

Evaluation de l'activité antifongique de 4 plantes utilisées dans le traitement de *Tinea capitis* (la teigne) au Niger

[Evaluation of the antifungal activity of 4 plants used in the treatment of *Tinea capitis* (ringworm) in Niger]

Ramatoulaye MAROU HIMA¹, Alfa Keita DJIBO¹, Ali Elhadji SALEY², Souley GAMBO², Idrissa MOUSSA¹

¹Université Abdou Moumouni de Niamey, Faculté des sciences et techniques, Niger

²Laboratoire national de santé publique et d'expertise (LANSPEX) Niamey, Niger

³Laboratoire de bactériologie et de mycologie de l'hôpital national Amirou Boubacar Diallo, Niger

Copyright © 2024 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Tinea capitis* is a very common fungal infection in children. It is characterized by the appearance of white circular spots on the patient's head. *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst, *Terminalia avicennioides* (Guill and Perr), *Diospyros mespiliformis* Hochst and *Securidaca longipedunculata* Fres are plants used therapeutically in the treatment of this disease in external application, in the form of a poultice. Chemical screening of aqueous and methanolic extracts of these plants reveals the presence of phenolic and terpenoid compounds but not alkaloids. The antifungal activity of the extracts of these plants, evaluated by the agar medium diffusion method using the fungal strain *Candida albicans*, showed that the crude extracts of *S. longipedunculata* and *D. mespiliform* have low antifungal activity compared to Nystatin. *P. reticulatum* and *T. avicennioides* extracts have average antibiotic activity. The evaluation of the antifungal activity of the fractions of the methanolic extract, obtained by treatment with different solvents including hexane, dichloromethane and ethyl acetate, shows that the acetate fraction is more active than that obtained with the dichloromethane. The fractions obtained with hexane are inactive.

KEYWORDS: Antifungal, ringworm, *C. albicans*, tannin.

RESUME: *Tinea capitis* ou teigne tondeuse est une infection fongique très fréquente chez les enfants. Elle se manifeste par l'apparition des taches circulaires blanches sur la tête du patient. *Piliostigma reticulatum* (D.C.) Hochst, *Terminalia avicennioides* (Guill et Perr), *Diospyros mespiliformis* Hochst et *Securidaca longipedunculata* Fres sont des plantes utilisées en thérapeutique dans le traitement de cette maladie en application externe, sous forme de cataplasme. Le screening chimique des extraits aqueux et méthanolique de ces plantes révèle la présence des composés phénoliques et terpéniques mais pas d'alcaloïdes. L'activité antifongique des extraits de ces plantes, évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant la souche fongique *candida albicans*, a montré que les extraits bruts de *S. longipedunculata* et de *D. mespiliform* ont une activité antifongique faible par rapport à la nystatine. Les extraits de *P. reticulatum* et de *T. avicennioides* présentent une activité antibiotique moyenne. L'évaluation de l'activité antifongique des fractions de l'extrait méthanolique, obtenues par traitement avec différents solvants dont l'hexane, le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle, montre que la fraction acétate est plus active que celle obtenue avec le dichlorométhane. Les fractions obtenues avec l'hexane sont inactives.

MOTS-CLEFS: Antifongique, teigne, *C. albicans*, tanin.

1 INTRODUCTION

Les champs d'application de la médecine traditionnelle sont très variés, presque toutes les maladies infectieuses connues localement sont prises en charge par les guérisseurs selon les résultats des enquêtes ethnobotaniques menées au Niger^[1,2,3]. Plusieurs remèdes à base de plantes sont utilisés par les populations pour combattre les maladies d'origine fongique comme la teigne et l'eczéma.

Tinea capitis ou teigne tondeuse est une maladie infectieuse contagieuse, rencontrée généralement chez les enfants. Elle se caractérise par l'apparition des plaques sur la tête du patient. Dans les formes pustuleuses sévères, il y a une sécrétion purulente avec la possibilité d'une surinfection bactérienne. Les écorces de *Piliostigma reticulatum*, de *Terminalia avicennioides*, de *Diospyros mespiliformis* et de *Securidaca longipedunculata* sont utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement des infections cutanées et comme agents cicatrisants et hémostatiques^[4,5].

