

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET  
DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité/Option : Parasitologie

Thème :

---

**Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de  
*Rosmarinus officinalis* L. et du *Thymus capitatus* L. sur des  
agents d'otomycose : Cas d'*Aspergillus niger***

---

Présenté par :

Athamnia Ines

Djaibet Chaima

Zaghdoudi Ghania

Devant le jury composé de :

Président (e) : Dr BOUMAAZA A.

(M.C.B)

Université de Guelma

Examineur : Mme. HAMDIKAN M.

(M.A.A)

Université de Guelma

Encadreur : Dr KSOURI S.

(M.C.B)

Université de Guelma

Juin 2018

## *Remerciements*

*Louange et Gloire a Dieu, Grand et Miséricordieux, qui nous avons donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire*

*Nous tenons à remercier respectivement tous personnes qui ont contribués de près ou de loin au bon déroulement de notre mémoire de fin d'étude et à l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nos remerciements vont en particulier et profondément, à notre encadreur de recherche, Docteur Ksouri Samir pour la qualité de son enseignement, ses conseils et son intérêt et pour sa précieuse aide à la relecture et à la correction de notre mémoire.*

*Nos remerciements vont également à :*

*Mme Boumaaza.A, la présidente du jury et Mme Hamdikan.M l'examinatrice, qui nous font l'honneur de juger ce modeste travail. Vos suggestions et remarques sont un apport pour la suite de la carrière du chercheur que nous embrassons avec cette recherche.*

*Nous adressons encore nos remerciements à :*

*L'ensemble des enseignants de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'univers de l'université de Guelma 8 mai 1945*

*L'ensemble des membres du département de biologie*

*L'ensemble des membres de laboratoire de biologie*

*L'ensemble des compagnons et surtout de spécialité parasitologie de promotion 2018*

*Ghaniya, Ines, Chaima*

# Dédicace

À la mémoire de Ma mère « **Arifa** »

Ce travail est dédié à ma mère décédée trop tôt, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études j'espère que, du monde qui est sien maintenant, il appréciera cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours prié pour le salut de son âme, Puisse Dieu le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

Ce travail est pour moi le fruit de tes prières. Ma mère quand je le verrai de l'autre côté de la lumière, je te dirai combien m'as manqué....

Que la terre te soit légère.

A mon très cher Père « **Hocine** »

-A qui je dois ce qui je suis-

Que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments pour votre patience, votre encouragement, votre Amour, compréhension et votre tendresse sont toujours pour moi sans limite... vous êtes mes deux parents après ma mère qui nous a quittée.

Que Dieu vous garde en bonne santé.

A mon très cher frère « **Samir** »

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez m'inculqué le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils sont toujours guidés mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours m'apporté. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fier.

Que Dieu, le tout puissant vous préserve, vous accorde santé, bonheur et vous protège de tout mal.

A mon petit cher frère « **Hicham** »

Merci d'être toujours à ma côté, par ton présence, par ton amour dévoué et ton tendresse, pour donner du goût et du sens à ma vie, En témoignage de mon amour et ma grande affection, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement

A mes yeux **Samia et Sarra**

A mes adorables sœurs samia et sarra pour leur grand amour et leur soutien, qu'elles trouvent ici l'expression de haute gratitude... je vous aimez trop

Que Dieu gardez-vous.

A ma très chère Sœur

A celui qui a toujours garni mes chemins. Avec force et lumière. Le symbole d'amitié et de tendresse. Il ya des Souvenirs que rien n'efface et des personnes qui on ne remplace jamais, C'est toi **Ben kacher Sabiha**, Aucune dédicace puisse exprimer mon gratitude mon affection.

Merci d'être part de ma vie et ma famille. Que Dieu te garde ma perle.

A tous ma famille et ma belle famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont toujours accordé.

C'est le hasard qui fait la famille, mais c'est le cœur qui fait amis, les amis sont les familles que l'on choisit. A tous mes amis en particulier la belle **imane, khawla, kawter, haciba et Karima**.

A ma binôme **ghania et chaima** et à ma promotion de parasitologie 2018

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

*INASS*

# Dédicace

*Je remercie tout d'abord le bon DIEU « الله », de  
m'avoir donné la patience et le courage pour  
bien mener ce travail*

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux deux être le plus chers au monde, qui ont  
souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur  
amour, mes parents.*

*A mon père pour son patient avec moi et son  
encouragement ;*

*A ma source de bonheur, la prunelle de mes  
yeux, ma mère ;*

*Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé ;*

*Je dédie aussi ce modeste travail :*

*A mes chers frères : MINOU ET KHALED*

*A mes chères sœurs : ASMA ; IMANE*

*A mon cher oncle : SALAH*

*A mes anges : SIDRA et ANES*

*Et à tous mes cousines surtout : Yousra, Amira  
, Dalou ET Ahlem*

CHAIMA

# Dédicace

*Nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir données la force et la patience pour achever ce travail*

*Je dédie ce mémoire*

*A ma mère Fatma, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A mon père Belkacem, La miséricorde de Dieu sur lui, Oh mon Dieu, pardonne mon père et sa miséricorde. Oh Dieu, entrez au Paradis Et tous les musulmans sont Amen, Seigneur des mondes*

*A mon cher mari cher à mon cœur Abd El Kader, Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.*

*A mon cher fils Ishak le plus cher de l'esprit sur moi – même, Je souhaite vous voir comme un homme dans lequel toutes les bonnes qualités*

*A ma belle-mère Razika, Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A mon Beau-père Boudjemaa, pour ses précieux conseils et son aide*

*A Mes frères et sœurs Rafik, Amin, et Hamida, Amina, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral*

*A ma belle-sœur Amel et mon beau-frère Hamza, Mohamed, nedjem Edin pour leur appui et leur encouragement,*

*Aux les petits-enfants de la famille : Alaa, Mohamed wasim, Maram Nour Sin, Abd El Raouf, Rim, Maram*

*A tous mes amis et camarades et surtout Imen, Meriem, Sara, Ines, Chaima*

*A Ma chère grand-mère maternelle Hada et Ma chère grand-mère paternelle Laarem*

*Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A la mémoire de mon grand père paternel Athman, la mémoire de mon grand père maternelle Saleh*

*Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.*

*Ghaniya*

---

<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction</b>	
<b>Premier partie : Etude bibliographique</b>	
<b>I. Les huiles essentielles (HEs) .....</b>	<b>1</b>
<b>I.1 Définition des HEs .....</b>	<b>1</b>
<b>I.2 Classification.....</b>	<b>1</b>
<b>I.3 Localisation des HEs dans la plante .....</b>	<b>1</b>
<b>I.4 La composition chimique des huiles essentielles .....</b>	<b>1</b>
<b>I.5 Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....</b>	<b>2</b>
<b>I.6 Rôles et propriétés des huiles essentielles.....</b>	<b>3</b>
<b>I.7 Action biologique, effets thérapeutiques .....</b>	<b>3</b>
<b>I.7.1 Des propriétés Anti-infectieuses .....</b>	<b>4</b>
<b>I.7.2 Des propriétés anti-inflammatoires .....</b>	<b>4</b>
<b>I.7.3 Des propriétés digestives.....</b>	<b>4</b>
<b>I.7.4 Des propriétés anti oxydantes .....</b>	<b>5</b>
<b>I.8 Utilisation des huiles essentielles .....</b>	<b>5</b>
<b>I.9 Les voies d'administration.....</b>	<b>5</b>
<b>I.10 Toxicité des huiles essentielles : .....</b>	<b>5</b>
<b>I.11 La conservation d'HEs .....</b>	<b>6</b>
<b>II. Présentation des espèces végétales étudiées.....</b>	<b>7</b>
<b>II.1 Rosmarinus officinalis L. ....</b>	<b>7</b>
<b>II.1.1 Définition .....</b>	<b>7</b>
<b>II.1.2 Caractéristique botanique et classification du <i>Rosmarinus officinalis L.</i>.....</b>	<b>7</b>
<b>II.1.3 Habitat .....</b>	<b>7</b>
<b>II.1.4 Utilisation.....</b>	<b>8</b>
<b>II.1.5 Ecologie.....</b>	<b>8</b>

---

II.1.6 Composition biochimique d'HE de <i>Romarin</i> .....	8
II.1.7 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin .....	8
II.2 <i>Thymus capitatus</i> L.....	9
II.2.1 Description et classification systématique de <i>Thymus capitatus</i> L.....	9
II.2.2 HEs de <i>T. capitatus</i> L. ....	10
II.2.3 Activités biologiques de <i>T. capitatus</i> L.....	10
II.2.4 Usages traditionnelles .....	10
III. Généralités sur <i>Aspergillus niger</i> .....	10
III.1 Définition.....	11
III.2 Position systématique d' <i>Aspergillus niger</i> .....	11
III.3 Écologie .....	11
III.4 Morphologie.....	12
III.4.1 Caractères cultureux et Aspects macroscopiques .....	12
III.4.2 Morphologie microscopique .....	13
III.5 Pathogénicité d' <i>Aspergillus</i> .....	14
III.5.1 La Pathogénicité d' <i>Aspergillus niger</i> .....	15
<b>Deuxième partie: Etude Pratique</b>	
I. Matériel et Méthodes :.....	16
I.1. Matériel :.....	16
I.1.1. Matériel végétal :.....	16
I.1.2. Matériel fongique .....	16
I.2. Méthodes .....	17
I.2.1. Extraction d'huile essentielle .....	17
I.2.2. Détermination du rendement d'extraction.....	18
I.2.3. Évaluations de l'activité antifongique .....	18
I.2.4. Analyse de la composition chimique des HEs par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) :.....	20
II. Résultats et Discussion .....	21

<b>II.1. Paramètres organoleptique et rendement des HEs des deux plantes aromatiques .....</b>	<b>21</b>
<b>II.2. Résultats de l'analyse par GC-SM des HEs.....</b>	<b>22</b>
<b>II.3.Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des HEs des deux plantes aromatiques :.....</b>	<b>24</b>
<b>II.3.1. Evaluation de l'activité antifongique des deux HEs par la méthode de diffusion sur gélose : .....</b>	<b>24</b>
<b>II.3.2. Détermination des valeurs de CMI et CMF des HEs par la technique de micro dilution : .....</b>	<b>25</b>
<b>II.3.3. Evaluation de l'activité antifongique des HEs par la méthode de fumigation ou micro atmosphère .....</b>	<b>28</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>31</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>32</b>
<b>Annexes</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>Résumé</b>	

---

**LISTE DES FIGURES**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Aspects macroscopiques <i>d'Aspergillus niger</i>	<b>13</b>
<b>02</b>	Aspects microscopiques <i>d'Aspergillus niger</i>	<b>14</b>
<b>03</b>	Extraction des HEs par hydrodistillateur de type Clevenger	<b>17</b>
<b>04</b>	résultats des deux HEs par la méthode de diffusion sur gélose	<b>25</b>
<b>05</b>	Résultat du méthode du micro dilution	<b>28</b>
<b>06</b>	Résultat des HEs par la méthode de fumigation ou micro atmosphère	<b>30</b>

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Position taxonomique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<b>7</b>
<b>02</b>	Position taxonomique de <i>T capitatus</i> L.	<b>10</b>
<b>03</b>	La position systématique d' <i>Aspergillus niger</i>	<b>11</b>
<b>04</b>	Caractéristiques organoleptiques des HEs testées	<b>21</b>
<b>05</b>	Valeurs du rendement moyen des HEs des deux espèces végétales	<b>21</b>
<b>06</b>	Composition chimique des HEs de romarin et de thym	<b>23</b>
<b>07</b>	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 1 d' <i>Aspergillus niger</i>	<b>24</b>
<b>08</b>	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 2 d' <i>Aspergillus niger</i>	<b>24</b>
<b>09</b>	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 3 d' <i>Aspergillus niger</i>	<b>25</b>
<b>10</b>	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche de référence d' <i>Aspergillus niger</i>	<b>25</b>
<b>11</b>	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (létales) (CMF) des HEs de romarin et de thym vis-à-vis <i>Aspergillus niger</i>	<b>26</b>
<b>12</b>	Pourcentage d'inhibition des différentes souches d' <i>Aspergillus niger</i> testées par fumigation d'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	<b>29</b>
<b>13</b>	Pourcentage d'inhibition des différentes souches d' <i>Aspergillus niger</i> testées par fumigation d'HE de <i>Thymus capitatus</i> L.	<b>29</b>

## LISTE DES SIGLES ET DES ABREVIATIONS

**CBS** : Centre de Biotechnologie de Sfax.

**CLSI**: Clinical and laboratory Standards Institute

**CTM**: collection tunisienne du micro organism

**GC/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**HIV**: Human immunodeficiency virus

**HEs** : Les huiles essentielles.

**CMI** : Concentrations minimales inhibitrices

**CMF** : Concentrations minimales fongique

**HE<sub>s</sub>** : Huiles essentielles

**RHE** : Rendement d'huile essentielle

**RO** : *Rosmarinus officinalis*

**TC** : *thymus capitatus*

**A niger** : *Aspergillus niger*

**Aw** : unité de mesure de l'activité de l'eau



# Introduction

Depuis longtemps l'homme reconnaît et utilise les plantes pour se nourrir et pour traiter diverses maladies. Les plantes aromatiques constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés des plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (Mailhebiau, 1994). Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle (HE), peuvent être mises à profit pour traiter les infections ou conserver les aliments.

