

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 *Lavandula stoechas* L. et d'*Origanum floribundum* Munby. sur des agents d'otomycoses : Cas d'*Aspergillus niger*

Présenté par :

Ferdes Ilhem

Saidia Nariman

Devant le jury composé de :

Président (e): Mme Zidi .S (M.C.B)

Université de Guelma

Examineur : Mme Hamdiken.M (M.C.B)

Université de Guelma

Encadreur : Mr Ksouri.S (M.C.A)

Université de Guelma

Juillet 2019

Remerciements

Nous remercions dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

*Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur, **Dr Ksouri Samir** pour la totale confiance qu'elle nous a accordée, pour sa grande disponibilité, ses précieux conseils ainsi que sa sympathie et sa gentillesse. Nous le remercions pour sa rigueur scientifique et de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.*

***Mme. Zidi.S**, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider Ce jury. Veuillez accepter l'expression de notre sincère reconnaissance.*

***Mme. Hamdiken.M**, de nous avoir fait l'honneur d'être examinatrice et de participer au jury de ce mémoire. Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudes pour le temps précieux que vous consacrer pour juger ce travail.*

Nos profondes et sincères remerciements pour tous les enseignants de département « Biologie » spécialement :

***Pr Houhamdi .M, Dr Bouchlaghem .H et Dr Gueroui .Y** pour leur conseils et encouragements durant notre parcours universitaire.*

Enfin, nos remerciements vont également à l'ensemble du personnel technique des laboratoires.

Dédicaces

Avant tout, je remercie DIEU le tout puissant avoir donné le courage, la volonté, et la force pour l'élaboration de ce travail.

Je dédie ce modeste travail

A ceux qui m'ont donnée la vie, la lumière de mes yeux mes très chers parents, mon père Salâh el dîne et ma mère Henda, qui ont consacré leur noble existence à bâtir la mienne. De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma reconnaissance et mon amour.

A ma chère soeur Asma, son époux Nabil et mon petit neveu Baraa adoré, et a mon petit ange Poussa qui font une partie de mon bonheur.

A mon adorable frère Mohammed qui a été toujours la à mes cotés, qui m'a aidé en toute étape de ma vie.

A mon époux Adél, qui a su de loin m'encourager et me soutenir.

Egalement à ma chère Grands-mère.

A toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans exception.

A mes amies celles de toujours : Khadija, Imen, Amina et Manel on en a vécu des aventures ensembles.

A tous mes amis, et à toute personne qui j'aime et qui m'aime.

A ma chère binôme que je partage ce moment si précieux.

A toute la promotion Master II Parasitologie médicale et vétérinaire 2019

Nariman

Dédicace

Je remercie tout d'abord le bon dieu qui m'a donné la force de surmonter tout les obstacles, la patience pour passer tout les moments difficiles et la volonté pour accomplire ce travail

Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail

Aux être les plus chers à moi

A celle, qui m'a toujours accompagné de ses prières, ma source de tendresse, aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour pour elle... A maman chérie

A, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir. ... A toi mon Papa,

Puisse dieu le tout puissant vous accroder bonheur, santé et une longue vie

A mes très chers sœurs Rima, Wahida, Hanna et leur époux, pour leur soutien moral tout au

long de ce travail, puisse dieu vous protège et vous donne tout le bonheur et la bonne santé

A mes adorables nièces et neveux que j'aime profondément, je vous souhaite une vie pleine de succès, que mon dieu vous aide à réaliser vos rêves

A mes aimables cousines

A toutes mes copines Surtout Houda, sameh, Hind, Ines, Bouchra et Rima pour les bons

souvenirs qu'on a passé ensemble

A ma chère bînome, narimen

Aux personnes qui m'ont toujours encouragé et croyer en moi,

*A mes collègues de toute la promotion Parasitologie médicale et vétérinaire 2019 **Ilhem***

Liste des figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	1
Premier partie : Etude bibliographique	
I .Généralité sur l’huile essentielle	3
I.1. Notion sur l’aromathérapie	3
I.2. définitions et caractéristiques	3
I.2.1.Définition des huiles essentielles	3
I.2.2.Répartition et fonction des huiles essentielles dans la plante :	3
I.2.3.Composition chimique des huiles essentielles	4
I.2.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	5
I. 3. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles.....	5
I.3.1.Facteurs intrinsèques.....	6
I.3.2.Facteurs extrinsèques.....	6
I.4. Méthodes d’extraction.....	6
I.4.1.Extraction par hydrodistillation d’huile essentielle	6
I.4.2 Entraînement à la vapeur d’eau	7
I.4.3 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes	7
I.4.4 Extraction par les solvants	7
I.4.5 Extraction au CO ₂ supercritique	7
I.5 Domaine d’utilisation des huiles essentielles	8
I.5.1 En pharmacie	8
I.5.2 En industrie agroalimentaire	8
I.5.3 En parfumerie	8
I.6. Effet thérapeutiques des huiles essentielles	8
I.7. Le Mode d’action antifongique des huiles essentielles	9
I.8. Principales formes galéniques et le mode d’utilisation des huiles essentielles	10
I.8.1 Voix orale	10
I.8.2. Voie cutané	10
I.8.3. Voie rectale	11
I.8.4. Voie vaginale	11

I.8.5. Voie trans-pulmonaire	11
I.8.6 .Diffusion dans l’atmosphère	11
I.8.7. Inhalation humide et sèche	11
I.9. Toxicité des huiles essentielles	12
I.9.1. Toxicité dermique	12
I.9.2. Toxicité respiratoire	12
I.9.3. Hépatotoxicité	12
I.9.4. Neurotoxicité	12
I.9.5. Néphrotoxicité	12
I.9.6. Risque allergique	13
II. Présentations des plantes étudiées	14
II.1. <i>Lavandula stoechas</i> L.	14
II.1.1. Origine du nom	14
II.1.2. Description botanique	14
II.1.3. Position systématique	15
II.1.4. Nom vernaculaire	15
II.1.5. Habitat	15
II.1.6. Utilisation et propriétés thérapeutiques	16
II.2. <i>Origanum floribundum</i> Munby.	15
II.2.1. Origine du nom	15
II.2.2. Description botanique	16
II.2.3 Position systématique	17
II.2.4 Nom vernaculaire	17
II.2.5 Habitat	18
II.2.6. Utilisation et propriétés thérapeutiques	18
III. Généralités sur <i>Aspergillus Niger</i>	19
III.1. Définition	19
III.2. Position systématique	19
III.3 Ecologie	19
III.4. Physiologie	20
III.5. Caractères cultureux et aspect macroscopique	20
III.6. Aspect microscopique	20
III. 7 Pathogénicité	21

Deuxième partie: Etude Pratique

I. Matériel et Méthodes.....	22
I.1 Matériel	22
I.1.1. Matériel végétal	22
I.1.2. Matériel fongique	22
I.2 Méthodes	22
I.2.1. Extraction d'huile essentielle	22
I.2.2. Détermination du rendement d'extraction	23
I.2.3. Évaluations de l'activité antifongique	23
I.2.4. Analyse de la composition chimique des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS)	27
II. Résultats	28
II.1. Paramètres organoleptique et rendement des huiles essentielles des deux plantes aromatiques	27
II.2. Résultats de l'analyse par GC-SM des huiles essentielles	28
II.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des deux plantes Aromatiques	30
II.3.1. Evaluation de l'activité antifongique des deux huiles essentielles par la méthode de diffusion sur gélose	30
II.3.2. Détermination des valeurs de CMI et CMF des huiles essentielles par la technique de micro dilution	32
II.3.3. Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles par la méthode de fumigation ou micro atmosphère	35
III. Discussion	36
Conclusion	45
Références bibliographiques	46

Annexes

ملخص

Abstract

Résumé

Liste des figures

Figure 1 : <i>Lavandula stoechas</i> .L	14
Figure 2 : <i>Origanum floribundum</i> Munby.	17
Figure 3 : Appareil reproducteur d' <i>Aspergillus niger</i>	21
Figure 4 : Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger	22
Figure 5 : Comptage ou Numération de la suspension sporale de l'inoculum d' <i>Aspergillus niger</i>	24
Figure 6 : Diffusion sur gélose Mueller Hinton (Méthode des disques)	24
Figure 7 : Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicide(CMF) sur microplaque (méthode de micro dilution)	25
Figure 8: Méthode de micro-atmosphère sur boites de Pétri	26

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de l'espèce <i>Lavandula stoechas</i> .L	15
Tableau 2 : Taxonomie de l'espèce <i>Origanum Floribundum</i> Munby.	17
Tableau 3 : La position systématique d' <i>Aspergillus niger</i>	19
Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles testées.	28
Tableau 5 : Valeurs du rendement moyen des huiles essentielles des deux espèces Végétales	28
Tableau 6 : Composition chimique des deux huiles essentielles étudiées.	28
Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 1 ^{ère} souche d' <i>Aspergillus niger</i> .	30
Tableau 8: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 2 ^{ème} souche d' <i>Aspergillus niger</i> .	31
Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 3 ^{ème} souche d' <i>Aspergillus niger</i> .	31
Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la souche de référence d' <i>Aspergillus niger</i> .	31
Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i> L. et <i>Origanum floribundum</i> Munby.	32
Tableau 12: Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique des différentes souches d' <i>Aspergillus niger</i> testées par fumigation d'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i> L.	33
Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition de la croissance des différentes souches d' <i>Aspergillus niger</i> testées par fumigation d'huile essentielle d' <i>Origanum floribundum</i> Munby.	34
Tableau 14 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de <i>Lavandula stoechas</i> L. et <i>Origanum floribundum</i> Munby. vis-à-vis <i>Aspergillus niger</i>	35

Liste des abréviations

CLSI: Clinical and laboratory Standards Institute

CTM: collection tunisienne du micro organism

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

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

AFNOR : Association Française de Normalisation

ISO : International Standard Organisation

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

HE : huile essentielle

R_{HE}: Rendement d'huile essentielle

CMI : Concentrations minimales inhibitrices

CMF : Concentrations minimales fongique

LS: *Lavandula stoechas*

OF: *Origanum floribundum*

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

UFC : unité formant coloni

W/W : weight / weight

INTRODUCTION

Les plantes ont de tout temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutiques. Généralement, le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires (Touré, 2015).

Dans le monde entier, d'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (O.M.S, 2002). Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (Muthu et *al.*, 2006).

Au fil du temps, la résistance des microorganismes aux antibiotiques se manifeste de plus en plus, et l'utilisation de produits chimiques comme agents antimicrobiens a donné naissance à des maladies infectieuses graves, l'otomycose est l'une des infections qui a eu une augmentation de la prévalence au cours de ces dernières années en raison de l'importante utilisation de gouttes auriculaires antibiotiques (Jackman et *al.*, 2005). De plus, il paraît que les antibiotiques destinés au traitement de cette entité pathologique, représente le facteur de risque principal de l'apparition des otites d'origine mycosique. La recherche des traitements alternatifs aux antibiotiques, constituent un enjeu essentiel pour la maîtrise des infections auriculaires d'origine fongique. Beaucoup de traitements alternatifs aux antibiotiques restent très intéressants et méritent une étude plus approfondie et détaillée, parmi lesquelles, l'aromathérapie. Par définition, l'aromathérapie, qui signifie littéralement « soin par les odeurs », est le terme que l'on utilise pour désigner la thérapie basée sur l'utilisation des huiles essentielles (Moro Buronzo, 2008).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des *Lamiaceae* qui sont l'une des familles les plus utilisées comme source d'extraits à fort pouvoir antimicrobien à l'échelle mondiale. Les plantes sur lesquelles a porté notre choix sont *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby. qui sont spontanées et endémiques dans la région de Guelma.