Les recherches ayant trait à l'activité antifongique de ces plantes ne sont pas nombreuses. Le présent travail vise à évaluer l'activité antifongique sur la souche *Candida albicans* des extraits de ces plantes en utilisant la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 LE MATÉRIEL VÉGÉTAL

Les échantillons de plantes ont été achetés chez les herboristes à Niamey puis identifiés au département de biologie de l'université Abdou Moumouni. Il s'agit des écorces de *Diospyros mespiliformis*, de *Securidaca longipedunculata*, de *Piliostigma reticulatum* et des feuilles de *Terminalia avicennioides*. Les échantillons de plantes ont été broyés et les poudres obtenues seront utilisées pour faire les extractions.

2.2 LE MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le support microbien est constitué par la souche fongique *Candida albicans* isolée à partir des liquides biologiques au laboratoire de bactériologie et mycologie de l'hôpital Amirou Boubacar Diallo servant de Centre Hospitalier Universitaire. Ce champignon pathogène provoque des infections fongiques essentiellement au niveau des muqueuses digestives et gynécologique.

2.3 PRÉPARATIONS DES EXTRAITS VÉGÉTAUX

Les extraits aqueux et méthanoliques des plantes ont été obtenus par décoction.

Dans un ballon de 2 L, on place 100 g de poudre végétale et on y ajoute 1L de solvant. Le tout est porté à reflux pendant 30 mn. Après refroidissement, la décoction est filtrée sur coton hydrophile. Le solvant du filtrat est éliminé par évaporation sous vide pour donner l'extrait brut.

Différents types d'extrait ont été préparés à partir de la poudre des différentes parties de plante sélectionnées pour l'étude.

2.4 FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE

Le protocole consiste à utiliser la différence de polarité des solvants pour séparer les constituants de l'extrait brut. Cette méthode fait appel à la méthode de séparation liquide-liquide.

12,5 g de l'extrait méthanolique sont repris dans 250 ml de méthanol. La solution alcoolique ainsi obtenue subit une extraction liquide-liquide avec une succession de solvants organiques par ordre de polarité croissante : Hexane, Dichlorométhane, Acétate d'éthyle. A la fin, la phase alcoolique résiduelle a été également séchée à l'aide de l'évaporateur rotatif.

2.5 CARACTÉRISATION PHYTOCHIMIQUE DES EXTRAITS

Criblage phytochimique: Les grandes familles de métabolites secondaires ont été recherchées dans les extraits des différentes plantes suivant les méthodes classiques de caractérisation. Les tanins et polyphénols ont été identifiés par le test au FeCl₃ et le réactif de Stiasny; les flavonoïdes par la réaction à la cyanidine; les saponosides par le test de mousse; les quinones par le test de Bornträger; les triterpènes et stéroïdes par le test de Liebermann-Burchard et enfin les alcaloïdes par les tests de Mayer et Dragendorf. Ces différents groupes chimiques ont été caractérisés en se référant aux techniques décrites dans les travaux d'IKHIRI *et al.* (1992)^[6].

Composés phénoliques totaux: La teneur totale en polyphénols de l'extrait méthanolique des plantes a été déterminée à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu (Wong *et al.*, 2006)^[7]. L'acide gallique est utilisé comme référence et la quantité de polyphénols totaux est exprimée en mg/g d'équivalents d'acide gallique (GAE).

Flavonoïdes totaux: Le dosage des flavonoïdes a été effectué par une méthode basée sur la formation d'un complexe entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Zhishen et Kim avec quelques modifications (Zhishen et al., 1999; Kim et al., 2003) [8; 9]. La teneur en flavonoïdes totaux est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

Tanins: La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par Julkunen Titto, (1985) [10]. La teneur en tanins condensés est exprimée en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EAT/g d'extrait) en se référant à la courbe d'étalonnage de la catéchine.