Une HE est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (Bruneton, 2009).

Les HEs s'opposent au développement des germes tels que les bactéries pathogènes y compris les souches habituellement antibiorésistantes les champignons responsables de mycoses dont les doses actives sont en général faibles et se traduisent soit par l'inhibition de la croissance des micro-organismes soit par un effet létal (Crémieux, 1990 ; Bruneton, 1993).

L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatique et médicinales y pousse spontanément. Pour cela, l'intérêt porté à ces plantes n'a cessé de croître au cours de ces dernières années.

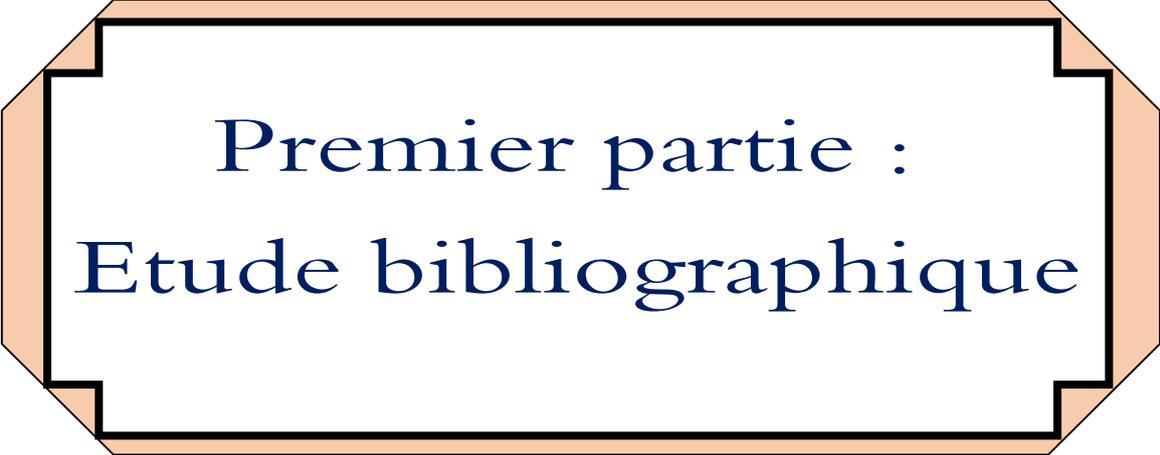
Notre travail comporte deux parties, la première partie est consacrée pour la synthèse bibliographique qui est composée de trois chapitres principaux. Le premier chapitre est dédié à l'étude des HEs. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des deux plantes qui ont servi pour cette étude (*Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus capitatus* L.). Le troisième chapitre portera sur une étude mycologique de l'espèce fongique étudiée.

Dans la deuxième partie, nous avons testés le pouvoir antifongique des HEs de deux plantes aromatiques endémiques de l'est algérien contre des isolats cliniques d'*Aspergillus niger* responsable d'otomycose.

Les objectifs de notre étude, s'articule autour des trois points suivants :

- tracé le profil chimique des HEs qui ont été choisie pour cette étude.

- évaluation par contact direct de la propriété antifongique des HEs contre une espèce fongique responsable d'otite clinique.
- testé la fraction volatil de ces HEs contre cette même espèce fongique.



Premier partie :  
Etude bibliographique



# *Chapitre I*

*Généralité sur les huiles  
essentielles*

## **I. Les huiles essentielles (HEs)**

### **I.1 Définition des HEs**

Plusieurs définitions sont disponibles des HEs.

Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (Bruneton, 1999).

La définition donnée par (Afnor, 2000). Est la suivante : « les HEs sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus soit par distillation sèche ».

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres des plantes et des épices elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur elles ne contiennent pas de corps gras (Yahyaoui, 2005).

### **I.2 Classification**

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique Obtenu par des aromatogramme les HEs sont classées en groupes.

- Les huiles majeures.
- Les huiles médiums.
- Les huiles terrains (Chakou et Bassou, 2007).

### **I.3 Localisation des HEs dans la plante**

Les HEs sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées Elles sont alors stockées dans des cellules à HE (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaciaceae* ou *Asteraceae*). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes. (Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005).

### **I.4 La composition chimique des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes.

- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après (Guenter, 1975). La structure des composés des HEs est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Selon (Bruneton, 1999). Cette structure varie en fonction du nombre d'atomes de carbone qui les constitue :

- Les monoterpènes.
- Les sesquiterpènes.
- Rarement les diterpènes.
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- De la nature des groupes fonctionnels à savoir :
  - ✓ Terpènes :  $R_1-HC=CH-R_2$ .
  - ✓ Alcools terpéniques :  $R-OH$ .
  - ✓ Cétones :  $R_1-CO-R_2$ .
  - ✓ Phénols :  $C_6H_6-OH$ .
  - ✓ Aldéhydes :  $R-CHO$ .
  - ✓ Esters :  $R_1-COO-R_2$ .
  - ✓ Ethers :  $R_1-O-R_2$ .

### **I.5 Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles**

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les HEs forment un groupe très homogène (Bruenton, 1993). Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.

- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (Zabeirou et Hachichou, 2005).

### **I.6 Rôles et propriétés des huiles essentielles**

Le rôle des HEs dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs (Derooin ,1988). De plus, en règle générale les HEs constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes. Les substances émises sont dans ce dernier cas appelées « phytoalexines ». Ce type de toxine n'est produit qu'en cas d'infection et n'entre donc pas dans la composition d'une huile essentielle provenant d'une plante saine (Mann ,1987).

L'intérêt pour les produits naturels dans l'alimentation et dans l'industrie pharmaceutique est grandissant (Baratta *et al.*1998) ont réalisé une expérience visant à mettre en évidence les propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antioxydantes de plusieurs huiles essentielles.

### **I.7 Action biologique, effets thérapeutiques**

Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (Pellecuer *et al.*1980) ou au niveau de la microflore vaginale (Viollon, 1993).Et d'origine fongique contre les dermatophytes (Chaumont *et al.* 1989).

Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques (Sivropoulou *et al.*1996). Les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre. De nombreuses études ont montré que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (Lahlou, 2004) et les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant (Pibiri, 2006).

La description de quelques principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des HES sont : des propriétés Anti-infectieuses, des propriétés anti-inflammatoires, des propriétés digestives, des propriétés anti oxydantes.

### **I.7.1 Des propriétés Anti-infectieuses**

- ***Antibactériennes***

Les HES ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique). Plusieurs travaux montrent que les HE et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif (Carson et Riley, 1995). L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (Tantaoui et *al.* 1993).

- ***Antivirales***

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HES, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Plus d'une dizaine d'HEs possèdent des propriétés antivirales. Par exemple, l'HE de Ravintsara (Zahalika, 2010).

- ***Antifongiques***

Les HES utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont nombreux, Cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les HES de *Cannelle*, de *Clou de girofle* ou de *Niaouli* sont des antifongiques (Zahalika, 2010).

- ***Antiparasitaires***

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol et la sarriette des montagnes sont d'excellentes HE antiparasitaires (Zahalika, 2010).

### **I.7.2 Des propriétés anti-inflammatoires**

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'HEs ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires (Zahalika, 2010).

### **I.7.3 Des propriétés digestives**

Les HES ont une action manifeste sur le système digestif. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal (HEs de basilic, d'anis) et elles favorisent la formation

des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (HEs de cumin, d'estragon, de menthe poivrée) (Zahalika, 2010).

#### **I.7.4 Des propriétés anti oxydantes**

Depuis une quinzaine d'années, la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits à pouvoir antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt. Par conséquent, les HEs sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont été étudiées pour leurs propriétés anti oxydantes.

Les composés phénoliques, comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HE présentant les plus fortes activités anti oxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les mono terpènes alcools cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers (Gabriel et *al.*2013).

#### **I.8 Utilisation des huiles essentielles**

Traditionnellement, les HEs sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Ainsi, elles sont utilisées dans l'agroalimentaire (gâteaux, biscuits, soupe, sauce, chewing-gum, chocolats, bonbons...).

Pour aromatiser la nourriture. Elles sont également utilisées dans l'industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...) et celle de la nourriture pour animaux, dans l'industrie automobile, dans la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (Bakkali, 2007).

#### **I.9 Les voies d'administration**

Les HEs peuvent être administrées soit par :

- La voie olfactive à diffuser ou à respirer.
- La voie orale avec du miel, un morceau de sucre, de la mie de pain ou directement sur la langue.
- La voie cutanée directement sur la peau ou mélangée avec une huile végétale (Zahalika, 2010).

#### **I.10 Toxicité des huiles essentielles :**

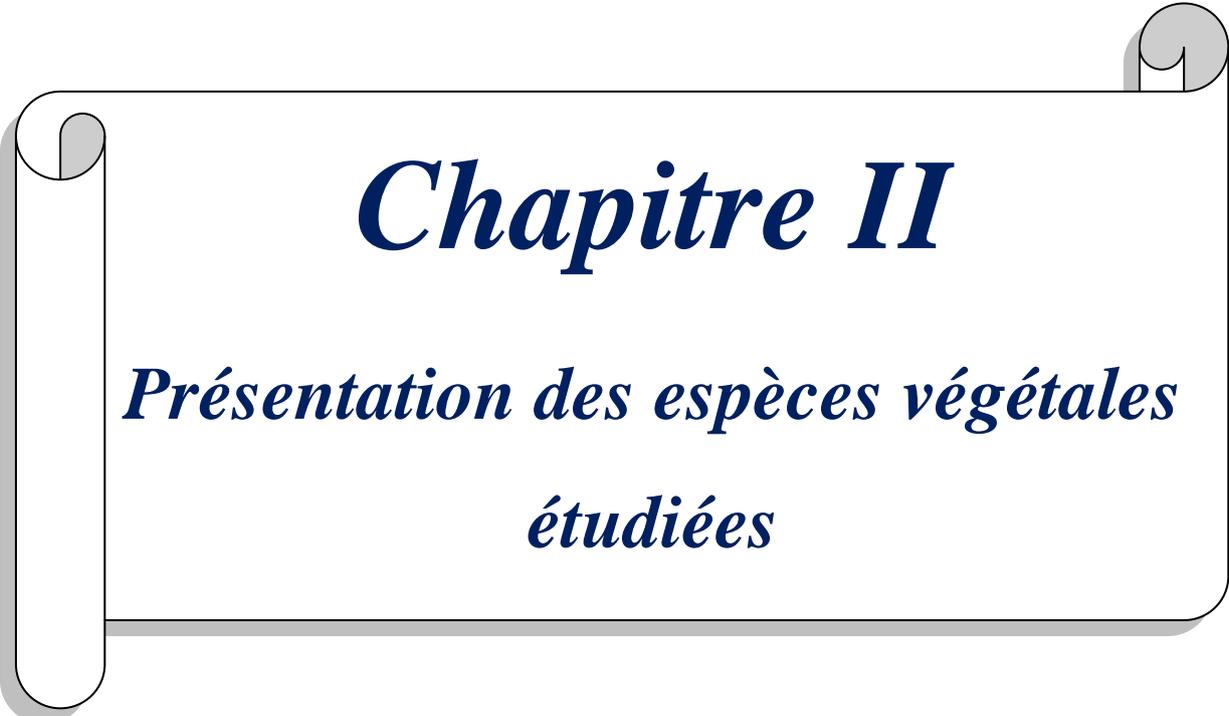
Plusieurs HE sont connus pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à anéthol à action convulsivante à forte dose ; il en est de même des essences à thuyone (thuya).

