

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE IBN KHALDOUN –TIARET-
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTER
EN SCIENCES VETERINAIRES
OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE
SOUS LE THEME

Evaluation clinique et *in vitro* d'une formule à base de miel contre la teigne bovine.

Présenté par : Bia Taha

Devant le jury composé de :

Président	Ghazi Kheira	MCA	Université de Tiaret
Promoteur	Boukraa Laid	PR	Université de Tiaret
Examineurs	Sassi Mohamed	MCA	Université de Tiaret
	Mihoub Fatma	MCA	Université de Tiaret
Membre invité	Aissat Saad	MCB	Université de Tiaret

Année universitaire
2016-2017

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon père et ma mère:

Pour toute votre aide et votre amour ; sans vous je n'aurais jamais pu aller aussi loin. Merci pour votre soutien votre patience sans faille.

A mes frères et mes sœurs :

Pour votre soutien moral et financier et pour l'amour fraternel qui nous unit (mansour ,kaouter,marwane), Surtout ma sœur mansoura Qui est à mes cotés à chaque fois que j'en ai besoin.

Remerciements

Nous remercions d'abord Le bon Dieu pour nous avoir donné la force et la patience afin de réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer ma gratitude Au Dr GHAZI KHEIRA pour avoir accepté de présider le jury et aux Dr Sassi Mohamed, Dr Mihoub Fatma, Dr Aissat Saad pour avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma vive reconnaissance à Professeur Boukraa Laid.

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail avec disponibilité et bienveillance.

Nos sincères remerciements vont à :

❖ Monsieur le Professeur Boussad Hamrioui chef service de laboratoire parasito-mycologie au CHU Moustapha Bacha d'Alger et Madame Ouled ali chef service de laboratoire parasito-mycologie à l'institut pasteur d'Alger de m'apporter toute aide et l'information dont j'avais besoin.

❖ Demoiselle Fatiha Abdellah pour leur qualité humaine et scientifique.

❖ Mes sincères remerciements s'adressent à Dr khier hajer, Dr kouachi abd basset, Dr djira hamid, Dr amel, Dr zahira, Dr khadija.

SOMMAIRE

DEDICACE

REMERCIEMENT

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES PHOTOS

LISTE DES ABREVIATIONS

RESUME

Introduction..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES DERMATOPHYTES ET LES TEIGNES DES BOVINS

1. Caractères généraux des dermatophytes	2
1.1. Définitions	2
1.2. Taxonomie	2
1.2.1. Place des dermatophytes au sein du règne des champignons	2
1.2.2. Classification des dermatophytes	3
1.3. Morphologie.	4
1.3.1. En vie parasitaire	4
1.3.2. En culture	5
1.3.2.1. Aspect macroscopique	5
1.3.2.2. Aspect microscopique	6
1.4. Epidémiologie des dermatophytes zoophiles	7
1.4.1. Facteurs favorisants	8
1.4.1.1. Facteurs liés à l'hôte	8
1.4.1.2. Facteurs généraux	9
2. Dermatophytoses des bovins	10
2.1. Définition	10
2.2. Epidémiologie et facteurs favorisants	10
2.3. Diagnostic	11
2.3.1. Clinique	11
2.3.2. Différentiel	13
2.3.3. Biologique	13

2.3.3.1. Examen en lumière de wood	14
2.3.3.2. Prélèvement	15
2.3.3.3. Examen direct	18
2.3.3.4. Culture	21
2.3.3.5. Identification	21
2.4. Traitement et Prophylaxie	24
2.4.1. Les molécules antifongiques	24
2.4.2. Toxicité et effets indésirables des antifongiques	25
2.4.3. Traitement de la teigne chez les bovins	27

CHAPITRE II : EFFETS THERAPEUTIQUES DU MIEL ET DES HUILES ESSENTIELLES

1. Le miel	28
1.1. Définition	28
1.2. Activités biologiques du miel	28
1.2.1. Activité antifongique	28
1.2.2. Activité antioxydante	28
1.2.3. Actions anti-inflammatoires	28
1.2.4. Propriétés cicatrisantes	29
1.2.5. Activité antibactérienne	30
1.2.5.1. L'osmolarité	31
1.2.5.2. Le pH	31
1.2.5.3. Le système peroxyde d'hydrogène (inhibine)	31
1.2.5.4. La défensine-1	31
1.2.5.5. Le methylglyoxal (MGO)	32
1.2.5.6. Les composés phénoliques	32
2. Les huiles essentielles	33
2.1. Définition	33
2.2. Activités biologiques des huiles essentielles	33
2.2.1. Activité antioxydante	33
2.2.2. Activité antibactérienne	34
2.2.3. Activité antifongique	34
2.3. L'huile de cade	35
2.3.1. Propriétés pharmacologiques de l'huile de cade	35
2.3.2. Utilisation en médecine vétérinaire	36

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériels et méthodes

1. Lieu et durée de l'étude	37
2. Les sujets concernés par l'étude	39
3. Matériels	40
4. Etude <i>in vitro</i>	41
4.1. Prélèvement	41
4.2. Examen direct	42
4.3. Culture	43
4.3.1. Les milieux utilisés	43
4.3.2. Isolement des dermatophytes	44
4.4. Organigramme d'identification	46
4.5. Evaluation de la sensibilité des isolats à la formule naturelle	47
5. Etude <i>in vivo</i>	48
5.1. Démarches cliniques	48
5.2. Traitement	48

Résultats et discussion

1. Résultats	51
1.1. Etude <i>in vitro</i>	51
1.1.1. Examen direct	51
1.1.2. Isolement et identification du champignon	53
1.1.3. L'activité antifongique de la formule naturelle <i>in vitro</i>	53
1.2. Etude <i>in vivo</i>	59
1.2.1. Suivi photographique	61
2. Discussion	66
Conclusion	71
Recommandations	72

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Taxonomie des dermatophytes.	3
Tableau II : Caractéristiques des différents genres	4
Tableau III : Différents types d'invasion pileaire	5
Tableau IV: Principaux dermatophytes; agents de zoonoses rencontrés chez l'homme ...	8
Tableau V: Démarche diagnostic des dermatophytes; caractéristiques biologiques des principaux dermatophytes - parasitisme pileaire et caractères cultureux	23
Tableau VI : Les molécules antifongiques	25
Tableau VII : Toxicité des antifongiques	26
Tableau VIII : les cas étudiés dans l'année 2015/2016	39

Liste des figures

Figure 01 : Ornémentations des dermatophytes	6
Figure 02 : Aleurioconidies de dermatophytes	7
Figure 03 : Lésion de teigne à <i>T.verrucosum</i> chez un bovin	12
Figure 04 : Dartre du bovin à <i>T.verrucosum</i>	13
Figure 05 : A) lampe de Wood, B) Examen d'un chat sous lampes de Wood	15
Figure 06 : Matériels nécessaires au prélèvement des dermatophytes	16
Figure 07 : A) Carré de moquette stérile, B) Brosse à dents stérile	17
Figure 08 : Visualisation des éléments fongiques à l'aide de A) noirchlorazole, B) blanc de calcofluor	18
Figure 09 : Filaments mycéliens de dermatophytes	19
Figure 10 : Les différents types de parasitismes pileaires	20
Figure 11 : Localisation de La commune de HassiFdoul	37
Figure 12 : Localisation de la daïra de Sougueur et la commune d'Ain El Hadid	38
Figure 13 : Répartition des cas de la teigne bovine par rapport aux cas totaux	60
Figure 14 : Répartition des cas de la teigne bovine selon l'âge	61

Liste des photos

Photo 01 : Réalisation du prélèvement sur terrain	41
Photo 02 : Les prélèvements acheminés au laboratoire	42
Photo 03 : Lames préparées pour l'examen direct	43
Photo 04 : Préparation des tubes pour l'ensemencement	44

Photo 05 : Ensemencement de produit pathologique sur milieu Sabouraud Chloramphénicol et Sabouraud Actidione	45
Photo 06 : Le bâtiment d'élevage avant et après le nettoyage	48
Photo 07 : Elimination des croûtes	49
Photo 08 : Nettoyage de la lésion	49
Photo 09 : Application de la formule	50
Photo 10 : Poil sain (Grossissement : ×40).....	51
Photo 11 : Parasitisme Endo-Ectothrix de type mégasporé (Grossissement : ×40)	52
Photo 12 : Poil cassé et libération des spores (Grossissement : ×40).....	52
Photo 13 : Parasitisme pileaire de type endo-ectothrix, gaine des spores continues (Grossissement : ×40).....	53
Photo 14 : Envahissement de tube par un champignon contaminant	53
Photo 15 : Culture de 4 semaines sur gélose Sabouraud Actidione correspondant à <i>T.verrucosum</i>	54
Photo 16 : Culture de 4 semaines sur gélose Sabouraud Chloranphenicol correspondant à <i>T.verrucosum</i>	54
Photo 17 : Aspect microscopique de <i>Trichophyton verrucosum</i>	55
Photo 18 : Filaments mycéliens fins, septés qui commencent à prendre un aspect turoloïde caractéristique de <i>Trichophyton verrucosum</i> (Grossissement : ×40)	55
Photo 19 : Filaments mycéliens fins, réguliers(Filaments stériles)(Grossissement : ×40) .56	
Photo 20 : Apparition des filaments toruloïdes caractéristiques de <i>Trichophyton verrucosum</i> après repiquage (Grossissement : ×40).....	57
Photo 21 : Détermination de la CMI de la formule naturelle.....	57
Photo 22 : La CMI de l'isolat N°1	58
Photo 23 : La CMI de l'isolat N°2.....	58
Photo 24 : Examen direct de tube (témoin positif)	59
Photo 25 : Lot des veaux de boucherie atteint de teigne bovine	60
Photo 26 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 5 mois	61
Photo 27 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 6mois	62
Photo 28 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau d'un an	62
Photo 29 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 6 mois	63
Photo 30 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau d'un an	63
Photo 31 : Evolution de la lésion après traitement chez une vache de 6 ans	64
Photo 32 : Evolution de la lésion après traitement chez une génisse d'un an	64
Photo 33 : Evolution de la lésion après traitement chez une velle de 7 mois	65
Photo 34 : Evolution de la lésion après traitement chez une velle de 7 mois	65

Liste des abréviations

° : degré

°C : Degré Celsius

Å:Ångström

ADN : acide désoxyribonucléique

AMM : Autorisation de mise sur le marché

ARN: acide ribonucléique

Aw: activity of water

CHU : centre hospitalo-universitaire

Cm : centimètre

CMI : concentration minimale inhibitrice

g: Gramme

HE : huile essentielle

IV : intraveineuse

J: jour

kDa :Kilodalton

Km: Kilomètre

Mg/Kg: Milligramme par Kilogramme

ml: Millilitre

pH: Potentiel d'hydrogène

T+ : Témoin positif

µm: Micromètre

La teigne est l'une des affections les plus courantes des maladies de peau rencontrées chez les bovins.

En absence d'un traitement efficace contre cette maladie et vue les répercussions socio-économiques et médicales ; la présente étude est une contribution à l'évaluation clinique et *in vitro* de la sensibilité de *Trichophyton verrucosum* ; l'agent causal de la teigne bovine à une formule naturelle à base de miel.

Le champignon en cause a présenté une bonne sensibilité à la formule *in vitro* avec une CMI de 19% pour les deux isolats.

Après l'application quotidienne de la formule naturelle sur des bovins souffrant d'une teigne clinique confirmée au laboratoire, l'évolution des lésions était favorable et la guérison était complète après une période de (20-30j), une durée variable selon le nombre et l'étendu des lésions.

Mots clés : Bovins, La teigne, *Trichophyton verrucosum*, miel, huile de cade.

Ringworm is one of the most common skin diseases encountered among cattle.

Indeed, due to the absence of an effective treatment against this disease, and its socio-economic and medical effects; we can consider this study as a contribution to the clinical and laboratory evaluation of the sensitivity of *Trichophyton verrucosum*; the causative agent of ringworm in cattle; with a natural honey based combination.

Thereafter, the causative fungus showed a good sensitivity to the combination in the laboratory, with a minimum inhibitory concentration (MIC) equivalent to 19% for the two isolated samples.

After the daily application of the natural combination (formula) on cattle which suffer from ringworm confirmed in the laboratory, we observed improvement in skin lesions with a complete recovery in a period ranging from 20 to 30 days. This period varies depending on the number and extension of skin lesions.

Keywords: Cattle, Ringworm, *Trichophyton verrucosum*, Honey, Cade oil.

القوباء الحلقية هي واحدة من الأمراض الجلدية الأكثر شيوعا لدى الأبقار.

نظرا لغياب علاج فعال ضد هذا المرض ولآثاره الاجتماعية والاقتصادية وكذا الصحية، تعد هذه الدراسة مساهمة في التقييم على النماذج الحيوانية لحساسية الشعروية التولوية العامل المسبب للقوباء الحلقية لدى الأبقار لتركيبية أساسها العسل.

أظهر الفطري المسؤول حساسية جيدة للتركيبية في المختبر مع تركيز مثبط أدنى يعادل 19% للعينتين اللتين ثم عزلهما.

بعد التطبيق اليومي للتركيبية الطبيعية على ابقار تعاني القوباء الحلقية مؤكدة في المخبر لوحظ تحسن في الاصابات الجلدية مع شفاء تام في فترة تتراوح بين (20-30 يوم) هذه الفترة تختلف حسب عدد و امتداد الاصابات الجلدية.

الكلمات المفتاحية : ابقار , القوباء الحلقية, الشعروية التولوية, عسل, زيت القطران.

INTRODUCTION

La teigne bovine (dartre) est une maladie infectieuse causée par différentes espèces de champignons kératinophiles et kératinolytiques qui représentent un groupe à part nommé les dermatophytes.

C'est un problème vétérinaire et public majeur reporté dans différentes régions du monde y compris l'Algérie, et à l'origine de grandes pertes économiques. Cette affection peut être responsable de retard de croissance chez les veaux de boucherie ou d'élevage, de baisse de la production laitière et de dégradation de la qualité des cuirs suite aux cicatrices se répercutant par des effets néfastes sur l'industrie de la tannerie. **(Lefevre et al., 2003 ; Reynal et Mage, 1993).**

C'est une maladie transmissible à l'homme touchant beaucoup plus les vétérinaires et les éleveurs de par leur contact étroit et répété avec les animaux infectés.

En absence d'un traitement spécifique et efficace pour cette maladie, la recherche d'un traitement alternatif devient un impératif.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- Isoler le germe responsable et l'identifier.
- Evaluer « *in vitro* » l'activité antifongique de la formule naturelle en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).
- Tester la formule naturelle *in vivo* sur des bovins présentant des lésions d'une teigne clinique confirmée au laboratoire et suivre l'évolution par photographie en vue de déterminer l'efficacité du traitement.

Partie

Bibliographique

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES DERMATOPHYTES ET LES TEIGNES DES BOVINS.

1. Caractères généraux des dermatophytes

1.1. Définitions

Les champignons sont des êtres vivants Eucaryotes, se nourrissant par absorption de nutriments du milieu. Leur paroi est composée généralement de chitine. Etant dépourvus de pigments chlorophylliens, trois modes de vie s'imposent à eux :

- La vie saprobiotique.
- La vie parasitaire.
- La vie symbiotique (**Chermette et Bussieras, 1993**).

Après les avoir longtemps assimilés à des végétaux, on considère maintenant qu'ils constituent un règne à part entière, parmi les cinq règnes actuels (les Monères, les Protistes, les Animaux, les Végétaux et les Champignons) (**Finck, 2002**), les dermatophytes sont des champignons filamenteux à mycélium cloisonné. Ils sont kératinophiles et kératinolytiques, et par conséquent, se développent dans les zones riches en kératine telles que les poils, la couche cornée de l'épiderme, les ongles, aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Cependant, certains peuvent vivre en saprobiose dans le sol (**Chermette et Bussieras, 1993 ; Maclou, 2002**).

Les dermatophytoses, ou teignes, sont des affections cutanées, contagieuses et inoculables. Elles se traduisent généralement par des lésions dépilées de forme régulière, plus ou moins inflammatoires mais généralement non prurigineuses (**Chermette et Bussieras, 1993**).

1.2. Taxonomie

1.2.1. Place des dermatophytes au sein du règne des champignons

Les dermatophytes appartiennent à la classe des Ascomycètes et à la famille des *Arthrodermatacées* (Tableau I).

Tableau I : Taxonomie des Dermatophytes (Bourdoiseau, 2000 ; Chermette et Bussieras, 1993).

CLASSE	ASCOMYCETES	Champignons filamenteux septés pouvant se reproduire par des conidies sexuées formées à l'intérieur d'un asque
SOUS-CLASSE	EUASCOMYCETES	Asques logés dans des ascocarpes
ORDRE	ONYGENALES	Reproduction asexuée par aleuriconidies ou arthroconidies Reproduction sexuée se faisant par des asques contenus dans des ascocarpes de type cléistothèces ou gymnothèces
FAMILLE	ARTHRODERMATACEES	Reproduction sexuée par production d'asques contenus dans des gymnothèces Reproduction asexuée par différents types de conidies : arthroconidies, microaleuries, macroaleuries, ainsi que des chlamydo-spores ; mais jamais de formes de levures
GROUPE	DERMATOOPHYTES	Espèces kératinophiles, généralement parasites des zones kératinisées de l'homme ou des animaux et quelquefois en saprobiose dans le sol

Au sein du groupe des dermatophytes, pendant longtemps, n'étaient connues que les formes asexuées, les Anamorphes. Avec la découverte des formes sexuées, les Téléomorphes, une double terminologie fut mise au point avec une correspondance entre les deux formes. Les formes sexuées ne sont représentées que par un genre, le genre *Arthroderma*.

En clinique, seule la terminologie usuelle basée sur les Anamorphes est utilisée (Chermette et Bussieras, 1993).

1.2.2. Classification des dermatophytes

La classification des dermatophytes a évolué au cours du 20^{ième} siècle :

-**Sabouraud** propose, en 1910, une première classification basée sur l'aspect clinique et le mode d'invasion pilaire du parasite dans les poils. Ainsi, il distingue quatre genres : *Microsporum*, *Trichophyton*, *Achorion* et *Epidermophyton*.

-Face à cette classification à usage clinique, **Langeron et Milochevitch (1930)**, une classification reposant sur l'observation microscopique des cultures et accessoirement sur le mode de parasitisme. A plusieurs reprises, cette classification fut complétée et modifiée par **Vanbreuseghem (Badillet, 1982 ; Maclou, 2002)**. Elle retient six genres : *Epidermophyton*, *Keratinomyces*, *Langeronia*, *Microsporum* ou *Sabourites*, *Trichophyton* et *Ctenomyces*.

-En 1936, **Emmons** propose la classification, que nous utilisons aujourd'hui et qui sera complétée par **Rivalier** en 1966. Trois genres sont à retenir : *Microsporum*, *Trichophyton* et *Epidermophyton*. Cette classification repose sur les caractéristiques en vie parasitaire et en culture (**Badillet, 1982 ; Maclou, 2002**).

Dans le tableau II, sont présentés les caractères en culture et en vie parasitaire des trois genres de dermatophytes :

Tableau II : Caractéristiques des différents genres (Chermette et Bussieras, 1993).

	<i>Trichophyton</i>	<i>Microsporum</i>	<i>Epidermophyton</i>
CARATERES EN CULTURE	Formation de macroaleuries en général peu abondantes à pôles arrondis, à paroi mince et lisse avec 2 à 10 cloisons ; et des microaleuries de type buissons acladium	Production de macroaleuries souvent abondantes, à pôles étroits, à paroi échinulée avec 1 à 14 cloisons transversales ; microaleuries en nombre variable, souvent accrochées directement sur les filaments mycéliens	Macroconidies en massue, réunies en bouquets. Pas de microconidies
CARACTERES EN VIE PARASITAIRE	Sur les poils parasités, on retrouve des lésions de type ectothrix ou endothrix avec des arthroconidies en chainettes	Sur les poils parasités, développement ectothrix et de nombreuses petites arthroconidies (diamètre 2- 4 µm), mosaïque, formant un manchon pileaire	Pas d'atteinte des poils <i>in vivo</i> . Retrouvé dans la couche cornée de la peau chez l'homme.

1.3. Morphologie

1.3.1. En vie parasitaire

L'examen microscopique du poil permet d'apprécier les différentes structures du champignon et la position de celles-ci par rapport au poil parasité.

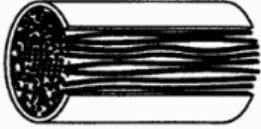
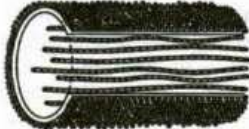
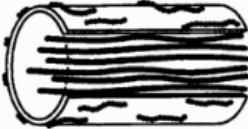
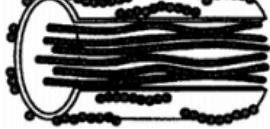
Les structures rencontrées sont :

-Des filaments mycéliens de 0,2 à 0,4 µm de diamètre, cloisonnés, simples ou ramifiés, le plus souvent dans les poils ou dans les squames parasités.

-Des arthroconidies, issues de la fragmentation des filaments mycéliens, de forme et de taille variables (de 2-3 à 8-12 µm selon les espèces) (**Bussieras, 1989 ; Chermette et Bussieras, 1993**).

Il existe quatre grandes catégories d'invasion pileaire selon la position des filaments et des arthroconidies par rapport au poil qui sont résumées dans le tableau suivant.

Tableau III : Différents types d'invasion pileaire (Chermette et Bussieras, 1993 ; Finck, 2002).

ENDOTHRIX	ECTOTHRIX (= ENDO-ECTOTHRIX)		
	Filaments à l'intérieur du poil et spores à l'extérieur		
	Microsporique	Microïde	Mégasporé
Filaments et spores à l'intérieur du poil. Ex : parasites principalement de l'homme comme <i>Trichophyton tonsurans</i>	Petites spores de 2 à 4 µm de diamètre, disposées en mosaïque Ex : <i>Microsporum canis</i>	Arthroconidies toutes petites (diamètre de 2 à 3 µm) disposées en chaînettes Ex : <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	Arthroconidies volumineuses (de 4 à 12 µm de diamètre) Ex <i>Trichophyton verrucosum</i>
			

1.3.2. En culture

1.3.2.1. Aspect macroscopique

Tout d'abord, on considère l'aspect de la culture qui peut être duveteux, glabre ou encore poudreux.