Ce travail est structuré en deux parties importantes :

Dans la première partie de ce travail, nous présenterons une synthèse bibliographique mettant l'accent sur trois chapitres ; le premier chapitre traite des généralités sur les huiles essentielles, où nous nous sommes intéressés à l'importance de leurs applications dans l'aromathérapie et les principales formes galéniques impliquées et leur toxicité. Le second chapitre est consacré à l'étude des deux plantes aromatiques testées. Le troisième chapitre est destiné à l'étude mycologique de l'espèce fongique qui a été choisie.

La deuxième partie illustre le matériel et les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus et une discussion qui a pour but de montrer le lien entre composition chimique et activité des huiles essentielles et de mentionner les conséquences de la variabilité de la composition liée à la notion de chémotype.

En ce qui concerne les principales analyses effectuées, elles ont porté sur: L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation et l'évaluation du rendement et l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles contre des isolats cliniques responsable d'otomycose et une souche de référence.

Les objectifs de notre étude sont basés sur la détermination des paramètres suivants :

- les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales fongicides (CMF) par contact direct.
- les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et les concentrations minimales fongicides (CMF) par la fraction volatile des huiles essentielles.

PREMIERE PARTIE

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

GENERALITE SUR LES HUILES ESSENTIELLES

I. Généralités sur les huiles essentielles

I.1. Notion sur l'aromathérapie

L'aromathérapie est une science naturelle fascinante et complexe dont l'origine remonte à des milliers d'années ; elle s'inspire en effet des traditions médicales populaires des égyptiens, des Chinois, et des Grecs (Fabrocini, 1999).

L'aromathérapie peut se définir comme une thérapeutique naturelle utilisant les extraits de plantes aromatiques (essences et huiles essentielles) dotées de vertus médicinales pour soigner ou prévenir les maladies (Lardry et Haberkorn, 2007). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante (Lorrain, 2013).

I.2. Définition et caractéristiques

I.2.1. Définition des huiles essentielles

Une huile essentielle ou parfois essence végétale (latin : *essentia*, « nature d'une chose ») (Soualeh et Soulimani, 2016).est un mélange de substances aromatiques volatiles (Lahlou, 2004) de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actif (Lardry et Haberkorn, 2007).

Selon l'organisation internationale de normalisation sur les huiles essentielles et celle de l'Association de Normalisation Française, (1987) une huile essentielle est définie comme:

« Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec ».

I.2.2. Répartition et fonction des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (exemple famille des labiés odorante renferment presque toute une huile essentielle) elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux ; les fleurs, les feuilles et moins souvent tout les écorces, les bois, les racines, les rhizomes et les graines (Bruneton, 1993).

Les plantes aromatiques fabriquent ces huiles ou essences pour se protéger, se soigner, se réparer : elles leur servent à séduire les insectes pollinisateurs, se protéger des brûlures du soleil ou du froid, des prédateurs et des maladies, et enfin a se soigner (blessures, maladies, attaques diverses...). Pour résumer, ces plantes survivent grâce à leurs essences (Festy, 2015).

I.2.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes (Cowan, 1999). Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phynélopropane (Gildo, 2006).

a). Les terpénoïdes

Les composés terpéniques sont largement rencontrés dans les huiles essentielles (Baser et Buchbauer, 2010). Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, les plus volatile (masse moléculaire la moins élevée : monoterpènes et sesquiterpènes) (Wichet et Anton, 1999).

- **Les monoterpène**

Les carbures sont presque toujours présents, ils sont acyclique (myrcène, ocimènes), monocyclique (α - et γ -terpinène, p-cymène) ou bicyclique (camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle (Bruneton, 1993).

- **Les sesquiterpènes**

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elle contient plus de 3000 molécules : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α - bisabolol, farnesol (Bruneton, 1999). Ils sont présents en plus faibles proportions que les monoterpènes dans les huiles essentielles (Laurent, 2015).

b). Composés aromatiques

Dérivés de phynélopropane, sont beaucoup moins fréquents que les précédents (Bruneton, 1993). Ces Composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptique des huiles essentielles (Kunle et Okogum, 2003).

c). Composés d'origine diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction les huiles essentielles peuvent renfermer divers composé aliphatique généralement de faible masse moléculaire (carbure, acide, alcool, aldéhyde, esters etc...) ces produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (Inouye et Abe, 2003 ; Bruneton, 1993).

Les huiles essentielles sont classées usuellement selon la nature chimique de leurs principes actifs majoritaires, plus rarement selon leur mode d'extraction, ou leurs effets biologiques (Laurent, 2017).

I.2.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Malgré leur différence de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physique :

- Volatiles (odorantes) et entraînable à la vapeur d'eau.
- Généralement liquide à la température ambiante.
- Incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées (Roux et Catier, 2007).
- Les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau, elles ont en revanche une affinité toute particulière avec les graisses de toute nature (solubles dans les huiles végétales), ainsi qu'avec l'alcool de titre élevé et la majorité des solvants organiques (Couic-marinier, 2018).
- Inflammable et nécessitent de connaître leur point éclair pour leur stockage et leur transport.
- Présentent une densité ($d = m/v$) proche de l'eau, (généralement inférieur à 1) ce qui permet leur distillation. cette densité sera utilisée pour détecter la falsification et convertir les masses en volume ou inversement lors de l'utilisation de petites quantités d'huile essentielle.
- Dotés d'un pouvoir rotatoire (Zahalka, 2010).

Les huiles essentielles s'oxydent facilement et sont à la fois photosensibles et thermosensibles. C'est pourquoi, il faut les conserver à l'abri de lumière, de la chaleur mais surtout de l'oxygène de l'air, prévenant les risques d'acidification des ses composés (aldéhydes, cétones, phénols...) (Roux et Catier, 2007).

I.3. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement (Besombes et *al.*, 2010) ou elle peut varier au sein d'une même espèce (Caissard et Baudino, 2012).

En effet, une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera ; ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques (Heni, 2002).

Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories :

I.3.1. Les facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques.

Les travaux de Maffei et Sacco, (1997), ont montrés des différences de composition des huiles essentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et à leur l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, température, l'humidité ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée (Fantino, 1990).

I.3.2. Les facteurs extrinsèques

Huang et *al.* (1995) ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Fantino, (1990) a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition.

Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. D'après Carette, (2000) les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention car, avec le temps leurs propriétés tendent à décroître.

I.4. Méthodes d'extraction

I.4.1. Extraction par hydrodistillation

C'est la méthode nommée pour l'extraction des huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements (Lucchesi, 2005). Selon Bruneton, (1999) l'hydrodistillation consiste à immerger directement la biomasse végétal à traiter dans un alambic

rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition sous pression atmosphérique, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforment à l'état liquide, le mélange d'huile-eau se sépare par différence de densité (Bruneton, 1993).

I.4.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Ces méthodes d'extraction sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005). Le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée, sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée à l'extracteur. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées et appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale) (Dastmalchi et al., 2008).

I.4.3. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Cette méthode permet de réaliser des extractions du matériel végétal frais à pression atmosphérique, sans ajout d'eau ou de solvant (Lucchesi et al., 2004). La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par la micro-onde. Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal (Piochon, 2008). Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation (Lucchesi et al., 2004).

I.4.4. Extraction par les solvants

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne la concrète: mélange odorant de consistance pâteuse. L'extraction de la concrète avec l'alcool conduit à l'absolue. Cette méthode est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (Samate, 2002).

I.4.5. Extraction au CO₂ supercritique

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO₂ à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO₂ car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, inflammable, facile à éliminer

totale, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux. (Keville, 1995 ; Baysal, 1999).

I.5. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali et *al.*, 2008).

I.5.1. En pharmacie

Les propriétés pharmacologiques de quelques huiles essentielles, ce sont principalement les propriétés antiseptiques et antifongiques qui sont reconnues par les autorités sanitaires pour purifier l'air atmosphérique dans les centres de soins (hôpitaux, clinique) et aussi dans les maisons individuelles par diffusion des huiles essentielles dans l'air.

Les huiles essentielles sont rajoutées dans la formulation des spécialités pharmaceutiques, pour masquer le mauvais goût des médicaments et pour donner un caractère plus agréable à la consommation (Kaloustian et Minaglou, 2012).

I.5.2. En industrie agroalimentaire

Habituellement, pour éviter l'oxydation des lipides qui impliquent des altérations organoleptiques dans l'alimentation, les industriels ont recouru aux huiles essentielles en tant qu'antioxydant naturel en agroalimentaire, en particulier dans la viande et autres produits gras.

Les huiles essentielles sont très utilisées aussi comme arôme alimentaire aussi bien dans le secteur salé que sucré (alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie) (Mascret, 2010).

I.5.3. En parfumerie

Les huiles essentielles, ou essences, comme les nomment souvent les parfumeurs font partie intégrante des ingrédients de la parfumerie. Leur emploi historique le plus notable a été dans l'eau de cologne, créé par Jean-Marie Farina vers 1714. Sa composition s'appuyait sur plus de 70% d'essences d'agrumes et d'aromates, complétée par quelques extraits de fleurs (Fernandez et Chemat, 2012).

I.6. Effet thérapeutiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent un outil thérapeutique très efficace qui permet d'élargir le champ des traitements médicaux conventionnels (Robard, 2004). L'utilisation des huiles essentielles dans différentes pathologies (digestive, infectieuse,...) fait appel à leurs propriétés: anti-infectieuse, antalgique, anti-inflammatoire, sédative, antimicrobien, antispasmodique et antioxydante (Bessah et Benyoussef, 2015).

La plus spécifique des propriétés des huiles essentielles est celle qui concerne l'amplitude du spectre antimicrobien vis-à-vis des virus, des mycoplasmes et chlamydiae, des bactéries, des champignons y compris leurs spores, et les protozoaires (Inouye et Abe, 2007). Les huiles essentielles présentent une action cytotoxique contre des lignées cellulaires tumorales représentant différents type de cancer. Plusieurs molécules présentes dans les huiles essentielles sont douées de propriétés antitumorales, et particulièrement les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools) et les aldéhydes (Bouyahya et *al.*, 2016). Les huiles essentielles présentent des activités insecticides elles sont aussi utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs (Bessah et Benyoussef, 2015).

I.7. Le Mode d'action antifongique des huiles essentielles

La plupart des études ont rapporté la nature cytotoxique des huiles essentielles et ses constituants est dû à leur capacité à perturber la paroi cellulaire et la membrane cellulaire, coagulent le cytoplasme, et d'endommager les organites cellulaires et l'évasion des macromolécules (Burt 2004; Hyldgaard et *al.*, 2012).

