; qui dégagent une odeur désagréable
- Une pression dans le bas-ventre
- Des fois du sang dans l'urine

- Des douleurs lombaires
- Une fièvre élevée.
- Des vomissements.
- Des pleurs au moment d'uriner chez les enfants (**Tattevin, 2003**).

#### **4.8 Diagnostic bactériologique :**

##### **4.8.1. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU) :**

En théorie, la ponction sus pubienne de l'urine intra vésicale fournit les prélèvements les plus représentatifs.

En pratique, un prélèvement dit à la volée en milieu de jet a un niveau de fiabilité acceptable après toilette du méat urétral et des organes génitaux externes (écartement des lèvres chez la femme, eau et savon associé éventuellement à un antiseptique).

D'autres méthodes de prélèvement (recueil par sondage urinaire chez les femmes incontinentes ou les porteurs de stomies urinaires, chez les hommes par étuis péniens), doivent être adaptées aux différentes situations cliniques. La méthode de recueil, influant sur le niveau de contamination du prélèvement, doit être précisée, pour une meilleure interprétation des résultats (**Bruyère, 2008**).

#### **5. Appareil génital féminin :**

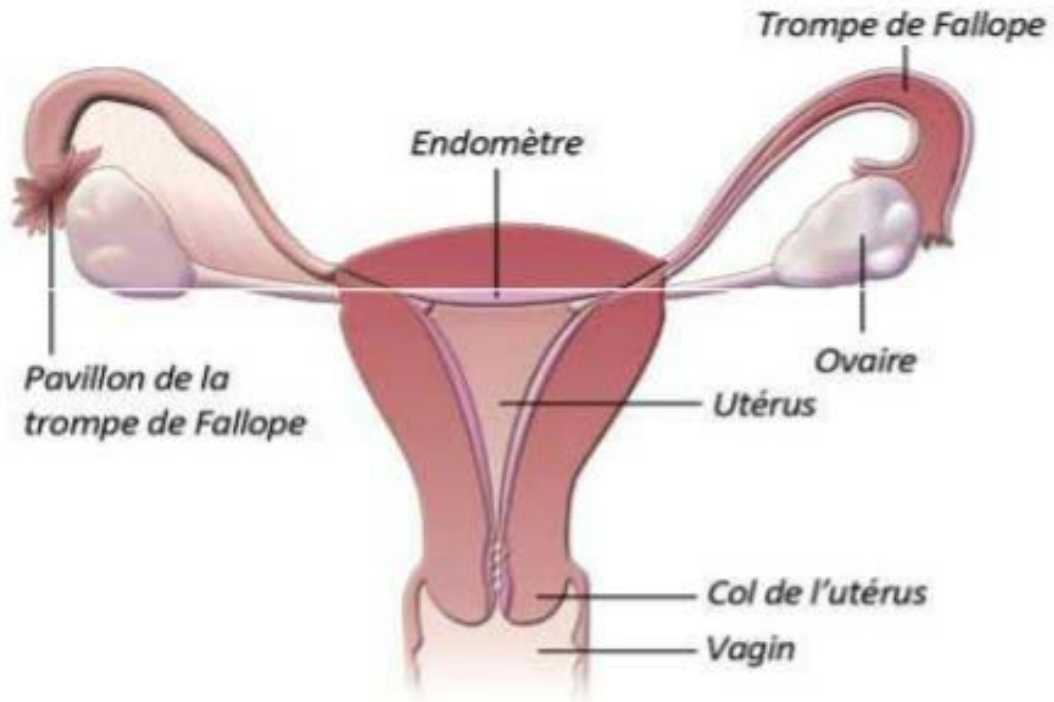
L'appareil génital féminin est l'ensemble des organes chargés de la reproduction chez la Femme comporte trois parties:

- Les organes génitaux internes représentés par deux ovaires
- Les voies génitales formées par la trompe utérine, l'utérus et le vagin
- Les organes génitaux externes comprenant la vulve (**Figure 7**).

##### **5.1. Organes génitaux externes**

###### **Ovaires :**

Les ovaires sont les gonades de la femme .ces glandes paires dont la forme et la taille ressemblent à celles des amandes non écalées sont homologues aux testicules. Les ovaires produisent : Les gamètes, Des hormones telles que progestérones et les œstrogènes.



**Figure 07.** L'appareil génital féminin (Bruyère, 2008)

## 5.2. Voies génitales

### Trompes utérines

La femme possède deux trompes utérines, aussi appelées trompes de Fallope, situées de part et d'autre de l'utérus. Enfouies dans les plis des ligaments larges de l'utérus, ces tubes mesurent environ 10 cm de long.

### Utérus :

L'utérus est un organe que parcourent les spermatozoïdes déposés dans le vagin, pendant qu'ils cheminent les trompes utérines. Il constitue également le siège de l'implantation de l'ovule fécondé. Situé entre la vessie et le rectum, l'utérus a la taille et la forme d'un poire reposant sur la pointe. Sa taille varie selon les étapes de la vie sexuelle de la femme.

### Vagin :

Est un tube fibromusculaire de 10 cm de long tapissé d'une muqueuse qui s'étend de l'extérieur du corps jusqu'au col de l'utérus.

**Vulve :**

Le terme vulve désigne l'ensemble des organes génitaux externes de la femme

La vulve comprend les éléments suivant :

- Le mont du pubis
- Les grandes lèvres
- Les petites lèvres
- Le clitoris
- Le vestibule du vagin
- Le bulbe du vestibule.

**Périnée :**

Le périnée est une région anatomique compris entre les organes génitaux externes et l'anus

**Les glandes mammaires :**

Les glandes mammaire ou seins se développent au moment de la puberté sous l'influence des hormones. Elles sont constituées d'un tissu glandulaire (lobes et canaux galactophores) et d'un tissu adipeux. Se sont organes génitaux externes (**Tortora et Derrickson, 2007**).

**6. Infection génital :****6.1. Flore normale :**

Le tractus génital féminin comprend une partie haut stérile (utérus, trompes, ovaire) et une partie bas très riche en bactéries commensale (vulve et vagin et partie externe de col de l'utérus) (**Gaillard et Simonet, 1988**).

La flore vaginale normale compte des bactéries tant aérobie que anaérobie, les microorganismes de l'espèce *Lactobacillus* occupant une place prédominante et constituante plus de 95 % de toutes les bactéries présentes. On estime que les lactobacilles offrent une défense contre l'infection, ce qui s'explique en partie par le fait qu'ils maintiennent un pH acide dans le vagin et qu'ils assurent la présence de peroxyde d'hydrogène au sein du milieu génital (**Spigel et al., 1980**).

La flore vaginale résidente varie selon l'âge, le stade du cycle ovarien, la grossesse et l'état immunitaire (**Gaillard et Simonet, 1988**).

### 6.3 Types des infections génitales :

#### 6.3.1. Infections basses:

Sont dues, soit à des pathogènes spécifiques exogènes contractés notamment lors des rapports sexuels soit à la prolifération anormale d'une partie de la flore commensale du vagin (Céruvites, vulvites, vaginites) (**Gaillard et Simonet, 1988**).

#### 6.3.2. Infections hautes :

Sont dues à l'extension d'une infection basse ou surviennent à la suite d'une manœuvre chirurgicale ou lors de l'accouchement. (Salpingites, Annescites, Pelvipéritonites) (**Gaillard et Simonet, 1988**).

### 6.4 Microorganismes responsables des infections génitales féminines :

- Peuvent être :
- Des bactéries pathogènes spécifiques exogènes (*Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi*, *Mycoplasma*, *Chlamydia*).
- Des champignons et des parasites ou des virus (Herpès virus)

### 6.5. Diagnostic des infections génitales féminines :

- Il peut s'agir d'une lésion visible des muqueuses (chancre, ulcères, etc.)
- une inflammation des muqueuses (vaginite, urétrite, vulvite, bartholinite, cervicite) avec prurit et leucorrhée d'une femme sans symptômes mais qui est suspecte d'être porteuse d'un pathogène spécifique (partenaire sexuel infecté) (**Gaillard et Simonet, 1988**).

#### 6.5.1 Candidoses buccales et digestives

La candidose orale est une infection opportuniste de la cavité buccale, ayant la plus forte prévalence chez l'humain et causée par la croissance accélérée des champignons unicellulaires du genre *Candida* (**Abu-Elteen et Abu-Elteen, 1998**).

Plusieurs espèces de *Candida* sont responsables de cette infection dont *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* et *C. stellatoidea* avec une forte fréquence de *C. albicans* (**Odds, 1988**).

La population est en général porteuse asymptomatique de *C. albicans* dans une proportion de 20 à 75% (Farah et al., 2000).

### **Diagnostic clinique :**

#### **a- Perlèche :**

C'est un intertrigo de la commissure labiale, uni- ou bilatéral, ou le fond du pli est érythémateux, fissure et macéré.

#### **b- Glossite :**

La lèvre est rouge et dépaillée, il s'agit d'une inflammation aiguë ou chronique de la muqueuse buccale, se traduisant par : une sécheresse de la bouche, une sensation de cuisson, de goût métallique. Elle peut se présenter sous la forme d'une stomatite érythémateuse (gencives et palais) : muqueuse brillante, rouge, vernissée et douloureuse (Institut Pasteur).

#### **c- Muguet :**

Son siège est la face interne des joues. Il s'agit d'un érythème recouvert d'un enduit blanchâtre, qui se détache facilement au racage entraînant une dysphagie (Raspail, 2005).

## **6.6 Traitement chimique des candidoses:**

Chez *C. albicans* Les antifongiques sont des molécules capables d'affecter spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale, ou au moins, de réduire leur prolifération. Contrairement au grand nombre d'antibiotiques et malgré d'importants progrès, la quantité d'antifongiques disponibles reste limitée à un petit nombre de produits (Anofel, 2007).

Les classes de substances antifongiques existant, actuellement, sur le marché inclut les polyènes (amphotéricine B), les pyrimidines analogues (5-fluorocytosine), les dérivés azolés (fluconazole, itraconazole, voriconazole et posaconazole) et enfin, les échinocandines (caspofongine) (Fisher et al, 2011).

### **6.6.1 Sensibilité aux antifongiques :**

La sensibilité de *Candida albicans* à certains antifongiques est rapportée dans le (Tableau3).

**Tableau 3.** Sensibilité à l'amphotéricine B, au 5fluoro-cytosine, aux azotés et aux échinocandines de *Candida albicans*.

Antifongique	AMB	5FC	FCZ	ITZ	VCZ	POS	CAS	ANI	MIC
<i>C.albicans</i>	+	+/-	+	+	+	+	+	+	+

+ :actif ;+/- :intermédiaire ;- :inactif

(Sanglard, 2000)

### 6.6.2 Traitement naturel des candidoses :

**a- Le lait :** de part ses composants ; la galicine et l'alicine ; il est bactériostatique et fongicide.

**b- Le Berberis vulgaris :** son action thérapeutique est due à sa forte concentration en un alcaloïde : la berbérine qui a une activité antibiotique et antifongique empêchant le développement du Candida. Elle a une puissante action de normalisation (**Institut pasteur**).

**c- Les épices :** certains contiennent des phénols, tel que le thymol et le carvacrol, qui ont des propriétés antifongiques. Le gingembre, le thym, la mélisse et le romarin. (**Institut pasteur**).

### 1-Objectif:

Beaucoup d'études ont été réalisées au sujet de l'activité antifongique des extraits de plantes ayant des vertus thérapeutiques dans des journaux spécialisés de microbiologie ou présentées lors de congrès scientifiques d'aromathérapie.