Ensuite, il est intéressant d'apprécier la couleur de chaque face de la culture dans la mesure où chaque espèce est caractérisée par la couleur de ses deux faces.

Les couleurs rencontrées sont :

-Face libre de la culture ou recto : souvent blanchâtre, parfois jaunâtre, chamois ou rose.

-Face contre la gélose ou verso : souvent très colorée : jaune, orangé, pourpre, acajou ou brun (Chermette et Bussieras, 1993).

1.3.2.2. Aspect microscopique

On s'intéresse à l'appréciation :

-**Des mycéliums** : dimensions et aspect de la partie distale qui peut être renflée pour le genre *Microsporum* .

-**Des ornementsations** : en particulier dans le genre *Trichophyton* et notamment *T. mentagrophytes* avec des hyphes pectinés, des vrilles, des organes nodulaires, des extrémités de filaments en massue ou bois de cerf (Figure 01) (**Chermette et Bussieras, 1993**).



Figure 01 : Ornementsations des dermatophytes (**D'après Chermette et Bussieras (Chen, 2000)**).

De gauche à droite : vrilles, hyphes pectinés et hyphes en bois de cerf

-**Des conidies de type aleurioconidies**

- Des microconidies : rondes ou ovales, petites et non cloisonnées formées directement sur le filament principal ou sur les branches latérales.

- Des macroconidies : allongées, en fuseau avec des cloisons transversales délimitant des logettes.

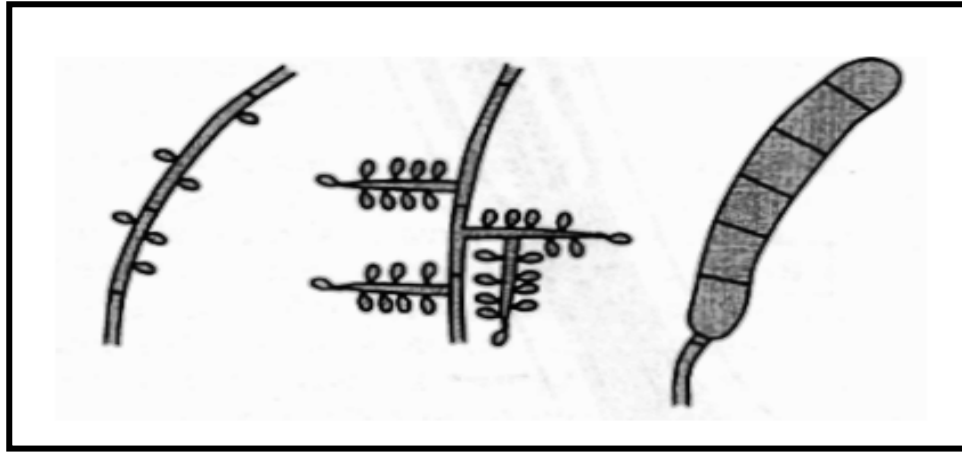


Figure 02 : Aleurioconidies de dermatophytes (Chermette et Bussieras, 1993).

De gauche à droite : Microaleurie en accladium, microaleurie en buisson et macroaleurie.

1.4. Epidémiologie des dermatophytes zoophiles

Selon le mode de transmission, on distingue les espèces

-Anthropophiles : ce sont des parasites obligatoires de l'homme, leur transmission est interhumaine, soit directe par contact, soit indirecte par l'intermédiaire d'objets de toilette ou la fréquentation de lieux publics contaminés tels que les piscines, les douches communes, les saunas, dont les surfaces contiennent des débris de kératine humaine contaminée (fragments d'ongles, squames parasités).

Ils sont bien adaptés à l'homme et diffusent très bien dans l'espèce humaine. Parmi ces espèces, citons *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton soudanense*, *Trichophyton violaceum*, *Microsporium audouinii*, *Epidermophyton floccosum*.

-Telluriques : qui vivent dans la terre et sont transmises accidentellement à l'homme, à l'occasion de travaux de jardinage ou par l'intermédiaire d'animaux. Par exemple, *Microsporium gypseum*.

-Zoophiles : parasites des animaux, transmis accidentellement à l'homme par contact direct ou indirect avec un animal infecté ou porteur sain (**Médibio, 2003**).

Les dermatophytes sont répandus dans le monde entier. Certaines espèces sont cosmopolites, d'autres sont localisées à des régions particulières du globe.

Les dermatophytes zoophiles sont également cosmopolites, cependant, leur répartition est influencée par la concentration de l'animal contaminateur.

L'exportation d'animaux de pays endémiques (animaux porteurs sains ou infectés) vers des pays non endémiques, peut infecter des élevages entiers ainsi que le personnel, alors

que jusque-là le pays était indemne de cette infection. Prenons l'exemple, de l'exportation de vaches hollandaises vers des élevages chinois, où 30% du bétail et 20% du personnel ont été atteints par *T. verrucosum*, alors que jusque-là cette maladie était inconnue dans ce pays (**Pu Xiong et al., 2006**).

Les dermatophytes zoophiles se répandent en fonction des mouvements des animaux contaminateurs.

Les principaux dermatophytes zoophiles transmissibles à l'homme sont résumés dans le Tableau IV.

Tableau IV: Principaux dermatophytes agents de zoonoses rencontrés chez l'homme (**Chabasse et al., 1999**).

Dermatophytes rencontrés chez l'homme et leurs origines	C H I E N	C H A T	B O v I N	O V I N	C H E V A L	P O R C	L A P I N	Rongeurs et Mammifères sauvages	O I S E A U
Fréquemment rencontrés									
<i>Microsporum canis</i>	++	+++	+/-	+/-	+/-	+/-	++	+/-	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	++	+/-	++	++	+	+		++ (mulot)	+
<i>Trichophyton verrucosum</i>	+/-	+/-	+++	++	+/-	+/-			
<i>Microsporum persicolor</i>	+	+						+++ (campagnol)	
Rarement rencontrés									
<i>Trichophyton erinacei</i>	+	+						+++ (hérisson)	
<i>Microsporum praecox</i>	+/-	+/-			++				
<i>Trichophyton equinum</i>	+/-	+/-	+/-		++			+/-	
Exceptionnellement rencontrés									
<i>Microsporum equinum</i>					+++				
<i>Trichophyton gallinae</i>	+/-	+/-							+
<i>Trichophyton quinckeanum</i>	+	+					+	++ (souris grise)	+
<i>Microsporum nanum</i>						+			

1.4.1. Facteurs favorisants

Il y a deux facteurs qui favorisent l'apparition des maladies dermatophytiques et leurs transmissions :

1.4.1.1. Facteurs liés à l'hôte

-Les facteurs hormonaux : les teignes s'observent majoritairement avant la puberté, leur disparition à la puberté étant attribuée d'une part, à un changement dans la composition des cheveux de l'adulte où la kératine est plus riche en acides gras soufrés qui conviennent mal au développement des dermatophytes et d'autre part, à l'action fongistatique des triglycérides dans le sébum produit après la puberté. Ainsi une réduction en triglycérides dans

le sébum peut prédisposer des femmes ménopausées à développer des teignes plus fréquemment que les autres adultes (**Chabasse *et al.*, 1999**).

-L'hygiène et le mode de vie : L'altération de la barrière cutanée par un microtraumatisme, la macération, l'occlusion, favorisent le parasitisme par les dermatophytes : les coiffures traditionnelles chez la femme noire, l'application fréquente de pommades occlusive sur le cuir chevelu, l'absence de soins capillaires sur les tresses laissées en place des mois durant, les microtraumatismes liés au rasage des cheveux ou de la barbe. L'échange de peignes et de brosses permet la dissémination des agents pathogènes.

1.4.1.2. Facteurs généraux

-Modification du terrain : Certaines maladies telles que le diabète fortement déséquilibré, le SIDA, entraînent une diminution de l'immunité et ont pour conséquence une plus grande susceptibilité aux infections fongiques, La corticothérapie ainsi que les autres traitements immunosuppresseurs peuvent aussi prédisposer au développement d'une teigne du cuir chevelu (**Maclou, 2002**).

-Les facteurs climatiques, locaux et généraux : tels que la chaleur et l'humidité sont favorables à la croissance dermatophytique (**Koenig, 1995**).

2. Dermatophytoses des bovins

2.1. Définition

Les teignes des bovins sont dues à *Trichophyton verrucosum* et, dans une moindre mesure, à *T. mentagrophytes*. L'atteinte est plus fréquente en hiver, lorsque les animaux sont en stabulation (Scott, 2007 ; Songer et Post, 2005). Les jeunes sont les plus sensibles, l'infection étant rare chez les adultes (Acha et Szyfres, 1989 ; Quinn *et al.*, 1994 ; Scott, 2007 ; Songer et Post, 2005). Ceci s'explique notamment par le développement d'une immunité suite aux infections dermatophytiques des jeunes par *T. verrucosum* (Lefevre *et al.*, 2003).

C'est une affection aux répercussions économiques non négligeables : baisse de production, mauvaise qualité des cuirs, limitation des échanges d'animaux, traitements lourds et coûteux (Lefevre *et al.*, 2003 ; Reynal et Mage, 1993).

2.2. Epidémiologie et facteurs favorisants

Dans le monde entier, *T. verrucosum* détermine la plupart des teignes bovines. La grande longévité de ce champignon dans le milieu extérieur assure la pérennité de la contamination des étables en l'absence de désinfection. Ces arthrospores sont protégés de l'action des ultra-violets par l'épaisseur des squamo-croûtes ce qui favorise la contagion même au pâturage, *T. mentagrophytes* est parfois rencontré ainsi que *T. equinum* et *T. tonsurans* (Euzéby, 1992).

Le contact parfois presque permanent entre bovins en stabulation permet la transmission directe. La contamination indirecte se fait par la litière, l'homme, les instruments ou le vent (Briand, 1975).

La fréquence des teignes bovines est variable selon le climat et la saison, elle est peu fréquente en été et dans les régions à climat sec. Les régions chaudes à climat humide sont par contre favorables au développement de la teigne.

La plus grande fréquence en hiver est liée d'une part à une augmentation de l'humidité atmosphérique et d'autre part à un changement de mode de vie des animaux qui demeurent souvent en stabulation permanente pendant plusieurs mois, les étables ou les conditions hygiéniques sont souvent mauvaises (manque d'aération, absence de nettoyage, tassement des animaux) constituent un terrain de choix pour le développement de la teigne (Euzéby, 1992).

Trois facteurs semblent plus particulièrement influencer sur la réceptivité des bovins (**Betard, 1975 ; Briand, 1975**) :

-**L'âge** : est le facteur le plus important. Bien que les adultes soient également sensibles, on rencontre la teigne surtout chez les veaux de l'étable, soit d'emblée, soit après introduction d'un animal infesté dans l'élevage. On considère que 95% des animaux atteints ont moins de trois ans c'est-à-dire n'ont pas atteint l'âge adulte et 75% ont un an et au-dessous.

-**Les peaux à épiderme lésé** : sont nettement plus réceptives : les microlésions traumatiques, la présence de parasites externes (poux) propagent les champignons au sein de l'effectif.

-**L'état général** : La teigne apparaît aussi bien chez les sujets bien nourris que chez des sujets sous-alimentés. Il semble néanmoins que ces derniers s'infectent plus facilement et plus intensément que les autres.

Diverses carences semblent favoriser la teigne particulièrement les carences en vitamines A et C, en acide folique, en fer et en cuivre. De même les traitements prolongés par antibiotiques et sulfamides ainsi que certaines erreurs thérapeutiques comme l'administration prolongée de crème à base de corticoïdes favorisent l'apparition des trichophyties.

2.3. Diagnostic

2.3.1. Clinique

La présence de teigne chez les bovins peut se manifester de façons variables. Cependant on peut d'une manière générale définir un aspect typique; il s'agit d'une lésion parfaitement circulaire de 2-4 cm de diamètre, glabre avec avulsion complète des poils et non prurigineuse (**Betard, 1975**).

Les localisations préférentielles sont la tête, la ligne supérieure du tronc, la croupe, le fanon, l'espace intermaxillaire, le pourtour des orifices naturels (yeux, bouche). Les lésions sont généralement assez nombreuses, dépassant la dizaine mais sont rarement étendues à tout le corps (**Euzeby, 1992**). Ces lésions sont regroupées en trois types :

1-La lésion dénudante simple

La première manifestation de la maladie consiste dans l'apparition en un point particulier du corps de l'animal d'une quantité anormale de squames, puis les poils se hérissent et se réparent sur l'ensemble de la robe. A la suite de frottements divers, ces poils, tombent laissant apparaître une zone dénudée. Cette lésion dénudante simple se présente comme une zone d'aspect circulaire de 4-5 cm de diamètre, entièrement dépilée, parfois confluyente avec d'autres lésions.

La zone centrale est toujours recouverte d'un enduit grisâtre d'aspect farineux. Au début, la peau a généralement une consistance grasse. A la périphérie de cette zone, les poils sont hérissés et s'arrachent facilement entraînant une grande quantité de squames qui en garnissent la base.

En retirant ces poils, on fait apparaître au pourtour de la lésion un liseré congestif montrant au niveau des folliculites pileux l'exsudation d'une sérosité qui contribue à la formation de la pellicule grisâtre.



Figure 03 : Lésion de teigne à *T.verrucosum* chez un bovin
(www.botany.utoronto.ca).

2-La lésion crouteuse sèche

Elle fait parfois suite à une lésion dénudante simple mais peut survenir d'emblée. Elle apparaît lorsque les réactions de l'épiderme à l'attaque du champignon sont plus importantes. La lésion primitive disparaît sous une croute d'aspect feuilletée provoquée par la prolifération de l'épiderme. La lésion est dénommée (darte) l'ensemble de la lésion garde un aspect circulaire. La croute se forme à la base du poil et en emprisonne une partie. Si les croutes tombent, il reste une zone circulaire glabre.



Figure 04 : Dartre du bovin à *T.verrucosum* (Anofel, 2003).

3-La lésion crouteuse humide

Les croutes ont dans cette forme un diamètre supérieur, à 10 cm et un aspect craquelé. Ces croutes adhèrent davantage à la peau sous-jacent et en les arrachant, on fait apparaître un épiderme fortement congestif avec un exsudat abondant (Betard, 1975).

-L'évolution des lésions

La lésion primitive s'accroît par la périphérie pendant près d'un mois tout en restant circulaire .Elle conflue fréquemment avec les lésions voisines et constitue alors des formes géométriques dont les contours festonnés restent nettement délimités .Au terme de l'évolution (deux à trois mois), le poil repousse au centre de la lésion. Toutefois, alors qu'apparaît cette guérison spontanée, la dispersion des spores permet la constitution d'autres plaques de dépilation. La maladie peut durer ainsi jusqu'à six à sept mois sur un même animal (Briand, 1975).

2.3.2. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel des dermatophyties chez les bovins doit être fait avec : les alopecies diffuses dont les lésions dépilées ne présentent pas l'aspect régulier à l'emporte-pièce des teignes, les gales sarcoptiques et chorioptiques qui se différencient essentiellement par leur caractères prurigineux, et l'eczéma des pulpes qui entraîne un aspect suintant des lésions et du prurit (Betard, 1975).

2.3.3. Diagnostic biologique

Il est basé sur l'anamnèse, la situation des lésions, leurs aspects cliniques et la réalisation d'examens : l'examen en lumière de wood, l'examen microscopique direct des

cheveux, des poils, des squames et des fragments d'ongles ou de griffes, la culture fongique ainsi que des examens complémentaires (**Chabasse et al., 1999**).

L'examen mycologique confirme le diagnostic évoqué et permet d'orienter l'enquête épidémiologique et le traitement (**Viguie-Vallent, 2001**), les étapes de ce dernier sont :

2.3.3.1. Examen en lumière de wood

Avant tout prélèvement, il faut examiner le cuir chevelu ou le pelage de l'animal en lumière de wood, à l'obscurité complète. La lampe de wood est une lampe à ultraviolets dont la longueur de l'onde est de 3560Å fréquemment utilisée dans le diagnostic des dermatophyties.

Cet examen montre une fluorescence verdâtre des cheveux ou des poils, caractéristique de l'excitation de pigments (ptéridine) qu'élaborent les filaments mycéliens de certains dermatopytes. la fluorescence ne se manifeste qu'en présence de ces filaments, les arthrospores ne sont pas fluorescentes.

Une fluorescence verte oriente donc le diagnostic vers une teigne endo-ectothrix de type mirosporique due à *M.canis* le plus souvent (ou une teigne favique d'origine anthropophile). Cependant, seule une fraction des souches de *M. canis* serait fluorescente (environ 50%).

Cet examen doit être minutieux. Il faut plusieurs minutes avant que la fluorescence ne devienne visible au praticien. Cet examen peu couteux est très utile pour repérer les zones de cheveux ou de poils parasités ce qui permet d'optimiser le prélèvement (**Chabasse et al., 1999 ; Guagère et Prèlaud, 1999**).

Toutefois, il faut se méfier des fausses fluorescence suite à l'application de topiques, de la coloration bleuâtre de squames, poussières et autres éléments non fongiques, de la coloration jaunâtre de croûtes ou de *Malassizia furfur* (Pityriasis versicolor) ou de la couleur rouge corail caractéristique de l'érythrasma. Au contraire, l'utilisation d'alcool ou d'alcool iodé, de pommades contenant ou non des antifongiques peut masquer une fluorescence (**Euzeby, 1992**). huit jours pour les crèmes, de un mois pour les vernis antifongiques et la griséofulvine per os, et de trois mois pour la terbinafine et l'itraconazole par voie générale (**Bouchara et al., 2004**).



Figure 05 : A) Lampe de Wood, B) Examen d'un chat sous lampes de Wood
(www.vet-lyon.fr).

2.3.3.2. Prélèvement

Le prélèvement des lésions dermatophytiques nécessite un matériel réduit : curette de brocq ou grattoir de vidal, ciseaux, vaccinostyle et écouvillons. L'ensemble de ce matériel doit être stérile.

Une pince à épilé est par ailleurs nécessaire devant une folliculite, une teigne ou un sycosis. Ces deux dernières lésions peuvent également être prélevées à l'aide d'un carré de moquette de l'aine d'environ 3 cm de côté préalablement stérilisé par autoclave. Il s'agit de la technique du carré de moquette.

Enfin des boîtes de pétri stériles en polystyrène ou mieux en verre (moins d'électricité statique) sont utilisées pour recueillir les squames, fragments d'ongles, cheveux ou poils (Bouchara *et al.*, 2004).



**Figure 06 : Matériels nécessaires au prélèvement des dermatophytes
(Bouchara *et al.*, 2004).**

-Modalités de prélèvement

Lorsque les lésions sont de localisations différentes, il faut prélever chaque site envahi séparément (Contet-Audonneau, 2006). Une quantité suffisante d'échantillon doit être recueillie pour réaliser l'examen direct et la culture (Dermatol, 2005).

1. teigne, sycosis et folliculites

Les cheveux, poils et duvets sont récupérés en périphérie de la lésion, en plus des squames, par grattage ou par arrachage à la pince à épiler puis un écouvillon préalablement humidifié est appliqué sur les lésions suintantes pour récupérer un peu de pus (Moulinier, 2002 ; Viguie-Vallent, 2001). En cas de folliculite, un prélèvement avec un fragment de scotch est effectué pour l'examen direct (Contet-Audonneau, 2006).

L'animal peut subir un grattage, ou bien un prélèvement à l'aide d'une moquette stérile passée sur les endroits les plus fréquemment atteints (museau, oreilles, pattes) ou sur l'ensemble du corps (Viguie-Vallent, 2001). Un brossage avec une brosse à dents stérile jusqu'à ce que la surface soit suffisamment recouverte de poils et des squames est également possible (Blum-Bouroudian, 2004).



Figure 07 : A) Carré de moquette stérile B) Brosse à dents stérile (www.vet-lyon.fr).

Pour le dépistage des porteurs sains humains ou animaux, il est nécessaire de frotter le cuir chevelu ou le pelage avec un écouvillon stérile préalablement humidifié avec de l'eau distillée ou avec un carré de moquette qui sert à ensemencer directement un milieu gélosé en boîte de pétri (**Chabasse *et al.*, 1999**).

2. Lésions cutanées

Elles sont grattées à la curette, au grattoir ou au scalpel mousse en périphérie de la lésion (sur le bourrelet inflammatoire) ou se situe les éléments mycéliens en activités et on récupère les squames dans des boîtes de pétri stériles.

S'il existe une lésion suintante et macérée, elle sera frottée avec deux écouvillons humidifiés, un pour l'examen direct, l'autre pour la culture.

Si les lésions sont vésiculeuses, elles sont percées puis la sérosité est prélevée à l'écouvillon.

Si les lésions sont discrètes et les squames peu abondantes, un prélèvement au scotch (qui est ensuite collé sur une lame de verre) permet de faire l'examen microscopique direct (**Contet-Audonneau, 2006 ; Grillot, 1996**).

Les produits pathologiques : squames, phanères, (ongles, cheveux, poils), sérosités- sont déposés dans une boîte ou un flacon stérile sec sans aucun fixateur.

En général, si les prélèvements ne peuvent pas être traités rapidement, ils sont conservés au réfrigérateur pour éviter la prolifération des micro-organismes comme les bactéries et les levures (**Contet-Audonneau, 2006**).

2.3.3.3. Examen direct

L'examen direct est indispensable compte tenu de la lenteur habituelle de croissance des dermatophytes et des difficultés d'interprétation en cas d'isolement de certaines moisissures habituellement saprophytes. Réalisé immédiatement après le prélèvement, il permettra d'apporter une réponse rapide au clinicien, en particulier en cas de parasitisme pileaire, et d'entreprendre un traitement approprié sans attendre les résultats des cultures (**Bouchara et al., 2004**).