La nature lipophile des huiles essentielles permet de traverser la paroi cellulaire et les dommages à la membrane cytoplasmique tout en perturbant diverses couches de polysaccharides, d'acides gras et de phospholipides, les rendant éventuellement perméables (Helal et *al.*, 2006; Rammanee et Hongpattarakere 2011; Dwivedy et *al.*, 2016). Une telle action permet également de transférer le carvacrol qui est capable de se lier aux stérols de la membrane fongique, ce qui entraîne des dommages et par conséquent, la mort du champignon.

Les composants hydrophobes présents dans les huiles essentielles comme l'eugénol et le thymol pourraient changer la perméabilité de la membrane cellulaire microbienne pour cations telles que H⁺ et K⁺, qui changent le flux de protons, modifiant le pH cellulaire et affectant la composition chimique des cellules et leur activité (Nazzaro, 2017 ; Hyldgaard et *al.*, 2012; Cabral et *al.*, 2013).

Cependant, la magnitude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de ses composés actifs dépend de la perméabilité différentielle de la membrane cellulaire (Basak et Guha, 2018). La perte de perméabilité différentielle entraîne un déséquilibre de la fonction intracellulaire. La pression osmotique, qui perturbe ensuite les organites intracellulaires, fuite de contenu cytoplasmique et parfois molécules stockant de l'énergie (ATP) et éventuellement la mort cellulaire.

Les huiles essentielles peuvent dépolariser la membrane mitochondriale en diminuant le potentiel de membrane qui affecte le Ca⁺ et d'autres canaux ioniques et réduire le gradient de pH de cellules microbiennes (Bakkali et *al.*, 2005).

À la concentration fongistatique la plus élevée des huiles essentielles, autolyse complète de la cellule qui implique une désorganisation et la déplétion du cytoplasme hyphal et membraneux. Les organites comprennent les noyaux, le réticulum endoplasmique et mitochondries (Tian et *al.* 2011), telle que Le thymol qui affecte la morphologie du mycélium, avec des changements dans la localisation de la chitine dans les hyphes. Un mécanisme similaire a également été observé chez d'autres monoterpènes, tels que le linalol (Nazzaro, 2017).

I.8. Principales formes galéniques et le mode d'utilisation des huiles essentielles

Il est essentiel de connaître les modes et les voies d'administrations des huiles essentielles pour un usage approprié en toute sécurité (Couic-marinier, 2018).

I.8.1. Voie oral

Les huiles essentielles peuvent s'administrer par voie orale à condition de les diluer, par exemple sur un demi-sucre ou mêlées à une cuillère d'huile végétale alimentaire ou de miel (Couic-marinier, 2018).

Les principales formes galéniques utilisées pour la voie orale sont les gélules, les solutés alcooliques, non alcooliques ou huileux (Millet, 2010).

Les huiles essentielles sont également proposées sous une nouvelle forme : la microcapsule tamponnées. Ce sont des microbilles, regroupées dans une coque très mince soluble dans les liquides digestifs. Ce nouveau conditionnement permet une manipulation plus aisée et améliore la tolérance gastrique (Béregère et *al.*, 2008).

I.8.2. Voie cutané

C'est la voie la plus utilisée en aromathérapie, aussi bien pour le soin que pour le cosmétique. Les huiles essentielles sont diluées dans un support tel qu'une huile végétale, un gel, un lait, une crème, etc.

Leur liposolubilité favorise un passage transcutané rapide et une bonne résorption. La prudence s'impose pour les huiles essentielles dermocaustiques et très irritantes (Millet, 2010).

I.8.3. Voie rectale

Cette voie permet l'administration de doses élevées d'huile essentielle dans le cas de pathologie infectieuses aiguës (infections broncho-pulmonaires par exemple), le pharmacien utilise comme excipient le Witepsol avec lequel il incorpore à chaud le mélange d'huile essentielle. Lors du refroidissement, on obtient les suppositoires dont la taille et le dosage des huiles essentielles varient en fonction de l'âge du patient (Zahalka, 2010).

I.8.4. Voie vaginale

Elle permet de soigner des affections gynécologiques par un traitement local. En utilisant des ovules. Vu que la muqueuse vaginale est très perméable, La concentration en huile essentielle doit rester faible (Millet, 2010).

I.8.5. Voie trans-pulmonaire

Deux procédés peuvent être utilisés ; soit diffusion générale dans une pièce, c'est la «Diffusion dans l'atmosphère», soit diffusion individuelle « l'inhalation » (Lardry et Haberkorn, 2007).

I.8.6. Diffusion dans l'atmosphère

Permet de faire profiter à tous de leurs bienfaits, d'assainir une pièce et de créer un "décor olfactif". La microdiffusion, réalisée à l'aide d'un diffuseur électrique, reste la meilleure technique car elle ne chauffe pas les huiles essentielles, qui conservent ainsi toutes leurs vertus. Cependant, toutes les HE ne conviennent pas à la diffusion (Couic-marinier et Lobstein, 2013).

I.8.7. Inhalation humide et sèche

Le principe de l'inhalation humide est simple. Les molécules aromatiques sont entraînées par la vapeur d'eau et ensuite respirées. Pour l'inhalation sèche, consiste à déposer quelques

gouttes d'huiles essentielles sur un linge (mouchoir, etc.). Elles sont ensuite respirées sans contact avec la peau ou les muqueuses. Les huiles essentielles irritantes, dermocaustiques et neurotoxiques sont contre-indiquées en inhalation humide ou sèche (Millet, 2010).

I.9. Toxicité des huiles essentielles

I.9.1. Toxicité dermique

Les muqueuses sont plus sensibles et plus perméables aux huiles essentielles que la peau. Il y a généralement apparition d'érythème, d'ulcère, de vésicules et la nécrose cellulaire. L'irritation dépend de la dilution. Les huiles essentielles et les molécules aromatiques les plus irritants sont : les phénols (carvacrol, thymol, eugénol) ; les aldéhydes et certaines cétones (Kaloustian et Minaglou, 2012).

I.9.2. Toxicité respiratoire

Les huiles essentielles aux propriétés irritantes ne doivent pas être utilisées par voie respiratoire (inhalation, diffusion atmosphérique) chez les personnes asthmatiques. L'huile essentielle de menthe contenant du menthol, peut provoquer un bronchospasme en application sur les muqueuses nasales (Bruneton, 2009).

I.9.3. Hépatotoxicité

Les phénols à haute dose et sur une durée prolongée peuvent altérer les hépatocytes du foie. Le plus toxique étant le carvacrol. D'autre molécule responsable est le pulégone (cétone) : elle perturbe la métabolisation des autres substances traitées par le foie et provoque une toxicité hépatique même à faible dose (Roux, 2008).

I.9.4. Neurotoxicité

Les huiles essentielles riches en Cétones et lactones (dans une moindre mesure) peuvent être agressives pour les tissus nerveux et entraîner des risques de convulsions épileptiformes, de troubles psychiques et sensoriels. Cette agression dépendra de la molécule, la durée, la posologie, la dose et la voie d'administration. Par conséquent, l'usage de ces huiles essentielles par voie orale est contre-indiqué chez le nourrisson, la femme enceinte ou allaitante, les personnes âgées et les sujets épileptiques (Franchomme et *al.*, 2007).

I.9.5. Néphrotoxicité

Les huiles essentielles riches en monoterpènes peuvent enflammer et dégrader à terme les néphrons. Ces huiles essentielles stimulent en effet fortement les cellules rénales, engendrant parfois une inflammation des reins. Les personnes souffrant d'insuffisance rénale devront donc les manipuler avec précautions (Barlier, 2014 ; Miles, 2013).

I.9.6. Risque allergique

Toutes les huiles essentielles susceptibles de provoquer une inflammation ou réaction allergique si elles sont utilisées sur le long terme, même diluées. Il est important de savoir aussi que les mauvaises conditions de stockage des huiles essentielles peuvent modifier la structure des composés chimiques, on obtient alors par oxydation et différentes autres réactions, des composés de type cinnamaldéhyde et des hydroperoxydes qui rendent les huiles essentielles allergisantes.

Les huiles essentielles contenant les terpènes provoquent aussi des allergies graves, pouvant être fatales ; il faudra donc les utiliser avec précautions (Velé, 2015).

CHAPITRE II

PRÉSENTATION DES ESPÈCES VÉGÉTALES ETUDIÉES

II. Présentation des espèces végétales étudiées

II.1. *Lavandula stoechas* L

II.1.1. Origine du Nom

Le mot *lavande* dérive du verbe lavé. Il est peut être issu de l'italien *Lavandou* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner (Benabdlkader, 2012).

II.1.1. Description botanique

Lavandula stoechas L, appartenant à la famille des Lamiacées, comporte 20 espèces environ avec plus de 100 variétés (Da porto et Décorti, 2008). Elle se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très ramifié pouvant atteindre 1 m de haut, avec des feuilles persistantes, opposées, sessiles et des fleurs de couleur violette (Amara et al., 2017).

L'espèce *Lavandula stoechas* L, est une plante tendre qui préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, les tiges étroites sont quadrangulaires à feuilles opposées, tendent à être plus vertes que grises, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes (Chu et Kemper, 2001). L'ensemble de la plante très aromatique comprenant fleurs et feuilles (Bouchikhi, 2011).



Figure 1 : *Lavandula stoechas*.L

II.1.3. Position taxonomique

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de *Lavandula stoechas* L est la suivante :

Tableau 1 : Taxonomie de l'espèce *Lavandula stoechas* L.

Règne	Plantes
Embranchement	<i>Phanérogames ou Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Eudicots</i>
Sous classe	<i>Astériidae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Familles	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Stoechas</i>

II.1.4. Nom vernaculaire

Lavandula stoechas.L est connue dans le monde sous les noms suivant :

- En français : La lavande
- En arabe : El-kehila. (Bouchikhi, 2011)

En Algérie, elle est très connue sous le nom local "Helhal" (Quezel et santa ,1963).

II.1.5. Habitat

Lavandula stoechas.L se trouve dans les forêts et les montagnes ayant des sols humides, elle est largement distribuée dans les îles de canari, du sud de l'Europe jusqu'au nord et à l'est de l'Afrique, de la Méditerranée, de l'Asie du sud-ouest au sud-est de l'Inde (Siddiqui et al ., 2016).

En Algérie, *L. stoechas* est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays (Benabdelkader, 2012).

II.1.6. Utilisation et propriétés thérapeutiques

La lavande a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire, décoratif et cosmétique (Maganga, 2004). C'est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en huile essentielle (Benabdelkader, 2012). elle est employée comme expectorant, antispasmodique, carminative, désinfection des plaies, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticide (Mohammedi et Atik, 2011).

Également leur huile essentielle est reconnu comme efficaces contre les infections du colon, pour soulager les maux de tête nerveux (Gören et al., 2002). Et sont utilisés comme agents antibactérien et antifongique (Cavanagh et Wilkinson, 2002).

II.2. *Origanum floribundum* Munby

II.2.1. Origine du nom

Le nom «*Origanum* » vient du grec « Oros »= montagne, et « Ganos »= joie ou l'ornement des montagnes (Eberhard et al., 2005).