Notons que les essences absorbées seules comme médicaments, en usage interne (aromathérapie). Peuvent présenter une certaine toxicité (Binet et Brunel, 1968).

Les HEs doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité (Scimeca, 2007 ; Lambert, Skandamis et *al.*2001).

### **I.11 La conservation d'HEs**

Extrait dans de bonnes conditions à partir de plantes saines par distillation, les HE se conservent longtemps si elles sont protégées de la lumière et de la chaleur (Zahalika, 2010).



# *Chapitre II*

*Présentation des espèces végétales  
étudiées*

## II. Présentation des espèces végétales étudiées

### II.1 Rosmarinus officinalis L.

#### II.1.1 Définition

En général c'est une plante odorante à tiges quadrangulaires, à feuilles opposées décussées sans stipules et fleurs réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles ou encore condensées au sommet de tige et simulant des épis (Messaili, 1995).

#### II.1.2 Caractéristique botanique et classification du *Rosmarinus officinalis* L.

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'une bleue pale, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (Gonzalez *et al.* 2007 et Atik *et al.* 2007).

Le tableau 01 représente la position systématique de *Rosmarinus officinalis* L.

**Tableau 01 : Position taxonomique de *Rosmarinus officinalis* L. (Quezel et Santa, 1963)**

<b>Règne</b>	<b>Plantes</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Lamiales (labiales)
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Officinalis</i>

#### II.1.3 Habitat

Originnaire des régions méditerranéennes, le *Rosmarin* pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps.

Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (Heinrich *et al.* 2006).

#### **II.1.4 Utilisation**

Le romarin est souvent cultivé pour son HE, dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique.

Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol (Heinrich *et al.* 2006).

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles comme un des ingrédients en produits de beauté savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (Arnold *et al.* 1997). L'HE du *Romarin* est utilisé comme un agent antibactérien, antifongique (Wollinger *et al.* 2016).

#### **II.1.5 Ecologie**

*Le romarin* est retrouvé à l'état sauvage. Il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen (Emberger, 1960). En Algérie nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles...et les zones cultivées à l'entrée, Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante.

#### **II.1.6 Composition biochimique d'HE de *Romarin***

l'HE du *romarin* (1 à 2 % dans la plante) contient : de l' $\alpha$  pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%) , du champhre (1 à 35%) , de l'eucalyptol ( 1 à 35%) , du bornéol (4 à 19%) , de l'acétate de bornyle ( jusqu'à 10%), et du camphène ( Bellakhdar, 1997) et de la résine ( Beloued, 1998), 1,8-Cineole (31.50%),  $\alpha$ -pinene (18.33%), camphor (9.72%),  $\alpha$  - Terpineol (9.42%) et Borneol (5.05%) (Ksouri *et al.* 2017).

#### **II.1.7 Propriétés pharmacologiques et thérapeutiques du romarin**

Cette plante est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés :

- Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (Lemonica *et al.* 1996).
- Anti bactériennes, antimutagéniques, anti oxydantes (Ibenez *et al.* 2000).
- Anti-inflammatoires, anti métastasiques (Cheung *et al.* 2007).
- Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (Singletary *et al.* 1991). et la prolifération des tumeurs cutanées (Huang *et al.* 1994).

D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse (Offond *et al.*1995). *Carnosol* du romarin possède une activité antivirale.

Contre le virus du SIDA (HIV) (Aruoma *et al.*1995) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV (Paris *et al.* 1993).

## **II.2 *Thymus capitatus* L.**

L'origine du nom sujette à diverses interprétations : Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parfumé", et à partir du mot grec "thumus" qui signifie "courage".

Le thym appartient à la famille des *Labiacées*, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde (Ebrahimi *et al.* 2008). En Algérie, il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citant ainsi quelques espèces connues en Algérie, *T.vulgaris*, *T.serpyllum*, *T.algeriensis*, *T.hirtus*, *T.fontanésii* (Quezel et Santa, 1963).

### **II.2.1 Description et classification systématique de *Thymus capitatus* L.**

C'est un arbrisseau nain à odeur fortement aromatique de 20-50cm de haut, à rameaux dressés à érigés, ligneux, clairs, jeunes blanc feutré, souvent seules les touffes des aisselles feuillues.

Feuilles des longues pousses caduques si sécheresse, sessiles, presque triangulaires, linéaires, pointues, 6-12 cm de long, 1-1,8 mm de large, bord  $\pm$  plat,  $\pm$  nu, ciliées à la base, les 2 faces vert-gris ponctués de glandes. Pseudo verticilles en inflorescences denses, Calice 1 mm de long, lèvre supérieure à 3 dents, plus courte qu'inférieure à 2 dents, toutes les dents ciliées, Tube calice, au contraire de toutes les autres espèces de *Thymus*. À 20-22 nervures, aplaties au dos. Corolle rose-pourpre, jusqu'à 1 cm de long, bilabée. Lèvre supérieures à 2 fentes, 4 étamines (Bayer, 2005).

Le tableau 02 représente la position systématique de *T capitatus* L.

**Tableau 02 : Position taxonomique de *T. capitatus* L. (Quezel et Santa 1963)**

<b>Taxonomie</b>	<b>Description</b>
<b>Règne</b>	Plante
<b>Embranchement</b>	Angéosperme
<b>Sous embranchement</b>	Eudicots
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsita
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales (Labiales)</i>
<b>Familles</b>	<i>Lamiaceae (Labiacées)</i>
<b>Genres</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce</b>	<i>capitatus</i>

### II.2.2 HEs de *T. capitatus* L.

*T. capitatus* est une plante qui se caractérise par sa teneur importante en H.E (=1%), la composition chimique de cette H.E a montré que le carvacrol était caractérisé comme la substance active principale avec un pourcentage majoritaire qui dépasse les 55% en Algérie (Ouchikhi ,2009), mais ce composé est aussi présent à une teneur plus faible en Maroc (<20%) (Amarti ,2008).

### II.2.3 Activités biologiques de *T. capitatus* L.

Les HEs de *thymus* sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires (Papageorgio, 1980). Les huiles essentielles de plusieurs espèces de thym ont déjà prouvé leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydant (Benjilali, 1987 ; Pellecuer ,1980).

### II.2.4 Usages traditionnelles

*T. capitatus* est très utilisé en médecine traditionnelle sous plusieurs formes : les feuilles sont utilisées en infusion contre la toux, en décoction pour guérir les maux de tête, hypertension et gastrites, en usage externe comme cicatrisants et antiseptiques (Guy Gilly, 2012).



# ***Chapitre III***

***Généralités sur *Aspergillus niger****

### III. Généralités sur *Aspergillus niger*

#### III.1 Définition

*Aspergillus niger* est un champignon filamenteux haploïde qui est utilisé pour la gestion des déchets et des biotransformations en plus de ses utilisations industrielles, telles que la production d'acide citrique et d'enzymes extracellulaires.

On le trouve le plus souvent dans la végétation, le sol ou les plantes en décomposition, mais on ne peut le considérer comme particulièrement dangereux par rapport à *Aspergillus fumigatus*, l'agent pathogène le plus répandu dans l'air. *Aspergillus niger*, la moisissure la plus abondante trouvée dans l'environnement, a également été la source de plusieurs composés bioactifs et d'enzymes industrielles (Schuster *et al.* 2002).

#### III.2 Position systématique d'*Aspergillus niger*

Dans le tableau 3 représente la position systématique de cette espèce de moisissures.

**Tableau 03 : La position systématique d'*Aspergillus niger* (Alexopoulos, 1979)**

<b>Règne</b>	<b>Mycètes (Fungi)</b>
<b>Embranchement</b>	<i>Amastigomycota</i>
<b>Sous-Embranchement</b>	<i>Deutéromycotina</i>
<b>Classe</b>	<i>Deutéromycètes</i>
<b>Ordre</b>	<i>Oniliales (hyphales)</i>
<b>Famille</b>	<i>Moniliacées</i>
<b>Genre</b>	<i>Aspergillus</i>
<b>Espèce</b>	<i>niger</i>

#### III.3 Écologie

De nombreux *Aspergillus noirs* ont été isolés du monde entier. *Aspergillus niger* est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition.

*Aspergillus niger* est capable de croître dans la plage température large de 6–47 ° C avec une température relativement élevée avec un optimum de 35 à 37 ° C. La limite d'activité

de l'eau pour la croissance est 0,88 (aw) qui est relativement élevée comparativement aux autres espèces *d'Aspergillus*.

*Aspergillus niger* peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4–9,8. Ces capacités et l'abondante production de conidies, qui sont distribués par l'intermédiaire de l'air, garantissent l'occurrence omniprésente de l'espèce, avec une fréquence plus élevée aux lieux chauds et humides (Rippel-Baldes ,1955).

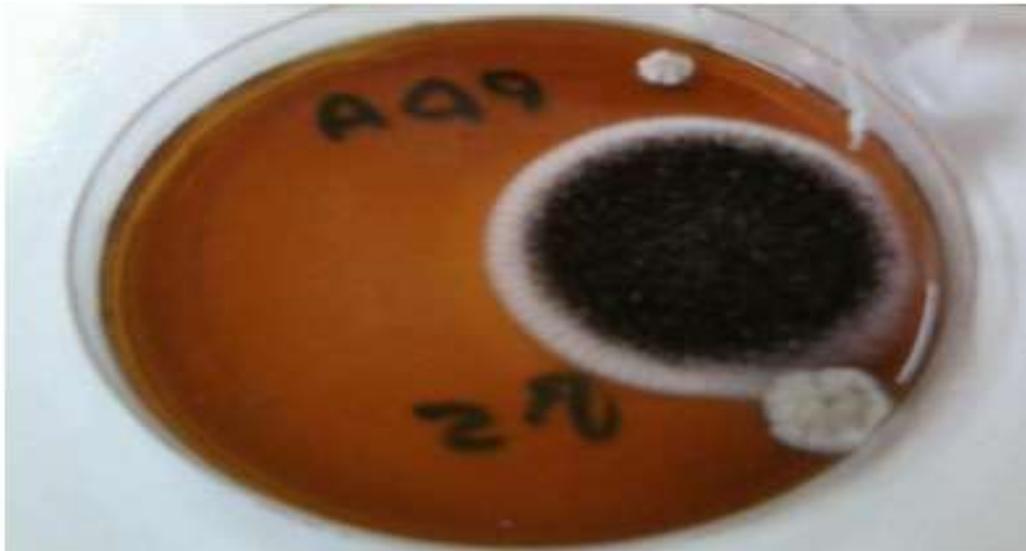
### **III.4 Morphologie**

#### **III.4.1 Caractères cultureux et Aspects macroscopiques**

Ce champignon croît facilement sur milieu de Czapek (Quatresous, 2011), PDA, milieu gélosé (Gacem, 2011), une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires.

En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui est généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune. Un exsudat jaune pâle peut être produit en toutes petites gouttelettes.

Cette espèce a une croissance rapide, avec un optimum thermique compris entre 25 et 30°C, mais il peut pousser jusqu'à 42°C. Son développement est aussi inhibé par l'actidione (Quatresous, 2011).



**Figure 01: Aspects macroscopiques d'*Aspergillus niger*** (Briki et al. 2013)

#### III.4.2 Morphologie microscopique

La multiplication de cette espèce est végétative. Il n'y a pas de reproduction sexuée connue, ni présence de « Hülle cells ». On observe alors des têtes conidiennes larges, brun-rouge très sombre à noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70  $\mu\text{m}$  de diamètre).