Pour sa réalisation, on déposera le produit pathologique sur une lame porte-objet dans une goutte de liquide éclaircissant (chloral-Iactophénol, ou potasse à 10, 15 ou 20%) afin de digérer la kératine et faciliter la visualisation des éléments fongiques au microscope, objectif 20 ou 25 (Figure 8 a). De même, l'utilisation du contraste de phase facilitera leur observation (Figure 8 b) (**Bouchara et al., 2004**). Ces éclaircissants peuvent être utilisés seuls (pour les cheveux et les poils) ou additionnés de **noir chlorazole** ou d'un **fluorochrome** (pour les squames et les fragments d'ongle).

Le noir chlorazole présente la particularité de colorer en bleu-vert la paroi fongique car il possède une affinité sélective pour la chitine, et les cellules kératinisées apparaissent grises.

Le blanc de calcofluor est un agent blanchissant qui se lie à la cellulose et à la chitine. La paroi apparaît fluorescente lorsque la préparation est examinée en lumière ultraviolette.

La méthode au noir chlorazole est en général plus aisée à mettre en œuvre (conservation satisfaisante du réactif, examen microscopique en lumière ordinaire et non ultraviolette, absence d'artefacts).

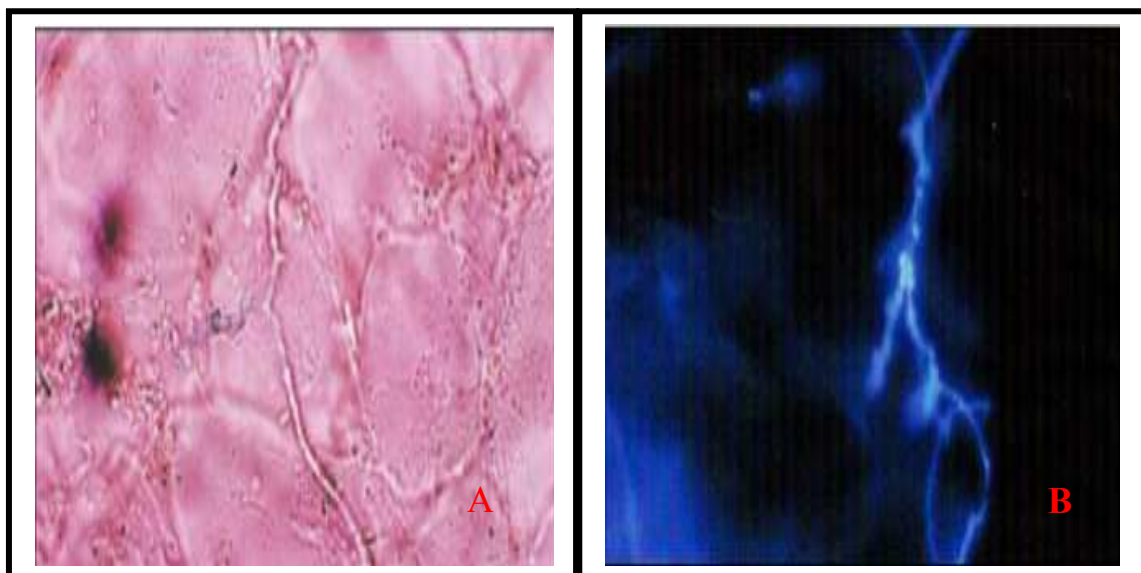


Figure 08 : Visualisation des éléments fongiques à l'aide de A) noir chlorazole, B) blanc de calcofluor (**Bouchara et al., 2004**).

La lecture se fait au microscope en examinant chacun des fragments sur toute la longueur, d'abord à faible grossissement pour repérer les débris pilaires, puis à grossissement plus fort, pour la mise en évidence des éléments fongiques.

Il est nécessaire de modifier l'intensité de la lumière à travers l'échantillon en diaphragme et de jouer sur la mise au point pour déceler les spores réfringentes et/ou les filaments mycéliens intra et/ou extra-pilaire (**Bouchara *et al.*, 2004 ; Grillot, 1996**).

-Résultats d'examen direct

La présence de longs filaments mycéliens de diamètre régulier, cloisonnées dans les squames et les ongles, oriente vers une dermatophytie.

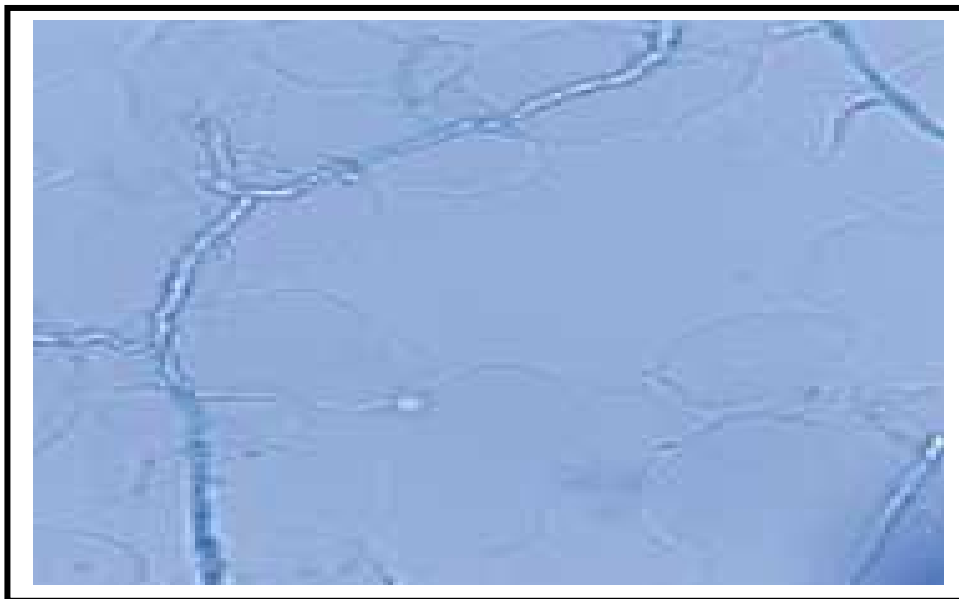


Figure 09 : Filaments mycéliens de dermatophytes (**Dermatol, 2005**).

Au niveau des cheveux et des poils, la disposition des spores à l'intérieur et à l'extérieur du cheveu ou du poil permet de distinguer les différents types de teigne endo-ectothrix (microsporique, microïde, ou mégaspore) (**Contet-Audonneau, 2006**).

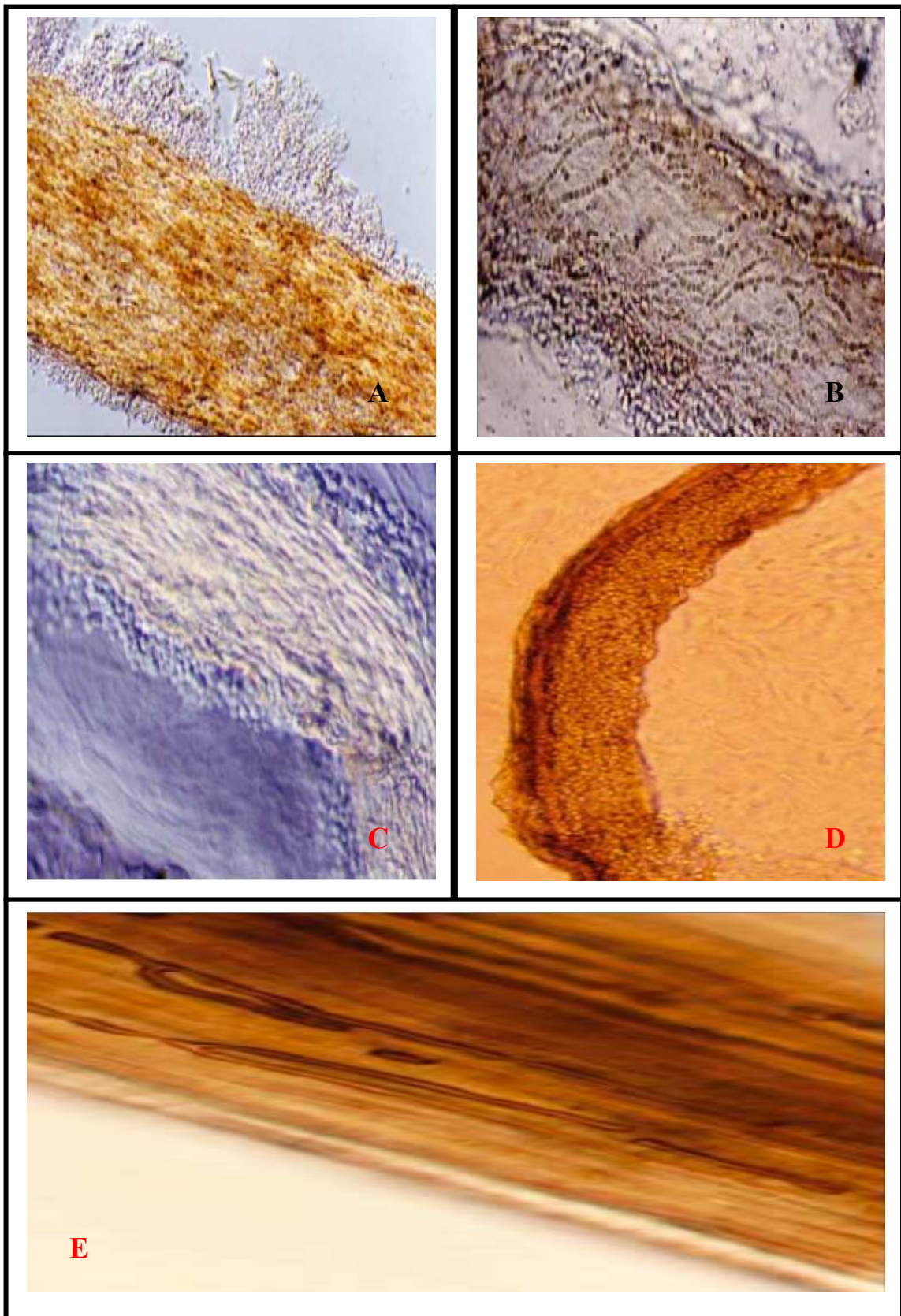


Figure 10 : Les différents types de parasitismes pilaires.
Type microsporique (A), miroïde (B), mégaspore (C), endothrix (D) et favique (E).
(Bouchara *et al.*, 2004)

2.3.3.4. Culture

-Milieux de culture et ensemencement

Le milieu de référence pour les dermatophytes est le milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques et de cycloheximide (Actidione®). Ce dernier inhibe la croissance de la plupart des moisissures et aide ainsi à l'isolement des dermatophytes (**Bouchara et al., 2004**).

Ce milieu de culture est commercialisé par différentes sociétés sous forme de géloses présentées en boîtes de Pétri ou en tubes. L'usage des boîtes de Pétri semble cependant préférable, au moins pour les primocultures. Leur manipulation est en effet plus aisée tant pour l'ensemencement que pour la réalisation des montages nécessaires à l'observation microscopique. Par ailleurs, elles permettent d'individualiser les points d'ensemencement, ce qui peut être extrêmement utile, compte tenu de la présence possible lors du prélèvement de spores de moisissures telluriques sur les téguments. Ces moisissures poussent, bien souvent, plus rapidement que les dermatophytes et pourraient donc masquer leur présence. Toutefois, si des géloses en tubes sont préférées, il conviendra de ne pas visser complètement les tubes, les dermatophytes étant aérobies (**Bouchara et al., 2004**).

Les cultures seront incubées à 20-25°C pendant au moins 3 semaines car certains dermatophytes comme *T. verrucosum* ont une croissance très lente. Elles seront examinées deux fois par semaine, car les aspects macroscopiques caractéristiques sont transitoires (**Bouchara et al., 2004**).

2.3.3.5. Identification

L'identification est réalisée dans le but d'isoler l'agent causal de la teigne bovine, les cultures seront examinées une à deux fois par semaine, certains aspects caractéristiques n'apparaissant que de façon transitoire, comme les corémies chez *T. rubrum*. Chaque espèce de dermatophyte présente par ailleurs un délai de pousse optimal où l'aspect morphologique est le plus caractéristique. Le milieu d'isolement de Sabouraud permet dans la plupart des cas l'identification des dermatophytes reposant sur un certain nombre de paramètres : vitesse de croissance, aspects macroscopiques et microscopiques (**Finck, 2002 ; Scott, 2007**).

-Examen macroscopique des cultures

Au cours de l'examen macroscopique, il faudra noter l'aspect général des colonies (rondes, étoilées,...), leur couleur au recto et au verso, leur relief (plat, plissé, bombé ou cérébriforme), les caractéristiques de la surface (duveteuse, poudreuse, granuleuse ou glabre), mais aussi la consistance (molle, élastique, cartonnée,...) et la taille (réduite, ou à l'inverse extensive) des colonies. On recherchera également la présence d'un pigment diffusant dans la gélose (**Chabasse et al., 1999**).

-Examen microscopique des cultures

Il se fait à partir d'un fragment de culture dissocié au bleu lactique ou lactophénole et examiné entre lame et lamelle. On peut aussi s'aider d'un morceau de ruban adhésif appliqué à la surface de la colonie (drapeau de Roth), puis déposé entre lame et lamelle, dans le bleu lactique ou lactophénole (Scott, 2007).

On étudiera:

-L'aspect des filaments mycéliens, cloisonnés, de diamètre régulier, ou à l'inverse présentant des dilatations (mycélium en raquette)

-La présence de chlamydospores parfois disposées en chaînettes (filaments toruloïdes de *T. verrucosum*, *T. violaceum*, *T. schoenleinii*), ou au contraire isolées et terminales (*M. audouinii*)

-L'abondance et la morphologie des microconidies (toujours unicellulaires, rondes ou piriformes, solitaires ou disposées en accladium, voire en buissons)

-La présence et la morphologie des macroconidies (toujours pluricellulaires et cloisonnées seulement transversalement, à paroi lisse (*Trichophyton* et *Epidermophyton*) ou rugueuse, échinulée (*Microsporum*) (Bussieras, 1989 ; Koenig, 1995).

-La présence d'ornementations telles que :

- excroissances triangulaires caractéristiques de *T. rubrum* (ébauches de macroconidies naissant latéralement sur les filaments et de forme triangulaire)

- organes pectinés (en forme de peigne) pour *M. audouinii* var. *langeronii* et *T. schoenleinii*

- vrilles chez *M. persicolor* et *T. mentagrophytes*

- « clous et chandeliers » ou aspect « en bois de cerf » chez *T. schoenleinii*

- structures proliférante de *T. erinacei* (observées surtout dans la profondeur de la gélose)

- organes nodulaires des souches dites « nodulare » de *T. mentagrophytes* (Scott, 2007).

-Milieux d'identification

Dans certains cas, le dermatophyte peut rester non identifiable, soit parce que la souche reste stérile (dite « pléomorphisée »), soit parce qu'elle présente des critères culturels macroscopiques ou microscopiques atypiques (Chermette et Bussieras, 1993 ; Finck, 2002 ; Bussieras, 1989 ; Chabasse *et al.*, 1999). Des techniques complémentaires telles que des repiquages sur des milieux spécifiques, dits « d'identification » sont nécessaires pour

favoriser la fructification et/ou la production d'un pigment caractéristique (Bussieras, 1989 ; Scott, 2007).

-Les milieux favorisant la conidiogénèse

Le milieu de Borelli (milieu au lactrimel) stimule la fructification de la majorité des dermatophytes, notamment celle des *Microsporium* (*M. canis*, *M. langeronii*) et renforce la production de pigments (rouge pour *T. rubrum* et jaune pour *M. canis*).

Tableau V : Démarche diagnostic des dermatophytes ; Caractéristiques biologiques des principaux dermatophytes - parasitisme pileaire et caractères cultureux (Bouchara et al., 2004).

Dermatophytes	Parasitisme pileaire	Caractère cultureux	
		Vitesse de pousse	Aspect des colonies
<i>E. floccusom</i>	Absence	Rapide (5 à 6 jours)	Poudreuse, jaunes verdâtre (pléomorphise rapidement)
<i>M. canis</i>	Microsporique	Rapide (5 à 6 jours)	Duveteuses, blanches, (aspect étoilé) pigment jaune-orangé au verso
<i>M. gypseum</i>	Favique ou endo-ectothrix	Rapide (5 à 6 jours)	Plâtreuses, beiges, puis chamois
<i>M. langeronii</i>	Microsporique	Lent (8 à 10 jours)	Duveteuses, blanches à grises, verso beige saumoné
<i>M. persicolor</i>	Absence	Rapide (5 à 6 jours)	Aspect de feutre, blanches à beiges, puis rosées, verso rose lilas
<i>T. mentagrophytes</i>	Microïde pour la variété mentagrophytes	Rapide (5 à 6 jours)	Poudreuses, duveteuses blanc-crème, verso incolore ou brun rougeâtre
<i>T. rubrum</i>	Très rare, endothrix ou endo-ectothrix	Rapide (6 à 7 jours)	Duveteuses, blanc-crème ou violacées, verso incolore ou brun
<i>T. schoenleinii</i>	Favique	Très lent (15 jours)	Cireuses, jaunâtres, évoquant une morille
<i>T. soudanense</i>	Endothrix	Lent (10 à 15 jours)	Glabres et plissées, aspect étoilé, couleur 'abricot sec'
<i>T. tonsurans</i>	Endothrix	Lent (10 à 15 jours)	Poudreuses ou veloutées, de consistance carbonée, blanches à jaune soufre
<i>T. verrucosum</i>	Mégaspore	Très lent (3 semaines)	Verruqueuses, blanc-crème, verso brun
<i>T. violaceum</i>	Endothrix	Lent (10 à 15 jours)	Petites, bombées, glabres, violettes (parfois blanches)

2.4. Traitement et Prophylaxie

2.4.1. Les molécules antifongiques

Le développement de molécules antifongiques pour la médecine humaine n'a réellement débuté que vers 1980. Sauf en régions tropicales, les mycoses systémiques étaient rares et l'amphotéricine B, commercialisée en 1955, permettait de traiter ces mycoses vraies (blastomycose, histoplasmoses aux USA, par exemple). Dans les pays développés, l'incidence des mycoses opportunistes (candidoses systémiques, aspergilloses invasives, cryptococcose neuro-méningée) a fortement augmenté parallèlement avec celle des traitements immunosuppresseurs, antibiotiques ou l'émergence du SIDA (**Adriaenssens *et al.*, 2010**).

Le développement de molécules antifongiques se heurte à plusieurs difficultés :

- une forte toxicité, les cellules fongiques étant des cellules eucaryotes comme les cellules de mammifères, ce qui explique le nombre restreint de molécules utilisables par voie systémique.

- une action *in vivo* le plus souvent fongistatique obligeant à des traitements prolongés avec un fort risque de rechutes chez les individus immunodéprimés ;

- l'existence chez les champignons d'une paroi cellulaire constituée de chitine et de polysides (glucanes, mannanes) empêchant la pénétration de l'antifongique dans la cellule fongique ;

- un retard considérable de la standardisation des tests *in vitro* permettant d'évaluer la sensibilité des souches aux molécules antifongiques et de la définition de critères permettant de prédire l'efficacité *in vivo* et la nécessité de recourir à des modèles expérimentaux animaux.

Les produits antifongiques disponibles en médecine vétérinaire dans le domaine des antifongiques a connu un essor important au cours des dix dernières années avec trois classes d'antifongiques actuellement commercialisées : la griséofulvine, les polyènes et les azolés (Tableau VI). Seules trois molécules sont disponibles pour les espèces de rente : L'énilconazole chez les bovins et les équins, la griséofulvine chez les équins et le parconazole en pré-mélanges médicamenteux chez les pintades.

Chez les carnivores, la thérapeutique antifongique prend toute son importance, en relation avec leur médicalisation de plus en plus poussée. Une étude sur l'usage des antifongiques vétérinaires, menée en Grande Bretagne entre 1998 et 2002, illustre cette tendance : la consommation, chiffrée en kilogrammes de principe actif antifongique par an, n'a cessé d'augmenter pour les animaux de compagnie ou de loisir (chats, chiens, chevaux, ânes...). Pour les espèces animales productrices de denrées alimentaires, elle a au contraire

diminué et est en moyenne plus de 10 fois inférieure à celle de la catégorie précédente (Goodyear et Threlfall, 2004).

Tableau VI : Les molécules antifongiques.

Classe chimique		Molécules disponibles en médecine vétérinaire	Autres molécules disponibles en médecine humaine
		Griséofulvine	
PLYÈNES		Nystatine	Amphotéricine B (IV : H)
AZOLÉS	IMIDAZOLÉS	Clotrimazole Énilconazole Kétoconazole Parconazole Miconazole	Bifonazole Éconazole Isoconazole Omoconazole Oxiconazole Fenticonazole Sertaconazole Sulconazole Ticonazole
	TRIAZOLÉS	Intraconazole	Fluconazole (IV : H) Voriconazole (H) Posaconazole (H)
ALLYLAMINES			Terbinafine
PYRIMIDINES			Flucytosine (IV : H)
ÉCHINOCANDINES			Casopfungine (H) Anidulafungine (H) Micafungine (H)
PYRIDONE			Cyclopirox olamine
THIOCARBAMATE			Tolnaftate
MORPOLINE			Amorolfine

(H): perception restreinte

2.4.2. Toxicité et effets indésirables des antifongiques

Les antifongiques, qui ont pour cible des cellules eucaryotes, ont une toxicité plus élevée que celle des antibiotiques. Tous les antifongiques peuvent générer des effets secondaires. Néanmoins certains ont une toxicité plus importante : l'amphotéricine B et, parmi les azolés, le miconazole ; la griséofulvine est toxique pour le chat. Peu de données sont rapportées concernant les effets indésirables chez l'animal en particulier pour les molécules récentes et pour les espèces autres que les carnivores domestiques (Giguère, 2006 ; Plumb, 2004 ; Davis *et al.*, 2009).

Tableau VII : Toxicité des antifongiques (Giguère, 2006 ; Plumb, 2004 ; Davis *et al.*, 2009).