Ces activités sont liées essentiellement à la composition chimique aux groupes fonctionnels des composés majoritaires de ces extraits et à leurs effets synergiques.

Notre étude a pour but de suivre l'effet antifongique des extraits aqueux et organiques de *Thymus vulgaris* sur la croissance de *Candida albicans* responsable de candidose (superficielles et profondes).

### 2-Zone de prélèvement:

Le matériel végétal étudié (*Thymus vulgaris*) a été prélevé le mois de Mars 2018 dans la Wilaya de Mostaganem située au Nord-Ouest du pays de coordonnées  $35^{\circ} 56'00''$  Nord,  $0^{\circ} 05'00''$  Est et à Naama située à l'Ouest de l'Algérie, de coordonnées  $33^{\circ}15'44''$  Nord,  $0^{\circ}18'52''$  Ouest.

Un échantillonnage de 2 à 3 Kg pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce *Thymus vulgaris* a été prélevé puis:

- Etalé sur du papier aluminium.
- Séché à l'air ambiant.
- Broyé de l'échantillon dans un broyeur à lame.
- Mis dans des bocaux hermétiques.
- Conservé à sec et à l'abri de l'humidité.

### 3- Extraction des composés bioactifs aux solvants à différentes polarités :

Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinue solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à une température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous-vide (Sultana et al., 2009).

-L'extraction des composés bioactifs a été réalisée par usage de plusieurs solvants à polarité croissante dont l'hexane, méthanol, éthanol et eau.

- Une prise de 50g d'échantillon a été mélangée avec 500ml de solvant aqueux (400ml/100ml, solvant/eau).

-tout le mélange est laissé 6h à une température ambiante sous agitation.



**Figure 8.** Mélange de l'échantillon avec les solvants

Les extraits ont été filtrés en utilisant un papier filtre whatman n°5 et débarrassées des solvants par évaporation sous vide à l'aide d'un rota vapeur à 45° C.



**Figure9.** Filtration avec du papier filtre



**figure10.**Evaporation dans un rota vapeur sous vide

Les extraits purs riches en composés bioactifs récupérés ont été enfin dilués à l'eau distillée stérile à des taux variables de 0, 20,40, 60, 80,100 % respectivement.



**Figure 11.** Dilution des extraits à l'eau distillée

### 4. Etude des effets antimicrobiens des extraits de *Thymus* :

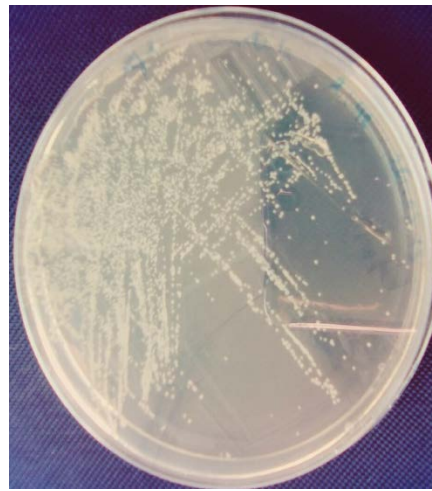
#### 4.1. Activation des inocula microbiens :

Une prise de 0.25g de la souche de référence conservée au froid à 4°C est ensemencée dans 10ml de bouillon nutritif, puis incubée à 37°C durant 3h.

Un prélèvement de 0.1ml de l'inoculum a été pris pour être ensemencée en surface d'une boîte de Petri contenant le milieu gélosé de Sabouraud, puis incubée enfin à 37°C pendant 24h.



**Figure 12.** Activation de la souche



**figure13.** Ensemencement sur milieu Sabouraud

#### 4.2. Méthode de contact direct :

Après activation de la souche de référence, 1ml de cette solution est ajouté à 9 ml d'eau physiologique, suivie d'une série de dilution allant jusqu'à 10<sup>-4</sup>.

1ml à plusieurs fois sont pris de cette dernière dilution et sont mélangés respectivement dans 9 ml de chaque solution d'extraction préparée à (0, 20, 40, 60, 80 et 100%).

2 gouttes de ces dernières solutions sont ensuite ensemencées à plusieurs fois (3fois) en surface des boîtes de Pétri contenant le milieu Sabouraud. Les boîtes sont enfin incubées à 37°C durant 24,48 et 72 heures (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

#### 4.3. Méthode des disques par diffusion sur gélose :

- **Préparation des disques :** Des disques de papier Wathman n°5 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage) sont imbibées pendant 5 min dans chaque concentration d'extraits obtenus.
- **Préparation des milieux de culture :** La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de Pétri stériles de 90 mm de diamètre à raison de 12 ml. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes.

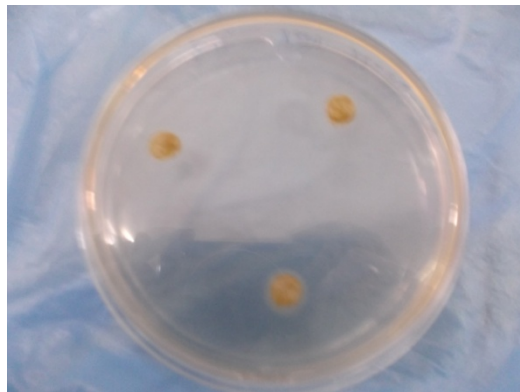
Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

- **Ensemencement** : Des boîtes de Petri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, 3 disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

D'un autre côté, un test de sensibilité aux antifongiques a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet de nos extraits bruts. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

On a utilisé un antifongique puissant contre *Candida albicans* à savoir le (5-fluorocytosine). Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.



**Figure14.** Test de la sensibilité au 5-fluorocytosine

L'activité antifongique est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24,48 et 72 h d'incubation à 37° C.



**Figure 15 .**Activité antifongique

### 4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice(CMI) :

La concentration minimale inhibitrice représente la plus faible concentration en antibiotique, antifongique ou principes composés actifs nécessaires pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Denis et al ., 2011**) après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

Dans cette étude sa détermination est effectuée par la mesure de la turbidité induite par la croissance des germes étudiés. Ainsi, la concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond à la plus petite concentration pour la quelle il y a absence de turbidité.

A l'aide d'une pipette pasteur des prises à raison de 0,2 ml de l'inoculum sont mis respectivement dans les tubes contenant 2ml de chaque concentration d'extrait de *Thymus vulgaris* préparé à (0, 20, 40, 60, 80 et 100%) dans une solution de bouillon Muller Hinton.

La densité optique de chaque tube est mesurée à 625 nm et ceci avant et après incubation des tubes à 37°C durant 18 à 24 heures.

Le taux de survie de *Candida albicans* est déterminé comme suite :

$$S = \frac{df-di}{Df-Di} \times 100$$

**S** : Taux de survie.

**Df -di** : Différence de la densité optique des solutions expérimentales ensemencées avant et après incubation à 37°C durant 18 à 24 heures.

**Df-Di** : Différence de la densité optique de la solution témoin sans extrait de *Thymus vulgari* avant et après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Kra et al., 2001 ; Zirihi et al., 2007**).

### 4.5. Détermination de la concentration minimale fongicide(CMF) :

La concentration minimale fongicide (CMF) est définie comme étant la plus petite concentration d'extrait de la plante qui laisse 0,01% au moins de survivants de l'inoculum initial après incubation (**Moroh et al., 2008**).

Pour sa détermination le tube témoin a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10<sup>-4</sup>. Cette dilution représente 0,01% de survie du microorganisme, elle est cultivée par des stries de 5 cm sur un milieu solide MH à 37°C durant 24 heures.

Le nombre de colonies obtenu sur la strie de la dilution 10<sup>-4</sup> est comparé à celui de chaque tube expérimentale ayant servi à la détermination de la CMI après 24 heures d'incubation.

Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de germes présent sur sa strie est inférieur ou égale à celui de la dilution 10<sup>-4</sup> correspond à la CMF (**Moroh et al., 2008**).

### **5. Traitement statistique :**

Les résultats obtenus ont subi une analyse de variance bi factorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon test de Newman et Keuls et ceci en utilisant un logiciel de statistique ; le stat Box6.4.

## 1- Résultats :

### 1-1- Croissance du germe *Candida albicans* :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* prélevé des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) sur la croissance de *Candida albicans* sont mentionnés dans les (Figures 16 et 17).

Les extraits à l'hexane ; au méthanol, à l'éthanol et à l'eau de *Thymus vulgaris* prélevé de Mostaganem ont engendré de faible croissance microbienne chez *Candida albicans* ( $p < 0,05$ );  $27.10^4$  vs  $27.10^4$ , vs  $27.10^4$  vs  $83.10^4$  UFC/ml, respectivement.

En revanche, les extraits au méthanol, éthanol et à l'eau de *Thymus vulgaris* récolté à Naama ont présenté de médiocres résultats de croissance microbienne ;  $55.10^3$ ,  $277.10^3$ ,  $166.10^3$  UFC/ml, Successivement .

La faible prolifération microbienne est observée avec les extraits à l'hexane, méthanol et à l'éthanol de la plante prélevée de Mostaganem ( $27.10^4$  UFC/ml en moyenne) et avec l'extrait au méthanol pour le *Thymus vulgaris* provenant de la région de Naama ( $55.10^3$  UFC/ml en moyenne).

Apparemment, l'élévation de la concentration aux extraits de la plante de Mostaganem s'est traduit par une nette baisse ( $p < 0,01$ ) de la croissance du germe.

Au-delà de 20, 40, 60,80 et 100% d'extraits, la croissance microbienne reste stable ( $p < 0,01$ ) et varie de  $58.10^3$  à  $250.10^2$  et à 00% UFC/ml pour les trois dernières concentrations.

Concernant le *Thymus vulgaris* de Naama, les extraits préparé à 0% ont présentés une forte croissance du germe *Candida albicans* ( $p < 0,01$ );  $166.10^3$  UFC/ml. La croissance du microorganisme a diminué remarquablement ( $p < 0,01$ ) à 20, 40, 60,80 et 100% d'extraits ;  $83.10^3$ ,  $66.10^3$ ,  $41.10^3$ ,  $33.10^3$  et  $25.10^3$  UFC/ ml en moyenne, successivement (Tableau 4).

### 1-2-Taux de Croissance du germe *Candida albicans* :

Les extraits à l'hexane, au méthanol et à l'éthanol de *Thymus vulgaris* prélevé à Mostaganem ont engendré de faibles taux de croissance chez *Candida albicans* par rapport à l'extrait aqueux de la plante ( $p < 0,01$ ); 16.667 vs 16.667 vs 16.667 vs 49.933 % respectivement.