II.2.2. Description botanique

L'origan est une plante frutescente spontanée endémique appartenant à la famille des lamiacées qui comporte environ 38 espèces (Sahin et al., 2004). Le genre se particularise par une tige prostrée à la base, les jeunes sont décombantes Quezel et Santa, (1963) quadrangulaires et de courts rameaux à l'aisselle des feuilles simples opposée, cordiforme ou lancéolées, persistantes ou semi persistantes sont de couleur verdâtre et pubescentes. La racine est un rhizome (tige souterraine ligneux avec des rejets filamenteux, racines et adventives) ; ceci lui configurant une bonne accroche (d'où sont abondance dans les zones de hautes altitude (Machu, 2008).

En ce qui concerne l'appareil reproducteur, les fleurs sont hermaphrodites, elles s'organisent en épis lâche (inflorescence indéfinie), disjointe après la floraison. Le calice tubuleux à 5 dents courtes la corolle à égales (Quezel et Santa, 1963).



Figure 2 : *Origanum floribundum* Munby. (Ksouri, 2015)

II.2.3. Position taxonomique

Cette plante aromatique qui est endémique en Algérie a été décrite par Quezel et Santa en 1963, avec la position systématique suivante :

Tableau 02 : Taxonomie de l'espèce *Origanum Floribundum* Munby.

Règne	Plantes
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédone</i>
Sous classe	<i>Astériidae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Familles	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Floribundum</i>

II.2.4. Nom vernaculaire

Origanum floribundum Munby est connue dans le monde sous les noms suivant :

- En Français : origan ;
- En Arabe et en Kabyle : Zaâter (Merbah et Megrerouche, 2013).

II.2.5. Habitat

Le genre *Origanum* est originaire du Sud-Est méditerranée et de l'Asie occidentale. En Algérie, le genre *Origanum* est représenté par deux espèces spontanées phylogénétiquement proche *Origanum glandulosum*, endémique algero-tunisienne et *Origanum floribundum* Munby, endémique algérienne.

Origanum floribundum Munby est localisé dans le secteur Atlas Blidéen et le secteur de la grande kabylie (Merbah et Megrerouche, 2013).

II.2.6. Utilisation et propriétés thérapeutiques

Les espèces d'*Origanum* sont largement connue aussi comme herbe culinaire, pour assaisonner les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Bendahou et *al.*, 2008). L'origan est utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies en tant que substance antispasmodique, antimicrobiennes, expectorantes, antiseptique, antitussif, sédatif (Sahin et *al.*, 2004), anti-inflammatoire, diurétique et sudorifique, antalgique (Chikhoun, 2007), parasiticide, utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

C'est un bon stimulant de l'appareil digestif est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, provoque la menstruation, apaise les nerfs il est particulièrement utile dans diverse affections des voies respiratoire (la coqueluche, toux, fièvre et bronchite, d'asthme (Belyagoubi, 2006 ; Bendahou et *al.*, 2008). Il est aussi employée la plupart du temps pour traiter les plaies cutanées, pour soulager les muscles endoloris (Singletary, 2010).

CHAPITRE III

GÉNÉRALITÉS SUR *ASPERGILLUS NIGER*

III. Généralités sur *Aspergillus niger*

III.1. Définition

Aspergillus niger, est un champignon filamenteux de type moisissures anamorphes hyalins, cosmopolite, saprotrophe et pathogènes opportunistes, et présente une grande diversité dans son phénotype A (Abarca et *al.*, 2004 ; Andersen, 2011) Il est le champignon le plus commun qui cause la détérioration des aliments et la biodégradation des autres matériaux (Schuster et *al.*, 2002).

III.2. Position taxonomique

D'après Alexopoulos, (1979), la systématique d'*Aspergillus niger* est représentée dans le tableau suivant :

Tableau 3 : La position systématique de *Aspergillus niger* (Alexopoulos, 1979).

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

III.3. Ecologie

Aspergillus niger est plus répandu dans les climats chauds que ce soit sur le terrain et les aliments stockés. Les spores noires offrent apparemment une protection contre la lumière du soleil et irradiation UV, offrant un avantage concurrentiel dans de tels habitats.

Aspergillus est un champignon à croissance aérobie sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et la litière et sur le matériel végétal en décomposition et les fruits,

les noix, les céréales et les graines oléagineuses sont également des sources fréquentes. (Schuster et al., 2002 ; Pitt et Hocking, 2009).

Il peut également contaminer la viande et les œufs, entraînant une détérioration progressive; Même s'il est considéré comme un contaminant inoffensif omniprésent, *Aspergillus niger* peut dans des circonstances exceptionnelles, causer des maladies opportunistes chez l'homme (Heinemann, 2004).

III.4. Physiologie

Aspergillus niger est capable de croître dans un large spectre de températures minimales, 6– 8 °C, et maximales, 45–47 °C et optimale entre 35 et 37 °C, il peut survivre à 60 °C pour 60 minutes (Jesenska, 1993; Pitt et Hocking, 2009). *Aspergillus niger* est une xérophile nécessite un minimum d' a_w 0.77 et son limite d'activité de l'eau pour la croissance est de 0,88 ce qui est relativement élevé par rapport aux autres espèces de *Aspergillus*. Cette espèce est capable d'atteindre un pH de 2,0 (Schuster et al., 2002 ; Pitt et Hocking, 2009).

III.5. Caractères culturels et aspect macroscopique

Ces champignons présentent une croissance rapide sur milieu de Sabouraud additionné d'antibiotiques, avec un optimum thermique compris entre 25 et 30°C, mais il peut pousser jusqu'à 42°C, Après 24 à 48 h de culture, on observe des colonies plates, formées de courts filaments blancs (Chabasse et al., 2002).

C'est en effet avec la maturation des structures conidiogènes (48 à 96 h selon les espèces) que ces colonies vont prendre leur teinte caractéristique (Chabasse et al., 2002) au recto Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires, Le verso est incolore parfois diffusion d'un pigment jaune vif (Guillaume, 2006).

III.6. Aspect microscopique

La multiplication de cette espèce est végétative, il n'y a pas de reproduction sexuée connue, pas d'hyphes (Chabasse et al., 2002).

Les organes de fructification asexués sont constitués d'un conidiophore très long (1,5 à 3 mm) incolores ou jaunes à brunâtres lisse, parfois assez épaisse près d'une vésicule globuleuse (20 à 50 µm jusqu'à 100 µm) sur lequel sont insérés les phialides par l'intermédiaire des métules qui sont disposés sur tout le pourtour de la vésicule. Ces phialides sont productrices des spores ou des conidies rondes (2,5 à 5 µm), d'abord lisse puis rugueuses de couleur brun sombre

(Vanbreuseghem, 1978), Elles sont souvent disposé en chaîne, L'ensemble vésicule, phialides, métules et les spores constitue la « tête aspergillaire » qui prend un aspect radiée, bisériée de couleur noir à maturité (Chabasse et *al.*, 2002).

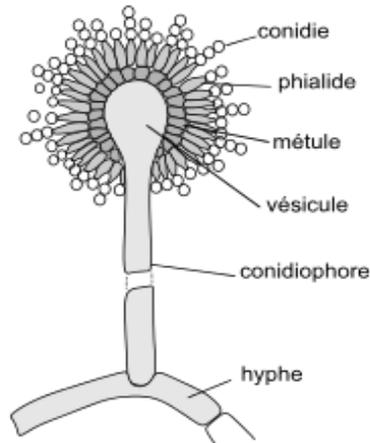


Figure 3 : Appareil reproducteur d'*Aspergillus niger* (Alexopoulos, 1979).

III.7. Pathogénicité

Aspergillus niger est généralement considéré comme un champignon non pathogène largement répandu dans la nature (Schuster et *al.*, 2002). La pénétration chez l'être humain s'effectue par inhalation en raison de la faible taille des spores 2–3 μm (Couturaud, 2004). C'est pourquoi qu'il est rencontré souvent comme simple contaminant dans les cavités naturelles de l'homme accessibles aux poussières, arbre broncho-pulmonaire en premier, en plus les conduits auditifs externe (Jacquemin et Jacquemin, 1980).

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE PRATIQUE

I. Matériel et Méthodes

I. Matériel

I.1 Matériel végétal

Les deux plantes qui ont été choisies dans cette étude sont endémiques et spontanées dans la Wilaya de Guelma. La première plante, *Lavandula stoechas* L. a été récoltée le mois de juin 2015 dans la région d'Ain Safra de Djebel Maouna, latitude: 36.403237, longitude: 7.387801, or la deuxième plante *Origanum floribundum* Munby., a été récoltée en juin 2015 dans la région de Djebel Haouara, latitude: 36.44436, longitude: 7.523108; par Dr Ksouri. Après échantillonnage, la partie aérienne (feuilles et sommités fleuries) ont été séchées par la suite à l'ombre dans un endroit sec, aéré et à la température ambiante.

I.2. Matériel fongique

Dans ce travail nous avons testés l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques sur 4 souches d'*Aspergillus niger* dont une est la souche de référence CTM10099 (origine : Centre de Biotechnologie de Sfax) et trois sont des isolats cliniques responsable des otomycoses humaines qui ont été diagnostiqués dans une enquête effectuée dans la région de Guelma. L'identification de ces souches est basée sur l'aspect macroscopique et microscopique de cette moisissure.

I.2. Méthodes

I.2.1. Extraction d'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger. Les différentes étapes d'extraction sont bien expliquées dans le schéma cité au dessous:

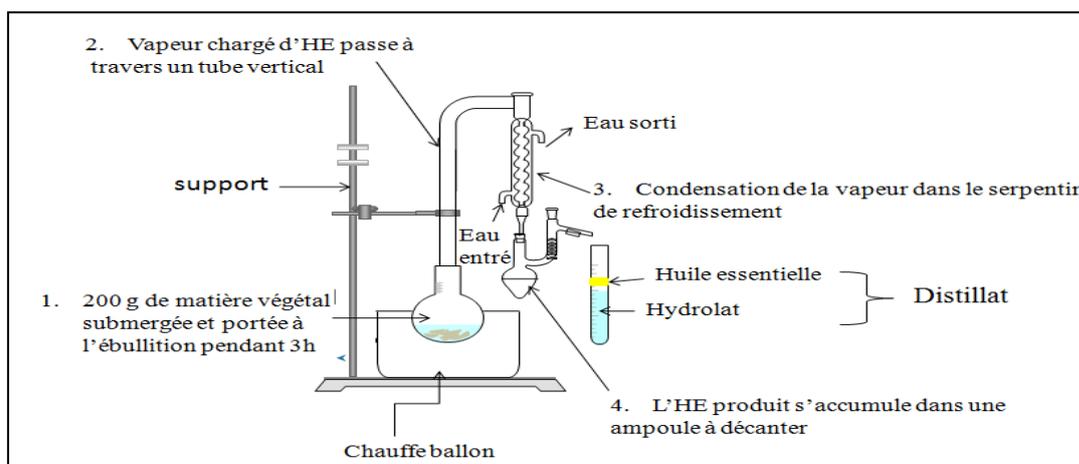


Figure 4 : Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger

L'huile essentielle ainsi récupérée a été stockée dans de petits flacons opaques et à une température de congélation (-18°C).