Antifongique (importance de la toxicité)	Toxicité digestive	Toxicité rénale	Toxicité hépatique	Toxicité hématologique	Toxicité cardio vasculaire	Intolérance cutanée
Amphotéric -ine B (+++)	Anorexie Vomissements Diarrhées	Atteinte glomérulaire + tubulaire, hypokaliémie		Anémie (thrombocytopénie)	Fuite K ⁺ : arythmie cardiaque	Rash (homme)
Kétoconazole	Anorexie Vomissements Diarrhées		Augmentation des enzymes hépatiques, hépatite fulminante			Chien : alopécie, prurit
Fluconazole (+/-)	Anorexie		?			
Itraconazole (+/-)	Anorexie Vomissements Diarrhées		Anorexie Vomissements Diarrhées			Chien : vasculaire
Voriconazole (+/-)	?		?			
5- flucytosine (+)	Anorexie Vomissements Diarrhées Colite ulcérateuse (posologies élevées)		Augmentation enzymes hépatiques	Atteinte modulaire : leucopénie (thrombocytopénie)		
Griséofulvine (chat : ++)	Anorexie Vomissements Diarrhées		Augmentation enzymes hépatiques	Chez le chat : neutropénie, anémie.		Rash, photosensibilisation (homme)

2.4.3. Traitement de la teigne chez les bovins

Le traitement est semblable pour tous les animaux de rente. Il est important de traiter tout l'effectif, y compris les animaux ne présentant pas de lésion, et de désinfecter l'environnement, car les spores de *T. verrucosum* peuvent persister jusqu'à 4 ans.

Pour les bovins, un traitement antifongique local est généralement suffisant. Avant d'appliquer un topique, il est conseillé de couper les poils autour des lésions, de retirer les croûtes et de les détruire, pour favoriser la pénétration du produit et éliminer une partie des champignons.

Actuellement, les antifongiques locaux les plus employés sont la natamycine (ou pimaricine), utilisable en spray à 0,01% tous les 4 jours, le thiabendazole en pommade à 2 ou 4% appliqué quotidiennement et l'énilconazole en suspension à 0,2% (Imavéral), à appliquer 4 fois à 4 jours d'intervalle. L'énilconazole, disposant d'une AMM pour le traitement des teignes chez les bovins et les équins en France, n'a pas de délais d'attente, aussi bien pour le lait que pour la viande (**Lefevre *et al.*, 2003 ; Petit, 2009**).

Le seul antifongique systémique disponible pour les grands animaux est la griséofulvine (Dermogine), qui en France ne possède une AMM pour le traitement des teignes que chez les chevaux, l'AMM chez les bovins ayant été retiré en 2002 (**Lefevre *et al.*, 2003 ; Petit, 2009**). Elle est administrée par voie orale à la dose de 10 mg/kg quotidiennement pendant 7 à 10 jours, mais cette dose est insuffisante pour certains auteurs, qui recommandent une dose de 20 à 60 mg/kg (**Divers et Peek, 2008 ; Petit, 2009**).

Le temps d'attente fixé chez les chevaux est de 6 mois pour la viande et les abats, avec interdiction de consommer le lait (**Lefevre *et al.*, 2003 ; Petit, 2009**).

Concernant la prophylaxie médicale, différents vaccins sont disponibles contre *Trichophyton verrucosum* (**Hirsch *et al.*, 2004**). Ils permettent de réduire considérablement la dépréciation des cuirs et sont donc intéressants pour les veaux de boucherie. En France, il existe un vaccin vivant atténué (Bovilis Ringvac). Le protocole vaccinal consiste en 2 injections intramusculaires à 15 jours d'intervalle. L'immunité s'installe un mois après la deuxième injection et perdure pendant un an. (**Petit, 2009**)

Ce vaccin, utilisé avec le même protocole mais à double dose, serait efficace pour traiter une teigne déjà installée. Il accentue les lésions présentes mais la guérison serait ensuite plus rapide (**Petit, 2009**).

On remarque que les vaccins anti-*T. verrucosum* sont efficaces contre *T. mentagrophytes*, mais l'inverse n'est pas vrai.

CHAPITRE II

Effets thérapeutiques du miel
et des huiles essentielles

1. Le miel

1.1. Définition

Le miel est un produit naturel qui a accompagné l'homme depuis la plus haute antiquité. Cet élixir précieux est élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir de nectar des fleurs aussi bien que du miellat. Le miel est une solution hautement concentrée en sucres, dont les principaux sont le fructose et le glucose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs tels que les minéraux, les protéines, les vitamines, les acides organiques, les flavonoïdes, les caroténoïdes..... (**Azeredo et al.,2003**).

1.2. Activités biologiques du miel

1.2.1. Activité antifongique : Il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique. Une solution de miel comparée à une solution isotonique de saccharose inhibe complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *l'Aspergillus niger*, *l'Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (**www.biologiq.nl**).

1.2.2. Activité antioxydante : Le miel apporte les substances nécessaires pour aider l'organisme à se défendre contre les agressions d'origine interne ou externe, en particulier, des substances anti-oxydantes qui peuvent piéger les radicaux libres et aider l'organisme à éliminer diverses toxines.

De plus, le silicium contenu dans le miel est un stimulateur du système immunitaire. Le miel permet donc de renforcer le système de défense immunitaire, et ainsi, de mieux résister aux agressions en général (**Hakim, 2000**).

Le mécanisme protecteur antioxydant du miel utilise à la fois les enzymes tels que la catalase et la peroxydase, les composants phénoliques, les flavonoïdes, les acides organiques comme l'acide ascorbique et des acides aminés comme la proline (**Meda et al., 2005**). Toutefois, les composés phénoliques sont les plus importants dans cette activité.

En règle générale, les miels foncés et les miels ayant une forte teneur en eau ont une capacité anti-oxydante plus grande que celle des autres miels. De plus, l'activité anti-oxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique (**www.biologiq.nl**).

1.2.3. Actions anti-inflammatoires

La réduction de l'inflammation observée en clinique suite à l'application de miel est étayée par la preuve histologique mettant en évidence la réduction du nombre de cellules inflammatoires présentes dans la plaie (**Molan 2002**). L'inflammation est une réponse non spécifique de tissu de mammifère à une variété d'agents hostiles Il existe de nombreux

médiateurs de l'inflammation. Par conséquent, l'inhibition de ces médiateurs est l'une des étapes importantes dans le contrôle de l'inflammation (**Sobota et al., 2000**).

Le miel présente de puissants et multiples effets anti-inflammatoires. De nombreuses observations cliniques rapportent que de miel réduit l'œdème et l'exsudation, minimise les cicatrices et possède un effet apaisant lorsqu'il est appliqué sur les plaies enflammées et les brûlures (**Molan, 2011**).

L'effet anti-inflammatoire de miel peut être expliqué par plusieurs mécanismes d'action:

-L'inhibition de la voie classique du complément (**van den Berg et al., 2008**).

-L'inhibition de la formation des espèces réactives de l'oxygène (**van den Berg et al., 2008**).

-L'inhibition de l'infiltration leucocytaires (**Leong et al., 2012**).

-L'inhibition de la cyclo-oxygénase -2 (COX-2) (**Hussein et al., 2012**).

1.2.4. Propriétés cicatrisantes

Lors de la dégradation du glucose (du miel) en présence d'eau et d'oxygène par la gluco-oxydase, il y a formation d'acide gluconique et d'eau oxygénée (H₂O₂). L'eau oxygénée formée a un rôle très important dans le processus de cicatrisation. En effet, comme mentionné plus bas, c'est un très bon antiseptique.

Au contact des tissus et du sang, elle se décompose en eau et en oxygène (H₂O₂ → H₂O + O₂), ce qui crée une « micro-effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (détersion). De plus, le peroxyde d'hydrogène apparaît comme un véritable stimulus pour la multiplication cellulaire ainsi que pour la réponse à l'évolution de l'inflammation normale lors de la cicatrisation.

Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans le même temps, il stimule également le développement d'une néo-vascularisation dans le tissu cicatriciel (**Descottes, 2009**).

Le miel induit également la synthèse de collagène, active le transforming growth factor-β1 (qui a un puissant pouvoir réparateur) ; à cela s'ajoute aussi des pouvoirs antioxydant et anti-inflammatoire.

L'application de miel sur la plaie génère, grâce à ses propriétés hygroscopiques, un milieu humide favorable à l'ensemble des processus cités ci-dessus. La quantité d'eau libre du miel étant très faible, on pourrait s'attendre à un dessèchement des tissus. Au contraire, l'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée) (**Goete, 2009**). Ce milieu humide permet notamment une cicatrisation plus rapide qu'avec un pansement sec car on ne lèse pas les tissus épithéliaux

nouvellement formés. De plus, l'osmolarité du miel favorise l'exsudation et donc la diminution de l'œdème au sein de la plaie (**Descottes, 2009**).

Enfin, le changement du pansement s'effectue sans douleur. Cependant, les pansements créant un milieu humide peuvent favoriser la croissance des bactéries et sont donc contre-indiqués dans les plaies infectées. Mais le miel au contraire crée un milieu humide dans lequel la croissance des bactéries est évitée grâce à son activité antibactérienne.

Le miel élimine également rapidement les mauvaises odeurs alors que des plaies malodorantes sont souvent rencontrées avec les pansements humides conventionnels. Cela peut s'expliquer par l'action antibactérienne du miel mais aussi par le fait que les glucides apportés par le miel sont utilisés par les bactéries à la place des acides aminés provenant du sérum ou des cellules mortes. Cela aboutit à la formation d'acide lactique à la place d'amines, d'ammoniac et de composés soufrés qui ont une odeur nauséabonde. Le maintien d'un environnement humide est également un avantage pour permettre le bon fonctionnement des enzymes protéolytiques et l'élimination des croûtes, du pus et des tissus morts.

Tous ces mécanismes activent de façon très favorable la cicatrisation, et font du miel un pansement humide bio-actif d'une grande efficacité (**Assie et Descottes, 2004**).

1.2.5. Activité antibactérienne

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. La puissante activité *in vitro* du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatique du miel. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel et ses vertus curatives constituent partiellement une énigme.

Une étude récente utilisant une approche de neutralisation successive des différents facteurs bactéricides d'un miel de qualité médical, le REVAMIL® afin de les caractériser (**Kwakman et al., 2010**). Chacun des facteurs pris isolément a été testé sur plusieurs types de bactéries résistantes aux antibiotiques : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Escherichia coli* producteur de β -lactamase, *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ciprofloxacine et *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine. Toutes les bactéries testées ont été sensibles à différentes combinaisons de facteurs bactéricides, indiquant la multiplicité des mécanismes mis en jeu. Six facteurs principaux sont impliqués dans ce pouvoir bactéricide :

1.2.5.1. L'osmolarité

Elle est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (**Assie et Descottes, 2004**).

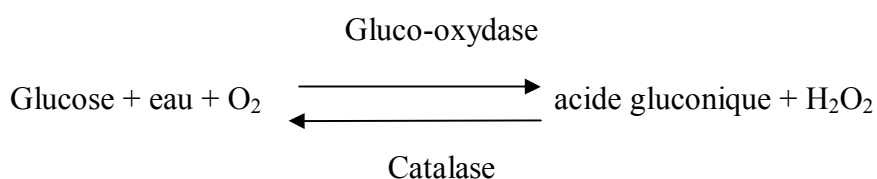
De plus, le miel étant une solution sursaturée, l'eau disponible pour permettre la croissance de la plupart des bactéries ou des levures est insuffisante. On a défini un coefficient hydrique « aw » pour mesurer cette eau « libre ». La valeur moyenne de l'activité hydrique du miel se situe entre 0,562 et 0,62. De nombreuses espèces bactériennes ont leur croissance complètement inhibée pour une activité hydrique comprise entre 0,94 et 0,99. Cela signifie que ces espèces ne pourraient pas se développer au sein d'un miel non dilué (www.biologiq.nl).

1.2.5.2. Le pH

Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Ce pH semble être efficace pour ralentir ou inhiber la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes. On peut donc dire que le pH acide du miel renforce l'activité antibactérienne de celui-ci (**Assie et Descottes, 2004**).

1.2.5.3. Le système peroxyde d'hydrogène (inhibine)

La principale « inhibine » que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) encore appelé eau oxygénée. C'est un très bon antiseptique. Il est produit par réaction enzymatique. C'est la gluco-oxydase sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



1.2.5.4. La défensine-1

Il s'agit d'une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité spécifique, ou innée. Ces petits peptides peuvent être divisés en deux groupes : les α-défensines, présentes au sein de certains granules sécrétoires dans les leucocytes ou des cellules immunitaires spécialisées, et les β-défensines, présentes dans l'ensemble des épithéliums et au sein de nombreux organes.

Elles jouent un rôle prépondérant dans la prévention des pathologies infectieuses, et elles modulent la réponse immunitaire. En neutralisant de manières successives les facteurs bactéricides déjà connus du miel les scientifiques ont conclu que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel proviennent de ces protéines (**Kwakman *et al.*, 2010**).

1.2.5.5. Le methylglyoxal (MGO)

Un niveau exceptionnellement élevé de l'antimicrobien le methylglyoxal (MGO) a été trouvé dans le miel de Manuka (**Adams *et al.*, 2008 ; Mavric *et al.*, 2008**). En se basant sur la forte corrélation entre les niveaux de MGO et le potentiel du miel à inhiber la croissance de *S.aureus*, il a été suggéré que le MGO est entièrement responsable de l'activité antibactérienne non peroxyde du miel de manuka (**Adams *et al.*, 2008**). La neutralisation du MGO a aboli l'activité du miel de manuka contre *S. aureus* et sensiblement réduit l'activité contre *B. subtilis*, mais n'a pas affecté l'activité contre *E. coli* et *P. aeruginosa* (**Kwakman *et al.*, 2011**). Ainsi, le MGO n'est pas entièrement responsable de l'activité antimicrobienne non peroxyde du miel de manuka.

1.2.5.6. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques provenant du nectar des plantes ont été proposés comme d'importants facteurs dans l'activité antibactérienne non peroxyde du miel. Plusieurs composés phénoliques antibactériens ont été identifiés dans les miels (**Molan, 1992 ; Weston *et al.*, 2000 ; Isla *et al.*, 2011**), mais leur contribution à l'activité globale de miel reste incertaine. L'activité individuelle des composés phénoliques isolés à partir du miel est trop faible pour contribuer de manière substantielle (**Molan, 1992, Weston *et al.*, 2000**). Des complexes d'extraits phénoliques de plusieurs miels malaisiens exercent une activité antibactérienne, mais l'identité du composé (s) responsable de cette activité est (sont) inconnue(s). Il se pourrait que la combinaison de différents composés phénoliques au lieu de composés individuels puisse contribuer sensiblement à l'activité antibactérienne du miel (**Aljadi et Yusoff., 2003**).

2. Les huiles essentielles

2.1. Définition

Il s'agit d'un mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Extraites de la plante grâce à des procédés physiques tels l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur ou par pression à froid dans le cas des agrumes, les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Les produits obtenus par extraction avec d'autres procédés ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par la norme de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) (**Bruneton, 1993 ; Afnor, 2000**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs (ylang-ylang, bergamotier, rosier), soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante (**Anton et Lobstein, 2005**).

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante.

2.2. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (**Valnet, 2005**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

2.2.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**).

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qu'ont

l'ineffectivité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc (Madhavi *et al.*, 1996).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (Caillet et Lacroix, 2007).

2.2.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson *et al.*, 2002).

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HE sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Cox *et al.*, 2000 ; Carson *et al.*, 2002).

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée (Wendakoon et Saguchi, 1995). Les HE peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Cox *et al.*, 1991).

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman et Deans, 2000).

2.2.3. Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (Lis-Balchin, 2002).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae*: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile.

Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Vokou *et al.*, 1988**). Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6diméthoxyphénol) sont plus antifongiques que les aldéhydes testés (cinnamique et hydrocinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : **Phénols>Alcools>Aldéhydes>Cétones>Ethers>Hydrocarbures**

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol> thymol> isoeugénol> eugénol) (**Utree *et al.*, 2002**).

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de (**Chao *et al.*, 2000**), ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

2.3. L'huile de cade

L'huile de cade est un liquide épais, à odeur ampyromatique, à saveur brûlante, la densité est inférieure à celle de l'eau, insoluble dans l'eau, soluble dans de nombreux solvants organiques et incomplètement dans l'alcool (**Quezel et Santa1962**).

2.3.1. Propriétés pharmacologiques de l'huile de cade

L'huile de cade possède différentes actions pharmacologiques, elle est antiprurigineuse, kératolytique, cicatrisante, antiseptique, antifongique et arthropodicide

Parmi ces propriétés, deux sont caractéristiques du goudron de cade : les actions antiprurigineuses et kératolytiques. Celles-ci sont dues à divers constituants. L'action antiprurigineuse est essentiellement due à la présence de phénols tels que les crésols. L'action

kératolytique est liée aux crésols et à la résorcine (**Gall et Litox,1989 ; Lorette et Vaillant,1995**).

En plus de ces deux actions, elle est antiseptique et cicatrisante pour différentes plaies et blessures. L'antisepsie est vraisemblablement due à la teneur en crésols (**Chuyen,1985**).

L'huile de cade possède également un pouvoir parasiticide. En effet, elle est à la fois anthropodicide et antifongique.

De plus, de par ses composés phénoliques, l'huile de cade a une action fongistatique. Elle est active sur les trichophytons, *Candida albicans*, *Cryptococcus* et *Aspergillus sp* (**Lucas, 2000**).

2.3.2. Utilisation en médecine vétérinaire

L'huile de cade, par ses propriétés antiseptiques, antiparasitaires et acaricides, fut employée en médecine vétérinaire.

Jusqu'au dix-neuvième siècle, l'huile de cade était employée contre la gale, les teignes et l'eczéma des animaux (**Porte,1994**).

Lorsque des animaux présentaient des symptômes de la gale, l'huile de cade était appliquée sur les zones touchées par les acariens (*Demodex* ou *Sarcoptes Scabiei*)(**Chuyen,1985**).

Par contre lorsqu'il s'agit de teigne, l'huile de cade était souvent associée à du soufre ou de l'iode. Ces associations que l'on dénommait respectivement dénisol et cadiode étaient diluées avec un excipient gras afin de les appliquer sur les zones atteintes (**Chuyen,1985**).

L'huile de cade fut utilisée contre l'eczéma des chiens ou des chats ou encore des chevaux et des bovins. Quand la phase aigüe de l'eczéma était terminée, il pouvait subsister une desquamation et un épaissement de l'épiderme. Pour lutter contre ces inconvénients, une pommade à base d'huile de cade était appliquée en alternance avec une pommade à l'oxyde de zinc (**Chuyen,1985**).

L'huile de cade était parfois employée dans les fissures des sabots des équidés et dans une affection que l'on appelle < piétin > chez le mouton, sorte de pododermatite végétante détruisant le plancher du sabot.

Partie

Expérimentale

Matériels et méthodes

1. Lieu et durée de l'étude

Dans cette partie, l'objectif est d'isoler et d'identifier le champignon responsable de la teigne bovine et tester la sensibilité de ce dernier à la formule à base de miel *in vitro*.

Dans un second temps, une application de la formule sur des bovins présentant des lésions d'une teigne confirmée au laboratoire en vue de déterminer l'efficacité de cette dernière *in vivo*.

Notre étude s'est déroulée du 30/11/2015 au 02/06/2016, nous avons suivi 4 élevages bovins qui souffraient de la teigne bovine, au niveau de trois régions différentes de deux wilayas :

-HassiFedoul (la wilaya de Djelfa)

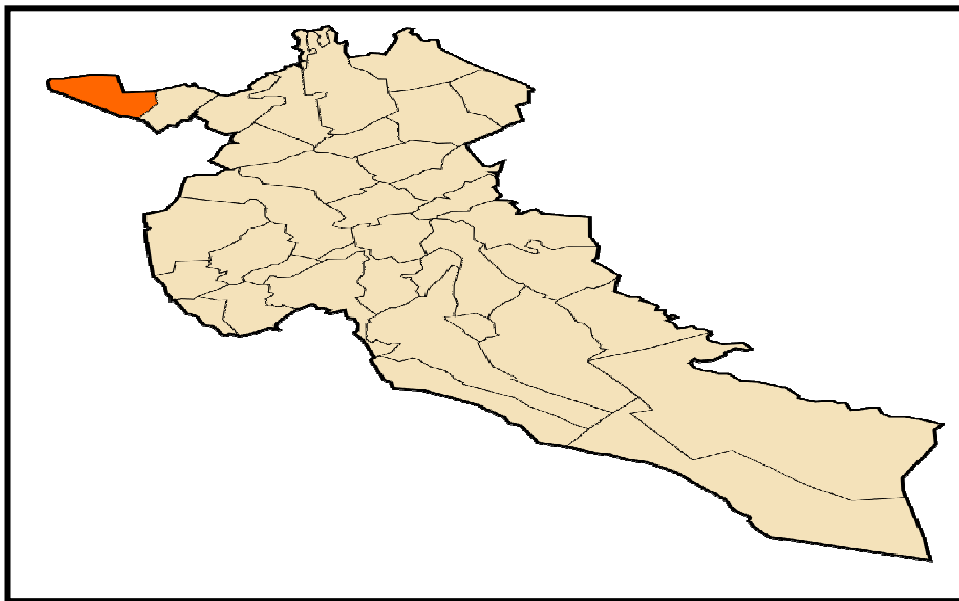


Figure11 : Localisation de La commune de HassiFedoul.

La commune de Hassi-Fedoul dépend administrativement de la Daïra de Sidi Ladjel. Elle est située à 170 km au nord-ouest de Djelfa et à 250 km d'Alger. La route la plus directe est Alger-Boughezoul puis Boughezoul-Hassi-Fedoul en passant par Chahbounia et Sidi Ladjel.