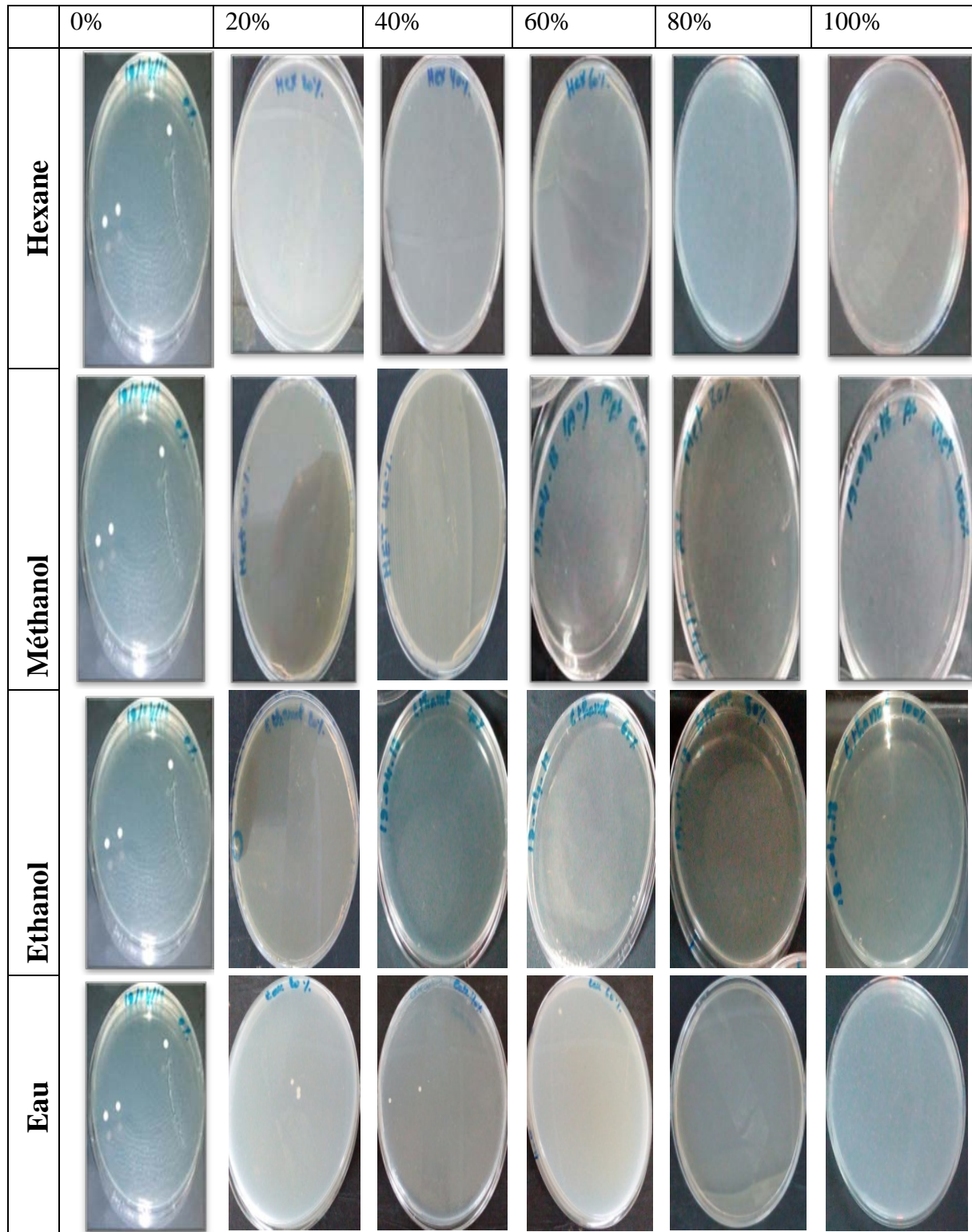


Figure 16. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé de Mostaganem chez *Candida albicans*

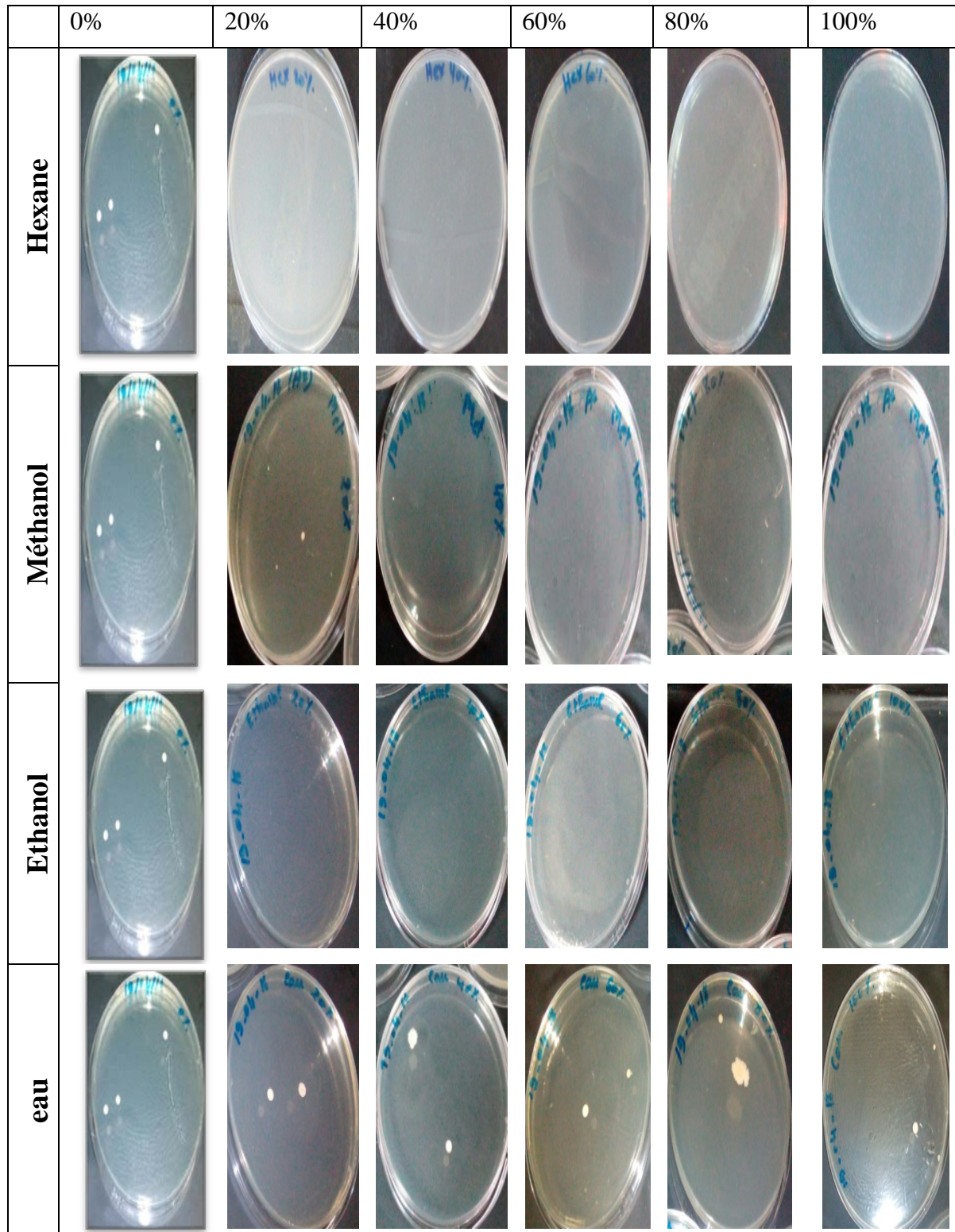


Figure 17. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* récolté à Naama sur la croissance de *Candida albicans*





Cette tendance est maintenue pour les extraits récoltés à Naama à différentes polarités (16.667 vs 33.3 vs 16.667 vs 99.83%), respectivement.

La faible prolifération microbienne est observée avec l'extrait à l'eau de *Thymus vulgaris* prélevé à Mostaganem et Naama ; 49.933 et 99.833 %, en moyenne.

Apparemment, l'élévation de la concentration aux extraits de la plante de Mostaganem de (0 à 20 à 40%) s'est traduit par une nette baisse ( $p < 0,01$ ) du taux de croissance du germe ; de 100 à 34.93 à 14.97 %. A 60,80 et 100% d'extraits le taux de croissance de l'espèce étudiée *Candida albicans* est nulle.

Concernant le *Thymus vulgaris* de Naama, les extraits préparés à 20, 40, 60, 80 et à 100% ont présenté un même taux de croissance du germe *Candida albicans* ( $p < 0,01$ ); 49.9 vs 39.92 vs 24.95 vs 19.96 vs 14.97 % (**Tableau 6**).

### 1-3-Test de diffusion sur disque chez *Candida albicans* :

Les effets des extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* récolté des deux régions de l'étude (Mostaganem et Naama) sur la diffusion de *Candida albicans* sur disque sont mentionnés dans les (**figures 18 et 19**).

Les extraits à l'hexane de Mostaganem ont présenté les meilleurs diamètres d'inhibition ( $p < 0,01$ ) de *Candida albicans* par comparaison à l'extrait à l'eau ; 17.22 vs 7.5mm.

Par ailleurs, les extraits au méthanol et à l'éthanol de Mostaganem ont également accusé des diamètres d'inhibition bien supérieurs à celui de l'eau ( $p < 0,01$ ) ; 13.5 vs 12.5 vs 7.5mm, en moyenne.

Ce pendant, en fonction, des concentrations aux extraits de Mostaganem, les diamètres d'inhibition développés chez *Candida albicans* restent stables de 14 à 15.08mm, en moyenne. Ces valeurs sont néanmoins nettement supérieures ( $p < 0,01$ ) à ceux de l'antifongique de référence (7.5mm).

En d'autre part, les extraits à l'hexane, méthanolique et éthanolique de Naama semblent induire des diamètres d'inhibitions bien supérieurs à celui de l'extrait à l'eau dont les valeurs ont varié de 13 à 17.06mm contre 7.83mm, en moyenne. Ces extraits de thym surtout à l'état pur ont accusé des zones d'inhibition plus élevées ( $p < 0,01$ ) que l'antifongique ; 18.42 vs 7.83, en moyenne (**Tableau 7**).