Les phialides, très serrées, sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule. Métules et phialides sont légèrement teintées de brun. Les conidies sont produites en très longues chaînes qui, au fil du temps, ont tendance à se regrouper en plusieurs colonnes compactes. Elles sont typiquement globuleuses, brunes, échinulées à très verruqueuses, et mesurent 3,5 à 5  $\mu\text{m}$  de diamètre.

La pigmentation n'est pas répartie de façon uniforme sur toute la surface de la conidie, mais correspond à des granulations ornementales regroupées en crêtes irrégulièrement distribuées. La tête aspergillaire est donc bisériée radiée, et noire à maturité (Quatresous, 2011).



**Figure 02 : Aspects microscopiques d'*Aspergillus niger*** (Briki et al. 2013)

### **III.5 Pathogénicité d'*Aspergillus***

Au niveau de l'industrie, les espèces d'*Aspergillus* sont d'une grande importance en raison de leur large production d'enzymes, principalement dans le domaine de l'alimentation, associée à la production de protéines hétérologues (Vries et Visser, 2001). Comme certaines espèces de levures pathogènes, de champignons filamenteux dans certaines circonstances, ils ont la capacité d'être pathogènes chez l'homme, étant l'une des formes opportunistes les plus importantes. Environ 20 espèces d'*Aspergillus* sont associées à des infections humaines principalement caractérisées par des maladies pulmonaires (Ziani et al. 2009).

Cependant, la grande majorité des cas d'aspergillose ne sont causés que par un petit nombre d'espèces, en particulier *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus* et *A. flavus*, qui ont la capacité de s'adapter à la croissance in vivo lorsque la réponse immunitaire est compromise. En outre, ils peuvent provoquer d'autres maladies, souvent chez des individus immunodéprimés (Sullivan et al. 2011). *Aspergillus fumigatus* est responsable de près de 90% des infections chez l'homme (Wang et al. 2009).

### **III.5.1 La Pathogénicité d'*Aspergillus niger***

*A. niger* est généralement considéré comme un champignon non pathogène largement distribué dans la nature. Les humains sont exposés à ses spores tous les jours sans que la maladie ne devienne apparente.

Dans de rares cas, *A. niger* a pu coloniser le corps humain comme un envahisseur opportuniste et dans presque tous ces cas, les patients ont des antécédents de maladie grave ou de traitement immunosuppresseur (Schuster *et al.* 2002).



Deuxième partie :  
Etude pratique

## **I. Matériel et Méthodes :**

### **I.1. Matériel :**

#### **I.1.1. Matériel végétal :**

Dans notre étude, le matériel végétal est constitué de deux plantes aromatiques spontanées dans l'est algérien, *Rosmarinus officinalis* L. qui a été collecté le mois d'avril 2015 dans leur habitat naturel de la région chaîne de Gora (latitude : 35.9162, longitude : 8.1276) de la commune d'Ouenza, wilaya de Tbesa. Les feuilles et les sommités fleurées de la deuxième plante aromatique, *Thymus Capitatus* L., a été récoltée dans le mois de juillet 2015 de la région Ouled Chiha de la commune Hammam Ouled Ali (latitude : 36.5855, longitude : 7.3556) de la wilaya de Guelma.

Le séchage des feuilles et des sommités fleurées des deux plantes est réalisé à une température ambiante et à l'abri de la lumière afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules, le matériel végétal de romarin et de thym est conservé dans des sacs en papier à l'abri de la lumière et de l'humidité.

#### **I.1.2. Matériel fongique**

L'activité antifongique des deux HEs est évaluée sur trois isolats cliniques d'*Aspergillus niger responsable* d'otomycose des humains, détectés dans la région de Guelma. Nous avons testés également la souche de référence de cette même espèce CTM 10099 (origine : Centre de Biotechnologie de Sfax).

## **I.2. Méthodes**

### **I.2.1. Extraction d'huile essentielle**

L'extraction des HEs des plantes a été effectuée par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger. 200g de la plante sèche a été introduite dans un ballon de deux litres, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures à partir du début d'ébullition. Les vapeurs chargées d'HE passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'HE et l'eau se séparent par différence de densité, surnage à la surface de cette dernière. Les HEs récupérées dans de petits flacons opaques et stockée à -18°C.



**Figure 03 : Extraction des HEs par hydrodistillateur de type Clevenger**

### **I.2.2. Détermination du rendement d'extraction**

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après l'extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M$ ). Le rendement est exprimé en pourcentage ( $R_{HE}$ ), il est exprimé par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = M'/M \times 100$$

### **I.2.3. Évaluations de l'activité antifongique**

Trois techniques ont été adoptées pour l'évaluation de l'activité antifongique des HEs étudiées à l'égard des souches fongiques qui ont été servis à cette étude.

#### **a. Diffusion sur gélose Mueller Hinton (Méthode des disques)**

C'est une méthode très utilisée afin d'évaluer la sensibilité des champignons filamenteux vis-à-vis des substances antifongiques. C'est la technique M51-A adaptée et standardisée en 2010 par Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Le milieu de culture recommandé est le Mueller Hinton.

L'inoculum est ajusté par numération des spores fongiques sur cellule de Malassez pour avoir une concentration cellulaire de  $0.4$  à  $5 \times 10^6$  CFU/ml. Après ensemencement des boîtes de pétri contenant de la gélose Mueller Hinton par écouvillonnage, les boîtes sont ensuite séchées à proximité du bec bunsen. Des puits de 6 mm de diamètre sont créés à l'aide d'une

pipette pasteur sur la gélose préalablement ensemencée avec le champignon à tester. Ces derniers, sont ensuite remplis de différentes doses d'HE à tester (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 $\mu$ l). Ensuite, les boîtes sont laissées pendant 15 à 20 minutes sous la haute à la température ambiante avant d'être mises à incuber dans une étuve à 27°C pendant sept jours.

La lecture des résultats est assurée par la mesure de la zone d'inhibition (halo clair) au tour des puits de différentes doses (Hayes et Ward, 1986). Un control négatif a été lancé en parallèle à l'eau distillée. Dans la présente étude, tous les biotestes ont été répétés trois fois.

#### **b. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicide (CMF) sur microplaque (méthode de micro dilution) :**

La méthode M38-A qui a été décrite par CLSI en 2008. Cette méthode de référence permettant la détermination des valeurs de CMI et CMF d'une substance antifongique testée. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne qui inhibe la croissance des microorganismes. La concentration minimale fongicide (CMF) est définie comme étant la concentration la plus faible de la substance antimicrobienne létale pour les microorganismes. A partir d'une culture jeune d'*Aspergillus niger* en boîte sur milieu sabouraud, nous avons préparés dans le milieu sabouraud liquide gentamycine 0.1 g/L, un inoculum de  $0.4-5 \times 10^4$  CFU/ml ou MCI (Milieu de culture inoculé). Dans chaque ligne de la microplaque, nous avons déposé 150  $\mu$ l de milieu sabouraud liquide gentamycine uniquement dans le puit N°1 puis 100  $\mu$ l de ce même milieu de culture est déposé dans les 11 puits restants. Dans le puits N°1 nous avons rajouté 50  $\mu$ l d'HE à tester. Ensuite, après un mélange de contenu du puit N°1, nous avons prélevé 100  $\mu$ l du premier puits et les transférer au puit N°2 puis N°3 et N°4 ainsi de suite jusqu'au puits N°10 afin d'obtenir des dilutions demi successives de 250 à 0.49  $\mu$ l. Les deux derniers puits (N°11 et N°12) ont été utilisés comme contrôle de la croissance et de la stérilité du milieu. Enfin, 100  $\mu$ l de MCI est déposé dans chaque puits à l'exception du puits N°12. La microplaque est scellée ensuite avec son couvercle et incubé à la température de 35°C pendant 5 jours. Un témoin positif (la fluconazole) a été lancé en parallèle avec cette même méthode, dont les dix doses utilisées pour cet antifongique ont été obtenues par dilution demi de 100 à 0.195  $\mu$ g/ml. La lecture des résultats est assurée par l'observation directe des puits à l'aide d'une source lumineuse afin de bien visualiser s'il y a un enchevêtrement filamenteux. La CMI a été définie comme la plus faible concentration d'HE qui inhibe complètement la croissance

fongique visible dans les puits après 5 jours d'incubation. Donc la CMF était la première dilution sans croissance après repiquage sur gélose de milieu Sabouraud. Dans ce travail, tous les biotestes ont été répétés trois fois.

### c. Méthode de micro-atmosphère (Amvam *et al.* 1998)

Nous avons optés cette technique afin d'évaluer l'activité inhibitrice de la croissance fongique de la fraction volatile des HEs testés. Nous avons déposés aseptiquement 20 ml de milieu sabouraud dans des boîtes de 9cm (les 20ml déposés dans chaque boîte, offre 80 ml d'air). En surface de milieu, des disques mycéliens de 6 mm d'une culture jeune ont été placés au centre. En parallèle, des disques de 6 mm de papiers filtre (watmann n° 5) sont placés au fond du couvercle de chaque boîte de pétri puis imprégnés avec différentes concentrations de l'HE à tester : 0 (témoin), 5, 10, 20, 40, 80 et 160 µl/disque soit équivalent respectivement de : 0, 0.062, 0,125, 0,25, 0,5, 1 et 2 µl/ml d'air. Les boîtes ont été ensuite scellées rapidement à l'aide de parafilm afin éviter l'évaporation de l'HE. Ces boîtes sont incubées à la température 27 °C pendant 7 jours. Pour chaque bio essai, trois répétitions ont été effectuées pour chaque souche d'*Aspergillus niger*. La lecture des résultats est assurée par mesure de la moyenne de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre de chaque boîte. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (I%) est calculé selon la formule de Pandey *et al.* (1982).

$$I (\%) = \frac{D_t - D_i}{D_t} \times 100$$

$D_t$  : est le diamètre en mm de la boîte témoin (sans traitement par les HEs) d'une culture de la souche fongique testée.

$D_i$  : est le diamètre en mm d'une culture de la même souche fongique testée avec les HEs.

Les valeurs de CMF sont déterminées par le transfert des disques mycéliens à partir des boîtes de pétri, où l'inhibition par l'HE à tester est complète (100%), dans un nouveau milieu de gélose de sabouraud dépourvu d'HE. La valeur de CMI est fongistatique si la croissance du champignon reprend à nouveau. Si le contraire, c'est-à-dire s'il n'y a pas de croissance, l'HE est fongicide ou létale et on arrive à déterminer la valeur de CMF (Concentration Minimale Fongicide).

#### I.2.4. Analyse de la composition chimique des HEs par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) :

L'analyse des HEs a été effectuée par GC-MS HP modèle 6980 MSD inerte (Agilent Technologies, USA), équipées de colonne HP-105 5MS (30 mx 0,25 mm de diamètre et 0,25 m d'épaisseur de film). La température de l'injecteur a été maintenue à 280 ° C. La température du four a été réglée à 60 ° C pendant 1 minute, augmentée à 280 ° C à 5 ° C / min et ensuite maintenue constante à cette température pendant 8 minutes. Le débit du gaz porteur d'hélium était de 1 ml / min et un mode divisé 1/100 était utilisé. L'identification des différents composants dans les HEs a été faite par comparaison de leur indice Kovats et de la fragmentation de la masse GC avec ceux des données Wiley Mass Spectral (Agilent Technologies 7ème édition, Inc.) et des données de la bibliothèque NIST 05 MS. Chaque analyse a été exécutée doublement.

## II. Résultats et Discussion

### II.1. Paramètres organoleptique et rendement des HEs des deux plantes aromatiques

Les paramètres organoleptiques de nos HEs obtenues par l'hydro distillation de deux plantes aromatique sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 04 : Caractéristiques organoleptiques des HEs testées**

HEs	Couleur	Odeur	Aspect	Rendement
<i>Thymus capitatus</i> L.	Jeune foncée	Forte odeur	Liquide limpide	Elevé
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Jeune claire	Faible odeur	Liquide limpide	Faible

Nos résultats du rendement des HEs des deux plantes, a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Le tableau 5 représente les résultats de rendement moyen des HEs extraites à partir de 100g de chaque plante aromatique.