-Ain El Hadid, Sougueur (la wilaya de Tiaret)

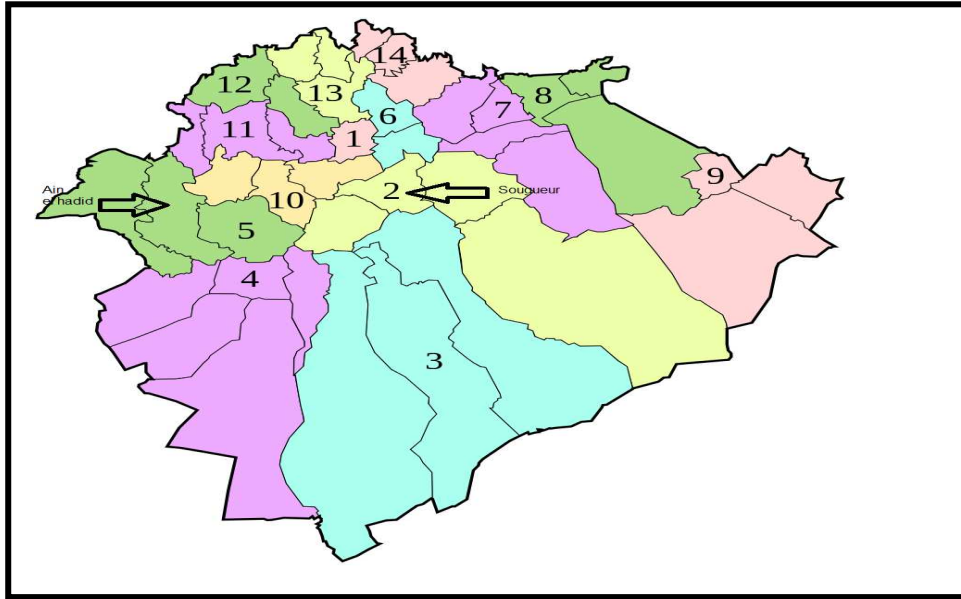


Figure 12 : Localisation de la daïra de Sougueur et la commune d'Ain El Hadid

-Sougueur : La daïra de Sougueur est située dans la Wilaya de Tiaret et dont le chef-lieu est la ville éponyme de Sougueur.

-Ain El Hadid : Ain El Hadid ;, est une commune de la daïra de Frenha, Wilaya de Tiaret en Algérie.

Les prélèvements ont été acheminés au Laboratoire de Recherche sur l'Amélioration et la Valorisation des Productions Animales Locales de l'université Ibn Khaldon à TIARET afin de déterminer la CMI des isolats à notre formule naturelle et ce après leur isolement et identification au CHU Moustapha Bacha Service parasito-mycologie et L'Institut Pasteur à Alger, en parallèle un suivi clinique avec photos était fait après utilisation de la formule *in vivo* et suivre l'évolution des lésions.

2. Les sujets concernés par l'étude

Les sujets concernés par l'étude sont répertoriés dans le tableau VIII.

Tableau VIII: les cas étudiés dans l'année 2015/2016.

La région	Date de réception	Age	Sexe
HassiFdoul	30/11/2015	6 mois	Mâle
	30/11/2015	5.5 mois	Mâle
	30/11/2015	7 mois	Mâle
	30/11/2015	7 mois	Mâle
	30/11/2015	5 mois	Mâle
Ain El hadid	19/01/2016	6 mois	Mâle
	19/01/2016	1 an	Mâle
	19/01/2016	10 ans	Femelle *
	19/01/2016	5 ans	Femelle *
	19/01/2016	1 an	Mâle
Ain El hadid	25/01/2016	6 ans	Femelle
	25/01/2016	6 mois	Femelle
	25/01/2016	1 an	Femelle
	25/01/2016	2 mois	Femelle *
	25/01/2016	1 an	Femelle
Souguer	25/04/2016	2 ans	Femelle
	25/04/2016	7 mois	Femelle
	25/04/2016	7 mois	Femelle

*: cas négatifs à l'examen direct et à la culture

3. Matériels

a-Matériels utilisés pour le prélèvement

- Compresses stériles.
- Boîtes de pétri en verre.
- Pots de prélèvements stériles.
- Lames de bistouri stériles.
- Alcool 70°.

b- Appareillages

- Etuves à réglage digital (Heraeus)
- Bain marie
- Four pasteur (Heraeus)
- Vortex
- Spectrophotomètre

c-Les milieux de culture utilisés

Sabouraud Chloramphénicol

Le chloramphénicol, antibiotique thermostable, à large spectre antibactérien, permet l'isolement des champignons par élimination des contaminants bactériens (**Chabasse et al. 2002**).

Sabouraud Actidione (SA)

L'actidione (Cycloheximide), inhibe la croissance des champignons saprophytes mais non celles des champignons pathogènes (**Chabasse et al., 2002**).

Milieu Lactrimel de Borelli

C'est un milieu d'identification qui favorise la sporulation pour la plupart des dermatophytes et stimule la pigmentation pour certaines espèces (*T. rubrum*, *M. canis* et *M. audouinii*).

4. Etude *in vitro*

4.1. Prélèvement

Le prélèvement constitue une étape décisive dans l'établissement du diagnostic mycologique, en effet sa qualité est essentielle et conditionne l'isolement de l'agent pathogène.

Le prélèvement doit permettre de recueillir un matériel suffisamment abondant, pour la réalisation d'un examen direct et la mise en culture (**Bussieras, 1989; Chabasse *et al.*, 1999**).

IL a été réalisé sur place chez tous les sujets présentant des lésions d'une teigne clinique.



Photo 01 : Réalisation de prélèvement sur terrain

La surface de la lésion a été frottée par une compresse imbibée d'alcool à 70° pour éliminer les organismes adhérant à la surface. Les écailles de peau dues à la mycose, ont été recueillies par grattage de la marge de la lésion on utilisant une lame bistouri stérile, les échantillons sont déposés dans des boites de pétri ou dans des pots de prélèvement stériles de 50 ml de volume, les poils cassés sont enlevées de la marge de la lésion (**Cheesbrough, 1992**). Chaque échantillon prélevé a été fractionné en deux parties, une utilisée pour l'examen microscopique direct, et l'autre pour la culture fongique.

Les prélèvements sont acheminés aux laboratoires pour faire l'examen direct et la culture en vue d'isoler l'agent causal.

4.2. Examen direct

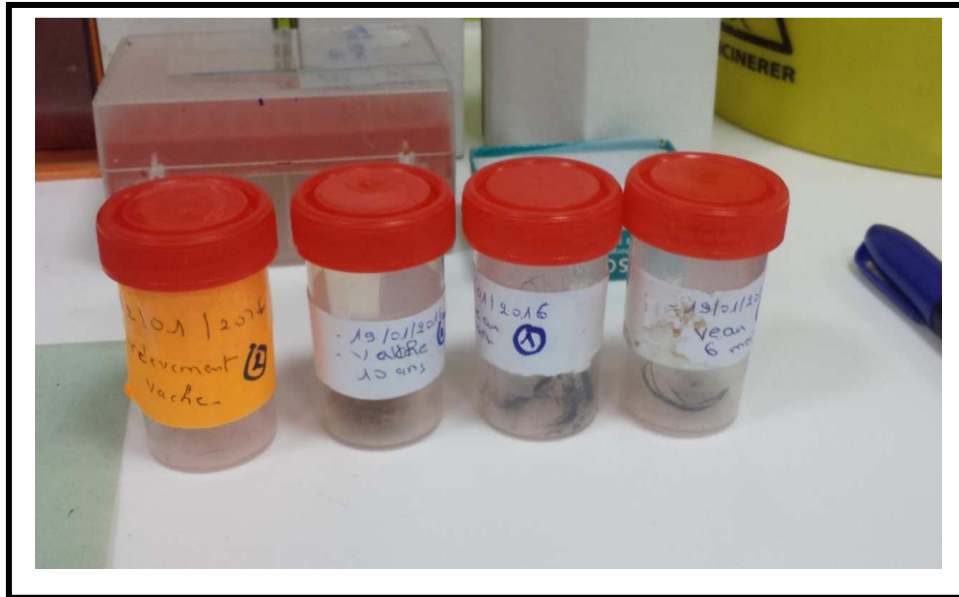


Photo 02 : Les prélèvements acheminés au laboratoire

Il est indispensable pour orienter le diagnostic d'une dermatophytose et permet d'apporter une réponse rapide au clinicien en affirmant la présence du champignon à l'état parasitaire au sein de la lésion, justifiant ainsi la mise en route d'un traitement spécifique dans l'attente des résultats de la culture.

Le prélèvement recueilli est déposé sur une lame de verre, on applique un produit éclaircissant contenant habituellement de la potasse (KOH à 10% pour les squames, avec un léger chauffage au bec Bunsen de la préparation) associée ou non à un colorant (noir chlorazole), permettant de ramollir la kératine.

L'emploi de bleu coton, de lactophénol ou de chloral lactophénol d'Amman permet d'éclaircir et de conserver indéfiniment les préparations (**Finck, 2002 ; Badillet, 1982 ; Viguie-Vallent, 2001**).

L'examen direct permet de mettre en évidence, au sein de squames, des filaments plus ou moins réguliers et arthrosporés, et au niveau des poils, le développement de dermatophyte se traduit par la présence de spores (arthrospores résultant de la dissociation de filaments mycéliens) sur toute la longueur de la zone parasitée.

On a utilisé la potasse 10% additionnée de noir chlorazole surtout pour les squames.

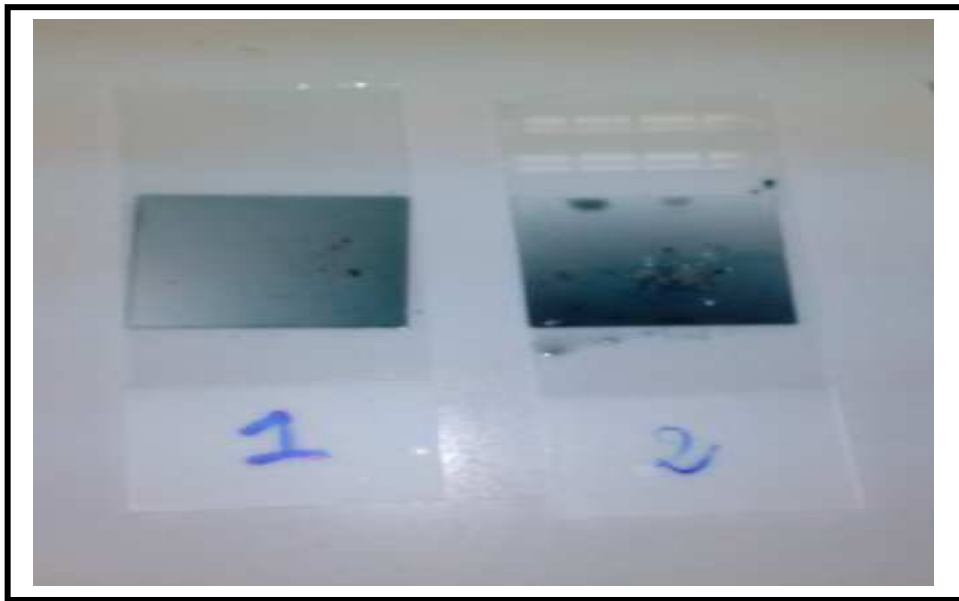


Photo 03 : Lames préparées pour l'examen direct

4.3. Culture

La mise en culture est une étape essentielle du diagnostic d'une dermatophytie, car elle va permettre l'identification de l'espèce en cause.

Elle permet également de déclencher et orienter une enquête épidémiologique, étape obligatoire quelque soit le résultat de l'examen direct.

4.3.1. Les milieux utilisés

Le milieu de référence pour les dermatophytes est le milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques (chloramphénicol) pour limiter la contamination du milieu par les bactéries et de cycloheximide (actidione®), ce dernier inhibe la croissance des champignons à développement plus rapide (moisissures et levures) et facilite ainsi l'isolement des dermatophytes. Le pH des milieux doit être légèrement acide, aux environs de 5,5.

Ce milieu de culture se présente sous forme de géloses coulées en boîte de Pétri ou en tubes.

L'usage des géloses en tubes est préférable, car les géloses en boîtes de Pétri, plus fines, ont tendance à sécher lors des incubations prolongées (**Bouchara *et al.*, 2004**).

On a utilisé dans cette étude trois milieux de culture : le Milieu Lactrimel de Borelli ,SabouraudChloranphenicol, SabouraudActidione. Les milieux proviennent de L'institut Pasteur d'alger.

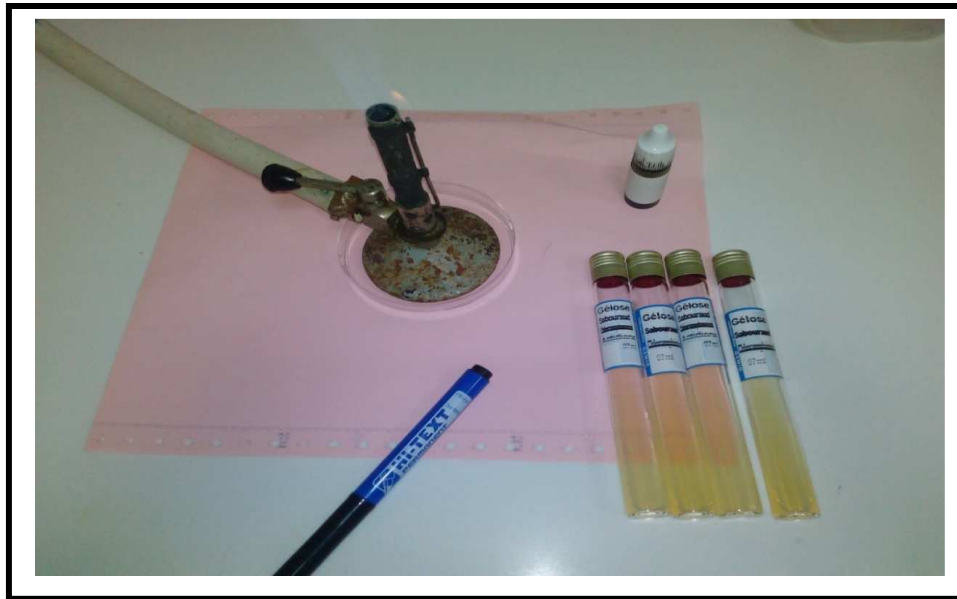


Photo 04 : Préparation des tubes pour l'ensemencement

4.3.2. Isolement des dermatophytes

Le prélèvement pathologique est déposé en appuyant légèrement, en plusieurs endroits séparés à la surface de la gélose. Si l'ensemencement est réalisé en tubes, les dermatophytes étant aérobies, il est indispensable de ne pas visser complètement les bouchons, et si la culture est réalisée en boîte de Pétri, il convient d'humidifier l'étuve pour éviter le dessèchement des géloses (Scott, 2007). L'utilisation des tubes est privilégiée pour le transport et la conservation de souches, ou en cas d'incubation prolongée.

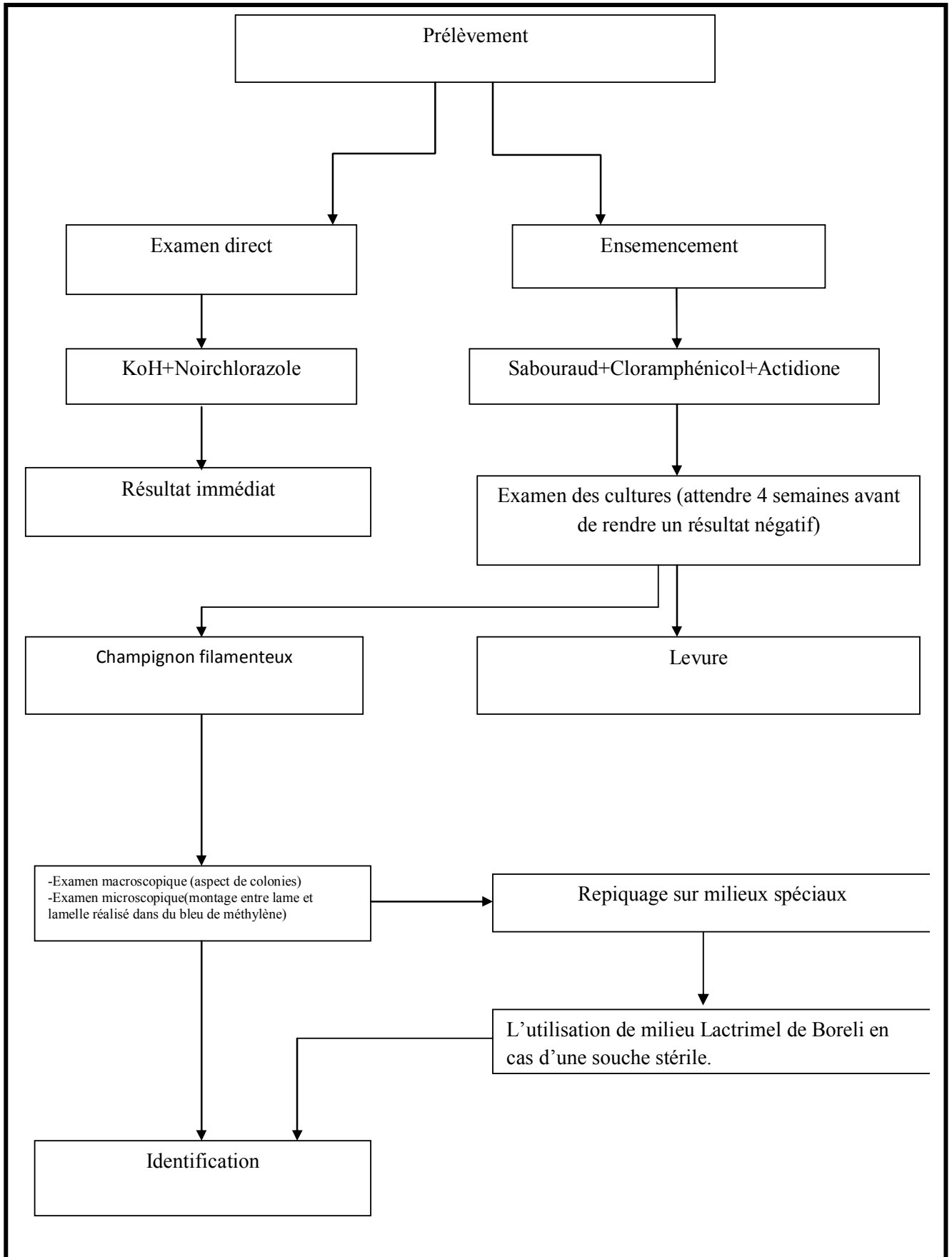
Les cultures sont incubées à 27°C. Une durée d'incubation de 4 semaines au minimum doit être respectée avant de déclarer les résultats négatifs (Finck, 2002 ; Bussieras, 1989; Scott, 2007 ; Chabasse *et al.*, 1999 ; www.vet-lyon.fr).

Les dermatophytes poussent plus ou moins rapidement selon les espèces et les colonies seront caractéristiques après un délai variable : 8 jours pour *E. floccosum* et jusqu'à 3 à 4 semaines pour certaines espèces à croissance lente comme *T. verrucosum* ou le pseudodermatophyte *Onychocolacanadensis* (Finck, 2002 ; Scott, 2007).



Photo 05 : Ensemencement du prélèvement pathologique sur milieu Sabouraud Chloramphénicol et Sabouraud Actidione

4.4. Organigramme d'identification



(Bouchara *et al.*, 2004).

4.5. Evaluation de la sensibilité des isolats à la formule naturelle

Pour évaluer l'activité antidermatophytique de la formule à base de miel *in vitro*, on a adopté la technique d'incorporation sur milieu solide qui consiste à incorporer des volumes la formule au milieu (SabouraudActidione), de telle manière à obtenir pour chaque mélange, un volume de 7 ml.

Le milieu de culture (SabouraudActidione) contenu dans des tubes de 7 ml doit être liquéfié et maintenu dans un bain marie à 50°C pour éviter la solidification du milieu.

Dans des conditions d'asepsie et à l'aide d'une pipette pasteur on élimine un volume précis de milieu de culture et on le remplace avec la formule.

L'homogénéisation du mélange se fait à l'aide d'un vortex, puis on laisse les tubes solidifier.

-Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture pure de *T.verrucosum* et à l'aide d'une anse de platine, on prélève quelques colonies bien isolées et identiques, on décharge l'anse dans 5 ml de l'eau physiologique stérile, l'homogénéisation était faite à l'aide de vortex et l'opacité de la suspension doit être 0,5 macfarland.

L'ensemencement a été réalisé par écouvillon stérile à partir de l'inoculum standardisé et l'essai a été fait en triplicata (3 tubes pour chaque concentration). Les tubes sont incubés à 27°C pendant 4 semaines.

La CMI était déterminé comme étant la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance visible à l'œil nu de la souche étudiée.

5. Etude *in vivo*

Avant de commencer l'essai clinique avec la formule on a conseillé les éleveurs d'isoler les animaux atteints et de nettoyer le bâtiment d'élevage car la contamination indirecte se fait par la litière, les instruments et les murs.



Photo 06 : Le bâtiment d'élevage avant et après le nettoyage

5.1. Démarches cliniques

Les sujets étaient soumis à un examen clinique, qui détermine l'état de chaque appareil on se concentrant sur la peau.

Le diagnostic clinique d'une teigne bovine se base sur la présence d'une lésion parfaitement circulaire de 2-4 cm de diamètre, glabre avec avulsion complète des poils et non prurigineuse (**Betard, 1975**).

Les localisations préférentielles sont la tête, la ligne supérieure du tronc, la croupe, le fanon, l'espace intermaxillaire, le pourtour des orifices naturels (yeux, bouche), les lésions sont généralement assez nombreuses, dépassant la dizaine mais sont rarement étendues à tout le corps (**Euzeby, 1992**).

5.2. Traitement

Notre formule est composée de :

-Miel (d'Euphorbe) : le miel d'euphorbe (Loubina) est réputé pour ses vertus alimentaires, thérapeutiques et cosmétiques.

-Huile de cade : l'huile de cade est un liquide épais et homogène, de couleur noire et d'odeur forte et empyreumatique particulière.

-En premier lieu on élimine la couche formé par les croûtes pour éliminer le maximum de produit pathologique mécaniquement.

- On nettoie la zone infectée par du sérum salé isotonique 0.9%.

-On applique quotidiennement la formule naturelle sur les lésions et la durée de traitement était selon l'évolution clinique.