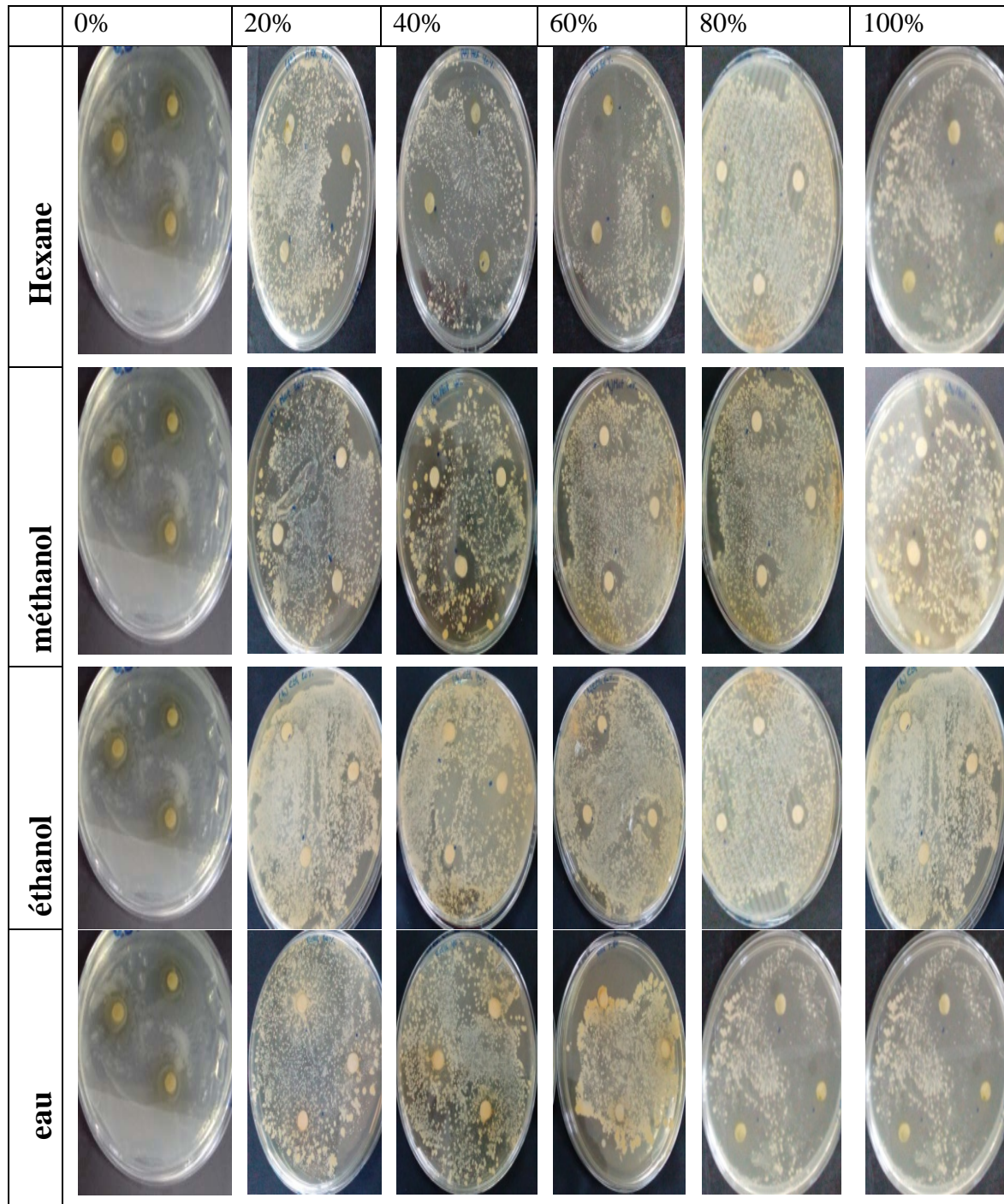


Figure 18. Effets des extraits de *T.vulgariss* de Mostaganem sur le diamètre d'inhibition chez *Candida albicans*

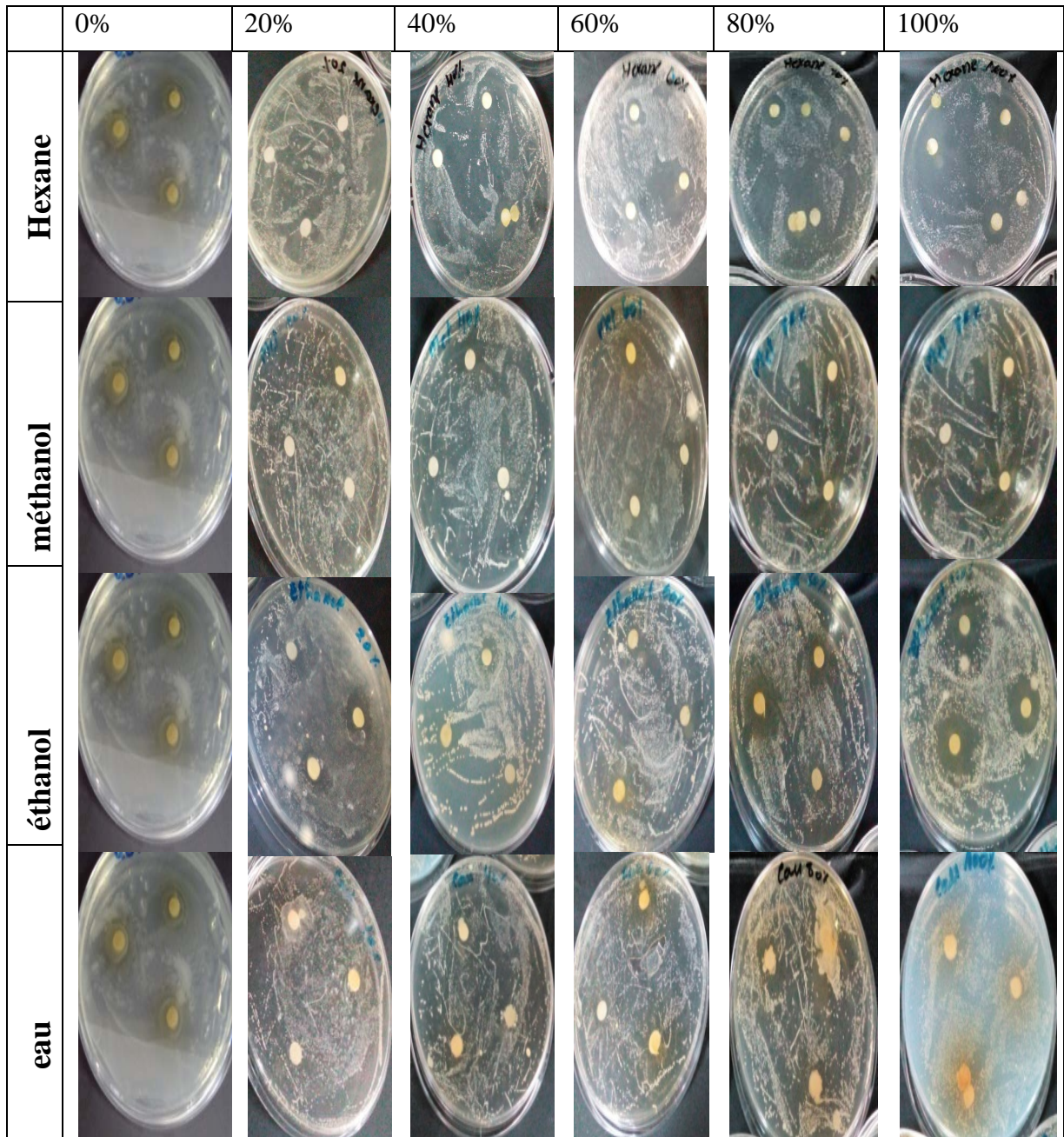


Figure 19. Effets des extraits de *Thymus vulgaris* de Naaama sur les diamètres d'inhibition de *Candida albicans*



### 1.5 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) :

Les CMI de *Candida albicans* ont été réalisées avec les extraits à l'hexane, éthanolique et aqueux de *Thymus vulgaris* de Mostaganem concentrés à 80%.

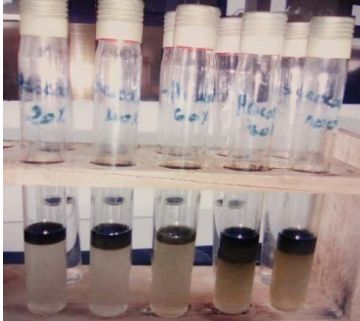


Figure 20. CMI des extraits à l'hexane

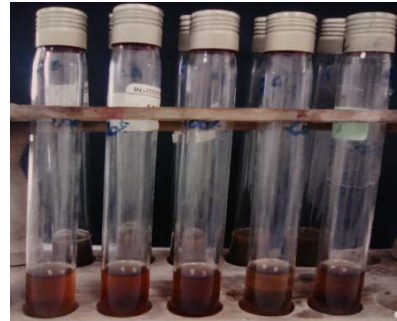


Figure 21. CMI des extraits éthanolique

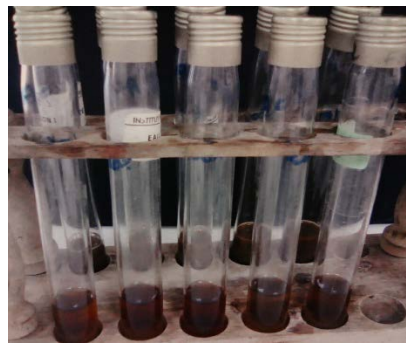


Figure 22. CMI des extraits aqueux

Et avec les extraits au méthanol de *Thymus vulgaris* de Mostaganem concentré à 40%.

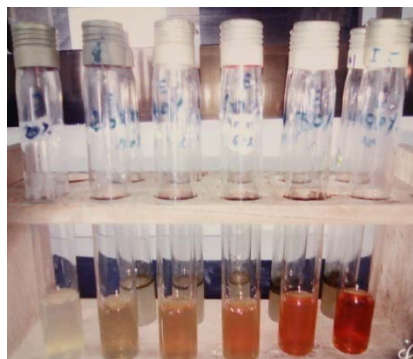


Figure 23. CMI des extraits méthanoliques

Concernant, le Thym de Naama, les CMI du germe étudié sont constatées avec les extraits à l'hexane, méthanoliques et éthanoliques concentré à 20% ainsi qu'avec les extraits aqueux purs à 100% (Tableau8).

**Tableau08.** Evaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits bioactifs de *Thymus vulgaris* récolté des régions de Mostaganem et à Naama sur la croissance de *Candida albicans* :

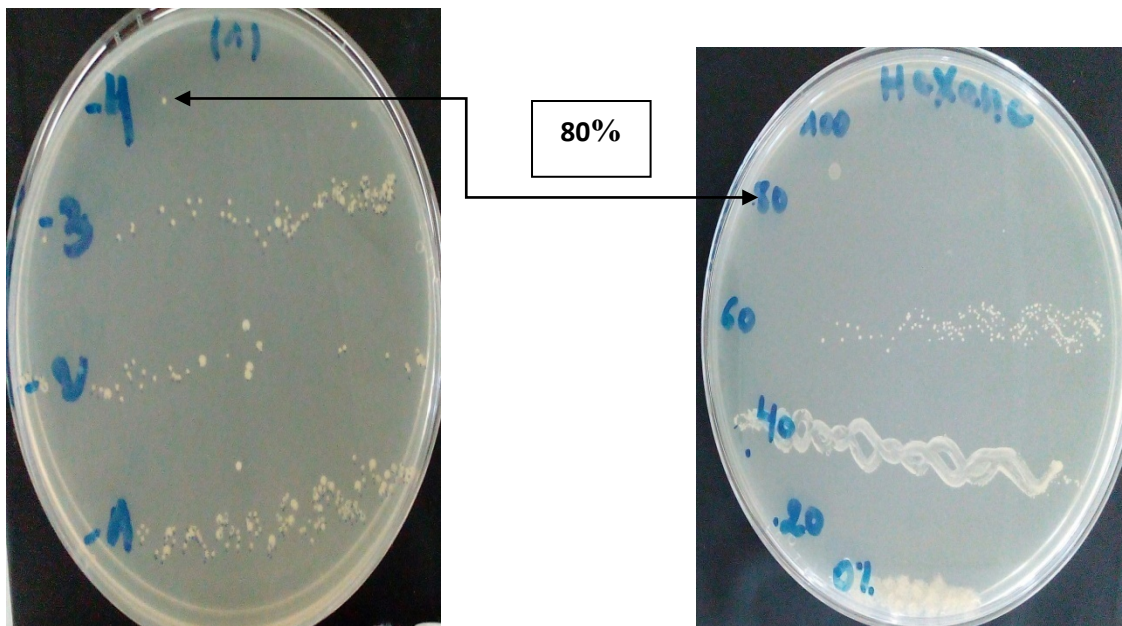
Région	Solvants	Concentration d'extraits bioactifs de <i>Thymus vulgaris</i>						
Mostaganem	Hexane	Paramètres	Témoin	20%	40%	60%	80%	100%
		<b>df</b>	0.491	1.726	1.389	1.045	1.546	1.919
		<b>di</b>	0.919	1.413	1.201	0.920	1.829	1.996
		<b>df-di</b>	0.428	0.313	0.188	1.125	-0.283	-1.077
		<b>S%</b>	100	73.130	43.925	29.205	0	0
	<b>CMI</b>	<b>80%</b>						
	Méthanol	<b>df</b>	0.413	0.050	0.056	0.115	0.159	0.120
		<b>di</b>	0.253	0.049	0.193	0.253	0.224	0.150
		<b>df-di</b>	0.160	0.001	-0.137	-0.138	-0.065	-0.07
		<b>S%</b>	100	0.606	0	0	0	0
		<b>CMI</b>	<b>40%</b>					
	Ethanol	<b>df</b>	0.491	0.371	0.959	0.847	0.897	0.934
		<b>di</b>	0.919	0.134	0.767	0.455	0.920	1.046
		<b>df-di</b>	0.428	0.237	0.192	0.392	-0.023	-0.112
		<b>S%</b>	100	55.373	44.859	91.588	0	0
		<b>CMI</b>	<b>80%</b>					
	Eau	<b>df</b>	0.413	0.130	0.555	0.584	0.787	0.567
		<b>di</b>	0.253	0.042	0.472	0.541	1.016	0.967
		<b>df-di</b>	0.160	0.088	0.083	0.043	-0.229	-0.4
		<b>S%</b>	100	53.333	50.303	26.060	0	0
<b>CMI</b>		<b>80%</b>						
Naama	Hexane	<b>df</b>	0.194	0.031	0.301	0.301	0.298	1.285
		<b>di</b>	0.079	0.121	0.308	3	3	3
		<b>df-di</b>	0.015	-0.09	-0.007	-2.699	-2.702	-1.715
		<b>S%</b>	100	0	0	0	0	0
		<b>CMI</b>	<b>20%</b>					
	Méthanol	<b>df</b>	0.194	0.128	0.865	0.002	0.109	0.033
		<b>di</b>	0.079	0.257	3	3	0.301	0.977
		<b>df-di</b>	0.015	-0.129	-2.135	-2.998	-0.192	-0.944
		<b>S%</b>	100	0	0	0	0	0
		<b>CMI</b>	<b>20%</b>					
	Ethanol	<b>df</b>	0.194	0.090	0.024	0.028	0.103	0.301
		<b>di</b>	0.079	0.301	0.040	0.062	3	2.427
		<b>df-di</b>	0.015	-0.211	-0.016	-0.034	-2.897	-2.126
		<b>S%</b>	100	0	0	0	0	0
		<b>CMI</b>	<b>20%</b>					
	Eau	<b>df</b>	0.125	0.229	0.302	0.371	0.574	0.447
		<b>di</b>	0.009	0.047	0.152	0.196	0.265	0.523
		<b>df-di</b>	0.116	0.182	0.150	0.175	0.309	-0.076
		<b>S%</b>	100	46.907	38.659	45.103	79.639	0
		<b>CMI</b>	<b>100%</b>					