I.2.2. Détermination du rendement d'extraction

Par définition, le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids d'huile essentielle obtenue et le poids de la matière sèche de la plante étudiée (Afnor, 1986). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = P_{HE}/P_p \times 100$$

$R_{HE} (\%)$: pourcentage du rendement d'HE

P_{HE} : poids d'HE

P_p : poids de la plante

I.2.3. Evaluation de l'activité antifongique

Dans cette étude, trois techniques ont été réalisées pour détecter et évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles testées contre quelques souches d'*Aspergillus niger*. La méthode de diffusion sur gélose est la première technique qui a été réalisée afin d'évaluer les propriétés antifongiques des huiles essentielles testées dans la présente étude. La méthode de microdilution a été utilisée pour déterminer les valeurs de CMI (concentration minimale inhibitrice) et les valeurs de CMF (concentration minimale fongicide). La troisième technique a été choisie afin d'évaluer l'activité antifongique de la phase volatile de nos huiles essentielles, en déterminant ainsi les valeurs de CMI et de CMF de ces fumigeants.

Le dénombrement des spores fongiques sur la cellule de Malassez est une étape indispensable pour ajuster la concentration de l'inoculum suivant la taille de la suspension fongique recommandée dans les techniques qui ont été optées pour cette étude. L'ajustement de turbidité de la suspension fongique est bien détaillé dans la figure 5.

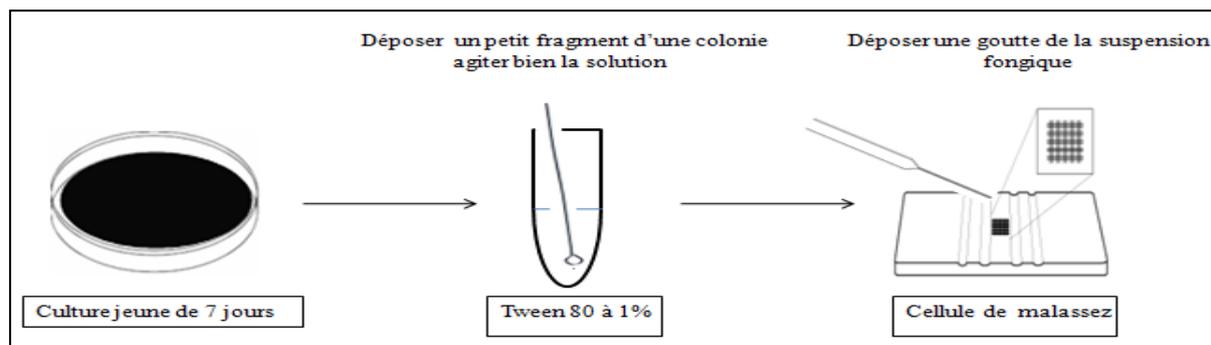


Figure 5: Comptage ou Numération de la suspension sporale de l'inoculum d'*Aspergillus niger*

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

Nous avons utilisés la technique M51-A qui est une technique standardisée et adaptée en 2010 par le CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute). La figure 6, récapitule toutes les étapes qui ont été suivies au laboratoire.

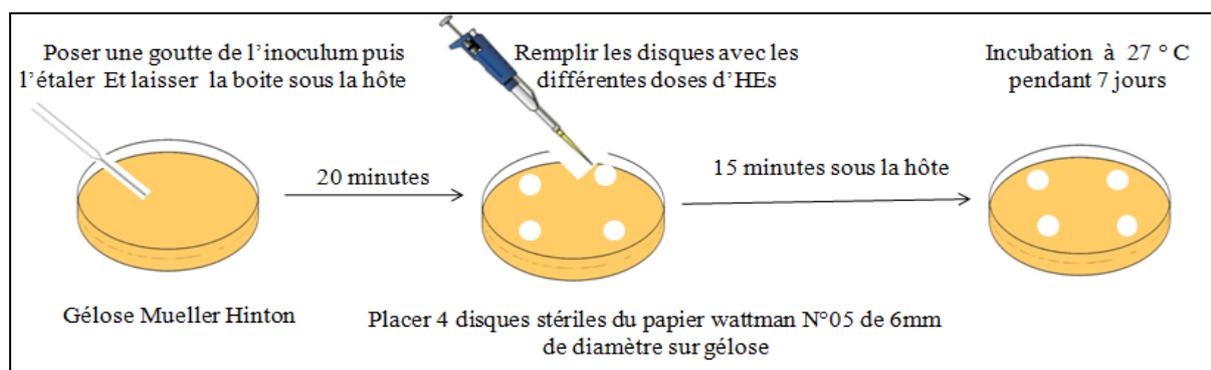


Figure 6: Diffusion sur gélose Mueller Hinton (Méthode des disques)

La lecture des résultats est assurée par mesure de deux diamètres perpendiculaire d'une zone d'inhibition, afin de déterminer la valeur moyenne de diamètre d'inhibition en millimètre.

b. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF) sur microplaque (méthode de micro dilution)

La technique M38-A, décrite par CLSI en 2008 a été opté comme technique d'évaluation de l'activité fongique des huiles essentielles étudiées. Cette technique, nous a permet de déterminer les différentes valeurs de CMI et de CMF des différentes souches d'*Aspergillus niger* qui ont été testées dans le présent travail. La figure 3, résume toutes les étapes qui ont été suivis au laboratoire.

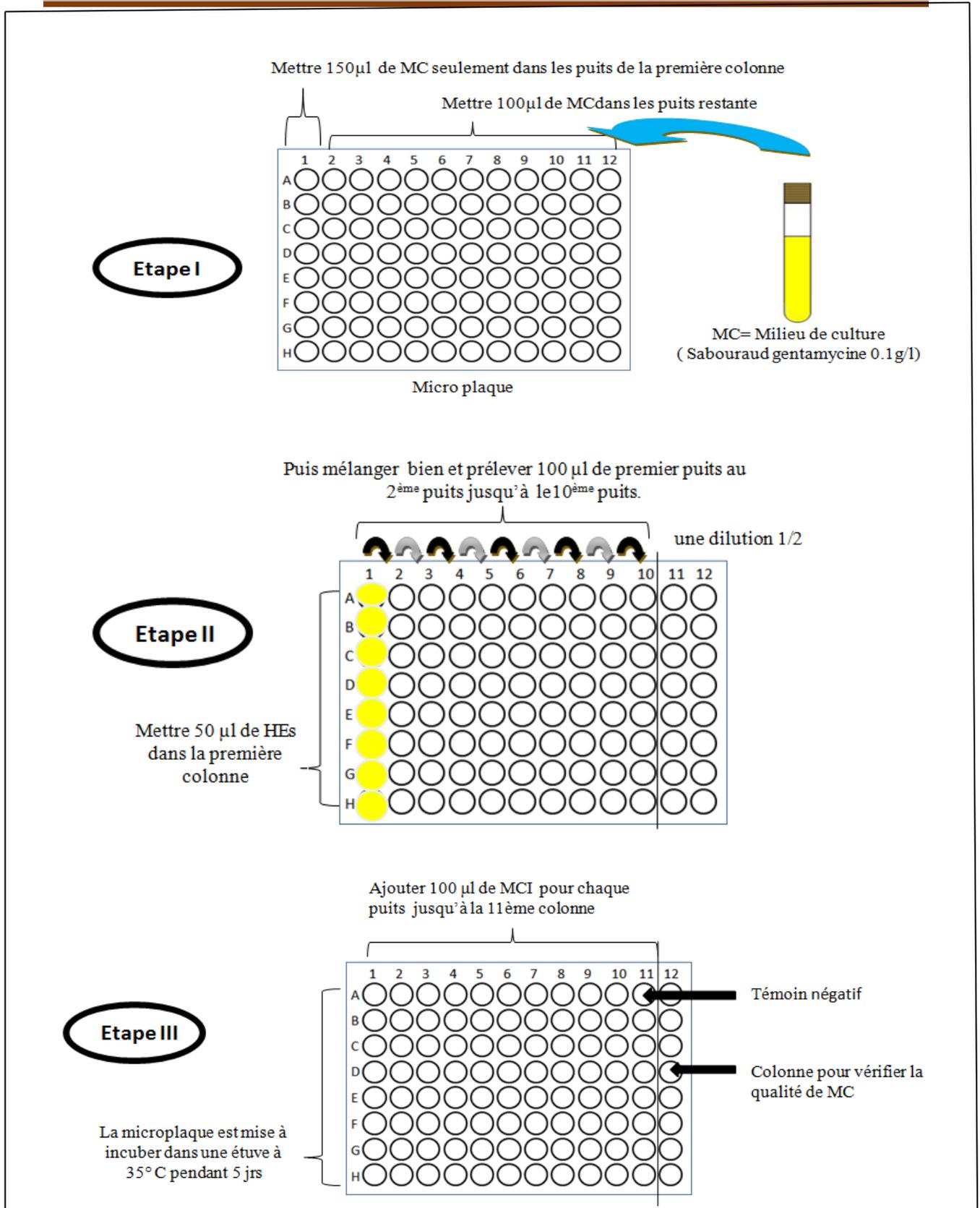


Figure 7: Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicide(CMF) sur microplaque (méthode de micro dilution)

La lecture des résultats est assurée par l'observation de la croissance fongique par transparence à une source de lumière afin d'observer l'enchevêtrement des filaments mycéliens dans chaque puits. Après la détermination de la valeur de CMI, nous avons déterminé la valeur de CMF par inoculation des puits qui ne présente pas une croissance fongique sur le milieu de Sabouraud. Les boîtes inoculées de ce milieu qui ne présente pas une croissance fongique est considéré comme la concentration des huiles essentielles qui tue le champignon ou CMF.

c. Méthode de micro atmosphère

C'est la méthode qui a été choisie pour évaluer l'activité inhibitrice de la croissance fongique des constituants volatiles des huiles essentielles étudiées. Les étapes qui ont été suivis dans cette technique sont bien résumées dans la figure 8.

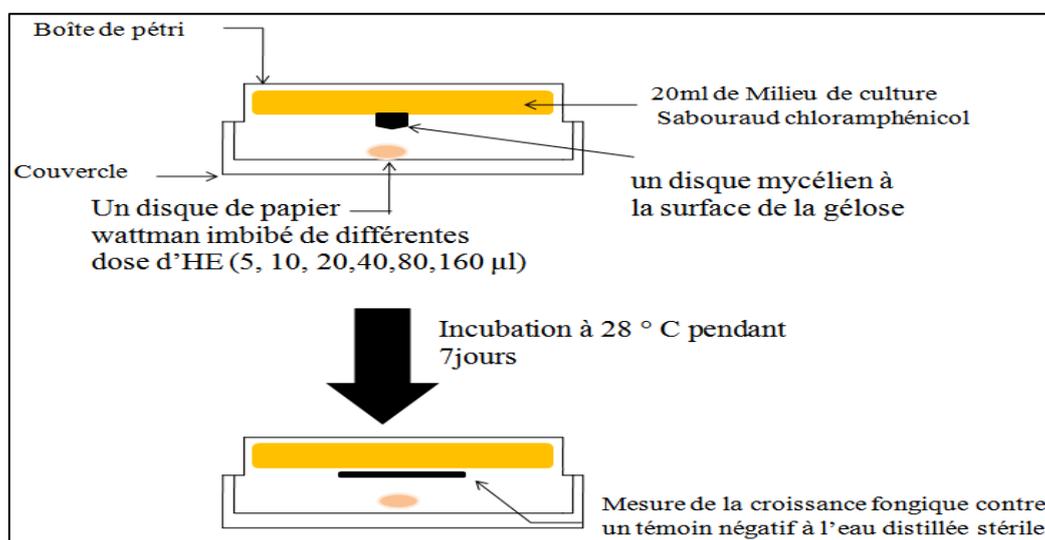


Figure 8 : Méthode de micro-atmosphère sur boîtes de Pétri

La lecture des résultats est assurée par la mesure de deux diamètres perpendiculaires passant par le centre de chaque boîte testée. Ces mesures, nous a permet de calculer la moyenne de diamètre d'inhibition et par la suite, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (I%) selon la formule de Pandey et *al.* (1982).

$$I(\%) = \frac{Dt - Di}{Dt} \times 100$$

Dt : est le diamètre en mm du témoin

Di : est le diamètre d'une culture traitée par l'huile essentielle

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

Ces analyses ont été déjà réalisées par Dr Ksouri S. en 2017. L'analyse des huiles essentielles 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 huiles essentielles 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

II.1. Paramètres organoleptique et rendement des huiles essentielles des deux plantes aromatiques

Sur les caractères organoleptiques de nos huiles essentielles obtenues par l'hydro distillation de deux plantes aromatique, nous avons collectés des informations qui concernent l'aspect, la couleur, l'odeur de ces essences et qui sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles testées.