2.6 ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE

Les tests de sensibilité ont été réalisés à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélosé en déterminant les diamètres des zones d'inhibition de chaque disque. La méthode standard de Kirby-Bauer CLSI (Clinical and laboratory Standards Institute) [11] a été utilisée.

Préparation des disques portant les extraits de plante

100 mg de chaque extrait ont été dissout dans 10 ml d'eau distillée et ensuite stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. La stérilité des solutions a été vérifiée en ensemençant des aliquotes de chaque solution dans un milieu Sabouraud Chloramphénicol incubée à 30°C pendant 48 heures. 10 µl de chaque solution sont soigneusement déposés sur des disques de papier Whatman N°1 de 6 mm diamètre.

Préparation du milieu de culture Sabouraud

36g de gelose sabouraud ont été dissout dans 1 L d'eau distillée puis chauffé jusqu'à dissolution totale. Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Il a été ensuite coulé dans des boîtes de Pétri stérile de 90 mm de diamètre.

Préparation de l'inoculum

La suspension de champignon *Candida albicans* est réalisée par dissolution d'une colonie bien isolée dans 10 ml d'eau distillée pour donner la suspension de départ. A partir de cette suspension, 0,1 ml est prélevé et mélangé dans 9 ml d'eau distillée stérile pour constituer la dilution 10^{-1} qui correspond à 10^5 cellules/ml.

Ensemencement et incubation

Les boîtes de Pétri ont été ensemencées par écouvillonnage avec le milieu Sabouraud. Les disques préalablement imprégnés d'extrait de plante sont délicatement déposés à la surface du milieu inoculé. Il en est de même pour les disques de Nystatine utilisé comme antifongique de référence. Après 30 minutes d'incubation à la température ambiante pour une pré-diffusion les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve à 30°C pendant 48 à 72 heures.

3 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

L'analyse phytochimique des extraits bruts aqueux et méthanoliques révèle la présence des tanins, Saponines, flavonoïdes, stéroïdes et terpenoïdes dans les 4 plantes. Le tableau I illustre les résultats du criblage phytochimique. Des études sur *Diospyros mespiliformis* ont révélé aussi la présence de quinones dont: Diospyrine, Isodiospyrine, Diosquinone, plumbagine. Cette plante possède également une teneur élevée en fluorure [12].

Des analyses des extraits de *P. reticulatum* ont montré une teneur importante de tanins et l'acide L tartrique [5]. Parmi les flavonoïdes isolés de cette plante, on trouve des flavonols comme le 6-C-méthylquercétine-3-méthyléther-5, 6,8-di-Cméthylkaempférol-3-méthyléther-6 et 6-C-méthylquercétine-3. Il a été rapporté la présence d'un oxychromonol (6-C-méthyl-2-p hydroxyphényloxychromonol) ou piliostigmol [13].

Des criblages phytochimiques des extraits aqueux et éthanoïque des racines de *S longepedunculata* ont révélé en plus des flavonoïdes, saponines, tanins et terpenoïdes, la présence des alcaloïdes, des coumarines et des stéroïdes [14].

Des études phytochimiques ont révélé la présence, dans les écorces des racines *T avicennioides*, des anthraquinones et des alcaloïdes [15]. La concentration d'un métabolite secondaire dans une plante dépend des facteurs environnementaux et génétiques. Plusieurs familles de métabolites secondaires des végétaux peuvent avoir une action inhibitrice des micro-organismes pathogènes.

Tableau 1. Screening chimique

Plante	Organe	Metabolites secondaires				
		Al	Fl	Ta	Sa	Ste/Te
<i>T avicennioïdes</i>	Feuilles	-	+	+	+	+
<i>P reticulatum</i>	Ecorce	-	+	+	+	+
<i>D mespiliformis</i>	Ecorce	-	-	+	+	+
<i>S longepedunculata</i>	Ecorce	+	+	+	+	+

Al: alcaloïdes, Fl: flavonoïdes, Ta: tanins, Sa: saponosides, Ste/Te: steroïde et terpene

(-): Réaction négative; (+): Réaction positive

ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Les extraits de *T avicennioïdes* et de *P reticulatum* ont montré une bonne activité antibiotique sur la souche *Candida albicans*. Les diamètres d'inhibition obtenus avec les extraits de *P reticulatum* sont plus faibles que ceux provoqués par les extraits de *T avicennioïdes*.