Photo 07 : Elimination des croûtes



Photo 08 : Nettoyage de la lésion



Photo 09 : application de la formule

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Etude *in vitro*

1.1.1. Examen direct

Il s'agit bien évidemment, de l'examen direct du matériel prélevé, et non de l'examen microscopique des produits de la culture.

Cet examen direct - technique indispensable pour mettre en évidence le dermatophyte sous « en son état parasitaire »-, est réalisé en quelques minutes (alors que l'éventuelle croissance en culture et l'identification peuvent prendre plusieurs semaines)

En cas de positivité de l'examen direct, le diagnostic de mycose sera bien évidemment maintenu, même si les cultures restent ultérieurement négatives (**Rispail, 2005**).

Le type de parasitisme endo-ectothrix pileaire de type mégasporé oriente le diagnostic vers une atteinte par *T.verrucosum* ou *T.equinum*, la gaine des spores est continue, et les spores sont d'une grosseur de 4 à 5mm de diamètre (**Bouchara et al., 2004**).

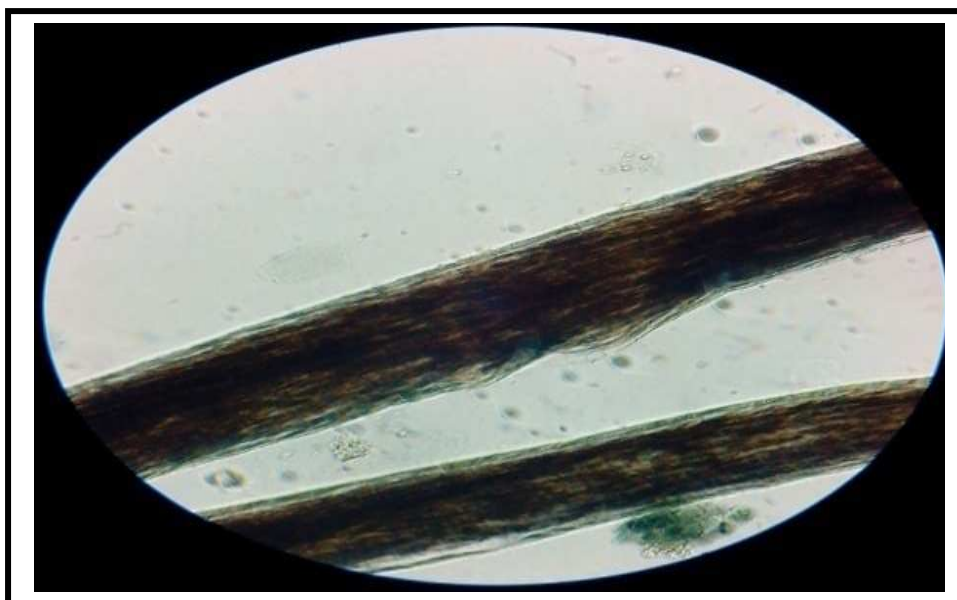


Photo 10 : Poil sain (Grossissement : ×40)

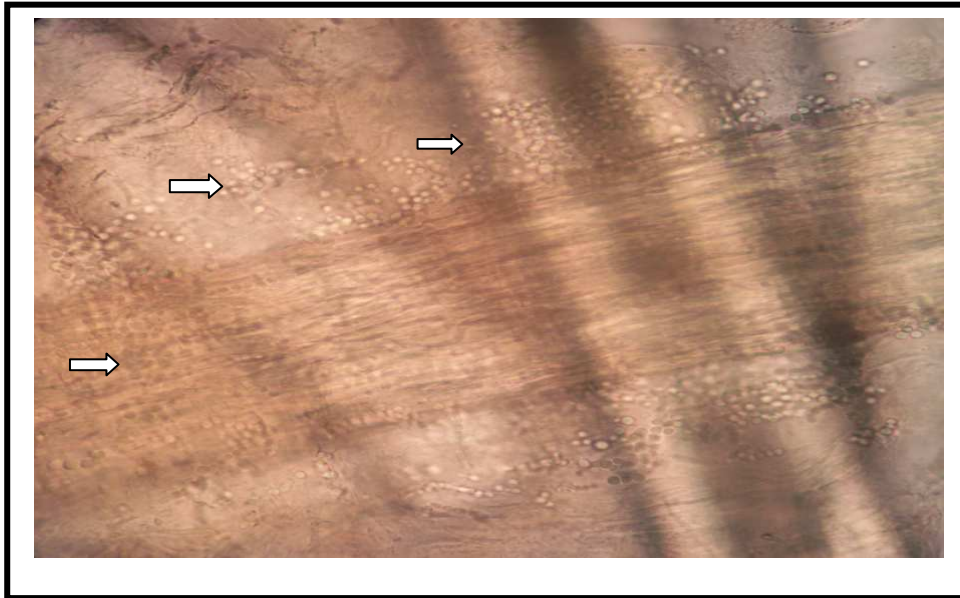


Photo 11 : Parasitisme Endo-Ectothrix de type mégasporé
(Grossissement : $\times 40$)

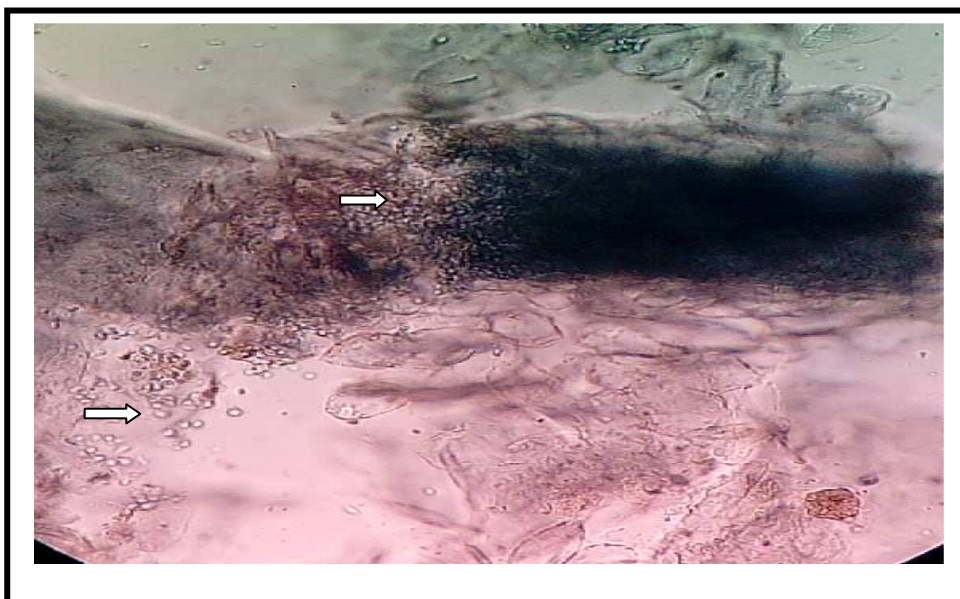


Photo 12 : Poil cassé et libération des spores
(Grossissement : $\times 40$)

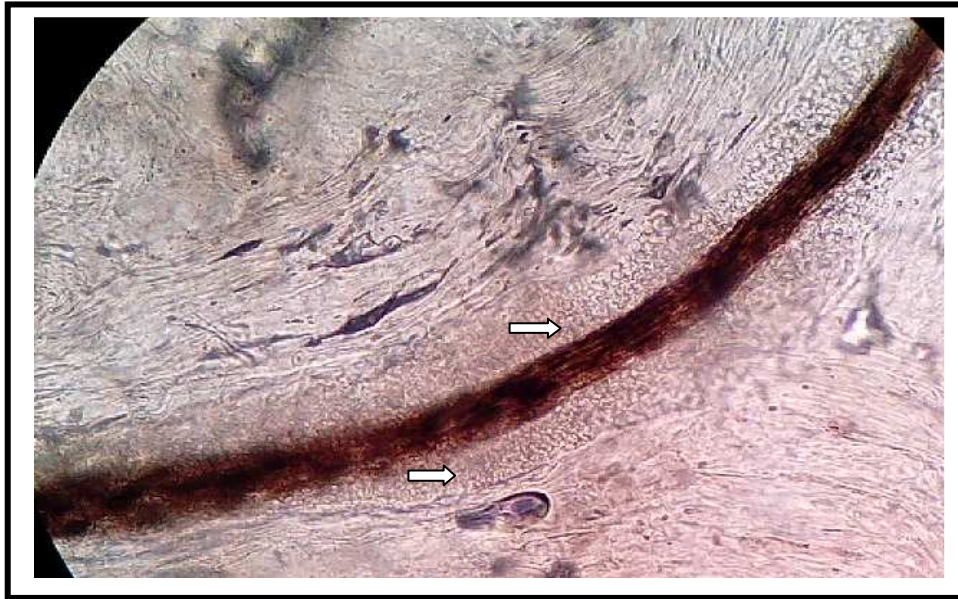


Photo 13 : Parasitisme pileux de type endo-ectothrix, gaine des spores continues (Grosissement : ×40)

1.1.2. Isolement et l'identification du champignon

La quasi-totalité des prélèvements parvenus au laboratoire se sont avérés négatifs, suite à la présence de nombreuses colonies des champignons contaminants qui masquent l'aspect des colonies suspectées d'être des dermatophytes.

Il s'agit beaucoup plus des moisissures telles que *Aspergillus sp* et les mucorales.



Photo 14 : Envahissement de la culture par un champignon contaminant.

Après plusieurs essais, avec des durées de culture de 4 semaines à une température de 27°C, on a pu obtenir des colonies suspectées d'être des dermatophytes.

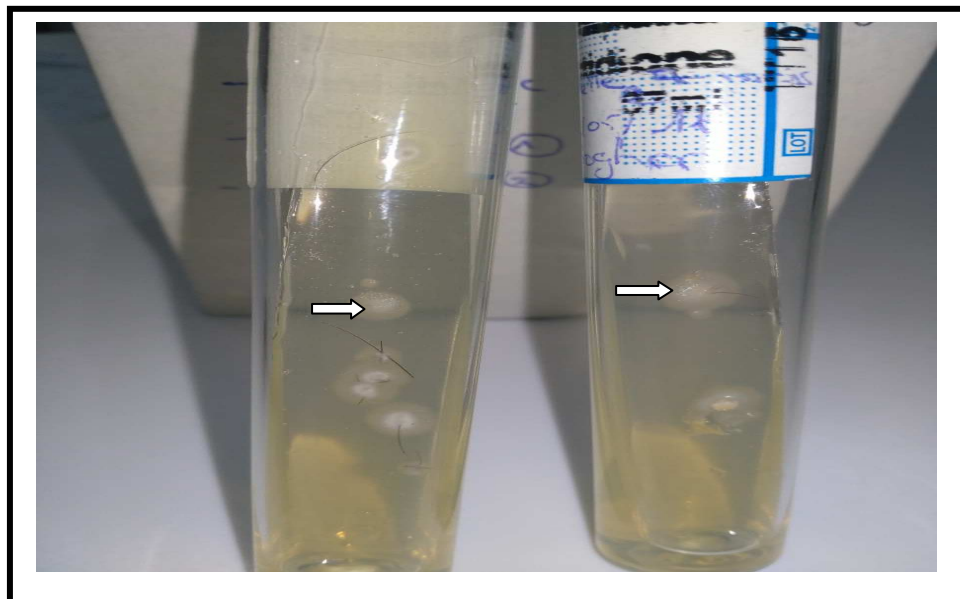


Photo 15 : Culture de 4 semaines sur gélose Sabouraud Actidione correspondant à *T.verrucosum*

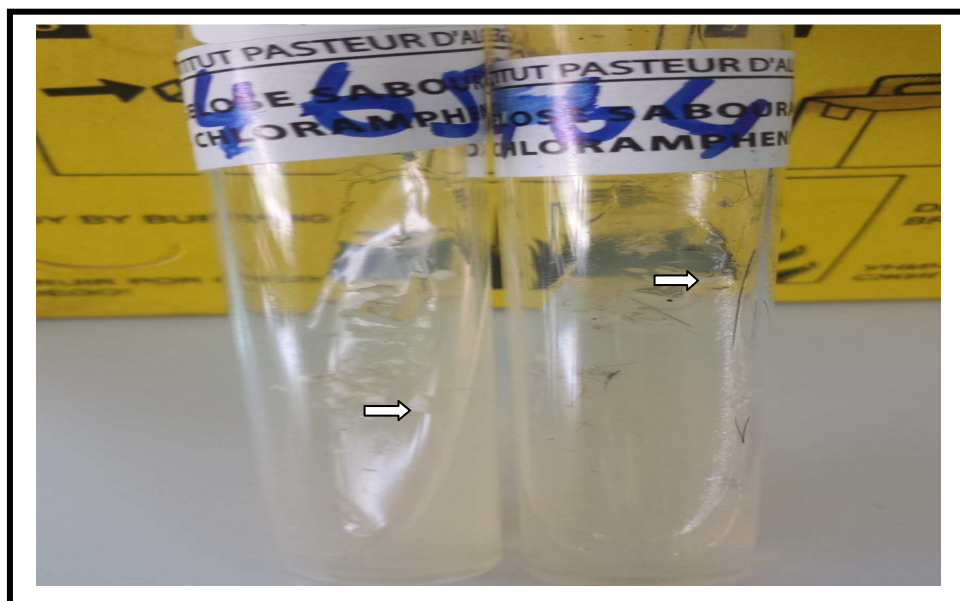


Photo 16 : Culture de 4 semaines sur gélose Sabouraud Chloramphénicol correspondant à *T.verrucosum*

Examen microscopique des cultures

Les résultats des examens microscopiques des colonies suspectées d'être des dermatophytes, est l'obtention des souches de *Trichophyton verrucosum*.

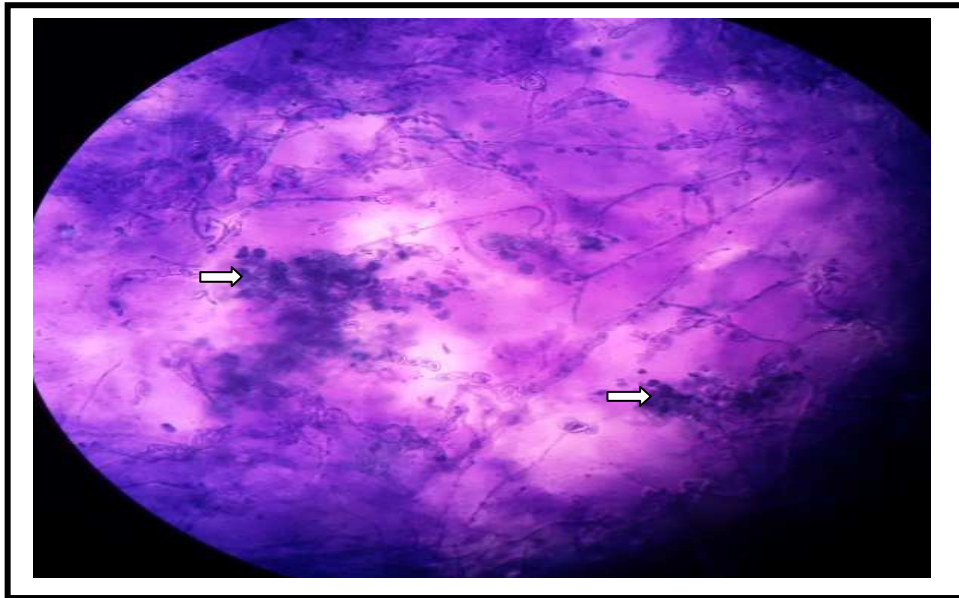


Photo 17 : Aspect microscopique de *Trichophyton verrucosum* avec présence de Filaments turolides. (Grossissement : $\times 40$)

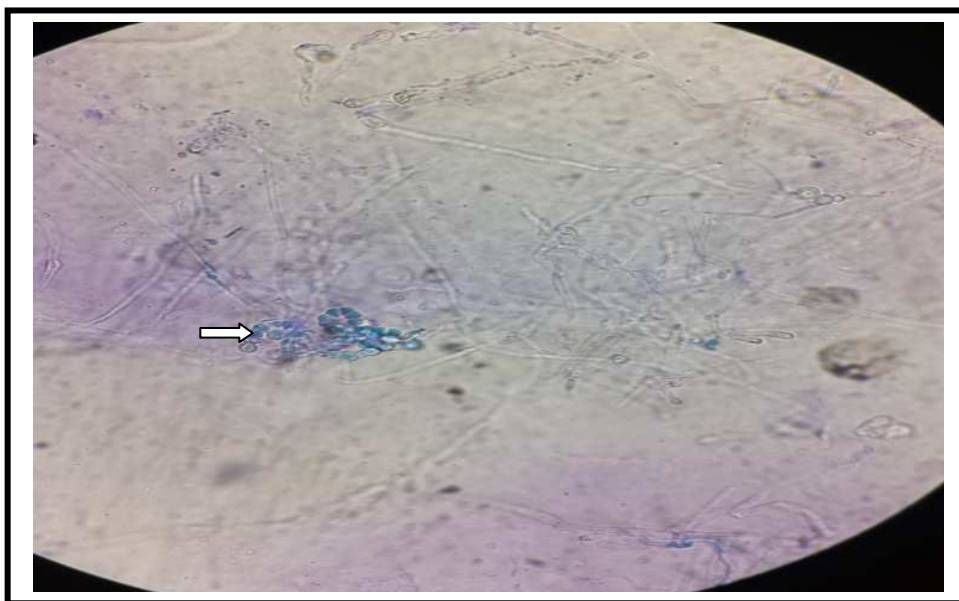


Photo 18 : Filaments mycéliens fins, septés qui commencent à prendre un aspect turolide caractéristique de *Trichophyton verrucosum*. (Grossissement : $\times 40$)

La clé d'identification de l'espèce

L'identification repose sur des critères macroscopiques et microscopiques d'une souche donnée :

- Croissance lente, colonies blanc-crème
- Absence de macroconidies et microconidies
- Filaments toruloides

Ces critères orientent vers *Trichophyton verrucosum* (Bouchara *et al.*, 2004).

L'examen microscopique de certaines colonies, a révélé des filaments fins, réguliers, avec absence des filaments toruloides. Dans ce cas on dit que la souche est stérile. Pour favoriser la fructification de la souche en vue de l'identifier, Il s'est donc avéré nécessaire de faire des repiquages sur des milieux d'identification tels que le Milieu lactrimel de Boreli et la technique de culture sur lame.

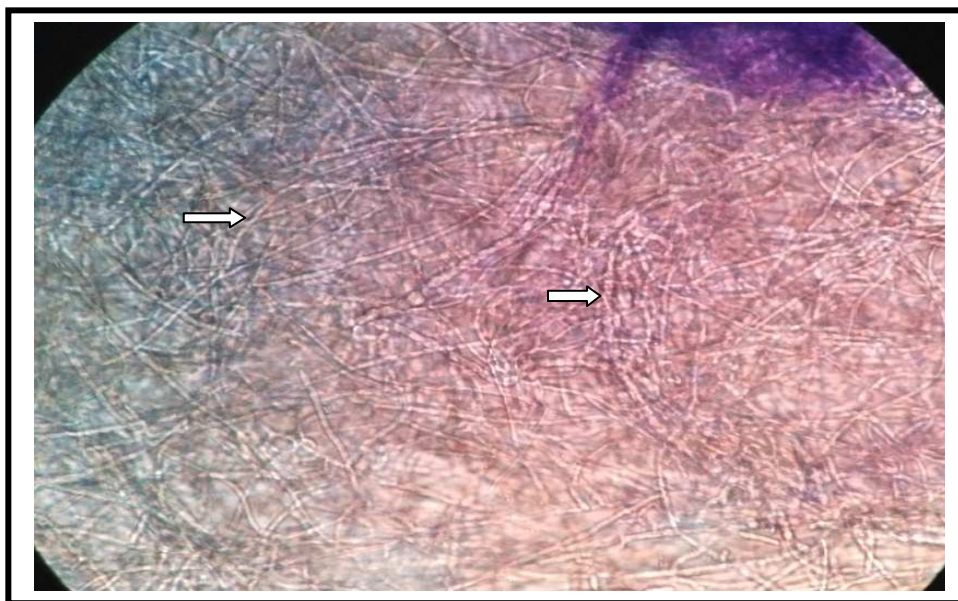


Photo 19 : Filaments mycéliens fins, réguliers (Filaments stériles)
(Grossissement : ×40)

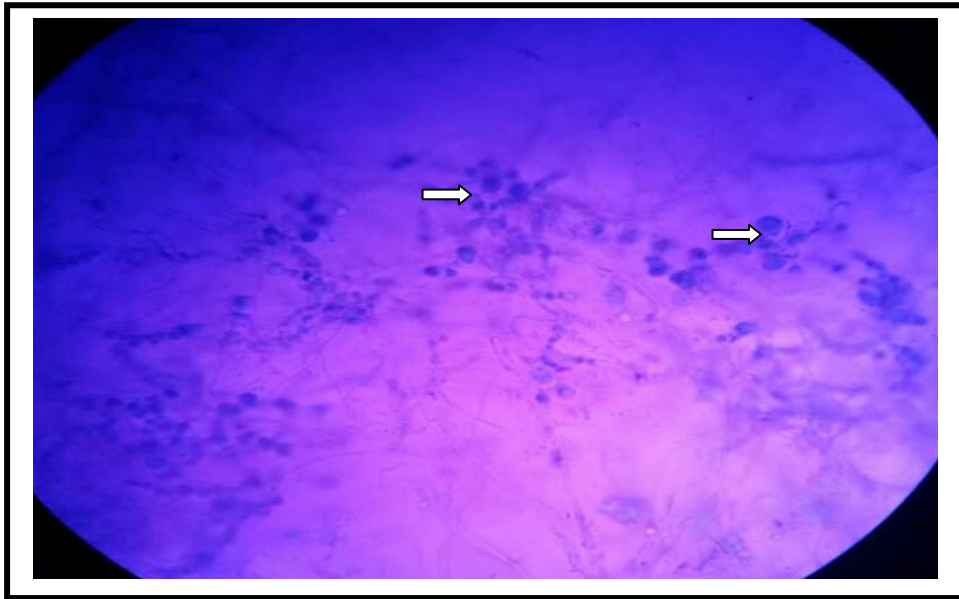


Photo 20 : Apparition des filaments toruloïdes caractéristiques de *Trichophyton verrucosum* après repiquages. (Grossissement : $\times 40$)

1.1.3. L'activité antifongique de la formule à base de miel *in vitro*

-Isolat N° 1

Ce n'est qu'à la concentration de 19%, et après une durée d'incubation de 4 semaines à une température de 25 °C, qu'on a constaté une inhibition visible de la souche. C'est ce qui représente la concentration minimale inhibitrice de la formule naturelle.