**Tableau 05 : Valeurs du rendement moyen des HEs des deux espèces végétales**

Espèce	Quantité d'HE en gramme pour 100 g de matière végétale séché	Pourcentage de rendement %
<i>Rosmarinus officinallis</i> L.	7.7g	1.2%
<i>Thymus capitatus</i> L.	19.5g	3.25%

Nos échantillons de *Rosmarinus officinalis* L. qui ont été récoltés en avril 2015 de la Chaîne de Gora de la région d'Ouenza (wilaya de Tébessa), ont fourni à l'extraction par l'appareil de Clevenger, un taux de rendement moyen pour 100g de matière végétale sèche, de

1,2%. Cette valeur est un peu faible par rapport à celui obtenu par Boutabia et *al.* (2016), à partir de cette même plante prélevée de la région d'Hammamet de la même wilaya (Tébessa), avec une valeur de rendement moyen de 1.85%. De plus, une autre valeur de rendement moyen d'HE de cette plante collecté de cette même région par Bouacha et *al.* (2017) qui apparaît supérieure de la nôtre (1.82%). Par ailleurs, sur des échantillons provenant d'Ouargla réalisé par Benikhlef en 2014, il a relevé un rendement moyen très faible par rapport de ce qui a été enregistré dans la présente étude avec un taux de 0.76%.

Concernant le rendement moyen d'HE des prélèvements de *Thymus capitatus* L. qui ont été récoltée au niveau de la région Ouled Chiha de la commune Hammam Ouled Ali (Wilaya de Guelma) est de 3.25%. Cette valeur est très importante de ce qui a été enregistré par El ajjouri (2013) sur ses échantillons de la même plante qui ont été effectués au Maroc (2.05%). Tandis que, un rendement très faible a été obtenu par Bereksi en 2016 à partir de cette même plante collecté de la région de Tlemcen avec une valeur de rendement moyen de 0.21%.

## II.2. Résultats de l'analyse par GC-SM des HEs

Sur la base des résultats d'analyse chromatographique par GC-MS (tableau 6), l'HE de romarin a présenté en plus de contenu importants en 1,8-cineole et l-camphor, d'autres composés ont été enregistrés comme celles de  $\alpha$ -pinene, borneol L, camphene,  $\alpha$ -terpineol, 2- $\beta$ -pinene, l-bornyl acetate, trans-caryophyllene et  $\beta$ -myrcene. De même, l'HE de thym a présenté un profil chimique dominé surtout de carvacrol, p-cymene et  $\gamma$ -terpinene, d'autres composés ont été enregistrés comme celles de trans-caryophyllene, m-thymol,  $\beta$ -myrcene et  $\alpha$ -terpinene. Donc il paraît à partir de ces résultats que le romarin est de chémotype 1,8-cineole (26.90%), cette observation a été notée également par Boutabia et *al.* (2016) sur ces analyses par GC/MS des HEs de cette même plante. Celle de thym est de chémotype carvacrol (78.78%). El ajjrouti et *al.* (2008) ont trouvés également le carvacrol comme le composant majeur pour l'HE de cette plante avec 70.92%. De même, en Grèce, L'HE de *Thymus capitatus* L. est apparaît plus riche en carvacrol avec un taux supérieur à 80 % (Karpouhtsis et *al.* 1998). En revanche, l'essence de cette plante de la Turquie est dominée par le carvacrol mais avec seulement 35,6 % suivi du thymol (18,6 %), du p-cymène (21 %) et du  $\gamma$ -terpinène (12,3 %) (Gorenet al. 2003).

**Tableau 06 : Composition chimique des HEs de romarin et de thym. (Ksouri, 2014)**

	Composants	IK	TC	RO
1	Tricyclene	921	/	0,15
2	$\alpha$ -thujene	928	0,33	/
3	$\alpha$ -pinene	941	0,71	12,06
4	Camphene	953	/	6,39
5	$\beta$ -pinene	978	/	3,61
6	$\beta$ -myrcene	992	1,24	2,23
7	l-phellandrene	998	0,22	/
8	$\Delta$ , 3-carene	1004	1,01	/
9	$\alpha$ -terpinene	1015	1,15	/
10	p-cymene	1018	6,62	/
11	1,8-cineole	1046	/	26,9
12	$\alpha$ -terpinolene	1063	/	0,57
13	$\gamma$ -terpinene	1065	3,96	1,37
14	trans-sabinene hydrate	1070	/	0,03
15	linalool L	1102	/	0,41
16	l-camphor	1152	/	19
17	borneol L	1168	/	11,76
18	p-cymene-8-ol	1182	0,54	/
19	$\alpha$ -terpineol	1190	/	5,77
20	trans-(+)-carveol	1212	0,54	/
21	$\beta$ -citronel	1217	/	0,09
22	pulegone	1237	/	0,26
23	Carvone	1244	/	0,09
24	l-bornyl acetate	1285	/	3
25	Thymol	1286	2,14	0,1
26	carvacrol	1299	78,78	0,36
27	piperitenone	1339	/	0,16
28	eugenol	1359	/	0,05
29	copaene	1375	/	0,14
30	methyl eugenol	1398	/	0,14
31	$\alpha$ -humulene	1413	/	0,41
32	trans-caryophyllene	1418	0,8	2,3
33	(+)-aromadendrene	1440	/	0,02
34	$\beta$ -patchoulene	1441	/	0,04
35	caryophyllene	1454	2,27	/
36	germacrene-D	1485	0,09	/
37	$\beta$ -selinene	1493	/	0,02
38	$\alpha$ -muurolene	1504	/	0,03
39	$\beta$ -bisabolene	1506	/	0,03
40	$\alpha$ -amorphene	1511	/	0,19

41	$\Delta$ -cadinene	1524	/	0,16
42	caryophyllene oxide	1582	/	0,49
43	caryophyllenol-I	1641	/	0,36

### II.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des HEs des deux plantes aromatiques :

#### II.3.1. Evaluation de l'activité antifongique des deux HEs par la méthode de diffusion sur gélose :

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique de la souche 1, 2, 3 d'*Aspergillus niger* et la souche de référence qui ont été testées par différentes doses d'HEs de *Rosmarinus officinallis* L. et *Thymus capitatus* L. sont résumés dans le tableau 7, 8, 9 et 10 respectivement.

**Tableau 07 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 1 d'*Aspergillus niger***

HEs	Dose ( $\mu$ l/puit)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
RO	0 $\pm$ 00	0 $\pm$ 00	0 $\pm$ 00	11.5 $\pm$ 0.71	11.5 $\pm$ 00	20 $\pm$ 00	23 $\pm$ 00	PC	PC	PC	PC
TC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC

PC : pas de croissance.

RO : *Rosmarinus officinallis* L.

TC : *Thymus capitatus* L.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons extraire plusieurs points :

- aucune croissance fongique n'a été observée pour les différentes doses d'HE de *Thymus capitatus* L.
- apparition des zones d'inhibition à partir de la dose 30  $\mu$ l/puit pour l'HE de *Rosmarinus officinallis* L. jusqu'à la dose 60  $\mu$ l/puit puis une inhibition de la croissance fongique complète dès la dose 70  $\mu$ l/puit.

**Tableau 08 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 2 d'*Aspergillus niger***

HEs	Dose ( $\mu$ l/puit)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
RO	0 $\pm$ 00	0.5 $\pm$ 0.71	0 $\pm$ 00	1.5 $\pm$ 2.12	19 $\pm$ 00	20 $\pm$ 00	30 $\pm$ 00	33 $\pm$ 00	PC	PC	PC
TC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC

Nous notons à travers ces résultats :

- l'absence complète de la croissance fongique avec toutes les doses de l'HE de *Thymus capitatus* L. et celle pour l'HE de romarin, absence de croissance qu'avec les doses de plus de 80 µl/puit.
- L'HE de *Rosmarinus officinalis* L. a présenté des zones d'inhibition à partir de la dose 30 µl/puit.

**Tableau 09 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche 3 d'*Aspergillus niger***

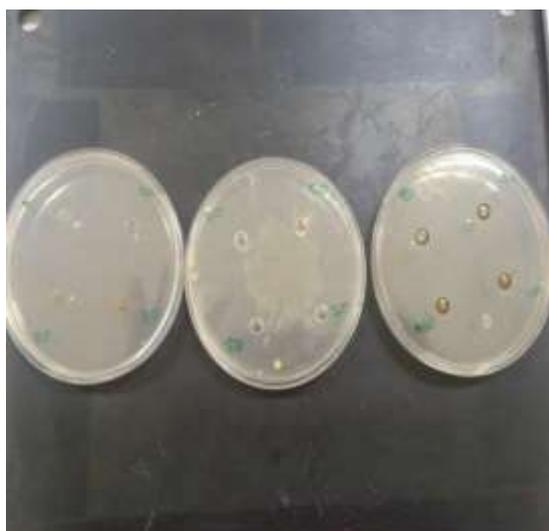
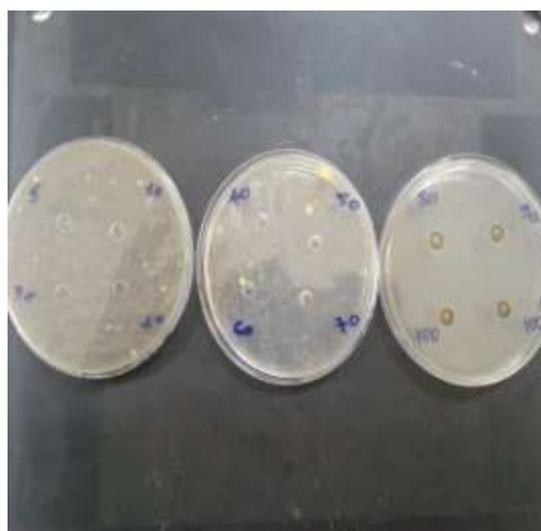
HEs	Dose (µl/puit)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
<b>RO</b>	13±1.41	19±1.41	22.5±2.12	16.5±2.12	20±00	25.5±0.71	30±0	PC	PC	PC	PC
<b>TC</b>	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC

Presque les mêmes remarques qui ont été déjà enregistrés pour les souches précédentes, excepté les zones d'inhibitions sont remarquées avec la dose la plus faible d'HE de *Rosmarinus officinallis* L. (5 µl/puit).

**Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des HEs testées de la souche de référence d'*Aspergillus niger***

HEs	Dose (µl/puit)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
<b>RO</b>	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC
<b>TC</b>	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC	PC

La souche de référence d'*Aspergillus niger* qui a été testée dans la présente étude, a présenté une sensibilité exagérée vis-à-vis les HEs testées avec une absence de croissances fongiques avec toutes les doses (de 5 à 100 µl/puit).

**Huile du TC****Huile du RO****Figure 04 : résultats des deux HEs par la méthode de diffusion sur gélose**

### II.3.2. Détermination des valeurs de CMI et CMF des HEs par la technique de micro dilution :

Le tableau ci-après, récapitule tous les résultats des valeurs de la concentration minimale inhibitrice et des valeurs de la concentration minimale fongicide qui ont été enregistrées au cours des biotestes sur la souche de référence et sur les isolats cliniques d'*Aspergillus niger* responsable d'otomycose testées par l'HE de deux plantes de la famille de *Lamiaceae* (romarin et thym).

**Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (létales) (CMF) des HEs de romarin et de thym vis-à-vis *Aspergillus niger***

Souche	CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )			CMF ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	HE de RO	HE de TC	Fluconazole	HE de RO	HE de TC	Fluconazole
N°1	2,90	0,11	1,75	7,74	0,36	1,75
N°2	0,30	0,30	0,78	0,30	0,30	0,78
N°3	0,97	0,36	1,95	2,90	0,36	25
CTM 10099	4,96	1,02	0,78	4,96	3,39	0,78

Ces résultats nous ont permis de montrer les valeurs de CMI et de CMF qui sont très faible pour les HEs des deux plantes aromatiques ainsi pour le témoin positif (fluconazole).