L'extrait méthanolique et aqueux ont fait des diamètres des zones d'inhibition de 17 et 15 mm respectivement chez *T avicennioïdes*; pour les extraits aqueux de cette plante, le diamètre d'inhibition est au tour de 15 mm. Avec le *P reticulatum* nous avons obtenus des diamètres plus faibles de 10 et 13 mm respectivement pour l'extrait aqueux et méthanolique. Les résultats sont consignés dans le tableau II. Les extraits méthanoliques bruts donnent des diamètres d'inhibition supérieurs à ceux des extraits aqueux. Parmi les fractions, la fraction acétate d'éthyle a produit les plus grandes inhibitions fongiques et les fractions hexaniques n'ont aucun effet antibiotique.

 Tableau 2. Diamètre des zones d'inhibition des extraits des plantes sur *Candida albicans*

Plantes	NYS	EA	EM	MF1	MF2	MF3	MF4
<i>D mespiliformis</i>	20	7±0.6	8±0.5	00	6,3±0.7	9,0±0.4	7,2±0.2
<i>P reticulatum</i>	20	10.7±0.6	12.0±0.3	00	9.6±0.3	13.3±0.6	8.6±0.8
<i>S. longepedunculata</i>	20	7±0.5	8±0.3	00	7,2±0.6	10,4±0.1	6,3±0.6
<i>T avicennioïdes</i>	20	14±0.3	15.7±0.3	00	14.5±0.3	18.7±03	15.3±0.3

EA: Extrait Aqueux; EM: Extrait Méthanolique, Antibiotique de référence: NYS: Nystatine

Les extraits aqueux, éthanolique, acétate d'éthyle de l'écorce de *T avicennioïdes* ont montré une activité antifongique contre *A. niger*, *A. fumigatus*, *Penicillium species*, *M. audouinii*, *T. rubrum* et *C albicans*. Les substances antifongiques contenus dans ces extraits sont doses dépendantes [15, 16]. Babajide et al. [13] ont rapporté que le piliostigmol, flavonol extrait de *P reticulatum*, a une activité antifongique sur *Aspergillus niger*. Concernant l'activité antifongique, sur la souche *Candida albicans*, des extraits de *D. mespiliform* et de *S. longepedunculata*, on a enregistré des faibles diamètres d'inhibition (7 à 8 mm) par rapport à la référence nystatine (20 mm).

On peut citer les travaux de Dangoggo [17] qui montrent que les extraits des feuilles et des écorces de *D mespiliformis* ont une activité antifongique sur *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Microsporium gypseum* avec des effets doses dépendante. Cette activité a été liée à la plumbagine, une naphtoquinone présente dans l'écorce du tronc, aucune activité sur *C albicans* n'a été mentionné. Comme l'indique nos résultats, la plante ne présente pas une activité antifongique importante sur *C albicans*.

L'extrait méthanolique des feuilles de *S longepedunculata* ont une activité anti fongique sur les souches *Mucor rouxi*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus nigricans*. L'huile essentielle extraite de l'écorce des racines montre des activités antifongiques sur *C albicans*. Les extraits acétone et hexane des racines inhibent les souches fongiques *Fusarium verticillioïdes*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nygamai*, *Fusarium proliferatum* et *Fusarium graminearum* [14]. La faible activité antibiotique contre *Candida albicans* peut s'expliquer par la teneur de l'écorce en huile essentielle. Les racines de la plante sont plus riches en essence que les parties aériennes.