Photo 21 : Gamme de concentrations testées de la formule naturelle

Apparition des colonies dans les deux premiers tubes (à gauche), et absence de croissance dans le dernier (à droite).



Photo 22 : La CMI de l'isolat N° 1

-Isolat N° 2

La même concentration (19%) du produit a été constatée comme étant la CMI de la deuxième souche.

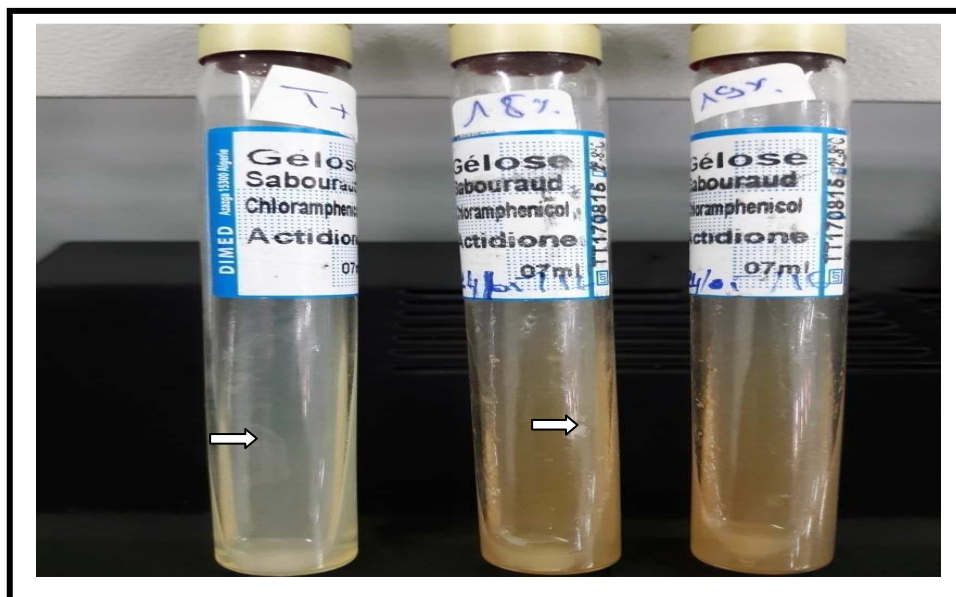


Photo 23 : La CMI de l'isolat N° 2

Présence de colonies dans les deux premiers tubes (à gauche) et absence de croissance dans le dernier (à droite).

Examen direct des cultures

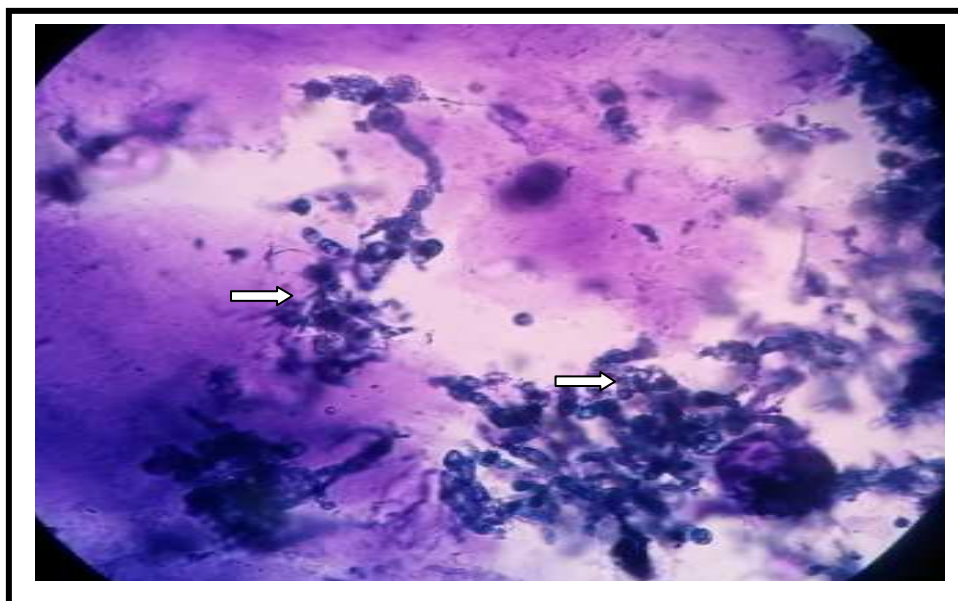


Photo 24 : Examen direct du tube (témoin positif)

Après une durée de culture de 4 semaines, l'examen direct des colonies verruqueuses, blanchâtres a révélé la présence de filaments toruloïdes (chlamydo-spores) caractéristiques de *Trichophyton verrucosum*.

1.2. Etude *in vivo*

Pour apprécier l'efficacité de la formule naturelle *in vivo*, on a procédé au traitement des cas de teignes chez les bovins préalablement désignés avec un suivi photographique sur les 18 bovins choisis, trois ont été reportés négatifs et un autre a été mal pris en charge par le propriétaire. Cela fait que seulement 14 bovins ont fait l'objet du traitement de la teigne.

La plupart des cas infectés sont des animaux jeunes (moins de 3 ans).



Photo 25 : Lot de veaux de boucherie atteints de teigne bovine

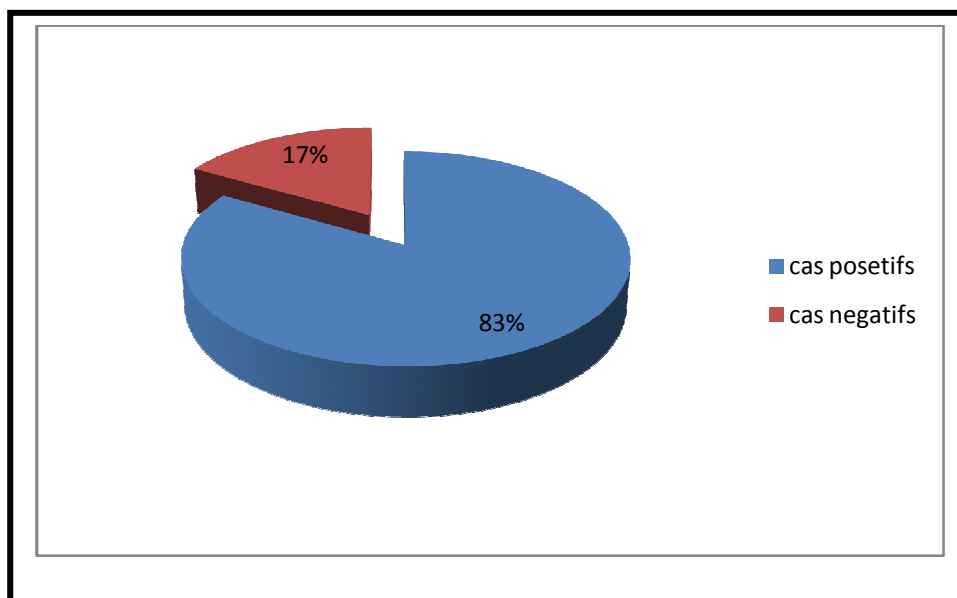


Figure 13 : Répartition des cas de teigne bovine par rapport aux cas totaux

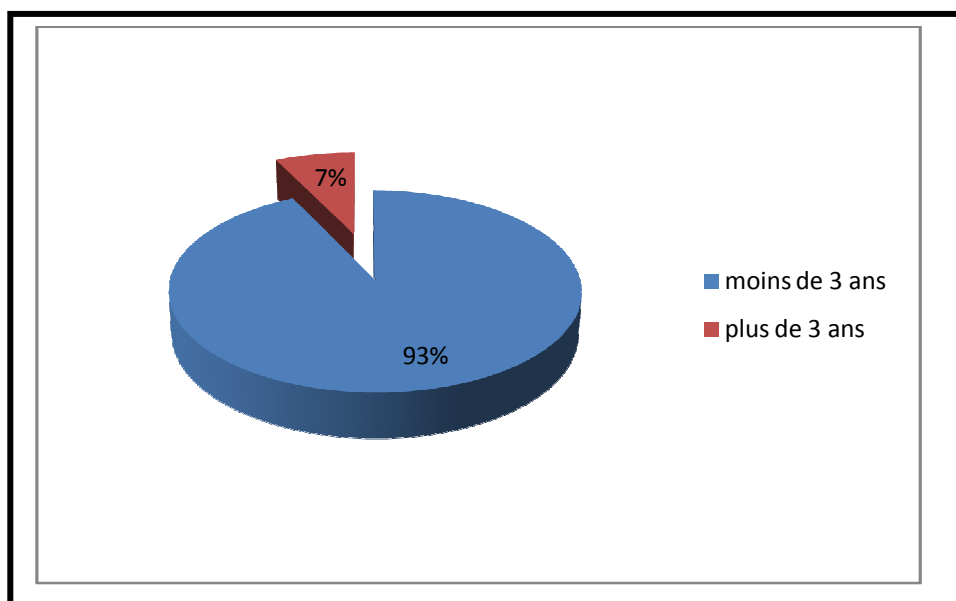


Figure 14 : Répartition des cas de la teigne bovine selon l'âge

1.2.1. Suivi photographique

1)-Elevage de HassiFdoul :30/11/2015



Photo 26 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 5 mois

2)-Elevage de Ain El Hadid : 19/01/2016



Photo 27 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 6mois



Photo 28 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau d'un an



Photo 29 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau de 6mois



Photo 30 : Evolution de la lésion après traitement chez un veau d'un an

3)- Elevage de Ain El Hadid le 22/01/2016



Photo 31 : Evolution de la lésion après traitement chez une vache de 6 ans



Photo 32 : Evolution de la lésion après traitement chez une génisse d'un an

4)- Elevage de Sougueur



Photo 33 : Evolution de la lésion après traitement chez une velle de 7mois



Photo 34 : Evolution de la lésion après traitement chez une velle de 7 mois

2-Discussion

Trichophyton verrucosum est une espèce fongique cosmopolite qui cause la teigne chez les bovins, et plusieurs autres espèces animales, de ces derniers l'homme peut être infecté (weber, 2000).

1-Etude *in vitro*

-Isolement et Identification du champignon

L'isolement et l'identification du champignon en cause, confirme la suspicion clinique et permet l'essai *in vitro* de la formule.

Avant de faire le prélèvement, la désinfection de la surface de la lésion avec de l'alcool à 70° permet l'élimination de la plupart des champignons saprophytes vivant sur la surface de cuir des bovins, et qui risquent de masquer la pousse de la culture désirée, surtout que cette dernière, nécessite une longue durée d'incubation pouvant aller jusqu'à 4 semaines.

La peau des animaux est contaminée par de nombreuses espèces fongiques, dont certaines sont pathogènes opportunistes. Plusieurs enquêtes ont rapporté la présence de dermatophytes sur la peau apparemment saine d'animaux domestiques et sauvages (Connole *et al.*, 2000 ; Fischman *et al.*, 1976 ; Mariat *et al.*, 1976 ; Stenwig, 1985). Ce qui peut rendre l'isolement et l'identification de l'agent causal plus difficile et être à l'origine de la contamination des cultures.

Les prélèvements sont effectués en marge de la lésion car il faut prélever du matériel vivant. Le champignon ayant une croissance centrifuge, les mycéliums vivants sont donc situés à la périphérie des lésions cutanées (Finck, 2002 ; Bussieras, 1989 ; Chabasse *et al.*, 1999).

Au niveau des lésions cutanées, l'aspect des éléments observés est identiques quelle que soient la lésion ou l'espèce fongique responsable secondairement isolée en culture.

De plus, il n'est pas toujours évident de différencier les filaments mycéliens des dermatophytes des pseudofilaments mycéliens de levure, d'où le recours aux méthodes culturales.

Au niveau des cheveux (poils chez les bovins), l'examen direct s'avère en revanche très contributif au diagnostic de teigne vu qu'il existe cinq types de parasitisme pileaire correspondant chacun à des espèces particulières (Finck, 2002 ; Chabasse *et al.*, 1999 ; Viguie-Vallent, 2001).

Compte tenu de la difficulté d'interprétation des cultures surtout si elles sont contaminées par des champignons saprophytes, l'examen direct représente une étape très importante.

En cas de positivité de l'examen direct, le diagnostic de mycose est maintenu même si les cultures restent ultérieurement négatives (**Rispail, 2005**).

Toutes les isolats appartenait au genre *Trichophyton*, *Trichophyton verrucosum* a été la seule espèce rencontré, ce qui est en accord avec les résultats de **Abdel-Rady et Kotb,(2008)** selon lesquels *Trichophyton* était le seul genre responsable de la teigne bovine en Egypt, *Trichophyton verrucosum* représentant 98% des cas isolés. Ce champignon qui a une croissance très lente (4 à 6 semaines) produit des colonies typiques : verruqueuses, glabres ou finement duveteuses.

Nos résultats montrent aussi que le milieu **sabouraud – actidione –chloramphénicol** est un milieu sélectif pour les prélèvements contaminés par les bactéries et les champignons saprophytes ce qui est similaire aux travaux de **Al-Ani et al.(2002)** ; malgré ça, beaucoup de tubes ont été contaminés par ces champignons saprophytes, ce qui pourrait être expliqué par la charge de ces derniers, ainsi que la durée de pousse assez longue nécessitant plusieurs jours.

-Détermination de l'activité antifongique de la formule :

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice est toujours un essai techniquement difficile (**Butty et al., 1995**).

Une méthode de référence standardisée pour la mise à l'épreuve de la sensibilité des dermatophytes *in vitro* manque encore aujourd'hui (**Jessup et al., 2000 ; Niewerth et al., 1998 ;Viguie-Vallanet, 1999**).

Ces difficultés nous ont conduits à adopter une méthode pour l'évaluation de l'effet antidermatophytique de la formule. C'est la technique de dilution en milieu solide.

La lecture des résultats après une durée d'incubation d'un mois a permis de déterminer la CMI, c'est-à-dire la plus faible concentration pour laquelle on n'observe pas de pousse visible a l'œil nu sur le milieu solide.

2. Etude *in vivo*

-Démarche clinique et les sujets concernés par l'étude

Les 18 bovins choisis dans notre étude ont présenté les lésions typiques de teigne bovine attestée par la présence de lésions circulaires, alopéciques, non prurigineuses localisées dans la tête, autour des yeux et le cou (**Radostits et al., 1997 ; Pal, 1987 ; Wabacha et al., 1998**).

Trois cas étaient négatifs à l'examen direct (absence de poils infectés par le champignon) et à la culture fongique, dont les lésions constatées pouvaient être causées par plusieurs autres agents pathogènes comme les virus, les bactéries ou les parasites.

Les animaux infectés avaient une température normale avec pouls et respiration normale, la localisation de l'infection au niveau de la peau et le caractère chronique de la maladie n'influençant pas les paramètres vitaux (**Abdel-Rady et Kotb, 2008**).

On a constaté la présence de teigne surtout chez les jeunes (moins de 3 ans) avec une prévalence de 93%. Malgré la faiblesse de l'échantillon, ce résultat pourrait refléter la diminution de prévalence de la maladie avec l'augmentation de l'âge. La cause pourrait en être le développement d'une immunité contre la maladie avec l'avancée en l'âge et le pH élevé de la peau chez les jeunes, ce pH diminuant avec l'âge (**Radostits et al., 1997**).

Concernant l'état corporel, d'après nos observations les animaux atteints étaient maigres avec un retard de croissance qui influence la réceptivité de la maladie, comme rapporté par **Acha et Szyfres. (2003)**, et, selon lesquels, la teigne est plus fréquente chez les animaux immunodéprimés, avec une alimentation pauvre. L'infection est plus persistante chez les animaux jeunes ou malades, ayant probablement pour origine une carence en vitamines et minéraux se traduisant par une peau fragile avec un système immunitaire faible favorisant ainsi l'implantation du champignon.

D'après nos observations, le manque d'hygiène dans les bâtiments d'élevage a été remarqué surtout dans le bâtiment de HassiFdoul, où les animaux étaient entassés avec une litière sale et une forte humidité ce qui favorise la survie des spores de champignons (**Nooruddin et Singh, 1987**).

L'absence d'un traitement spécifique de la teigne bovine a encouragé les éleveurs d'accepter l'essai clinique de la formule naturelle, car d'après eux plusieurs animaux présentant les mêmes symptômes ont été traités avec des antiparasitaires sans résultats notables.

On a constaté aussi le manque d'incrimination des infections fongiques par les vétérinaires qui prennent toutes affections de peau comme étant des infestations parasitaires.

Les animaux infectés peuvent avoir une auto guérison après quelques mois (**Ajello et Padhye, 1974 ; Rippon, 1974**), mais le traitement accélère la guérison et empêche la transmission de la maladie aux autres animaux et surtout à l'homme.

-Evolution clinique des cas de teigne bovine

Les 14 cas qui présentaient des teignes cliniques confirmées au labo ont été traités avec la formule, avec une application quotidienne, l'évolution des lésions a été suivie de même.

La durée de guérison était variable d'un bovin à l'autre mais elle n'a pas dépassé un mois, la variabilité des réponses était en relation avec l'étendue des lésions et même avec

l'environnement. Nos conseils aux éleveurs quant à l'isolement des animaux atteints et la désinfection de leurs environnements ont été moyennement suivis.

En moyenne, une seule boîte (60ml) par bovin a suffi pour assurer une guérison clinique avec disparition totale des lésions et repousse de poils.

3- Mode probable d'action de la formule

La formule a présenté une activité antidermatophytique *in vitro* très significative avec une CMI de 19%, pouvant être dû à l'activité antifongique probablement synergique entre l'huile de cade et le miel, la connaissance du mode et du mécanisme d'action des huiles est cruciale pour assurer l'utilité de ces dernières dans la thérapie (Lahlou, 2004).

Concernant les études dans ce domaine, *Candida* spp. et *Aspergillus* spp. ont été les espèces les plus étudiées (Reichling *et al.*, 2009 ;Palmeira *et al.*, 2009). Peu d'informations sont disponibles sur les dermatophytes.

La composition chimique parfaitement connu de l'huile de cade comporte: des sesquiterpènes essentiellement (cadinène et gáïacol)- des sesquiterpènes –alcools, des cétones, des composés phénoliques (qui caractérisent l'odeur de l'huile de cade) et des acides.

Dans ses travaux publiés en 1980,Bezanger attribue les propriétés curatives de l'huile de cade dans le traitement des maladies de la peau, au cadinène et au gáïacol.

De plus, de par ses composés phénoliques, l'huile de cade à une action fongistatique.

Elle est active sur les *trichophytos*, *Candida albicans*, *Cryptococcus sp.* et *Aspergillus* (Lucas, 2000).

Le deuxième composant de cette formule c'est le miel d'euphorbe qui est très connu pour ses propriétés cicatrisantes, et qui pourrait avoir de ce fait, un effet additif ou synergique sur la guérison des lésions causées par le champignon.

Parmi les composants les plus actifs du miel on retrouve les composés phénoliques, Il est à noter que ces composés agissent principalement sur les bactéries à gram positif. Finalement, le pH bas et la faible quantité d'eau du miel lui confèrent des propriétés naturelles bactéricides et bactériostatiques (ANSO, 2012), pouvant se révéler utiles afin d'éviter les surinfections bactériennes et la complication des lésions cutanées.

Le miel est connu comme un très bon cicatrisant, L'origine de cette propriété vient des activités anti-inflammatoire et antibiotique. Le miel permet également une angiogenèse à l'abord de la plaie. La migration cellulaire ainsi que l'apport en nutriment sont favorisés. Il permet l'activation du système immunitaire, ce qui entraîne une meilleure détersion de la plaie. Il participe aussi à l'augmentation de la production de collagène (Majtan, 2014).

Boukraa et al., 2013 ont étudié l'effet synergétique *in vitro* entre 5 variétés des miels monofloraux et des huiles essentielles contre *Pseudomonas aeruginosa*, ils ont enregistré une diminution de CMI des miels et des huiles essentielles qui peut être expliquée par une action synergique entre les deux composants.

En **2014** ces mêmes auteurs ont testé *in vitro* cet effet contre deux espèces du genre *Aspergillus* (*A.niger* et *A.flavus*) ce qui s'est soldé par un effet synergique .

Conclusion

La teigne bovine est une affection cutanée qui affecte surtout les jeunes bovins, et se déclare surtout dans les élevages dont les conditions d'hygiène sont médiocres.

La teigne peut facilement se propager d'un animal à l'autre soit par contact direct ou indirect par l'intermédiaire des cordes ou une litière contaminée par les spores de champignon.

L'examen mycologique est un examen de confirmation des diagnostics cliniques, le prélèvement constitue une étape très importante qui conditionne la fiabilité de l'examen au laboratoire, une asepsie rigoureuse est nécessaire afin de limiter les contaminations surtout par les champignons saprophytes, l'examen direct apporte des informations rapides sur le prélèvement et permet la mise en évidence de champignon sous un état parasitaire.

La culture fongique est une étape indispensable qui nécessite une durée d'incubation longue qui peut aller jusqu'à 4 semaines, le milieu de cultures de référence pour les dermatophytes est Sabouraud additionné d'antibiotiques et de cycloheximide (Actidione), Qui inhibe la croissance de la plupart des bactéries et moisissures ainsi l'isolement des dermatophytes.

Trichophyton verrucosum est l'espèce responsable de la maladie chez les bovins.