**di** : densité optique initiale avant l'incubation ; **df** : densité optique finale après incubation ;  
**S** : Taux de survie ; **CMI** : concentration minimale inhibitrice.

### 1.6 Concentration Minimale Fongicide (CMF) :

La (Figure 24) représente d'un coté (Figure 24-a) les repiquages en strie sur gélose Muller Hinton des déférentes dilution  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  de l'inoculum bactérienne de *Candida albicans* après incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures , et d'un autre coté (Figure 24-b) les repiquages en strie sur gélose Muller Hinton des différentes concentration d'extrait à l'hexane de *Thymus vulgaris* de la région de Mostaganemensemencé avec *Candida albicans* et incubé durant 18 à 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ .

A travers cette figure, il apparait que l'extrait à l'hexane préparé à 80% a engendrée un pourcentage de survie proche de 0,01 de l'espèce microbienne ; cette dilution d'extrait de *Thymus vulgaris* représente donc la concentration minimale fongicide.

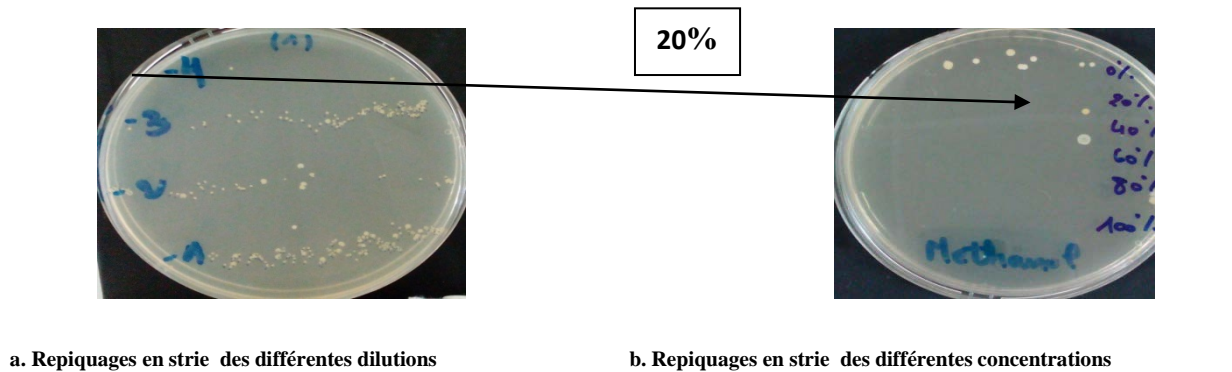


a. Repiquages en strie des différentes dilutions

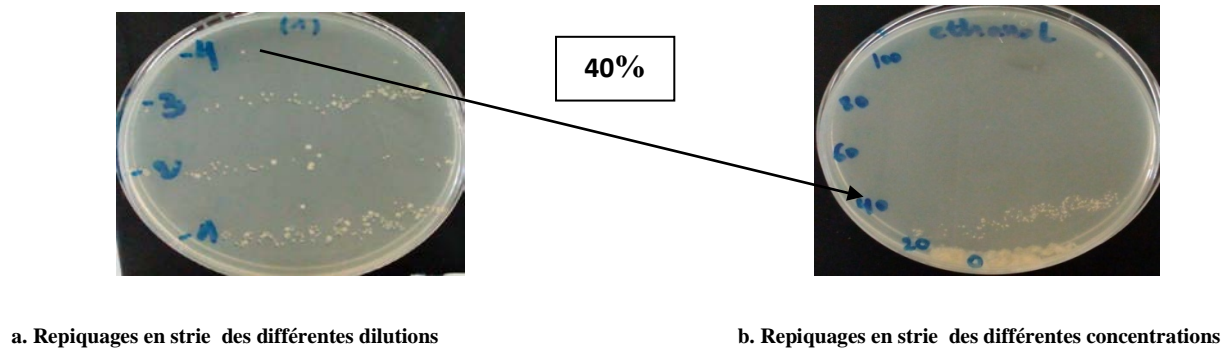
b. Repiquages en strie des différentes concentrations

Figure 24. CMF des extraits à l'hexane de *Thymus vulgaris* de Mostaganem chez *Candida albicans*

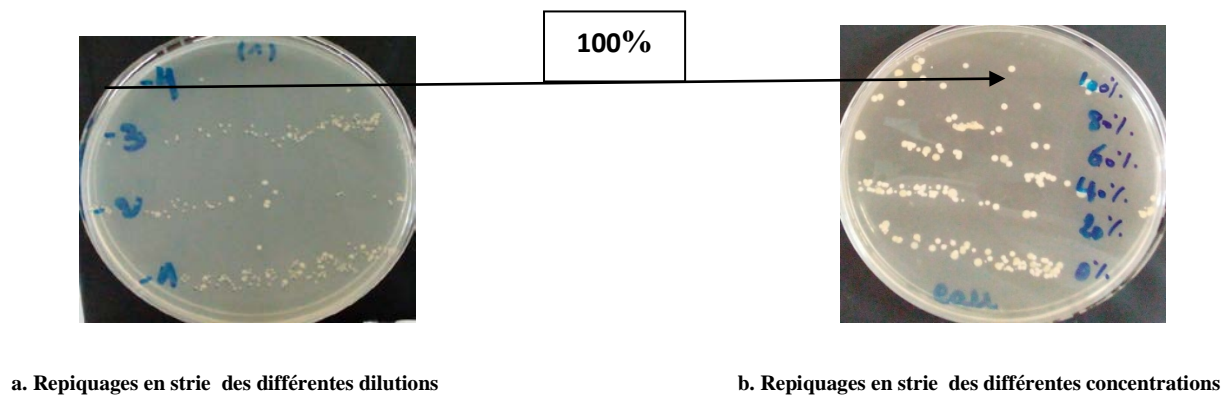
La CMF chez *Candida albicans* a été réalisée avec l'extrait méthanolique de *Thymus vulgaris* de Mostaganem concentré à 20%, et avec l'extrait éthanolique concentré à 40% ainsi que l'extrait pur aqueux (Figures 25, 26 et 27).



**Figure 25.** CMF des extraits au méthanol de *Thymus vulgaris* L de Mostaganem chez *Candida albicans*

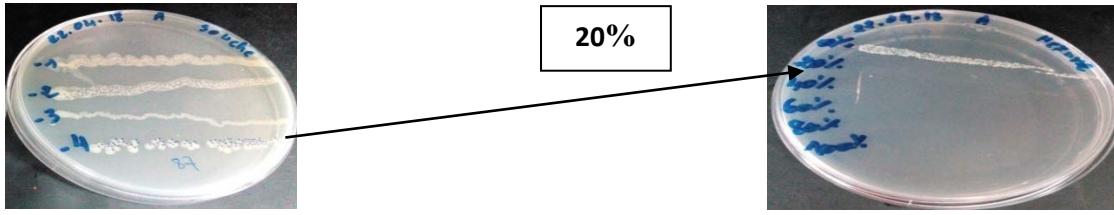


**Figure 26.** CMF des extraits à l'éthanol de *Thymus vulgaris* de Mostaganem chez *Candida albicans*



**Figure 27.** CMF des extraits aqueux de *Thymus vulgaris* de Mostaganem chez *Candida albicans*

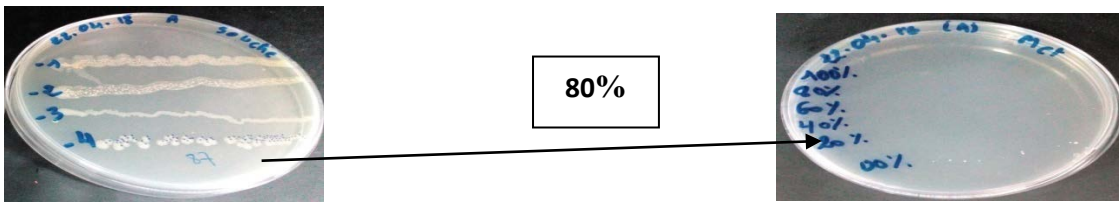
Concernant le *Thymus vulgaris* de Naama, les CMF ont été observées avec les extraits aux solvants concentrés à 20% et avec l'extrait aqueux pur (Figure 28, 29, 30 et 31).



a. Repiquages en strie des différentes dilutions

b. Repiquages en strie des différentes concentrations

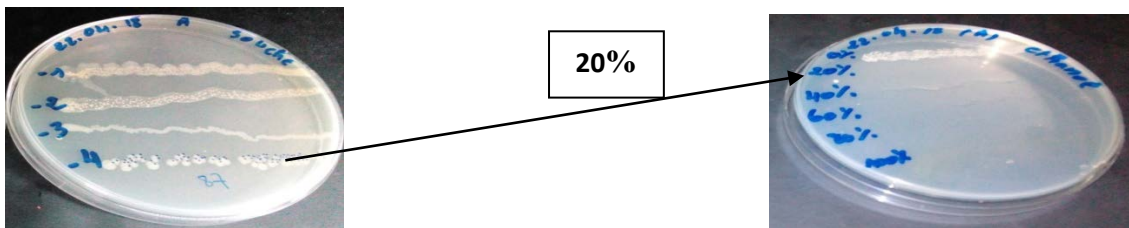
**Figure 28.** CMF des extraits à l'hexane de *Thymus vulgaris* de Naama chez *Candida albicans*.