4 CONCLUSION

Parmi les métabolites secondaires mis en évidence par le screening chimique de ces plantes, les composés phénoliques sont les plus importants. On a retrouvé les polyphénols dans toutes les plantes étudiées. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, analgésiques, hémostatiques et antioxydantes. Les tests biologiques ont montré que les extraits des plantes étudiées ont un pouvoir inhibiteur sur la souche fongique *C albicans*. Les extraits méthanoliques sont plus actifs que les extraits aqueux et l'activité de la plante dépend de sa teneur en tanin. Bien que le criblage basé sur l'inhibition de la croissance d'une souche de champignon soit insuffisant pour déterminer une activité antifongique, les résultats obtenus avec plantes

justifient l'utilisation en médecine traditionnelle des plantes à tanin dans le traitement des infections cutanées comme les dermatoses, l'eczéma et la teigne.

REFERENCES

- [1] Adjanohoun, E. J., Ahyi, A. M., Ake, L. A., Dicko, L. D., Daouda, H., Delmas, M., De Souza, S., Garba, M., Guinko, S., Kayonga, A., N'golo, D., Raynal, L., Saadou, M. (1981) Médecine traditionnelle et pharmacopée: Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques au Niger. ACCT, Paris, 250 p.
- [2] Adam, J. C., Echard, N., Lescot M. (1972) Plantes médicinales Hausa de l'Ader. *Agr. Trop. Appl. N° 8-9*, 259-399.
- [3] Ikhiri, K., Saadou, M., Garba, M. (1984). Recherche sur la Pharmacopée traditionnelle au Niger, O.U.A. C.E.L.H.T.O
- [4] Hassane, H. (2008). Répertoire des espèces végétales les plus couramment utilisées en pharmacopée traditionnelle et impact des techniques de prélèvement sur la diversité biologique dans la réserve de Biosphère du W du Niger. Mémoire de DEA Géographie. Université Abdou Moumouni de Niamey, 133 p.
- [5] Nacoulma, O.G., (1996) Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central. Thèse de Doctorat Ès Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou, tome II, p.285.
- [6] Ikhiri, K., Boureima, D., Dan-Kouloda, D-D (1992) Chemical Screening of Medicinal Plants used in the Traditional Pharmacopoeia of Niger. *Int. J. Pharmacog.*, 30 (4) 251-262.
- [7] Wong, S. P., Leong, L. P., Koh, J. H. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *J Food Chem*, 99, 775-783.
- [8] Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *J Food Chem*, 64, 555 - 561.
- [9] Kim, D., Chun, O., Kim, Y., Moon, H., Lee, C. (2003). Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 650 -659.
- [10] Julkunen-Titto, R., (1985). Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 33, 213.
- [11] CLSI (2009), Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard: M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS (2003), Wayne, PA, USA.
- [12] Ref Ahmed A.H, Mahmud A.F (2017). Pharmacological activities of *Diospyros mespiliformis*. *International Journal of Pharmacy and Biological Science*, 7 (4), 93-96.
- [13] Babajide, O.J., Babajide, O.O., Daramola, A.O., Mabusela, W.T., (2008). Flavonols and an oxochromonol from *Piliostigma reticulatum*. *Phytochemistry* 69 (11), 2245–2250.
- [14] Mongalo, N.I., McGaw, L.J., Finnie, J.F., Van Staden J. (2015). *Securidaca longipedunculata* Fresen (Polygalaceae): A review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological properties and toxicology. *Journal of Ethnopharmacology* 165, 215–226.
- [15] Azeez, M. A., Yekeen, T. A., Animasaun, D. A., Durodola, F. A., Bello, O B. (2015). *Terminalia avicennioides* as a Potential Candidate for Pharmaceutical Industry: A Review. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6 (2) 748-754.
- [16] Mann, A., Bansa, A., Clifford L.C. (2008). An antifungal property of crude plant extracts from *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennioides*. *Tanzania Journal of Health Research* 10, (1), 34-38.
- [17] Dangoggo, S.M., Hassan, L.G., Sadiq, I.S. Manga, S.B. (2013), Bioactive isolation and antifungal screening of leaf and bark of *Diospyros mespiliformis* and *Ziziphus spinida-christi*. *International journal of Traditional and Natural Medicines*, 2 (2): 104-117.