Les valeurs de CMI de romarin qui ont été enregistrées pour la souche de référence et les isolats cliniques d'*Aspergillus niger* sont de l'ordre de **0.30 et 4.96  $\mu\text{g/ml}$** . Ainsi les valeurs de CMI de l'HE de la deuxième plante (thym) sont très inférieures de l'HE précédente avec des valeurs de **0.11 à 1.02  $\mu\text{g/ml}$** . Par ailleurs, l'antifongique qui a été testé au cours de cette étude,

a présenté des valeurs de CMI entre **0.78 et 1.95 µg/ml**. Nous notons à travers ces données que les HES de thym et de romarin sont des substances antifongiques puissantes comparables (romarin) voire supérieures (thym) que celle de l'antifongique qui a été utilisé comme témoin positif.

A propos des concentrations minimales fongicides, ils paraient que les valeurs de CMF sont supérieures de ceux des CMI à l'exception de la souche N°2 où les valeurs de CMI sont égales aux valeurs de CMF, donc l'activité antifongique létale est assurée avec des concentrations supérieures ou égales à la concentration qui inhibe uniquement la croissance fongique (propriété fongistatique).

En générale, les valeurs de CMF qui ont été enregistrées pour l'HE de romarin est de **0.30 à 7.74 µg/ml** et de **0.30 à 3.39 µg/ml** pour l'HE de thym. Celle des valeurs de CMF qui ont été enregistrées avec la fluconazole sont de l'ordre de 0.78 et 25 µg/ml.

L'étude comparative des valeurs de CMF qui ont été trouvées pour les HES étudiées et celle de la fluconazole, nous amène aux mêmes conclusions qui ont été déjà relevées pour les valeurs de CMI des trois substances testées au cours de cette étude (les HES et la fluconazole).

En comparaison avec les valeurs de CMI qui ont été enregistrées à travers le monde dans différentes investigations, nous avons trouvés dans la littérature, l'étude de Bouacha et al. (2017) qui a été menée sur la plante *Rosmarinus officinalis* L.. Ces auteurs ont montrés que l'HE de cette plante, a présenté des valeurs de CMI allant de 5.79 à 21.87 µl/ml soit 5.38 à 20.34 µg/ml qui sont des valeurs relativement supérieures de ce qui a été enregistré dans la présente étude. Par ailleurs, nos valeurs de CMI trouvés sur toutes les souches d'*Aspergillus niger* sont proches lorsque en les comparants avec des valeurs de CMI de cette même plante collecté de la région d'Annaba testées sur des souches des *Candida albicans*, par Giordani et al. (2008) avec des valeurs de CMI de 2.208 µg/ml, mais dans l'étude de Ksouri et al. (2017) portée sur l'HE de cette même plante, collecté de la même région et testé sur des isolats cliniques de *Candida albicans*, ces auteurs ont enregistrés des valeurs de CMI supérieures de ce qu'on a trouvé (23.99 à 31.08 µg/ml).

Les valeurs de CMI qui ont été enregistrées sur tous les isolats cliniques d'*Aspergillus niger* d'HE de *Thymus capitatus* L. sont proches de ce qui a été relevé avec cette même plante collecté par Amarti et al. (2008) du Maroc. Ces auteurs ont trouvés que la concentration 1/2000 soit 0.46 µg/ml est suffisante pour arrêter la croissance d'*Aspergillus niger*. De plus, El ajjour

et *al.* (2008) ont trouvés que l'HE de cette plante, a une activité inhibitrice importante vis-à-vis des champignons de pourriture du bois d'œuvre.

En général, selon les valeurs de CMI obtenues avec la méthode de micro dilution, on peut évaluer le pouvoir antifongique des deux HEs étudiées, d'après Aligiannis et *al.* (2001), une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI a été proposée comme suit :

- forte inhibition : **CMI inférieure à 500 µg/ml ;**
- inhibition modérée : **CMI varie de 600 à 1 500 µg/ml ;**
- faible inhibition : **CMI supérieure à 1 600 µg/ml.**

Ainsi, selon ce barème, on remarque une très forte inhibition de la croissance fongique des isolats cliniques d'*Aspergillus niger* et la souche de référence par les HE testées au cours ce travail. Les essences de *Rosmarinus officinalis* L. et celui de *Thymus capitatus* L. ont enregistrées des valeurs de CMI très inférieur à 500 µg/ml (**de 0.11 à 4.96 µg/ml**).

Étant donné que l'HE d'une plante aromatique est un mélange complexe de plusieurs composés, l'attribution d'une propriété biologique à l'un de ses composants reste difficile. Les composés majeurs sont généralement les garants des effets biologiques. En effet, les analyses chromatographiques ont montrés que le romarin a un profil chimique dominé surtout par 1,8-cinéole et bornéol. En général, dans des études réalisés à travers le monde, où ils ont démontrés que ces terpènes agissent sur l'intégrité cellulaire, l'inhibition des processus de respiration et de transport d'ions et augmentent la perméabilité des membranes cellules fongiques (Cox et *al.* 2000 ; Lima et *al.* 2005 ; Tangarife-Castaño et *al.* 2011). Parallèlement, dans cette espèce de romarin, le groupe de terpènes isolé par plusieurs auteurs comme le bornéol, le camphre, la camphène et le bornyle acétate, ont été signalés à être responsable de l'activité antimicrobienne par Davidson et Naidu (2000) et Rasooli et *al.* (2008). Effectivement, Ouraïni et *al.* (2007) décrivent le bornéol étant molécules antifongiques puissantes, en liant l'efficacité fongitoxique de l'HE de *Thymus satureioides* à son principe actif, soit le bornéol.

À propos de l'HE de *Thymus capitatus* L., les analyses de la composition chimique ont révélées que le carvacrol et le p-cymene sont les principaux composants majeurs pour cette plante. Il est important donc de lier le pouvoir antifongique exceptionnelle de cette HE à ce genre de composés chimiques. En effet, Giordani et *al.* (2008) rapportent qu'il est évident de noter, l'existence d'une relation entre la forte activité antifongique des différentes HEs et les

hautes teneurs en phénols (thymol et carvacrol) / précurseurs (p-cymène et  $\gamma$ -terpinène). De plus, plusieurs auteurs comme Sivropoulou et al. (1996), Trombetta et al. (2002), Satrani et al. (2008) et Amarti et al. (2010) ont montrés que les HEs riches en dérivés phénoliques comme le thymol et carvacrol possèdent une forte activité antimicrobienne. Par ailleurs, les activités antimicrobiennes sont principalement attribuables à la présence de composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol, mais aussi, des hydrocarbures tels que le  $\gamma$ -terpinène, le p-cymène et le limonène étant déclarés actifs par Dorman et Deans (2000) et Vardar-Unlu et al. (2003). Le p-cymène est rapporté comme étant responsable d'une activité antimicrobienne importante de certaines HEs dont elles sont fortement riches (Rasooli et al. 2008).



**Figure 05 : Résultat du méthode du micro dilution**

### II.3.3. Evaluation de l'activité antifongique des HEs par la méthode de fumigation ou micro atmosphère

#### II.3.3.1. Evaluation de la fongitoxicité de la phase volatile de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. :

Le tableau représente les résultats d'activité antifongique da la phase volatile de différentes doses d'HE de *Rosmarinus officinalis* L. sur les différentes souches d'*Aspergillus niger* qui ont été testées dans cette étude.

**Tableau 12 : Pourcentage d'inhibition des différentes souches d'*Aspergillus niger* testées par fumigation d'HE de *Rosmarinus officinalis* L.**

Doses ( $\mu$ l/ml d'air)	Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique (%)			
	ATCC	N°1	N°2	N°3
0.062	36.11	0	58.33	11.11
0.125	51.66	67.22	44.44	23.88
0.25	52.22	73.88	72.22	38.88
0.50	73.88	76.11	58.88	41.66
1	85.55	83.33	71.11	62.66
2	88.88	85	74.44	88.33

Il est évident à partir de ces données de l'inhibition de la croissance fongique par la phase volatile d'HE de *Rosmarinus officinalis* L. que :

- avec toutes les doses d'HE de romarin, l'inhibition complète de la croissance fongique de toutes les souches d'*Aspergillus niger*, n'a pas été enregistrée même avec la dose maximale de ces biotestes.
- les résultats de l'inhibition de la croissance fongique des isolats cliniques sont comparables aux résultats de la souche de référence.

### II.3.3.2. Evaluation de la fongitoxicité de la phase volatile de l'HE de *Thymus capitatus* L. :

Les informations qui ont été tirées des biotestes de la phase volatile de l'HE de thym contre tous les isolats fongiques d'*Aspergillus niger* et la souche de référence sont collectées dans le tableau 13 ci-dessous.

**Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition des différentes souches d'*Aspergillus niger* testées par fumigation d'HE de *Thymus capitatus* L.**

Doses ( $\mu\text{l/ml}$ d'air)	Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique			
	ATCC	N°1	N°2	N°3
0.062	0%	50%	0%	0%
0.125	0%	0%	0%	0%
0.25	0%	0%	0%	0%
0.50	0%	0%	0%	0%
1	0%	0%	0%	0%
2	0%	0%	0%	0%

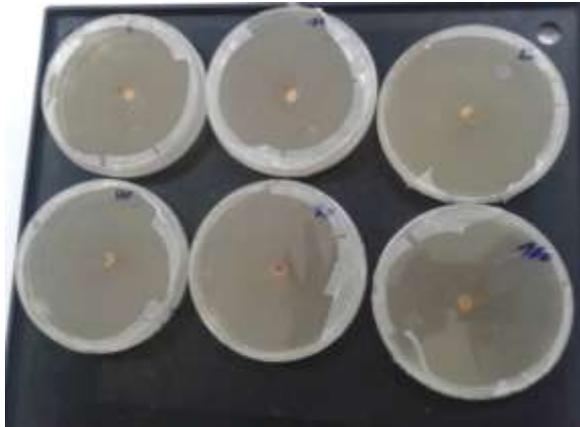
Une attirante information a été enregistrée à l'interprétation de ces données de la fongitoxicité de l'HE de thym, il paraît que cette HE est très fongitoxique, même avec des doses de l'ordre de  $0.062 \mu\text{l/ml}$  d'air, presque pour toutes les souches cliniques d'*Aspergillus niger* et la souche de référence.

### II.3.3.3. Détermination des valeurs de CMI et CMF de la phase volatile des HEs par la technique de micro atmosphère :

Les résultats de la propriété antifongique en CMI et CMF de la phase volatile de nos HEs des deux plantes aromatiques, le romarin et le thym ont été explorés dans cette étude. Pour l'HE du romarin, malheureusement, nous n'avons pas arrivés à déterminer la valeur de CMI et CMF de la phase volatile même avec la dose la plus grande car avec la dose  $2 \mu\text{l/ml}$  d'air on

obtient une inhibition de la croissance fongique de 44.44 à 88.88 % sur toutes les souches d'*Aspergillus niger* qui ont été testées. En revanche, même avec la dose la plus faible de la phase volatile de l'HE de thym, nous avons enregistré une inhibition complète (100%) de la croissance fongique de toutes les souches d'*Aspergillus niger* qui sont testées dans la présente partie.

Ces résultats montrent que la fraction volatile des HEs étudiées est douée d'une activité antifongique pour les différents isolats cliniques d'*Aspergillus niger* et même la souche de référence de cette espèce fongique pathogène et redoutable surtout en pathologie auriculaire chez l'être humain. En effet, la dose 0.062  $\mu\text{l/ml}$  d'air de l'HE de thym est inhibitrice de la croissance fongique même lors de repiquage de disque mycélien de toutes les souches sur une boîte de gélose de sabouraud sans HE, nous avons notés qu'il y a une absence de croissance mycélienne à partir des disques ensemencés. Il est évident à la lumière de ces observations, que la dose 0.062  $\mu\text{l/ml}$  d'air d'HE de thym est inhibitrice à 100% de la croissance et létale pour toutes les souches fongiques. Par contre, l'HE de romarin a présenté une fraction volatile inhibitrice de la croissance fongique mais n'atteigne pas une inhibition de 100 % avec la dose maximale qui a été choisi pour cette étude (2  $\mu\text{l/ml}$  d'air).