a. Repiquages en strie des différentes dilutions

b. Repiquages en strie des différentes concentrations

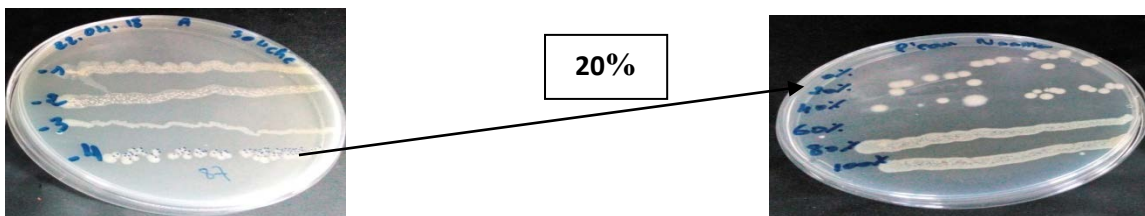
**Figure 29.** CMF des extraits méthanoliques de *Thymus vulgaris* de Naama sur chez *Candida albicans*



a. Repiquages en strie des différentes dilutions

b. Repiquages en strie des différentes concentrations

**Figure 30.** CMF des extraits éthanoliques de *Thymus vulgaris* de Naama chez *Candida albicans*



a. Repiquages en strie des différentes dilutions

b. Repiquages en strie des différentes concentrations

**Figure 31.** CMF des extraits aqueux de *Thymus vulgaris* de Naama chez *Candida albicans*

### 1.7 Type d'inhibition des extraits de Thym :

D'après les rapports CMB/CMI ayant varié de 0.5 à 1.25 et inférieurs à 2, les extraits de *Thym* exercent des effets inhibiteurs de type fongicide vis-à-vis de l'espèce étudiée *Candida albicans* (Tableau9).

**Tableau 9.** Type d'inhibition des extraits de *Thymus vulgaris* chez *Candida albicans*

	Solvants	CMI	CMB	Rap. CMB/CMI	Type d'inhibition
Mostaganem	Hexane	80%	80%	1	Fongicide
	Méthanol	40%	20%	0.5	Fongicide
	Ethanol	80%	40%	0.5	Fongicide
	Eaux	80%	100%	1.25	Fongicide
Naama	Hexanes	20%	20%	1	Fongicide
	Méthanol	20%	20%	1	Fongicide
	Ethanol	20%	20%	1	Fongicide
	Eaux	100%	100%	1	Fongicide
Normes	*D'après (Olivier 2007) CMB/ CMI $\leq$ 2(Effet bactéricide) CMB/ CMI $>$ 2(effet bactériostatique) * D'après (Marmonier 1990) CMB/ CMI $\leq$ 4(Effet bactéricide) CMB/ CMI $>$ 4(effet bactéristatique)				

## 2. Discussion :

Depuis des milliers d'année, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. L'évaluation de ces activités demeure une tâche difficile, mais qui peut être intéressante par l'homme (**Eggimann et al., 2003**).

*Candida albicans* est considéré comme étant une levure opportuniste la plus pathogène chez l'humain et responsable des infections urogénitales chez particulièrement les femmes (**Sudbery et al., 2004**).

Dans cette étude nous avons étudiés les effets antimicrobiens des extraits phénoliques de *Thymus vulgaris* récolté à Mostaganem et à Naama chez cette espèce microbienne.

Les extraits de *Thymus vulgaris* préparés à différentes concentrations (20, 40, 60, 80 et 100%) ont induit des diminutions hautement significatifs ( $p < 0,01$ ) de la croissance de *Candida albicans*

Le développement de ce germe commence à régresser à 20 et 40% jusqu'à son absence totale à 60, 80 et 100% des extraits de Mostaganem. Par contre, il a subi une diminution lente en fonction de la concentration dans les extraits de *Thymus vulgaris* de Naama.

Tous les extraits aux solvants à différentes polarités de *Thymus vulgaris* récolté à Mostaganem et à Naama ont présenté des diamètres d'inhibitions intéressants variables de 7 à 18mm et proches sinon supérieurs à l'antifongique utilisé connu pour son large spectre vis-à-vis de l'espèce microbienne étudiée *Candida albicans*.

En effet, les recherches de (**Ait chabane et al., 2017**) confirment bien que les extraits phénoliques de certaines plantes comme *Salvadora persica* exercent un effet inhibiteur significatif ( $p < 0,01$ ) sur la croissance de *Candida albicans*.

D'une façon générale, plusieurs auteurs (**Bouterfas et al., 2016**) ont suggéré que l'activité antifongique de certaines plantes telles le *Marrubium vulgare* chez *Candida albicans* varie significativement ( $p < 0,01$ ) en fonction de la localité d'échantillonnage des feuilles, de l'extrait flavonoïque testé ainsi que de sa concentration et du type de la souche fongique étudiée. Les diamètres d'inhibition enregistrés ont oscillé entre 8.16 et 37.5mm.

Les taux d'inhibitions de *Candida albicans* traité par nos extraits phénoliques ont varié significativement ( $p < 0,01$ ) de 63.69 à 131.547%. Les extraits à de fortes concentrations, notamment à l'état pur ont exercé des effets antimicrobiens mieux que l'antifongique de référence testé (5-fluorocytosine).

Ceci représente une preuve irréfutable que les extraits phénoliques de *Thymus vulgaris* ont un effet inhibiteur sur le développement in vitro de *Candida albicans*.

Cette relation de cause à effet nous a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) des extraits vis-à-vis de la souche étudiée *Candida albicans*. En effet, *Candida albicans* est sensible à 80% d'extrait à l'hexane, d'éthanol, d'eau de *Thymus vulgaris* de Mostaganem, ainsi qu'à 40% de l'extrait méthanolique provenant de la même région.

Les extraits aux solvants organiques préparés à l'hexane, éthanol et au méthanol de *Thymus vulgaris* de Naama, préparé à la concentration de 20% ont démontrés une même Concentration Minimale Inhibitrice de la souche étudiée. Par contre, la Concentration Minimale Inhibitrice de cette espèce de levure est obtenue dans l'extrait pur aqueux concentré à 100%.

Les CMF des extraits à l'hexane, méthanol, éthanol et à l'eau ont été obtenus respectivement à 80, 20, 40, et 100% pour les extraits phénoliques de *Thymus vulgaris* de Mostaganem et avec les extraits de Naama concentrés à 20%.

**Marmonier (1990)**, rapporte que lorsqu'en générale le rapport CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égale à quatre ceci suggère qu'elle présente un effet fongicide ; alors que si le rapport est supérieur à quatre elle présente plutôt un effet fongistatique. Par ailleurs, et d'après (**Olivier, 2007**), si ce rapport est inférieur à deux il exerce un effet de type fongicide sur l'espèce microbienne étudiée. Ainsi, tous les extraits expérimentaux ont montrés un effet de type fongicide sur la levure pathogène *Candida albicans* étudiée.

Plusieurs auteurs ont rapporté que cet effet antimicrobien chez *Candida albicans* des principaux composés bioactifs de *Thymus vulgaris* peut se manifester chez cette espèce de levure particulièrement par une lyse de la paroi microbienne et une inactivation de certaines enzymes spécifiques ainsi que de certains facteurs de virulences (**Runyoro et al ., 2006; Kumar et Gautam, 2016; Noumi, et al., 1994 et Saadabi, 2006**).

**Tableau4.** Effets des extraits de la *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur la croissance de *Candida albicans* (UFC/ml)

		Interaction (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> ) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)					Effet type solvant (F <sub>1</sub> )	Effet concentration des extraits (F <sub>2</sub> )	Interaction (solvants × extraits) (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> )		
		Solvants	Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	0	20	40	60				80	100
		Concentrations																	
Région Mostaganem	Extrait	00%	152×10 <sup>3</sup>	152×10 <sup>3</sup>	152×10 <sup>3</sup>	152×10 <sup>3</sup>	27.10 <sup>4a</sup>	27.10 <sup>4a</sup>	27.10 <sup>4a</sup>	83.10 <sup>4 a</sup>	166.10 <sup>3 a</sup>	58.10 <sup>3 b</sup>	250.10 <sup>2 b</sup>	00 <sup>b</sup>	00 <sup>b</sup>	00 <sup>b</sup>	P<0,05	P<0,01	P>0,05
		20%	00	00	00	115×10 <sup>3</sup>													
		40%	00	00	00	100×10 <sup>3</sup>													
		60%	00	00	00	00													
		80%	00	00	00	00													
		100%	00	00	00	00													
Région Naama	Extrait	00%	166×10 <sup>3</sup>	166×10 <sup>3</sup>	166×10 <sup>3</sup>	166×10 <sup>3</sup>	277.10 <sup>3 a</sup>	55.10 <sup>3 b</sup>	277.10 <sup>3 b</sup>	166.10 <sup>3 b</sup>	166×10 <sup>3 a</sup>	83×10 <sup>3 b</sup>	66×10 <sup>3 b</sup>	41×10 <sup>3 b</sup>	33.10 <sup>3 b</sup>	25.10 <sup>3 b</sup>	P<0,01	P<0,01	P>0,05
		20%	00	133×10 <sup>3</sup>	00	200×10 <sup>3</sup>													
		40%	00	33×10 <sup>4</sup>	00	233×10 <sup>3</sup>													
		60%	00	00	00	166×10 <sup>3</sup>													
		80%	00	00	00	133×10 <sup>3</sup>													
		100%	00	00	00	100×10 <sup>3</sup>													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; F<sub>1</sub> : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f<sub>2</sub> : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, c .etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétitions.

**Tableau05.** Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur les taux de croissance (%) de *Candida albicans*

	Solvents concentrations	Interaction (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> ) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)						Effet type solvant (F <sub>1</sub> )	Effet concentration des extraits (F <sub>2</sub> )	Interaction (solvants × extraits) (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> )	
		Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	0	20	40	60	80	100				
Région Mostaganem	Extrait	0%	100 <sup>ab</sup>	100 <sup>ab</sup>	100 <sup>ab</sup>	100 <sup>ab</sup>	16.667 <sup>b</sup>	16.667 <sup>b</sup>	16.667 <sup>b</sup>	49.933 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	34.93 <sup>b</sup>	14.97 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	P<0,01	P<0,01	P<0,01
		20%	00	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	139.72 <sup>a</sup>													
		40%	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	59.88 <sup>b</sup>													
		60%	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>													
		80%	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>													
		100%	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>	00 <sup>c</sup>													
Région Naama	Extrait	0%	100	100	100	100	16.667 <sup>b</sup>	33.3 <sup>b</sup>	16.667 <sup>b</sup>	99.833 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	49.9 <sup>b</sup>	39.92 <sup>b</sup>	24.95 <sup>b</sup>	19.96 <sup>b</sup>	14.97 <sup>b</sup>	P<0,01	P<0,01	P>0,05
		20%	00	79.84	00	119.76													
		40%	00	19.96	00	139.72													
		60%	00	00	00	99.8													
		80%	00	00	00	79.84													
		100%	00	00	00	59.88													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; F1 : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f2 : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, c .....etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétition.