HEs	Couleur	Odeur	Aspect
<i>Lavandula stoechas</i> L.	Jaune pale	Agréable odeur	Liquide limpide
<i>Origanum floribundum</i> Munby.	Jaune foncée	Persistantes odeur	Liquide limpide

Tableau 5 : Valeurs du rendement moyen des huiles essentielles des deux espèces Végétales.

Espèces	Pourcentage de rendement pour 100g de matière végétale séchée
<i>Lavandula stoechas</i> L.	2.10%
<i>Origanum floribundum</i> Munby.	1.3%

II.2. Résultats de l'analyse par GC-SM des huiles essentielles

Tableau 6 : Composition chimique des deux huiles essentielles étudiées.

N°.	Composant	KI	Teneur en %	
			LS	OF
1	Tricyclene	921	0.66	-
2	α -thujene	928	-	0.51
3	α -pinene	941	1.75	1,93
4	camphene	953	7.31	0.39
5	β -pinene	978	0.08	0.22
6	β -myrcene	992	-	3.57
7	α -terpinene	1015	0.10	1.37
8	p-cymene	1018	-	18.35
9	o-cymene	1026	-	3.53
10	dl-limonene	1030	2.13	-
11	β -ocimene	1040	-	0.07
12	γ -terpinene	1065	0.10	11.32
13	α -terpinolene	1088	-	0.32
14	α -thujone	1099	25.49	-

15	linalool L	1102	1.43	0.50
16	d-fenchyl alcohol	1139	6.85	-
17	l-camphor	1152	20.06	-
18	pinocarvone	1165	0.18	-
19	borneol L	1168	3.99	-
20	4-terpinenol	1178	0.83	-
21	p-cymene-8-ol	1182	0.94	-
22	myrtenal	1193	0.68	-
23	myrtenol	1195	0.56	-
24	verbenone	1205	0.88	-
25	fenchylacetate	1210	0.97	-
26	β -citronellol	1217	0,36	-
27	isobornylformate	1233	0,13	-
28	l-carvone	1241	0.51	-
29	carvacrol methyl ether	1244	0.96	-
30	l-bornyl acetate	1285	5.51	-
31	thymol	1286	-	2.04
32	carvacrol	1299	-	46.82
32	piperitenone	1339	-	1.18
33	α -cubebene	1351	0.09	-
34	(+)-cyclosativene	1362	0.25	-
35	copaene	1375	0.15	-
36	trans-caryophyllene	1418	0.11	2.00
37	caryophyllene	1454	-	0.21
38	α -curcumen	1482	-	0.15
39	germacrene-D	1485	0.11	-
40	ledene	1489	-	0.15
41	β -bisabolene	1506	0.03	0.41
42	α -amorphene	1511	-	0.06
43	Δ -cadinene	1524	-	-
44	β -sesquiphellandrene	1525	0.53	-
45	cadina-1,4-diene	1532	-	1.34
46	caryophyllene oxide	1582	0.13	-
47	veridiflorol	1587	0.48	0.54
48	caryophyllenol-I	1641	1.89	-
49	torreyol	1643	0.34	-
49	torreyol	1643	0.22	-
50	cadalin	1652	0.15	-

Identification des composants sur la base de la bibliothèque Wiley de la version 7.0 et des données de la bibliothèque : National Institute and Technology 05 MS (NIST). b KI: Indices de Kovats sur colonne capillaire HP-5MS. *Lavandula stoechas* L.. *Origanum floribundum* Munby..

II.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des deux plantes aromatiques

II.3.1. Evaluation de l'activité antifongique des deux huiles essentielles par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique de la souche N°1, 2 et 3 d'*Aspergillus niger* ainsi la souche de référence, qui ont été testées par différentes doses d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby. sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 1^{ère} souche d'*Aspergillus niger*

HEs	Dose (µl/disque)											
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
LS	00±00	11±1.41	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00
OF	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00

LS: *Lavandula stoechas* L.

OF: *Origanum floribundum* Munby.

D ≥ 84mm : Pas de croissance (fortement inhibitrice).

D = 00mm : Non inhibitrice (croissance complète).

L'observation de ces résultats, nous amènent à extraire les points suivants :

- Enregistrement d'une zone d'inhibition à la dose 10 µl/disque pour l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L..
- Par contre, la dose 5 µl/disque est inhibitrice pour l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby..
- Puis une inhibition complète de la croissance fongique dès la dose 20 µl/disque pour les deux huiles essentielles.

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 2^{ème} souche d'*Aspergillus niger*.

HEs	Dose (µl/disque)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
LS	00±00	12.75±0.35	38.5±00	12.25±17.32	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00
OF	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00

Ces données expérimentales de la 2^{ème} souche montrent :

- L'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. a présenté des zones d'inhibition modérées à partir de la dose 10µl/disque jusqu'à la dose 30 µl/disque puis une inhibition complète de la croissance fongique dès la dose 40 µl/disque.
- Aucune croissance fongique n'a été marquée pour toutes les doses de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby..

Tableau 9 : Diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles testées de la 3^{ème} souche d'*Aspergillus niger*.

HEs	Dose (µl/disque)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
LS	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00
OF	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00

- Cette souche a présenté une forte sensibilité vis-à-vis les deux huiles essentielles testées avec toutes les doses de 5 à 100 µl/disque.

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

HEs	Dose (µl/disque)										
	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
LS	00±00	9.75±13.87	00±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00
OF	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00	84±00

Il est évident que :

- Une inhibition complète de la croissance fongique avec toutes les doses de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby..
- celle de l'huile essentielle de lavande, nous notons une absence totale de la croissance fongique à partir de la dose 30 µl/disque.

NB :

Tous ces résultats tirés sur toutes les souches d'*Aspergillus niger* ont été comparés à un témoin négatif dont pour lequel on a observé un tapis mycélien sans inhibition de la croissance fongique.

II.3.2. Détermination des valeurs de CMI et CMF des huiles essentielles par la technique de micro dilution

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales fongicides des huiles essentielles de deux plantes aromatiques testées au cours de cette étude vis-à-vis les différents isolats cliniques d'*Aspergillus niger* et la souche de référence sont rapportées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby.

Les souches	CMI (µg/ml)		CMF (µg/ml)	
	HE de Lavande	HE d'origan	HE de Lavande	HE d'origan
CTM10099	28.12	0.45	28.12	0.45
N°1	14.52	0.45	58.12	0.45
N°2	14.52	0.45	232.5	0.45
N°3	28.12	0.45	58.12	0.45

D'après les résultats des bios tests sur milieu liquide, nous avons déterminés les valeurs de CMI ainsi les valeurs des CMFs. A propos des CMI enregistrés sur l'huile essentielle de lavande testées sur la souche de référence et les souches cliniques d'*Aspergillus*

niger sont entre 14.52 et 28.12 µg/ml. Ces valeurs sont inférieures par rapport à ceux des valeurs de CMFs qui se trouvent entre 28.12 et 232.5µg/ml.

Par ailleurs, les valeurs des CMI de l'huile essentielle d'origan pour toutes les souches d'*Aspergillus niger* sont très faibles par rapport à l'huile essentielle précédente avec une valeur de CMI de 0,45 µg/ml pour toutes les souches fongiques testées y compris la souche de référence. De même, d'après les résultats que nous avons enregistrés en laboratoire, cette valeur de CMI est considérée comme valeur de CMF pour toutes les souches testées.

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

II.3.3.1. Evaluation de la fongitoxicité de la phase volatile de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.

Le tableau ci-dessous rassemble les pourcentages d'inhibition de la croissance fongique des isolats cliniques et la souche de référence d'*Aspergillus niger* par la fraction volatile d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L..

Tableau 12: Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique des différentes souches d'*Aspergillus niger* testées par fumigation d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L..

Doses (µl/ml d'air)	Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique %			
	CTM10099	N°1	N°2	N°3
0.062	0%	0%	0%	0%
0.125	0%	0%	0%	0%
0.25	4.17%	5.29%	0%	0%
0.50	5.84%	10.17%	0%	0%
1	44.31%	7.78%	65.11%	2.40%
2	82.45%	72.35%	100%	89.5%

A la lecture de ces résultats, nous avons remarqués les points suivants :

- Les doses entre 0.062 et 0.50 µl/ml d'air d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L., sont des doses qui n'inhibent pas la croissance fongique selon les souches testées y compris la souche de référence d'*Aspergillus niger*.
- Par ailleurs, à la dose 0.25µl/ml pour la souche de référence et la souche N°1, cette huile essentielle commence à inhiber la croissance fongique. Pour les souches N°2 et N° 3, on observe une inhibition de la croissance mycélienne à partir de la dose 1 µl/ml.
- De plus, nous n'avons pas enregistré une inhibition totale de la croissance fongique de toutes les souches fongiques testées même avec la dose la plus élevée, à l'exception de la souche N° 2 (inhibition totale à la dose de 2 µl/ml atteignant les 100%).

II.3.3.2. Evaluation de la fongitoxicité de la phase volatile de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby.

Les résultats obtenus de l'activité antifongique des composés volatiles d'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby. Sur les différentes souches d'*Aspergillus niger* sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Pourcentage d'inhibition de la croissance des différentes souches d'*Aspergillus niger* testées par fumigation d'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby.

Doses (µl/ml d'air)	Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique %			
	CTM10099	N°1	N°2	N°3
0.062	100%	43.11%	8.92%	43.35%
0.125	100%	7.78%	3.57%	100%
0.25	100%	100%	86.30%	100%
0.50	100%	100%	90.47%	100%
1	100%	100%	89.28%	100%
2	100%	100%	100%	100%

Les résultats de la sensibilité d'*Aspergillus niger* vis-à-vis la fraction volatile de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby. montrent :

- Une inhibition complète de la croissance mycélienne de la souche de référence d'*Aspergillus niger* avec toutes les doses dont la plus faible est 0.062 µl/ml d'air.