**Huile du TC**



**Huile du RO**

**Figure 06 : Résultat des HEs par la méthode de fumigation ou micro atmosphère**



Conclusion

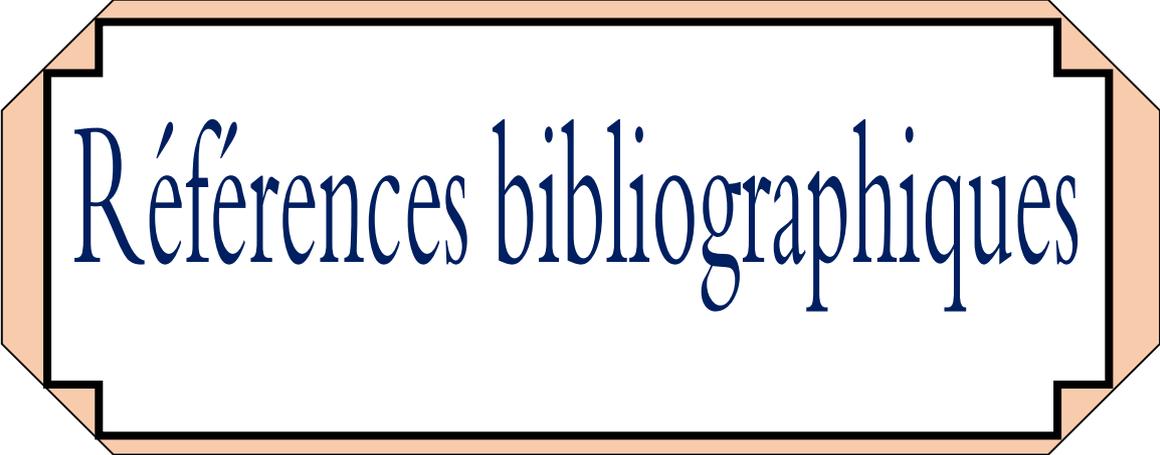
L'objectif de notre travail consiste à faire une évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Thymus capitatus* L. collectées à partir de différentes régions de l'est algérien. L'étude de l'activité fongitoxique de la fraction volatile de ces HEs a été choisie également comme objet dans le présent travail.

La valeur du rendement moyen en HE de la partie aérienne des plantes étudiées de la famille de *Lamiacée* était importante surtout pour *Thymus capitatus* L.

Les résultats obtenus par la technique de référence M38-A qui a été recommandé par le CLSI de l'évaluation de l'activité antifongique d'une substance antifongique, ont montrés que les HEs de *Thymus capitatus* L. à chémotype carvacrol, ont exercées une importante activité inhibitrice vis-à-vis des isolats cliniques d'une moisissure pathogène responsable d'otite clinique chez l'homme. De même que l'activité antifongique de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. à chémotype 1,8-cineole a montré un pouvoir antifongique non négligeable.

La phase volatile des HEs étudiées dans la présente étude, a présenté des résultats encourageant surtout avec celle de l'HE de *Thymus capitatus* L..

En fin, la richesse des HEs testées au cours de cette étude en plusieurs composés biochimiques actifs leur confère une excellente propriété antifongique et limite ainsi le risque de résistance des souches fongiques à l'encontre. En fin, nos résultats indiquent que les HEs étudiées, peuvent constituer des véritables alternatives des produits fongicides conventionnels surtout contre *Aspergillus niger*, mais méritant des études in vivo plus approfondie sur la toxicité de ces HEs surtout vis-à-vis l'oreille des patients ayants soufferts d'une otite clinique.



# Références bibliographiques

- Afnor. (2000). Huiles essentielles .echantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2).
- Alexopoulos, C.J.; Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. :1-613. Cité par BRIKI Khaoula ,2013.
- Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species J. Agric. Food Chem.2001; 49: 4168-4170.Cité par Ksouri 2014.
- Amarti.F,Satrani.B,Aafi.A,Ghanmi.M,Farah.A,Aberchane.M ,ElAjjouri .M,ElAntry .S ,Chaouch .A.Composition chimique et activite antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc.Phytotherapie (2008) 6: 342–347.
- Amvam Zollo P.H., L. Biyiti, F. Tchoumboungang, C.Menu!, G. Lamaty & P. Bouche!, 1998.- Aromatic plants of tropical central Africa. XXXII -Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Flavour Fragrance J.*, **13**, 107-114. cité par Koffi Apeti Gbogbo 2006.
- Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*.13, p: 235-244.
- Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 2008; 122:135–139.Cité par Ksouri 2014.
- Aruoma O. I., Spencer J. P., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N. Munoz A., Murcia A.,Butler J. et Halliwell B. 1996. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herb. *Food and Chemical Toxicology* 34(5):456.cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra,université med khaidar biskra.2013.p2.3.
- Atik Bekkara et al (2007). Composition chimique de L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & santé* .7 :6-11. Cité par Benikhlef, 2014.
- Bakkali F., 2007. Biologie effets of essential oils – A review, *Food. Chem., Toxicol.*
- Barrata T., Dorman D., Deans S., Figueiredo C., Barroso J. & Ruberto G.,1998.
- Belakhdar, J (1997) .La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris, p. 764. Cité par Frouhat zoulrikha et Lahcini besma .Lutte biologique des huiles essentielles de *rosmarinusofficinalis*.Ouargla :universitéKasdi Merbah,2013 p3.4.5.

- Beloued, A (1998). Plantes médicinales d'Algérie. 2<sup>ème</sup> Edition .Office des publications.
- Beniekhlef. Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla réalisé. Mém. Mas. Agr et fors. Univer Abor Belkaid-Tlemcen., 27; 2014.
- Benjilali b 1987, pellecuer j 1980. cité par bereksiyasmina. interactions entre l'huile essentielle de *thymus capitatus*, *menthapiperita* et *carthamuscaeruleus*, et de leur composants majoritaires : Effet du synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante Tlemcen, université Abou beker Belkaide de Tlemcen .12.2016
- Bereksi K et Lakhdar S. Étude in vivo des effets anti-lithiasiques et diurétiques de la décoction de deux céréales : *Hordeum vulgare* et *Avena sativa* . Phytothérapie (2016) 14:304-308.
- Binet P. et Brunel J. P., 1968. « Physiologie végétale », Doin, Paris, pp 774-782.
- Bouacha Hasna, Khafrabi Nawel, Seghairia Dalel. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans*. mémoire en parasitologie. université 08 mai Guelma. 2017.
- Boutabia Lamia, Telailia Salah , Bouguetof Ismail, Guenadil Faouzi et Chefrour Azzedine. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, 2016, p. 174 - 189.
- Briki Khaoula, Zitouni Nabila, 2013. Production d'acide citrique par *Aspergillus niger* cultivée sur milieu à base de dattes "variété Ghars". Algérie. Université Kasdi Merbah Ourgla, Mémoire, Master Académique.
- Bruneton J. (1999) . Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » Médicinales 3 Ed, Tec et doc, Paris- P 484-540.
- Bruneton J. 1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p : 915.
- Cananga diagnosis and epidemiology of fungal infections, p: 249-257.
- Carson C.F. & Riley T.V., 1995. « Antimicrobial activity of the major components of The essential oil of *Melaleuca alternifolia* » J. Appl Bacteriol, 78(3): 264-269.
- Chakou M. et Bassou K., 2007. Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata* L. issue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes : *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,

*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. cité par Frouhat Z et Lahcini. Lutte biologique par l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis*. master biochimie appliqué. univ Kasdi Merbah ouargla, 08.2013.

- Chaumont J.P., Leger D., 1989. Plant Med. Phyto, 23, 124.
- Cheung S. ET Tai J. 2007. Ant i-proliferative and antioxidant proprieties of rosmary *Rosmarinus officinalis*. Oncology reports. 17 (6): 1525-1531.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG. Mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* tea tree oil. J. Appl. Microbiol. 2000; 88: 170-175. Cité par Ksouri 2014.
- Davidson PM, Naidu AS. Phyto-phenols. In: Naidu, A.S. (Ed.), Natural Food Antimicrobial Systems. CRC Press, Boca Raton, FL, 2000: 265-294. Cité par Ksouri 2014.
- Deroin T., 1988, Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Côte D'Ivoire.
- Dorman HJD, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 2000; 88: 308-316. Cité par Ksouri 2014.
- El Ajjouri M, Ghanmi M, Satrani B, Amarti F, Rahouti M, Aafi A, Ismaili MR, Farah A. Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. contre les champignons de pourriture du bois. Acta Botanica Gallica. 2010; 157 (2): 285-294. Cité par Ksouri 2014.
- El Ajjouri Mustapha, Satrani Badr , Ghanmi Mohamed, Aafi Abderrahman, Farah Abdellah, Rahouti Mohamed, Amarti Fatiha , Aberchane Mohamed. Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2008 12(4), 345-351.
- El Ajjouri mustapha. Etude de composition chimique et de l'efficacité des huiles essentielles de quelque espèces du genre *Thymus* dans la préservation du bois contre les champignons lignivores. Thèse doctorat en science du Bois. université Med v\_AGDAL. Rabat 2013.
- Emberge R L., 1960-Traité botanique fascicule II. Masson. p335.
- Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., Perrin F., Gabarrou J-F- 2013, INRA Productions Animales, 26 (1), 13-24.
- Giordani R, Hadeif H, Kaloustian J. Compositions and antifungal activities of essential

oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*. 2008; 79: 199-203. Cité par Ksouri 2014.

- Gonzalez-Trujano et al(2007). Evaluation of antioiceptive effet.
- Goren A.C, Bilsel G, Demira H. & Kocabas E.E. (2003).Analysis of essential oil of *Coridothymus capitatus* (L.) and its antibacterial and antifungal activity.*Z,Naturforsch* .58c,p. 687-690. Cité par El ajjour 2013.
- Guenter E (1975). The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van No strand Ed. New York USA.
- Guy G., 1997, Les plantes à parfum et huile essentielles à grasse, Ed. L'Harmattan.
- Henrich, et al (2006). Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.  
Huang M. T., Ho C. T., Wang Z. Y., Ferraro T., Lou Y. R., Stanber K., Ma W., Hoffman L., Besseau S., Geoffroy P., Rizenhaler C., Meyer D., Lepierre C., Pollet B .et Legrand M. 1994. Silencing of Hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *Plant cell*. 16 (4): 1446-1465.cité par Madjournassia.  
Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra,université med khaider biskra.2013.p2.3.
- Ibañez E., Cifuentes A., Crego A. L., Señoráns F. J., Cavero S. et Reglero G. 2000. Combined use of supercriticalfluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquidchromatography for the analysis of antioxidants fromRosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48 (9): 4060-4065. cité par Madjour sassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra, université med khaider biskra.2013.p2.3.
- Karpouhtis I, Pardali E, Feggou E, Kokkini S, Scouras Z.G. & Mavragani Tsipidou P. (1998).Insecticidal and genotoxic activites of organo essential oils. *J.Agric .Food .Chem* .46.p.1111-1115.Cité par El ajjour 2013.
- Ksouri S,Djebir S, Bentorki A.A, Gouri A,Benakhla A, , HadeF Y. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby,*Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis.*Journal De Mycologie Médicale* (2017).
- Lahlou M., 2004.Methods to studyphytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.

- Lambert R. J. W., Skandamis P. N., et al. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J App Microbiol; 91(3): 453-62.
- Lemonica I. P., Damasceno D. C. et Di-Stasi L. C. 1996. Study of the embryotoxic effects of an extract of Ros mar y (*Rosmarinus officinalis*). Brazilian journal of medical and biological research. 29 (2): 223-227. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra, université med khaidar biskra. 2013. p.2.3.
- Lima IO, Oliveira RG, Lima EO, de Souza EL, Farias NP, Navarro DF. Inhibitory effect of some phytochemicals in the growth of yeasts potentially causing opportunistic infections. Braz J Pharm Sci. 2005; 41: 199-203. Cité par Ksouri 2014.
- Mann J., 1987, Secondary metabolism, Clarendon Press, Oxford, p. 374.
- Messaili B., 1995-Systématique spermaphytes. Botanique. O.P.U. Alger. p63.
- Offord E. A., Macé K., Ruffieux C., Malnoë A. ET Pfeifer A. M. 1995. Rosmary components inhibit benzo [a] pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. Carcinogenesis. 16 (9): 2057-2062. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra, université med khaidar biskra. 2013. p.2.3.
- Ouraïni D, Agoumi A, Ismaïli-Alaoui M, Alaoui K, Cherrah Y, Alaoui MA, Belabbas MA. Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. Phytothérapie. 2007 ; Numéro 1: 6-14. Cité par Ksouri 2014.
- Paris A., Strukelj B., Renko M., Turk V., Pukl M., Umek A. ET Korant B. D. 1993 Inhibition effects of carnolic acid on HIV-I protease in cell free assays. Journal of natural products. 56 (8): 1426-1430. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra, université med khaidar biskra. 2013. p.2.3.
- Pelleur J., Jacob M., B. de Simeon, Dusart G., Attisso M., Barthez M., Gourgas L., Pascal B. et Tomei B., 1980. Plant. Méd. Phytothér.
- Pibiri M.C., 2006. Assainissement de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, Thèse de doctorat. Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, p.28-52.