La teigne est très difficile à faire disparaître d'un élevage d'une part par l'absence d'un traitement efficace et d'autre part par les effets secondaires nocifs de traitements chimiques notamment la griséofulvine qui ne peut plus être administré aux animaux suite à l'absence de délai d'attente dans la viande et le lait. Les spores du champignon peuvent persister des années dans le milieu extérieur c'est pour cette raison que la désinfection de milieu est un élément de base pour éviter la réinfection des animaux.

Les résultats *in vitro* étant le plus souvent biaisés, les essais *in vivo* sont les seuls moyens de refléter les conditions biologiques. De ce fait, notre formule a prouvé son efficacité sur le terrain avec une bonne évolution des lésions.

Recommandations

Après la réalisation de ce modeste travail, nous pouvons retenir certaines recommandations pour les éleveurs afin qu'ils puissent mieux gérer le problème des teignes dans leur élevages.

-Pour éviter la propagation de la maladie, il faut souvent examiner les animaux pour déceler les signes d'une teigne.

-Eviter d'introduire un animal teigneux dans un élevage sain car la maladie est très contagieuse.

-Les animaux affectés doivent être isolés et traités rapidement.

-Eviter que les animaux soient trop serrés, et on doit leur donner une bonne alimentation et des compléments vitaminiques car la maladie se déclare chez les animaux qui vivent dans des mauvaises conditions d'élevage avec une malnutrition.

-Nettoyage régulier des étables car les spores de champignons peuvent persister jusqu'à 2 ans et qui prédisposent les animaux à des réinfections périodiques.

- Eviter de manipuler un animal qui présente une teigne sans gants car c'est une zoonose et on doit expliquer les risques sanitaires de la maladie à l'éleveur.

-Les porteurs asymptomatiques constituent un réservoir de champignon qui disséminent la maladie dans les élevages et leur mise en évidence n'est possible que par un examen mycologique.

-Continuer la recherche en valorisant nos produits naturels pour des fins thérapeutiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABDEL-RADY, A., KOTB, S. (2008). Department of Animal Medicine, Department of Animal Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Assiut University, Assiut, Egypt.

ACHA, P.N., SZYFRES B. (1989). Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. 2^{ème} Edition. Office International des Epizooties, Paris, 1063 p.

ACHA, P.N., SZYFRES, B. (2003): Pan American Health Organization [PAHO]: Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Volume 1. Bacterioses and mycoses. 3rd ed. Washington DC: PAHO; 2003. Scientific and Technical Publication No. 580. Dermatophytosis; pp. 332-339.

ADAMS, C.J., BOULT, C.H., DEADMAN, B.J., FARR, J.M., GRAINGER, ADRIAENSSENS, N., COENEN, S., MULLER, A., VANKERCKHOVEN, V., AFNOR. (2000). Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR, Paris, 440 p.

AJELLO, L., PADHYE, A. (1974): In Lennette, E.H., Spaulding, E.H., E.H. and Truant, J.P.(Eds.): Manual of clinical microbiology, 2nd ed. Washington, D.C., American Society for Microbiology, p. 469.

AL-ANI, F.K., YOUNES, F.A., AL-RAWASHDEH, O.F. (2002). Department of Veterinary Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Jordan University of Science and Technology, Irbid, Jordan

ALJADI, A.M., YUSOFF, K.M. (2003). Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties. Turkish J. Med. Sci. 33: 229–236.

ANN, D. (2005). Examen mycologique en dermatologie. Venereol.-132-p8s89-104

Anofel 3 Association Française des Enseignants et Praticiens Hospitaliers Titulaires de Parasitologie et Mycologie Médicale (2003) cdrom

ANSO, J. (2012). Du miel à volonté. D2A, N°. 1, 23 p.

ANTON, R., LOBSTEIN, A. (2005). Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522p.

ASSIE, B., DESCOTTES, B. (DIR.). *Le miel comme agent cicatrisant.* 115 p. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse III : 2004.

- AZERDO, L.C., AZERDO, M.A.A., SOUZA, S.R., DUTRA V.M.L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food Chemistry*, 80, 249-254.
- BADILLET, G. (1982).** Les dermatophytes. Atlas clinique et biologique. 2nd Ed., Edition Varia, Paris, 219p.
- BETARD, P. (1975).** La griséofulvine dans le traitement et la prophylaxie de la teigne bovine. Thèse vétérinaire – Alfort
- BEZANGER., BEAU QUESNE, L., PINKAS, M. (1980).** Plantes médicinales des régions tempérées. Ed. MALOINE PP 436.
- BLUM-BOUROUDIAN, E. (2004).** Dermatophytes et dermatophytoses de chat : étude épidémiologique à l'école nationale vétérinaire de Lyon. These vétérinaire-Lyon 1-183 p
- BOUCHARA, JP., BRUN, S., CHABASSE, D., DE GENTILE L., PENN P. (2004).** Les dermatophytes. Cahier de Formation Biologie Médical n°31, Bioforma.
- BOURDOISEAU, G. (2000).** *Parasitologie clinique du chien*. Créteil : NEVA, 456p.
- BRIAND, P. (1975).** La teigne bovine : Traitement par un additif alimentaire contenant 10% de griséofulvine. Thèse vétérinaire –Toulouse
- BRUNETON, J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.p: 915.
- BUSSIERAS, F. (1989).** *Teigne du lapin . Etude épidémiologique en France*. Thèse Méd. Vét., Toulouse, n° 89.
- BUTTY, P., LEBECQ, JC., MALLIE, M., ET AL. (1995).** Evaluation of the susceptibility of dermatophytes to antifungal drugs: a new technique. *J Med Vet Mycol* 33: 403-9.
- CAILLET, S., LACROIX, M. (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (*RESALA*). P :1- 8.
- CARSON, C.F., RILLEY, T.V., BOSQUE, F. (2002).** Antimicrobial activity of the major component of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, p:264-269.
- CHABASSE, D., BOUCHARA, J.P., DE GENTILE, L., BRUN, S., CIMON, B., CHABASSE, D., GUIGUEN, C., CONTET-AUDONNEAU, N.(1999).** Le diagnostic en mycologie-p68-83. Les dermatophytoses –p126-149. In : Mycologie médicale Abrégé Masson

- CHABASSE, D., GUIGUEN, C., CONTET-AUDONNEAU, N. (1999).** Mycologie médicale. Editions Masson, collection Abrégés, Paris.
- CHAO, S.C., YOUNG D.G., OBERG, G.J. (2000).** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential oil Research*. 12, p:639-649.
- CHEESBROUGH, M. (1992):** Medical Laboratory Manual for Tropical Countries. Volume 2. Tropical Health Technology, Butterworth-Heinemann, Great Britain, pp. 371-385
- CHEN, C. (2000).** The use of terbinafine for the treatment of dermatophytosis. *Vet. Derm*, 11 (supplement 1), 41.
- CHERMETTE, R., BUSSIERAS, J. (1993).** *Abrégé de Parasitologie vétérinaire, vol V : Mycologie*. Unité Pédagogique de Parasitologie-Mycologie, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 179p.
- CHUYEN, C. (1985).** Sur la composition des essences de genévrier commun de l'oxycèdre et du goudron de cade. Thèse Doctorat Pharmacie, Marseille.
- CONNOLE, MD., YAMAGUCHI, H., ELAD, D., ET AL. (2000).** Natural pathogens of laboratory animals and their effects on research. *Med Mycol* 38 (Suppl. 1): 59-65
- CONTET-AUDONNEAU, N. (2006).** Le prélèvement mycologique en dermatologie *Nouvelles dermatologiques* -25(10)-p8-11
- COX, S.D., MANN, C.M., MARKHAM, J.L., BELL, H.C., GUSTAFSON, J.F., WARMINGTON, J.R., WYLLIE, S.G. (2000).** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil). *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.
- COX, S.D., GUSTAFSON, J.F., WARMINGTON, J.R., WYLLIE, S.G. (1991).** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Malaleuca alternifolia* essential oils. *Journal of Applied Microbiology* .88, p:170-175.
- DAVIDSON, P.M. (1997).** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*.43, p:148-155.
- DAVIS, J.L., PAPICH, M.G., HEIT, M.C. (2009).** Antifungal and antiviral drugs. In *Veterinary pharmacology & therapeutics. 9th edition* (Riviere JE, Papich MG eds), Wiley-Blackwell, Ames : 1 013-1 049.

- DERMATOL, A. (2002).** Examen mycologique en dermatologie. *Venereol.* -132-p8s89-104
- DESCOTTES, B. (2009).** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. *Phytothérapie*, vol. 7, n°2, p. 112-116.
- DIVERS, T.J., PEEK S.F. (2008).** *Rebhun's Diseases of dairy cattle.* 2nd Edition. Saunders Elsevier, St Louis, 686 p.
- DORMAN, H.J.D., DEANS, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.*
- DR HAKIM, H. (2000).** Les produits de la ruche contre le vieillissement. *Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être*, n°0704G79436, p. 44-45.
- DR HAKIM, H. (2000).** La prévention du cancer par l'alimentation et le rôle des produits de la ruche... *Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être*, n°0704G79436, p. 32-33.
- DR RISPAIL, P. (2005).** Faculté de Médecine Montpellier-Nimes
- DR RISPAIL, P. (2005).** Epidémiologie et diagnostic biologique des dermatophytoses
- EUZEBY, J. (1992).** Les dermatophytes In : *Mycologie médicale comparée : les mycoses des animaux et leurs relations avec les mycoses de l'homme-* tome 1 Collection Fondation Marcel Mérieux- P271-399.
- FINCK, C. (2002).** *Evaluation de l'efficacité du lufénuron pour le traitement des dermatophytoses des rongeurs et lagomorphes de compagnie.* Thèse Méd. Vét. Alfort, n°66.
- FISCHMAN, O., CAMARGO, Z., GRINBLAT, M. (1976).** *Trichophyton mentagrophytes* infection in laboratory white mice. *Mycopathologia* 24: 113-5
- fungus agents of animal diseases. Saunders Elsevier, St Louis, 434 p.
- GALL, Y., LITOUX, P. (1989).** Les goudrons en pratique dermatologique. *Bulletin d'esthétique Dermatologique et Cosmétologique*, 48,25-35.
- GENOT, C., EYMARD S., VIAU, M. (2004).** Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? *Oléagineux, corps gras, lipides*, vol. 11, n°2, p. 133-141.
- GIGUÈRE, S. (2006).** Antifungal chemotherapy. In *Antimicrobial therapy in veterinary medicine. 4 th edition* (Giguère S, Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Dowling PM eds), Blackwell publishing, Ames : 301-322.

- GOETE, P. (2009).** Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies *Phytothérapie*, vol. 7, n°2, p. 91-93.
- GOODYEAR, K.L., THRELFALL, E.J. (2004).** Use of veterinary antimycotic products in the UK, 1998-2002, *International Journal of Antimicrobial Agents* **24** : 311-314.
- GOOSSENS, H. (2010).** European surveillance of antimicrobial consumption (ESAC): outpatient systemic antimycotic and antifungal use in Europe, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **65** : 769-774.
- GRILLOT, R. (1996).** Mycose de la peau et des phanères. In : Les mycoses humaines : démarche diagnostique Editions scientifiques et médicales Elsevier – Collection option Bio-P39-85
- GUAGERE, E., PRELAUD, P. (1999).** Dermatophyties – p4.1-4.11. Dermatozoonoses –p25.1-25.3. In : Guide pratique de dermatologie féline, Merial
- Guides MédiBIO. (2003).** Parasitoses et mycoses courantes de la peau et des phanères. Editions Elsevier, collection Paris.
- HIRSH, D.C., MACLACHLAN, N.J., WALKER, R.L.(2004).** Veterinary microbiology. 2 nd Edition. Blackwell Publishing, Ames, 536 p.
<http://www.biologiq.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf>
- HUSSEIN, S.Z., YUSOFF, M.K., MAKPOL, S., YUSOF, Y.A. (2012).** Gelam honey inhibits the production of proinflammatory mediators NO, PGE(2), TNF- α , and IL-6 in carrageenan-induced acute paw edema in rats. *Evid Based Complement Alternat Med.* (Article ID 109636): 1–12.
- ISLA, M.I., CRAIG, A., ORDONEZ, R., ZAMPINI, C., SAYAGO, J., ET AL. (2011).** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 1922-1930.
- JEAN-LOUIS MULTON, (2002),** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. A l'exclusion des produits utilisés au niveau de l'agriculture et de l'élevage : pesticides, hormones, etc.
- JESSUP, C.J., WARNER, J., ISHAM, N., ET AL. (2000).** Antifungal susceptibility testing of dermatophytes : establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbiol* 38: 341-4
- JONARD, L., BANH, L., PRESSAC, M., JUST, J., BAHUAU, M. (2006).** Les défensines en physiopathologie humaines. *Revue générale et analyse prospective IBS*, vol. 21, n°6, p. 342-347.

- KOENIG, H. (1995).** Guide de mycologie médicale. Editons Ellipses, Paris.
- KWAKMAN, P. H., TE VELDE, A. A., DE BOER, L. ;ET AL. (2010).** How honey kills bacteria. *FASEB journal*, vol. 24, n°7, p. 2576-2581.
- LAHLOU, M. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils *Phytotherapy Research*, 18, p: 435-448.
- LAHLOU, M. (2004).** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 1:435-448.
- le 28.01.2011).
- LAÏD BOUKRAA, HASAN A ALZHRANI, FATIHA ABDELLAH, BALKEES BAKHOTMAH, SI MOHAMED HAMMOUDI.** *In vitro* Synergistic Action of Honey and Essential Oils against Two *Species of Aspergillus*: A Preliminary Study (2014).
- LAÏD BOUKRAA, HASAN A ALZHRANI, FATIHA ABDELLAH, BALKEES BAKHOTMAH, SI MOHAMED HAMMOUDI.** Synergistic Effect of Monofloral Honeys and Essential Oils against *Pseudomonas aeruginosa*. (2013).
- LEFEVRE, P.C., BLANCOU, J., CHERMETTE, R. (2003).** Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail. Europe et régions chaudes. Tome 2 : Maladies bactériennes, Mycoses, Maladies parasitaires. Editions Tec & Doc, Paris, 997 p.
- LEONG, A.G., HERST, P.M., HARPER, J.L. (2012).** Indigenous New Zealand honeys exhibit multiple antiinflammatory activities. *Innate Immun.* 18:459–466.
- LIS-BALCHIN, M. (2002).** Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London.p: 37, 40,50, 155-200.a. www.eur-lex.europa.eu ; a. www.legifrance.gouv.fr
- LORETTE, G., VAILLANT, L. (1995).** Traitements locaux en dermatologie *Coll. Dermatologie pratique*, 174-178.
- LUCAS, E. (2000).** Un produit d'avenir en thérapeutique dermatologique :le distillat moléculaire de cade. Thèse, Doctorat pharmacie, Montpellier.
- MACLOU, A. (2002).** *Les dermatophytoses du cobaye : Etude épidémiologique en élevage.* Thèse Méd. Vét. Alfort, n°134, 110p.
- MADHAVI, D., L. DESHPANDE, S. S., SALUNKHE, D. K. (1996).** Food Antioxidants.
- MAJTAN, J. (2014).** Honey: an immunomodulator in wound healing. Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. Vol. 22, n° 2, pp. 187–192. DOI 10.1111/wrr.12117. PMID: 24612472

- MARIAT, F., CHATELAIN, J., ROUFFAND, MA (1976).** Etude sur la contamination par les champignons dermatophytes d'une population de petits mammifères sauvages en Alsace. *Mycopathologia* 58: 71-8
- MAVRIC, E., WITTMANN, S., BARTH, G., HENLE, T. (2008).** Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol. Nutr. Food Res.* 52:483–489.
- MBITHI, P.M. (1998).** Occurrence of dermatomphytosis (ringworm) due to *Trichophyton verrucosum* in dairy calves and its spread to Animal attendants. *J. S.Afr. Vet. Assoc.* 69:172-173
- MEDA, A., LAMIEN, C. E., MARCO, R., et al. (2005).** Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, vol. 91, n°3, p. 571-577.
- Miraglio, A.M. (2003).** honey-health and therapeutic qualities (en ligne). Disponible sur: <http://www.biologiq.nl/Userfiles/compendium%20Honey%202002.pdf>.
- M.N., ET AL. (2008).** Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey *Carbohydr. Res.* 343:651–659.
- MOLAN, P.C. (2002).** Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers-theory and practice. *Ostomy. Wound Manage.* 48: 28-40.
- MOLAN, P.C. (2011).** The evidence and the rationale for the use of honey as a wound dressing. *Wound Pract Res.* 19: 204–20.
- MOULINIER, C. (2002).** Dermatophytes et dermatomphytoses In : *Parasitologie et mycologie médicale. Eléments de morphologie et de biologie. Editions médicales internationales-* p729-744
- NIEWERTH, M., SPLANEMANN, V., KORTING, HC., ET AL. (1998).** Antimicrobial susceptibility testing of dermatophytes – comparaison of the agar macrodilution and broth microdilution tests. *Chemotherapy* 44: 31-5
- NOORUDIN, M., SINGH, B. (1987):** Dermatophytosis in buffaloes, cattle and their attendants. *Mykosen*, 30: 594-600.
- PAL, M. (1987):** Dermatophytosis in cattle, clinical and mycological studies. *Indian J. Animal Science.* 57: 856-857.

PALMEIRA DE OLIVEIRA, A., SALGUEIRO, L., PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, R., MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J., PINA-VAZ, C., QUEIROZ, JA., RODRIGUES, AG. (2009). Anti-candida activity of essential oils. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 9:1292-1305.

Parasitoses et mycoses courantes de la peau et des phanères. Editions Elsevier, collection Guides MédiBIO, Paris, 2003.

PENN, P. (2002) .Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n°25, Bioforma.

PETIT, S. (2009). Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisés en France. 15ème Edition. Edition du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort

PLUMB, D.C. (2004). Plumb's veterinary drug handbook. 6 th edition, Blackwell Publishing, Ames : 1 311 p.

PORTE, L. (1994). Fours à cade, fours à poix dans la provence littorale Ed les Alpes de lumière, 3-26.

PU, XIONG, M., YI LI XIA, T., GLENN, S. (2006). Outbreak of *Trichophyton verrucosum* in China transmitted from cows to humans . *Mycopathologia*, 161: 225–228.

QUINN, P.J.; AL. (1994). Clinical veterinary microbiology. Mosby Year Book, London, 648 p.

RADOSTITS, O. M., BLOOD, D. C., GAY, C. C. (1997): Veterinary Medicine. 8th Ed, Bailliere Tindall, London, pp. 381-390.

REICHLING, J., SCHNITZLER., SUSCHKE, U., SALLER, R. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties. *Forsch Komplementmed* 16:79-90

REYNAL, P.H., MAGE, C.(1993). La teigne des bovins. *Bull. Group. tech. vét.*, (5), 97-100.

RICHARD, F. (1992). Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc., p :1228-1242.

Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix.

SCOTT, D.W. (2007). Color atlas of farm animal dermatology. Blackwepublishing, Ames, 252 p.

SOBOTA, R., SZWED, M., KASZA, A., BUGNO, M., KORDULA, T. (2000). Parthenolide inhibits activation of signaltransducers and activators of transcription

(STATs) induced by cytokines of the IL-6 family. *BiochemBiophys Res Commun.* 267: 329–33.

SONGER, J.G., POST, K.W. (2005). Veterinary microbiology. Bacterial and

STENWIG, H. (1985). Isolation of dermatophytes from domestic animals in Norway. *Nord Vet Med* 37: 161-9

Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.

ULTREE, A., SLUMP, R.A., STEGING, G., SMID E.J. (2002). Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection.*63,p:620-624.

VALNET, M. (2005).Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology.*85,p:73-81.

VIGUIE –VALLENT, C. (2001). Dermatophyties zoophiles *Concours médical* -123 (24/25) –p1657-1661

VIGUIE-VALLANET, C. (1999). Les teignes. *Anna Dermatol Venereol* 126: 349-56

VOKOU, D., KOKKINI, S., BRESSIERE, J.M. (1988). *Origanum onites*(Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . *Economy botanic.* 42, p:407-412.

WABACHA, J. K., GITAU, K. J., BEBORA,L. C., BWANGA, C. O., WAMURI, Z. M., MBITHI, P. M. (1998): Occurrence of dermatomphytosis (ringworm) due to *Trichophyton verrucosum* in dairy calves and its spread to Animal attendants. *J. S.Afr. Vet. Assoc.* 69:172-173.

WEBER, A. (2000). Mycozoonoses with special regard to ringworm of cattle. *Mycoses*, 43: 20 22.

WENDA KOON, K., SAGUCHI, N.A. (1995). Methods of asses quality and stability of oils and fat-containing foods .AOCS. press, champaign.

WESTON, R.J., BROCKLEBANK, L.K., LU, Y.R. (2000). Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys. *Food Chem.* 70:427–435.

WWW.BOTANY.UTORONTO.CA. Skin and Nails

WWW.VET-LYON.FR

ANNEXES

Solution de noir chlorazole

Dissoudre 5g d'hydroxyde de potassium dans 90 ml d'eau distillée. Parallèlement, dissoudre 100 mg de noir chlorazole E (Sigma) dans 10 ml de diméthyl-sulfoxyde. Verser la solution de noir chlorazole dans la solution d'hydroxyde de potassium.

Eclaircit et colore en bleu vert les éléments Verser la solution de noir chlorazole dans la solution d'hydroxyde de potassium.

Milieu de Sabouraud simple

Néopeptone Difco 10g
Glucose 20g
Agar 20g
Eau distillée q.S.p. 1000 ml
pH: 5 - 5,6

Autoclaver pendant 15 min à 115°C.

Milieus de Sabouraud additionnés d'antibiotiques

Chloramphénicol 0,5 g/l
Gentamicine 0,01 à 0,1 g/l
Chloramphénicol + gentamicine
Antibiotiques +cycloheximide (Actidione) 0,5g/l

Milieu Lactrimel de Borelli

Farine de blé 14g
Lait écrémé en poudre 14g
Miel pur 7g
Agar 20g
Chloramphénicol 0,5g
Cycloheximide 0,5g
Eau distillée q.s.p. 1000 ml
Autoclaver pendant 10 min à 105°C. **(Bouchara et al., 2004)**