## Partie 02 : Résultats et Discussion

**Tableau 6.** Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur les diamètres d'inhibition chez *Candida albicans* (mm)

	Solvants Concentrations	Interaction (F1×F2) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)					Effet type solvant (F1)	Effet concentration des extraits (F2)	Inter. (solvants × extraits) (F1×F2)		
		Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	5αfluro-cytosine	20	40	60	80				100	
<b>Région Mostaganem</b>	<b>Extrait</b>	5αfluro-cytosine	14 ± 6.928	14 ± 6.928	14 ± 6.928	14 ± 6.928	$17.222^a \pm 6.01$	$13.5^b \pm 3.266$	$12.5^b \pm 3.956$	$7.5^c \pm 2.417$	$14 \pm 5.908$	$9 \pm 2.132$	$12.917 \pm 5.003$	$12.5 \pm 4.612$	$12.583 \pm 3.411$	$15.083 \pm 2.85$	P<0,01	P>0,05	P>0,05
		20%	12.333 ± 4.163	10.333 ± 1.528	7.333 ± 2.309	6 ± 0													
		40%	17.333 ± 6.807	14.333 ± 4.933	14 ± 8.185	6 ± 0													
		60%	18 ± 10.44	12.333 ± 2.309	13.333 ± 1.528	6.333 ± 0.577													
		80%	18 ± 7	13.333 ± 2.082	12.333 ± 3.057	6.667 ± 1.155													
		100%	23.667 ± 6.11	16.667 ± 2.517	14 ± 1	6 ± 0													
<b>Région Naama</b>	<b>Extrait</b>	5αfluro-cytosine	14 ± 6.928	14 ± 6.928	14 ± 6.928	14 ± 6.928	$17.056^a \pm 6.538$	$14^a \pm 4.163$	$13.5^a \pm 2.883$	$7.833^b \pm 2.425$	$14^b \pm 5.908$	$8.917^b \pm 2.807$	$11.583^b \pm 2.256$	$12.667^b \pm 4.651$	$13^b \pm 5.205$	$18.417^a \pm 4.264$	P<0,01	P<0,01	P>0,05
		20%	6 ± 0	11 ± 6.245	12.667 ± 2.082	6 ± 0													
		40%	15.333 ± 1.528	12.333 ± 4.509	11.667 ± 2.082	7 ± 1													
		60%	17 ± 10.392	15.667 ± 1.155	11.667 ± 3.055	6.333 ± 0.577													
		80%	22 ± 10.583	10.333 ± 5.859	12.333 ± 1.528	7.333 ± 0.577													
		100%	28 ± 9.644	20.667 ± 2.082	18.667 ± 1.528	6.333 ± 0.577													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; F1 : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f2 : facteur étudié concentration en extrait. P>0.05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, c .....etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétition.

## Partie 02 : Résultats et Discussion

**Tableau07.** Effets des extraits de *Thymus vulgaris* prélevé des régions de Mostaganem et Naama sur les taux d'inhibition (%) de *Candida albicans*

	Solvants concentrations	Interaction (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> ) (n=03)				Effet types de solvants (n=18)				Concentrations des extraits (n=12)					Effet type solvant (F <sub>1</sub> )	Effet concentration des extraits (F <sub>2</sub> )	Interaction (solvants × extraits) (F <sub>1</sub> ×F <sub>2</sub> )		
		Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	Hexane	Méthanol	Ethanol	Eau	5αfluro-cytosine	20	40	60	80				100	
<b>Région Mostaganem</b>	<b>Extrait</b>	5αfluro-cytosine	100	100	100	100	122.999 <sup>a</sup>	96.428 <sup>b</sup>	89.285 <sup>b</sup>	53.571 <sup>c</sup>	100 <sup>a</sup>	64.285 <sup>b</sup>	92.261 <sup>ab</sup>	89.285 <sup>ab</sup>	89.857 <sup>ab</sup>	107.738 <sup>a</sup>	P<0,01	P<0,05	P>0,05
		20%	88.094	73.809	52.381	42.857													
		40%	123.809	102.379	100	42.857													
		60%	128.571	88.095	95.238	45.238													
		80%	128.476	95.238	88.095	47.619													
		100%	169.047	119.047	100	42.857													
<b>Région Naama</b>	<b>Extrait</b>	5αfluro-cytosine	100 <sup>bc</sup>	100 <sup>bc</sup>	100 <sup>bc</sup>	100 <sup>bc</sup>	121.825 <sup>a</sup>	99.999 <sup>b</sup>	96.428 <sup>b</sup>	55.952 <sup>c</sup>	100 <sup>b</sup>	63.69 <sup>c</sup>	82.738 <sup>bc</sup>	90.476 <sup>bc</sup>	92.856 <sup>bc</sup>	131.547 <sup>a</sup>	P<0,01	P<0,01	P<0,01
		20%	42.857 <sup>c</sup>	78.569 <sup>bc</sup>	90.476 <sup>bc</sup>	42.857 <sup>c</sup>													
		40%	109.523 <sup>bc</sup>	88.095 <sup>bc</sup>	83.333	50 <sup>c</sup>													
		60%	121.428 <sup>bc</sup>	111.904 <sup>bc</sup>	83.333 <sup>bc</sup>	45.238 <sup>c</sup>													
		80%	157.143 <sup>ab</sup>	73.806 <sup>bc</sup>	88.095 <sup>bc</sup>	52.381 <sup>c</sup>													
		100%	200 <sup>a</sup>	147.619 <sup>ab</sup>	133.333 <sup>bc</sup>	45.238 <sup>c</sup>													

Les résultats sont représentés en valeurs moyennes ; F<sub>1</sub> : facteur étudiée type de solvant d'extraction, f<sub>2</sub> : facteur étudié concentration en extrait.  
P>0,05 : Effet non significatif du facteur étudié ; P<0,05: Effet significatif du facteur étudié ; P<0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b, c .....etc. groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls ; n ; nombre de répétition.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

Nos résultats ont démontré que les extraits de *Thymus vulgaris* à l'hexane, méthanol, éthanol et à l'eau peuvent avoir un profil fongicide chez le germe *Candida albicans* agent responsable des infections urogénitales. L'efficacité d'inhibition du développement de la prolifération de cette levure a été en fonction du type de solvant, sa concentration et selon la région de la récolte (Mostaganem ou Naama) de la plante étudiée.

Les extraits de *Thymus vulgaris* préparés à différentes polarités de solvants organiques et à de fortes concentrations ont engendré de fortes baisses de la croissance de *Candida albicans* ; avec des diamètres d'inhibitions supérieurs même à l'antifongique de référence utilisé (5 fluoro-cytosine). Cet effet antimicrobien des extraits de la plante étudiée s'est avéré de type fongicide chez l'espèce de levure testée.

La présence des composés bioactifs dont les polyphénols, flavonoïdes et d'huiles essentielles dans l'extrait de *Thymus vulgaris* renforce les effets antimicrobiens de cette plante observés dans cette étude chez *Candida albicans*, il est possible que cette activité observée dans ce travail dépend non seulement de la teneur en flavonoïdes ou en polyphénols ; mais aussi à d'autres substances inconnues ayant la même activité.

D'autres études seraient donc nécessaires pour évaluer la contribution d'autres substances à l'activité antimicrobienne recherchée chez le *Thymus vulgaris*. Ceci peut aussi permettre d'utiliser certaines de ces substances bioactives de la plante dans le domaine médical et pharmaceutique à moindre coût et sans effets secondaires par rapport aux traitements conventionnels aux antifongiques chez les patients.



### Références bibliographiques:

**Abu-Elteen, K.H.; Abu-Elteen, R.M. (1998).** The prevalence of *Candida albicans* population in the mouths of complete denture wearer's. *New Microbiol*, 21:41-48 .

**Al-Bagieh, N.H., A. Idowu and N.O. Salako, 1994.** Effect of aqueous extract of miswak on the in vitro growth of *Candida albicans* . *Microbios*, 80: 107-113.

**Al-Bagieh, N.H., A. Idowu and N.O. Salako, 1994.** Effect of aqueous extract of miswak on the in vitro growth of *Candida albicans* . *Microbios*, 80: 107-113.

**Al-Bagieh, N.H., A. Idowu and N.O. Salako, 1994.** Effect of aqueous extract of miswak on the in vitro growth of *Candida albicans* . *Microbios*, 80: 107-113.

**Andres A., Donovan S.M., Kuhlenschmidt M.S. (2009).**Journal of Nutritional Biochemistry; 20: 563-569.

**Anne Laurent, Céline Delene.** Produits cosmétiques contenant des huiles essentielles , Recomandation relative aux critères de qualité des huiles essentielles.Pharmacopée européenne.2008 :pp 6.

**Anofel. (2007).** Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales, Elsevier- Masson, Paris.

**Bazylo A. et Strzelecka H.(2007).**Fitoterapia.,78: 391-395.

**BENMANSOUR.M,** Les Candidoses vulvo-vaginales à *Candida albicans*: Facteurs de risques, diagnostic mycologique et prévalence spécifique, pour l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie, UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID FAULTE DE MEDECINE, Tlemcen 2012.

**Bodey G.P., Mardani M., Hanna H.A., Boktour M., Abbas J., Girgawy E., Hachem R. Buffo J., Herman M.A and Soll D.R. (1984)** A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia*. 85: 21-30.

**Botta B., Menendez P., Zappia G., Lima R.A.D., Torge R. and Monache G.D. (2009).** *Current Medicinal Chemistry*;16:3414-346

## Références bibliographiques:

---

**Bourgeois, C. M. and J.Y Leveau, 1980.** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, Volume3 : Le contrôle microbiologique. Lavoisier : Tech. Et Doc., pp : 331.

**Bouterfas Z.Mehdadia L.Aouad M.M.Elaoufi M.B.Khaled A.Latreche W.Benchihaad ;2016 ;** La localité d'échantillonnage influence-t-elle l'activité antifongique des flavonoïdes de *Marrubium vulgare* vis-à-vis de *Aspergillus niger* et *Candida albicans* ? *J.Mycologie Médicale* vol 26 , 201-211

**Bruneton J.** Pharmacogonie, phytochimie, plantes médicinales. Technique & Documentation ,Lavoisier,Paris.1993;p348.

**Calderone, R.D.; Fonzi, W.A (2001).** Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*, 9(7): 327-335

**Chatenet C.(2008).**Actualités pharmaceutiques 473: 10-23.

**Cowan M. M. (1999).**Clinical microbiology reviews., 12: 564-570

**Cowan M. M. (1999).**Clinical microbiology reviews., 12: 564-570.

**Cowan M. M. (1999).**Clinical microbiology reviews., 12: 564-570.

**Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005).** ; International Journal of Antimicrobial Agents;26: 343-356.

**Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005).**..International Journal of Antimicrobial Agents;26: 343-356.

**Cushnie T.P.T. and Lamb A.J. (2005).**..International Journal of Antimicrobial Agents;26:

**Denis, F; E. Bingen, C.Martin, M.C. Ploy and R.Quentin, 2011.** Bactériologie Médicale. 2nd Edn ; Elsevier Masson, Paris, ISBN : 9782294725944, Pages : 640.

**Eggimann P., Garbino J and Pittet D. (2003).** Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet. Infect. Dis.* 3: 685-702

**Euzeby, J (1994)** –mycologie médicale comparée. Les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme. Edition Fondation Marcel Mérieux, tome 2, Lyon, France, 251p.