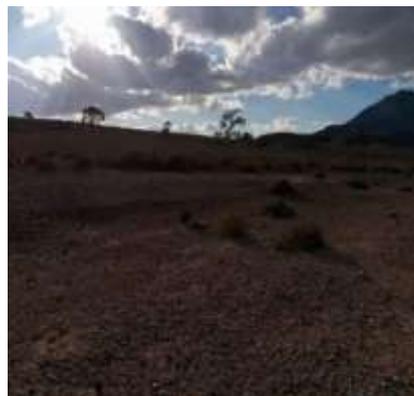
- Qreutatsous n., 2011.aspergillose humaine. épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. thèse de doctorat, université de limoges, limoges. cité par briki khaoula et al, 2013.
- Quezel p, santa s(1963). nouvelle flore de l'algerie et des régions désertiques méridionales. tome ii, cnrs, paris, (1963) : pp 600. cité par beniekhlef, 2014.
- Rasooli I, Fakoor MH, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A, Rezaei MB.
- Rippel-baldes a (1955) grundzüge der mikrobiologie, 3rd edn.springer, berlin heidelberg new york. cité par e. schuster et al., 2002.
- Satrani B, Ghanmi M, Farah A. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2008 ; 146 : 85-96.Cité par Ksouri 2014.
- Schuster e., dunn-coleman n., frisvad j c., vandijck p. w. m., 2002.on the safety of aspergillusniger.a review. applmicrobiolbiotechnol 59,426–435. cité par nadumane n,k et al, 2016.
- Scimeca D. Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, 2007, p.12-17. Cité par Fekih, 2015.
- Singletary K. W. ET Nelshoppen J. M. 1991 .Inhibition of 7, 1 2 dimethylbenz [a]anthracene (DMBA) inducedmammarytumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemaryextract. Cancer lettres. 60 (2) : 169-175. cité par Madjournassia. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis* Biskra,université med khaidr biskra.2013.p2.3.
- Sivropoulou A, Papanikolaou E, Nikolaou C, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M.Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils. J. Agric. Food Chem. 1996; 44: 1202-1205.Cité par Ksouri 2014.
- Tangarife-Castaño V, Correa-Royero J, Zapata-Londoño B, Duran C, Stanshenko E, Mesa-Arango AC. Anti-Candida albicans activity, cytotoxicity and interaction with antifungal drugs of essential oils and extracts from aromatic and medicinal plants. Infectio. 2011; 15(3): 160-167.Cité par Ksouri 2014.
- Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H &Errifi A. 1993. « Composition and antimicrobial activity of the essential oils of Thymus », Broussonettii, T.zygis and T.satureioides. J.Essent. Oil. Res. 5: 45-53.
- Trombetta D, Saija A, Bisignano G, Arena S, Caruso S, Mazzanti G, Uccella N,Castelli F. Study on the mechanisms of the antibacterial action of some plant, ßunsaturated aldehydes.Lett.Appl.Microbiol.2002; 35:285-290.Cité par Ksouri 2014.

- Vardar-Unlu G, Candan F, Sokmen A, Daferera D, Polissiou M, Sokmen M, Donmez E, Tepe B. Antimicrobial and antitoxic activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2003; 51: 63-67. Cité par Ksouri 2014.
- Viollon C., Chaumont J.P., Leger D., 1993. *Plant. Méd. Phytothér.*, 26, 17. Cité par Bouaineabdechafie. Étude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatique et médicinales lentisque et myrte. Université Sidi Medebdellah. Master en science et technologie, Fés. 2016.
- Yahyaoui N. (2005). Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata L* sur *Rhyzoperlhudominicu (F.)* (Coleoptera, Bostrychidae) et *Tribolium confusum* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.
- Zabeirou ; Hachimou. Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata L*) et de la Poivrée (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla. Mémoire de DES Biochimie – Université de Kasdi Merbbah Ouargla, 2005. p16.
- Zahalika, Jean-Philippe, pharmacien. *Les huiles essentielles*. Dauphin. Paris. 2010. p30-49.

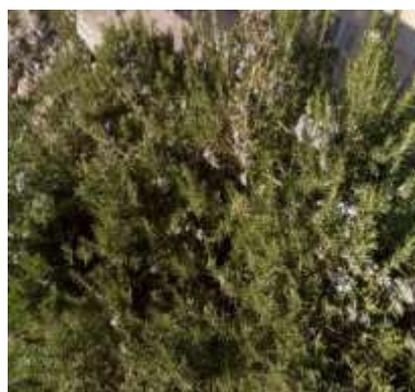


# Annexes

**Annexe N° 01 : les plantes étudiées**



**Djbel de *Chaîne de Ghora***



***Rosmarinus officinalis* L. récoltée en mois février 2018 de la région d'Ouenza (Chaîne de Gora)**



**La plante de *Thymus capitatus* L.**

**Annexe N°02 : L'obtention des extraits par l'appareil de Clevenger**



**Huile essentielles extrait**



**L'HE de RO**



**L'HE de TC**

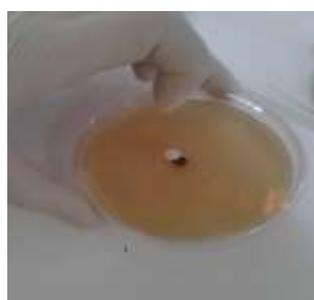
**Annexe 03 : Matériel fongique *Aspergillus niger***



**Annexe 04 : la méthode du puits**



**Annexe 05 : Méthode de la fumigation**



### Annexe 06 : la méthode de la micro-dilution



## ملخص:

تقييم نشاط المضادات الفطرية بالزيوت الأساسية لإكليل الجبل والزعيترة. جمعت في شرق الجزائر على سلالة رشاشيات النيجر وكانت ثلاث عزلات السريرية فطار أدني نفس الأنواع الفطرية أدركت في هذه الدراسة. إن طريقة الجو الصغرى وطرق M38-A و M51-A التي أوصت بها CLSI هي التقنيات التي استخدمت لتقييم نشاط مضاد للفطريات. يتم استخراج الزيوت الأساسية بواسطة التبخير باستخدام جهاز نوع Clevenger سجل التحليل الكروماتوغرافي GC / MS للزيوت الأساسية لمحات كيميائية يسيطر عليها في الغالب 26.90% من 1،8-سينول و 19% بورنيول بالنسبة لإكليل الجبل و78،78% carvacrol تليها 6.62% بالنسبة للزعيترة. قيم MIC التي تم تسجيلها بواسطة تقنية microdilution للسلاسل المختلفة من سلالة رشاشيات النيجر لإكليل الجبل والزعيترة على التوالي؛ 0.30 و 4.96 ميكروغرام / مل و 0.11 إلى 1.02 ميكروغرام / مل. في حين أن قيم CMFs لهذه الزيوت الأساسية هي من 0.30 إلى 7.74 ميكروغرام / مل (روزماري) و 0.30 إلى 3.39 ميكروغرام / مل (الزعتري). أثبتت نتائج تقييم الطور المتحرك للخدمة المتنقلة المدروسة وجود نشاط معتبر لنبات إكليل الجبل، خاصة مع جرعة 2 ميكرو لتر / مل من الهواء، ولكن مع الزيت الأساسي لنبات الزعيترة، الجرعة 0.062 ميكرو لتر / مل من الهواء هي مبيدات الفطريات لهذا الفطر. نتائجا تظهر أن النباتات ذات النمط الكيميائي الذي يتميز بنسبة عالية من carvacrol و1،8-سينول هي مضادات فطرية جيدة، الزيوت الأساسية التي تمت دراستها يمكن استخدامها في السيطرة على فطر الأذن البشري، ولكن تتطلب دراسات مفصلة عن سمية هذه المواد فيما يخص الأذنين.

الكلمات المفتاحية: فطريات الأذن ، M38-A ، M51-A ، تبخير ، رشاشيات النيجر ، زيت أساسي.

**Abstract:**

The evaluation of the antifungal activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus capitatus* L. collected from eastern Algeria on a reference strain of *Aspergillus niger* and three clinical isolates of otomycosis of the same fungal species was evaluated. realized in this study. The micro-atmosphere method and the M51-A and M38-A methods recommended by CLSI are the techniques that have been used for evaluation of antifungal activity. HEs are extracted by hydrodistillation using a Clevenger type apparatus. Chromatographic analyzes of the HEs by GC / MS recorded chemical profiles mainly dominated by 26.90% of 1,8-cineole and 19% of L-terminalol for rosemary and 78.78% of carvacrol followed by 6.62% of p-cymene. The MIC values that were recorded by the microdilution technique for the different strains of *Aspergillus niger* for rosemary and thyme are respectively; 0.30 and 4.96  $\mu\text{g} / \text{ml}$  and 0.11 to 1.02  $\mu\text{g} / \text{ml}$ . While the CMFs values of these HEs are of the order of 0.30 to 7.74  $\mu\text{g} / \text{ml}$  (rosemary) and 0.30 to 3.39  $\mu\text{g} / \text{ml}$  (thyme). The results of the evaluation of the mobile phase of the studied HEs proved a significant activity for rosemary HE, especially with the dose 2  $\mu\text{l} / \text{ml}$  of air, but with the thymic HE, the dose 0.062  $\mu\text{l} / \text{ml}$  of air is fungistatic and fungicidal for this fungus. Our results demonstrate that the HEs of the carvacrol and 1,8-cineole plants are highly fungicidal, and the HEs studied can be used in the control of otomycoses in humans but require detailed studies on the toxicity of these species. vis-à-vis the ears.

**Key words:** Otomycoses, M51-A, M38-A, fumigation, *Aspergillus niger*, essential oil.

## Résumé :

L'évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Rosmarinus officinalis* L. et de *Thymus capitatus* L. collectées de l'est algérien sur une souche de référence d'*Aspergillus niger* et trois isolats cliniques d'otomycoses de cette même espèce fongique a été réalisé dans la présente étude. La méthode de micro atmosphère et les méthodes M51-A et M38-A recommandés par le CLSI sont les techniques qui ont été utilisé pour l'évaluation de l'activité antifongique. L'extraction des HEs est assurée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Les analyses chromatographiques des HEs par GC/SM ont consignées des profils chimiques dominés surtout par 26.90% de 1,8-cineole et 19% de borneol L pour le romarin et 78.78% de carvacrol suivi par 6.62% de p-cymene. Les valeurs de CMI's qui ont été enregistrées par la technique de microdilution pour les différentes souches d'*Aspergillus niger* pour le romarin et thym sont respectivement ; 0.30 et 4.96 µg/ml et 0.11 à 1.02 µg/ml. Alors que les valeurs de CMF's de ces HEs sont de l'ordre de 0.30 à 7.74 µg/ml (romarin) et de 0.30 à 3.39 µg/ml (thym). Les résultats de l'évaluation de la phase mobile des HEs étudiées ont prouvés une activité non négligeable pour l'HE de romarin surtout avec la dose 2 µl/ml d'air, mais avec l'HE de thym, la dose 0.062 µl/ml d'air est fongistatique et fongicide pour ce champignon. Nos résultats démontrent que les HEs des plantes à chémotype carvacrol et 1,8-cineole sont très fongicide, or, les HEs étudiées, peuvent être utilisé dans le contrôle des otomycoses chez l'homme mais nécessitant des études détaillées sur la toxicité de ces essences vis-à-vis les oreilles.

**Mots clés :** Otomycoses, M51-A, M38-A, fumigation, *Aspergillus niger*, huile essentielle.