- La phase volatile de cette huile essentielle a présenté aussi une inhibition complète de la croissance fongique des souches clinique d'*Aspergillus niger* à partir des concentrations variables entre 0.125 et 2 µl/ml d'air.

II.3.3.3. Détermination des valeurs de CMI et CMF de la phase volatile des huiles essentielles testées par la technique de micro atmosphère

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice et les valeurs de la concentration minimale fongicide de la phase volatile des huiles essentielles testées contre les différentes souches d'*Aspergillus niger* sont récapitulées dans le tableau suivant :

Tableau 14 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales fongicides (CMF) des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. et d'*Origanum floribundum* Munby. vis-à-vis *Aspergillus niger*.

Souches testées	CMI (µl/ml d'air)		CMF (µl/ml d'air)	
	HE de LS	HE d'OF	HE de LS	HE d'OF
CTM10099	ND	0.062	ND	0.5
N°1	ND	0.062	ND	0.25
N°2	2	0.125	ND	1
N°3	ND	1	ND	2

ND : non déterminé

Il paraît que la phase volatile de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. a une activité antifongique variable dont les valeurs des CMIs n'ont pas été déterminées pour la plupart des souches testées d'*Aspergillus niger* à l'exception de la souche N° 2 où on a enregistré une valeur de CMI de 2µl/ml d'air. De même, les valeurs des CMFs de cette même huile essentielle n'ont pas été déterminées.

En revanche, l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby. a présenté des valeurs des CMIs entre 0.062 jusqu'à 1µl/ml d'air. Les valeurs des CMFs de cette même huile sont à l'ordre de 0.25 et 2µl/ml d'air pour toutes les souches qui ont été servis pour cette étude.

III. Discussion

L'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques ; *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby. ont été évaluées dans la présente étude.

A l'issue de l'hydro distillation, l'huile essentielle obtenue de la partie aérienne de *Lavandula stoechas* L. (feuilles et sommités fleurés qui sont issues d'un stock des échantillons récolté en juillet 2015 dans la région d'Ain Safra de Djebel Maouna, Wilaya de Guelma), a assuré de calculer le rendement moyen en fonction de la matière végétale sèche.

Cette espèce de lavande a fourni un taux de rendement de 2.10% (w/w). Dans notre pays, Benabdelkader et *al.* (2011), ont montré que le rendement des huiles essentielles extraites à partir de 11 populations de *Lavandula stoechas* L. poussant à l'état sauvage dans les régions du Nord d'Algérie, varie entre 0.34% et 1.63%, ce qui est inférieur à notre rendement. De même, Dob et *al.* (2006) ont évalué 1.1% à partir des parties aériennes qui ont été recueillies près de Cherchel (nord-ouest de la région d'Alger), pendant la période de floraison (mai – juin 2001). De plus, nos résultats sont très proches de celui obtenu par Mohammedi et Atik (2011) qui ont estimés le rendement en huile essentielle de 2.01% sur des échantillons prélevées en 2010 de l'extrême ouest algérien. Dans les autres pays de grand Maghreb, le rendement moyen en huile essentielle de cette plante est relativement faible par rapport de ce qu'on a enregistré. En effet, Zrira et Benjilali, (2003) ont obtenu un rendement moyen qui varie de 0.92% à 1.42% sur ses échantillons collectées à partir de la communauté rurale de Sidi Allal El Bahraouide et Oulmès (Rabat), Maroc. Egalement, Bouzouita et *al.* (2005) ont enregistré un faible rendement de 0.77 % (w/w) à partir de même plante collecté en avril 2002 à Kairouan (Tunisie). Par contre, notre résultat est proche à celui de Bachiri et *al.* (2016) où ils ont enregistrées 2.5% comme rendement sur ses échantillons de différentes régions du Maroc au plateau central « Oulmès ».

A travers le monde, le rendement qui a été enregistré par plusieurs auteurs est inférieur de ce qui a été enregistré dans le présent travail. En effet, Christos (2010) à partir de la même plante sur des échantillons effectués du Chalkidiki (Nord du Grèce), a trouvé un faible rendement qui varie entre 0.06% et 1.46%. De plus, Gören et *al.* (2002) ont obtenu un rendement 1.33% a partir d'un échantillon collecté au Ayvalık-Cunda en Mai 2011, de la Turquie qui apparait faible à la notre.

Les échantillons d'*Origanum floribundum* Munby. Collectés en juin 2015 de Djebel Haouara (wilaya de Guelma), nous ont permis de calculer le rendement moyen en huile

essentielle en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante avec 1.3 % (w/w). Cette valeur est proche par rapport à celui obtenu par Ksouri (2017) à partir de cette même plante récoltée en juin 2010 sur le même site, avec une valeur de rendement moyen de 1.68%. Par ailleurs, nos résultats apparaissent très similaires à ce qui a été enregistré par Brada et al. (2012) sur des échantillons prélevés en 2011 de Khemis-Miliana de la région d'Ain-Defla où ils ont enregistré un rendement de 1.6 %. En revanche, les échantillons de cette même plante qui ont été collectés au parc national de Chrea (Blida) par Baser et al. (2000), ont assurés un rendement moyen très faible 0.66 % par rapport à ce qu'on a enregistré. Tandis que Hazzit et Baali ouamer, (2009), ont obtenus un rendement très supérieur de la notre (2.0% pour les feuilles et de 5.4% pour les inflorescences).

Ces différences de rendement en huile essentielle peuvent être attribuées aux facteurs biotiques et abiotiques incontrôlés ou aux différences génétiques inhérentes. En général, la teneur en huiles essentielles dépend du moment de la récolte, par exemple les sommités fleuries et les feuilles doivent être récoltées avant la floraison (Fluck, 1942), car selon Salle et Pelletier, (1991), après la floraison, 70% des huiles essentielles s'évaporent dans l'air par contre la plante entière est généralement récoltée pendant la floraison.

L'analyse de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, a permis d'identifier 37 composés, représentant 86.94 % d'huile essentielle. Le chémotype de l'huile essentielle de cette plante est l' α -thujone. Il semble que la composition chimique de cette huile essentielle est diversifiée et dominée par dix principaux composés : α -thujone (25.49%), camphor (20.06%), camphène (7.31%), D-fenchyl alcool (6.85%), l-bornyl acetate (5.51%), borneol L (3.99%), dl-limonène (2.13%), veridiflorol (1.89%), α -pinène (1.75 %) et linalool L (1.43%).

Ils paraissent que les résultats de la composition chimique sont discordants avec les résultats de Amara et al. (2017) sur ses huiles essentielles qui ont été fournis en juin 2015 par la société Ziphee.Bio, sise à Lakhdaria (Bouira, Algérie), dont le Fenchone (39.2 %) est considéré comme composé majoritaire, suivi par le camphre (18 %), 1,8-cinéole (17.6 %), Bornéol acétate (3.9%), Veridiflorol (2.1%) et α -pinène (1.1%). Cependant, les huiles essentielles des échantillons de 11 populations algériennes prélevés en 2010 dans la région nord-centre de 8 wilaya de notre pays (Skikada, Jijel, Médéa, Ain Defla, Chlef, Bouira, Blida et Boumerdes) qui ont été réalisés par Benabdelkader et al. (2011), ayant abouti à l'identification de 121 composés dont le profil chimique est dominé par : Fenchone (11.27% à 37.48%), Camphor (1.94% à 21.8%), 1,8-Cineol (0.16% à 8.71%), Viridiflorol (2.89% à

7.38%), trans-Verbenol (0.03% à 2.33%), m-Cymen-8-ol (0.11% à 3.21%), p-Cymen-8-ol (0.18% à 2.14%), Verbenone (0.9% à 2.67%), Bornyl acetate (0.46 à 4.0%) et Myrtenyl acetate (0.61% à 2.54%). De même, Dob et al. (2006) au Cherchel, ont enregistré dans la composition chimique de l'huile essentielle de cette même plante comme composant principal le fenchone (31.6%) suivis par : camphre (22.4%), p-cymène (6.5%), acétate de lavandulyl (3%) et α -pinène (1%).

Cette variation de la composition chimique de cette huile essentielle a été notée également par Mokhtarzadeh et al. (2019) en Turquie où ils ont obtenus 22 composés identifiés qui représente (95,9%) de l'échantillon dont les composés majoritaires sont le camphor (38.5%), bornyl acetate (10.6%), α -fenchone (8.9%), 1,8-Cineole (4.3%), α -Pinene (4.0%). Bouyahya et al. (2017) ont signalé que l'huile essentielle du Nord-ouest du Maroc dominé par cinq composés majeurs fenchone (31.81%), camphor (29.60%), terpineol (13.14%), menthone (8.96%) et eucalyptol (5.88%). Dans une autre étude sur l'huile de *Lavandula stoechas* L. Bouzouita et al. (2005) à Kairouan (Tunisie) ont évoqué la présence de 28 composants identifiés correspondent à 96.6% de l'huile essentielle totale, les principaux composants étant le fenchone (68.2%), le camphre (11.2%) et un mélange de 8 cinéolimonène (4.9%), α -fenchol (1.9%), viridiflorol (1.4%), bornyl acetate (1.4%). Cependant Angioni et al. (2006) ont montré que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* en Italy contient des composés différents de nos constituants comme suit : fenchone (72.97 à 59.48%), camphor (15.36 à 9.25%), myrtenyl acetate (5.02 à 3.69%), α -pinene (2.96 à 0.69%), camphene (2.75 à 2.02%), borneol (1.59 à 0.68%), myrtenal (1.42 à 0.80%) et limonene (1.10 à 0.91%). D'après les analyses de la composition chimiques de cette huile essentielle à travers beaucoup d'études réalisées dans le monde, on constate que les chémotypes les plus répandue sont le fenchone ou le camphor, et on ne néglige pas aussi la grande variabilité des composés volatiles majoritaires et minoritaires qui peuvent refléter des différences environnementales.