## Références bibliographiques:

---

**Farah, C.S.; Ashman, R.B.; Challacombe, S.J. (2000).** Oral Candidosis. *Clinicsin Dermatology*,18(5):553-562

**Garber. (2001)** . An overview of fungal infection .*Drugs*, 61(1):1-12

**Ghorab H, Kabouche A, Kabouche Z.** Comparative composition of essential oil of *Thymus* growing in various soil and climate of North Africa. *J Mater Environ Sci.* 2014;5:298–303

**Grayer R.J. and Harborne J.B. A(1994).** *Phytochemistry*37: 19-42.

**Halbwirth H.(2010).** *International Journal of Molecular Sciences*;11: 595-621.

**Hay, R.J. (1999).** The management of superficial candidiasis .*J. Am .Acad.Dermatol.*, 40:535-542

**Bennett RJ, Johnson AD, 2003,** Completion of a parasexual cycle in *Candida albicans* by induced chromosome loss in tetraploid strains, *ncbi* 10:2505-15.

**Johnson A, 2003,** The biology of mating in *Candida albicans*, *ncbi* ,(2):106-16.

**Javadi H, Hesamzadeh Hejazi SM, Babayev MSH.** Chromosome reports on two species of *Thymus* (Lamiaceae). *Iran J Bot.* 2011;18:108–111.

**Jiménez-Arellanes A., Martínez R., García R., León-Díaz R., Aluna–Herrera J., Molina–Salinas G. et Said-Fernández S. (2006).** *Pharmacologyonline*.,3 :569-574.

**Jimenez-Gonzalez L., Alvarez-Corral M., Munoz-Dorado M. and Rodriguez-Garcia I. (2008).** *Phytochemistry Reviews* 7:125-154.

**Kale A., Gawande S. and Kotwal S.(2008).** *Phytotherapy Research*;22: 567-577

**Kalfa, V.C.; Roberts, R.L.; Stiehm, E.R. (2003).** The syndrome of chronic mucocutaneous *candidiasis* with selective antibody deficiency .*Ann. Allergy Asthma*

**Kaloterakis, A.; Rizos, I.; Goumas, G.; Filiotou , A.; Barbetseas ,J.; Papathanasiou ,P.(2003).** Isolated native tricuspid valve *Candida* endocarditis in a non - drug-addicted patient: case report and review of the literature .*J. Heart V alve Dis.*, 12 (5): 652-8

## Références bibliographiques:

---

**Kra, A.K.M. ,2001.** Evaluation et amélioration par séquençage chromatographique d'une action antifongique de MISCA contre *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat 3ème cycle UFR Biosciences. Univ. Abidjan., pp : 126.

**Kumar, S., N.S.S. Gautam and V. Kumar, 2016.** Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *S alv a d o r a p e r s i c a* Linn. extracts against oral pathogens. *Fungal Genom. Biol.*, Vol. 6 10.4172/2165-8056.1000131.

**Kumar, S., N.S.S. Gautam and V. Kumar, 2016.** Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *S alv a d o r a p e r s i c a* Linn. extracts against oral pathogens. *Fungal Genom. Biol.*, Vol. 6 10.4172/2165-8056.1000131.

**Kumar, S., N.S.S. Gautam and V. Kumar, 2016.** Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *S alv a d o r a p e r s i c a* Linn. extracts against oral pathogens. *Fungal Genom. Biol.*, Vol. 6 10.4172/2165-8056.1000131.

**Maertens, J.; Vrebos, M.; Boogaerts, M. (2001).** Assessing risk factors for systemic fungal infection *.Eur.J. Cancer Care*, 10 (1):56-62.

**Marmonier AA(1990)** , Introduction aux techniques d'études des antibiotiques, bactériologie médicale, techniques usuelles. :226-227

**Mavor A.L., Thewes S and Hube B. (2005).** Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Curr Drug Targets*. 6: 63-874.

**MladinkaP., Zatloukalova L., Filipsky T. and Hrdina R. (2010).**Free Radical Biology & Medicine;49: 963-975.

**Moroh, J.L.A ; C. Bahi, k. Dje, Y.G Loukou and F. Guede-guina, 2008.** Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides*(Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract(ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin Societe Royale des Sciences Liege*, 77 :44-61.

**Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S.M., Ghorbani A. (2005).**Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 4(2): 63-79

## Références bibliographiques:

---

**Naseem, S., K. Hashmi, F. Fasih, S. Sharafat and R. Khanani, 2014.** In vitro evaluation of antimicrobial effect of miswak against common oral pathogens. *Pak. J. Med. Sci.*, 30: 398-403.

**Naseem, S., K. Hashmi, F. Fasih, S. Sharafat and R. Khanani, 2014.** In vitro evaluation of antimicrobial effect of miswak against common oral pathogens. *Pak. J. Med. Sci.*, 30: 398-403.

**Naseem, S., K. Hashmi, F. Fasih, S. Sharafat and R. Khanani, 2014.** In vitro evaluation of antimicrobial effect of miswak against common oral pathogens. *Pak. J. Med. Sci.*, 30: 398-403.

**Noumi, E., M. Snoussi, H. Hajlaoui, E. Valentin and A. Bakhrouf, 2010.** Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infectious Dis.*, 29: 81-88.

**Noumi, E., M. Snoussi, H. Hajlaoui, E. Valentin and A. Bakhrouf, 2010.** Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infectious Dis.*, 29: 81-88.

**Noumi, E., M. Snoussi, H. Hajlaoui, E. Valentin and A. Bakhrouf, 2010.** Antifungal properties of *Salvadora persica* and *Juglans regia* L. extracts against oral *Candida* strains. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infectious Dis.*, 29: 81-88.

**Odds, E. C. (1979)** –Switch of phenotype as an escape mechanism of the intruder. *Mycoses*. 40 :9-12.

**Odds, F.C. (1988).** *Candida and Candidosis .A review and bibliography .2nd and. London: Baillière Tindall, 42-59.*

**Ouiza Ait Chabane, Djamel Ait Saada, Ahmed Mohamed Ali Bekada, Ghalem Selselet-Attou, Kaddour Boudroua, Djamel Eddine Kati and Noel Duran(2017),** In vitro Study of the Antimicrobial Effects of Phenolic Extract of the *Salvadora persica* (Miswak) on the Growth of Certain Microorganisms Responsible for Oral Infections , *Research Journal of Microbiology* , 1816-4935.10.58.73.

**Olivier G.** caractéristique et mode d'action des antibiotiques. 2007.

**Park H. J. et Cha H. C.(2003).**Korean journal of biological society, 7 :327-330.

## Références bibliographiques:

---

**Pfaller M.A. and Diekema D.J. (2007).** Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 133-163.

**Regnault-Roger C, Ribodeau M, Hamraoui A., Bateau I, Blanchard P, Gil-Munoz M-I, Thomas-Barberan.(2004).** *Journal of Stored Products Research* 40:395–408

**Rufer C.E. and Kulling S.E. (2006).** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*;54: 2926.

**Runyoro, D.K.B., O.D. Ngassapa, M.I.N. Matee, C.C. Joseph and M.J. Moshi, 2006.** Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. *J. Ethnopharmacol.*, 106: 158-165.

**Runyoro, D.K.B., O.D. Ngassapa, M.I.N. Matee, C.C. Joseph and M.J. Moshi, 2006.** Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. *J. Ethnopharmacol.*, 106: 158-165.

**Runyoro, D.K.B., O.D. Ngassapa, M.I.N. Matee, C.C. Joseph and M.J. Moshi, 2006.** Medicinal plants used by Tanzanian traditional healers in the management of *Candida* infections. *J. Ethnopharmacol.*, 106: 158-165.

**Saadabi, A.M.A., 2006.** Antifungal activity of some Saudi plants used in traditional medicine. *Asian J. Plant Sci.*, 5: 907-909.

**Saadabi, A.M.A., 2006.** Antifungal activity of some Saudi plants used in traditional medicine. *Asian J. Plant Sci.*, 5: 907-909.

**Samaranayake L.P., Fidel P.L., Naglik J.R., Sweet S.P., Teanpaisan R., Coogan M. M., Blignaut E and Wanzala P. (2002).** Fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis.* 2: 151-160.

**Sarazin, A. (2010)** – les glycannes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte, thèse de doctorat, aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, l'université Lille2, 181p.

**Segal,E.(2005)**-*Candida*, still number one-what do we know and where are we going from there?*Mycoses* 48 Suppl1,3-11.

**Sobel, Kauffman and Newman C.A. (2011).** *Candida* Urinary Tract Infections-Treatment. *Clin. Infect. Diseases.* 6: 457-466.

## Références bibliographiques:

---

**Subsamanian S., Stacey G. et Yu O.(2007).**Trends in plant science.,12(7) : 282-283.

**Sudbery, P., Gow, N. et Berman, J. (2004)** – The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. Trends in microbiology, Vol. 12, N<sup>o</sup>. 7, pp : 317-324.

**Sultana, B. ; F Anwar and M. Ashraf, 2009.** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules. ,14 : 2167-2180.

**Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. (2004).** .Bioscience, biotechnology and biochemistry, 68 (5): 1113-1134.

**Tasdemir D., Kaiser M., Brun R., Yardley V., Schmidt T.J., Tosun F. and Ruedi P. (2006)** Antimicrobial Agents and Chemotherapy;50: 1352-1364.

**TEUSCHER, ANTON R, LOBSTEIN A., 2005** - Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris, Lavoisier, 522p.

**Wright C.W.(2010).**Natural Product Reports;27: 961-968.

**Yang R. Y., Lin S. et Kuo G.(2008).**Asia of pacific journal of clinical nutrition.,17(S1) : 275-279.

❖ **Bouillon nutritif :**

**Composition :**

- Eau distillée.....400ml
- Peptone.....2.4g
- Extrait de viande.....0.4g
- Extrait de levure.....0.8g
- NaCl.....2g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **Sabouraud :**

**Composition :**

- Eau distillée .....1l
- Peptone .....10g
- Glucose.....40g
- Agar agar.....12g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **Gélose nutritive :**

**Composition :**

- Eau distillée.....500ml
- Peptone.....2.5g
- Extrait de viande.....0.5g
- Extrait de levure.....1.25g
- NaCl.....2.5g
- KOH.....0.5N
- Agar-agar.....9g

- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **Gélose Muller Hinton :**

**Composition :**

- Eau distillée.....500ml
- Extrait de viande.....1.5g
- Hydrolysate de caséine.....8.75g
- Amidon.....0.75g
- Agar-agar.....9g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **Bouillon Muller Hinton :**

**Composition :**

- Eau distillée.....500ml
- Extrait de viande.....1.5g
- Hydrolysate de caséine.....8.75g
- Amidon.....0.75g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **Eau physiologique:**

**Composition :**

- Eau distillée.....500ml
- NaCl.....4,5g
- PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7±0,2. Autoclave à 120°C/20 minute.

❖ **L'évaporateur rotatif (ou rotavap, ou rotavapor) :**

est un appareil utilisé en chimie afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (on enlève tout le solvant) une solution ou une suspension.

❖ **Un agitateur:**

est un élément d'une unité de procédé ayant pour but d'assurer l'homogénéisation d'un milieu (homogénéisation du point de vue des composants du milieu et/ou de la température).

❖ **Un incubateur:**

est une enceinte thermo-statée faite en acier inoxydable et équipée d'une double porte .  
Ils sont généralement réglés à une température optimale pour les microorganismes cultivés et équipés d'une arrivée de CO<sub>2</sub> et d'un bac d'eau pour obtenir une atmosphère à 5 % de CO<sub>2</sub> et environ 80 à 85 % d'humidité.