L'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby. a révélé la présence de 23 composants chimiques représentant 96.83% d'huile essentielle, dont les majeurs composés sont : carvacrol (46.82%), p-cymene (18.35%), γ -terpinène (11.32%), β -myrcene (3.57), o-cymene (3.53%), thymol (2.04%) et trans-caryophyllene (2%). Ces résultats prouvent que le chémotype de cette plante est le carvacrol. Dans une étude antérieure réalisée par Ksouri et al. (2017) sur cette même espèce végétale, échantillonnée du même site en juin 2010, où ils ont enregistré des résultats toute a fait différente de ce qu'on a trouvé dans le présent travail. Ces

auteurs ont consigné la présence de 21 composés identifiés et représentant 100 % de l'huile essentielle, dont les majeurs sont par ordre décroissant, le thymol (50.47%), le paracymène (24.22%), γ -terpinène (11.27%) et le carvacrol (4.68%). Cependant, l'huile essentielle de la région Chrea (Blida) a présenté le même chémotype mais les proportions sont différentes carvacrol (29.6%), γ -terpinène (13.7%), carvacrol méthyl ether (6.9%), linalool (3.8%) et α -thujène (3.7%) (Hazzit et al., 2006). Par contre, l'échantillon de cette même espèce provenant du site de Kadiria (80 km à l'est Alger) a montré un taux de carvacrol très faible (3.2 à 5.8 %), avec un taux très élevé de thymol et γ -terpinène (34.4 à 41.2%), (17.3 à 24.3%) (Hazzit et Baali ouamer, 2009). L'échantillon du même site Kadiria a montré une prédominance de (γ -Terpinène + p-Cymène) (19.9% et 15.5 %) respectivement (Kerbouche et al., 2015). En revanche, une similitude a été notée avec les résultats de Houmani et al. (2002) qui ont identifié le carvacrol (35.0%), p-cymène (31.3%) et thymol (9.9%) comme composants majeurs en Blida. Cependant, l'huile essentielle d'*Origanum floribundum* Munby. provenant de Chrea (Blida) a montré respectivement des taux en monoterpénoïdes (90.82%) et sesquiterpénoïdes (7.88%) avec prédominance du carvacrol (40%), le linalool était présent dans l'huile essentielle de Chrea à un taux de (16.1%) (Baser et al., 2000), ce composé n'a pas été identifié dans notre échantillon même à l'état de traces. De plus, l'échantillon de cette même espèce provenant du site de Khemis-Miliana de la région d'Ain-Defla, a montré un taux de phénols (thymol + carvacrol) faible (10.40%) avec un taux très élevé de leurs précurseurs correspondants (γ -terpinène + p-cymène) (61.70%) (Brada et al., 2012). Par ailleurs, Calzolari et al. (1968) dans son étude sur les huiles essentielles d'*Origanum floribundum* Munby. Collectés d'Espagne, ont noté la prédominance du thymol (18.3 %) et la présence de γ -terpinène (23%) et le p-cymène (12.6 %).

Trois techniques ont été réalisées pour évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques, *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby. Les résultats obtenus sont variables selon la composition chimique des huiles essentielles et la sensibilité des souches testées d'*Aspergillus niger*.

Concernant les résultats de la technique de contact direct dans un milieu liquide ou technique de microdilution, on constate que l'efficacité antifongique des deux huiles essentielles a révélé une inhibition importante de la croissance fongique des différentes souches cliniques d'*Aspergillus niger* responsable d'otomycoses ainsi la souche de référence.

Dans cette étude, par le biais de cette technique, les valeurs qui ont été enregistrées des concentrations minimales inhibitrices de la croissance d'*Aspergillus niger* sont entre 0.45 et 28.12 µg/ml pour la lavande et 0.45 µg/ml pour l'origan. Malheureusement, il n'y a pas beaucoup d'études dans la littérature sur l'évaluation de l'activité antifongique d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. et d'*Origanum floribundum* Munby., sur *Aspergillus niger*, sauf que celle d'Athamnia et al. (2018), qui ont testé les huiles essentielles de *Thymus capitatus* L. et de *Rosmarinus officinalis* L. dont les composés majoritaires sont (carvacrol, p-cymène, γ -terpinène, m-thymol, β -myrcène et α -terpinène), (1,8-cineole, l-camphor, α -pinène, borneol L et camphène) respectivement. Ces auteurs ont enregistré des valeurs de CMI entre 0.11 à 1.02 µg/ml pour le thym et 0.30 et 4.96 µg/ml pour le romarin. Ces résultats illustrent bien la différence de l'intensité du pouvoir antifongique des huiles essentielles testées. Ils nous paraient utile de suggérer la capacité antifongique quelle présente respectivement des huiles essentielles testées de thym, origan, romarin par rapport de la lavande.

A travers le monde, Zuzarte et al. (2011) ont été testés l'huile essentielle de *Lavandula viridis* avec une composition chimique similaire à notre huile dont les constituants majeurs sont 1,8-cineole 42.2 %, camphor 4 %, α -pinène 9.0 % et linalool 7.9 %. Ces auteurs ont montrés que cette huile essentielle est douée d'une activité inhibitrice de la croissance d'*Aspergillus niger* à la concentration de 2.32 µg/ml. Cette valeur est très inférieure à celle qui est marquée dans notre étude, ce qui indique que l'huile de *Lavandula viridis* est plus active que celui de *Lavandula stoechas* L..

De même, dans une autre étude qui a été portée sur cette espèce fongique mais elle est testée par l'huile essentielle de *Lavandula vera* à chémotype linalool (41.9%) où ils ont enregistré un pouvoir antifongique important avec une valeur de CMI de 0.93 µg/ml (Tullio et al., 2006).

De plus, Ebani et al. (2017) ont étudié la sensibilité des souches cliniques d'*Aspergillus niger* vis-à-vis certaines huiles essentielles d'*Ocimum basilicum*, *Salvia sclarea*, *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula hybrida* dont leur composition chimique est très proche à celle de ce qu'on a consigné sur l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. comme se suit : linalool (31.5%), camphor (7.3%) pour *Lavandula hybrida*, linalool (46%), 1,8 cineol (5.9%) pour *Ocimum basilicum*, Z-8 hydroxylinalool (15.8%), linalool (8.1%) pour *Salvia sclarea*, α -pinène (37.9%), camphor (7.6%) pour *Rosmarinus officinalis*. Ces auteurs ont montrés que ces huiles essentielles présentent une excellente propriété antifongique contre *Aspergillus*

niger avec des valeurs de CMI allons de 0.29 à 2.23 µg/ml qui sont très supérieures des CMI enregistrés sur notre huile essentielle de *Lavandula stoechas* L.

En revanche, lorsqu'on compare nos résultats avec ceux de ce qui a été enregistré par Laïb, (2011) sur l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* testée contre *Aspergillus niger* avec une composition chimique dominée principalement par le camphor (11.25%) et Linalool (10.68%), on trouve que la valeur de CMI enregistré par ces auteurs est 1000µg/ml. Il nous paraît que cette huile est très moins active que notre huile essentielle testée dans ce travail.

Par ailleurs, Ebani et *al.* (2017) ont testés in vitro l'huile essentielle d'une espèce d'origan proche de notre espèce végétale qui est *Origanum vulgare*. Ces auteurs ont noté à travers de son étude, des valeurs de CMI très proche de ce qui a été enregistré dans la présente étude qui allons de 0.19 à 0.56 µg/ml.

D'autre part, Bouddine et *al.* (2012) ont obtenus une valeur commune entre CMI et CMF (0.05 µg/ml) de l'huile essentielle d'*Origanum compactum*, contenant (35%) de carvacrol et (25%) de thymol contre *Aspergillus niger*. Cette valeur est très faible par rapport à nos résultats.

D'après les valeurs des CMI obtenus par la méthode de micro dilution, on peut évaluer le pouvoir antifongique des deux huiles essentielles que nous avons testées dans le présent travail par le retour au barème qui a été décrit par Aliannis et *al.* (2001). Ces auteurs ont préconisés de classer les extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI 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.**

Ce barème nous a permis d'affirmer que les huiles essentielles des deux plantes aromatiques spontanés dans notre région ; *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby., possèdent une forte inhibition vis-à-vis toute les souches d'*Aspergillus niger* y compris la souche de référence car, ces essences ont enregistrés des valeurs de CMI très inférieure à 500 µg/ml entre 0.45 et 58.12 µg/ml.

A propos de la technique d'évaluation de phase volatile des huiles essentielles ou la méthode de fumigation (micro atmosphère), les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité inhibitrice de la croissance fongique d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. prouvent

que cette huile essentielle présente un grand pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger*, mais il arrive à inhiber totalement la croissance mycélienne de cette espèce fongique redoutable uniquement pour une seule souche avec notre dose maximale (2µl/ml d'air). Par contre, le fumigeant de la seconde huile essentielle qui a été choisie dans cette étude, a présenté une propriété inhibitrice importante de la croissance fongique d'*Aspergillus niger* jusqu'à l'inhibition de germination des spores fongiques avec de différentes doses de 0.062 jusqu'à 2µl/ml d'air. De plus, l'exposition au fumigeant de l'huile essentielle d'origan aux doses 0.25 à 2µl/ml d'air a bloqué totalement la capacité de germination des spores fongiques car, après repiquage des disques mycéliens exposés au fumigeant d'origan, n'aboutit pas à une croissance même minime. Donc la phase volatile de cette huile essentielle atteint un niveau létal de l'inhibition de la croissance fongique. Contrairement, le fumigeant de l'huile essentielle de la lavande, n'arrive pas à assurer ce niveau de pouvoir antifongique même avec les doses maximales qui ont été testées au cours de ce travail.

Par comparaison des valeurs de CMI qui ont été enregistrées dans notre étude sur la phase volatile de deux huiles essentielles testées par rapport de ce qui a été trouvé à travers le monde, nous amènent à les comparer avec d'autres études qui ont été portées sur d'autres espèces végétales ou d'autres espèces fongiques, car dans la littérature, nous n'avons trouvés aucune trace bibliographique qui mentionne l'évaluation de l'activité antifongique des fumigeants de nos huiles essentielles contre *Aspergillus niger*. Dans l'étude d'Athamnia et al. (2018), où ils ont testé l'activité antifongique des phases volatiles de deux huiles essentielles de *Thymus capitatus* L. et *Rosmarinus officinalis* L.. Ces auteurs suggèrent que le fumigeants de ces deux huiles essentielles n'arrivent pas à inhiber totalement la croissance mycélienne d'*Aspergillus niger* (inhibition de la croissance fongique jusqu'à 88.88% avec la dose la plus élevée qui a été testée dans son étude). Ces résultats nous amènent à penser que le fumigeants de nos huiles essentielles surtout celle d'origan, sont plus inhibitrice et fongicide que les fumigeants de thym et de romarin.

Dans une autre étude réalisée par Bachiri et al. (2017) qui a porté sur l'huile essentielle de *Lavandula dentata* et *Lavandula pedunculata* contre *Aspergillus brasiliensis*, où ils ont révélés une efficacité moyenne sur la croissance de ce champignon même à des concentrations élevés de ces essences jusqu'à 0,5µl/ml d'air.

Pušárová et al. (2017), ont étudié l'effet de *Lavandula augustifolia* vis-à-vis *Aspergillus fumigatus*, dans cette étude les valeurs de CMI qui ont été trouvés atteignent la dose

0.075ml/d'air qui reste inférieure de la mienne. De même, ces auteurs ont trouvé que l'huile essentielle de *Origanum vulgare* qui est testée sur *Aspergillus fumigatus*, a présenté une valeur de CMI 0.075µl/ml d'air, cette valeur est proche à celle de ce qui a été enregistrée avec notre huile essentielle d'origan. Sur une autre espèce de genre *Origanum*, l'huile essentielle d'*Origanum hypericifolium* a été testée par Ocak et al. (2012) contre *Aspergillus niger* dont sa composition chimique est représentée essentiellement du p-cymène (34,33%), carvacrol (21.76%) et thymol (19.54%). Ces auteurs ont démontrés que la dose de 0.25µl/ml d'air d'huile essentielle a présenté une inhibition complète qui apparait proche par rapport à la valeur obtenue avec l'huile essentielle de nos échantillons d'origan. De plus, Bouddine et al. (2012) ont évalué le pouvoir antifongique d'huile essentielle de *Origanum compactum* sur *Aspergillus niger* qui est constitué chimiquement de carvacrol (35%) et thymol (25%) où ils ont trouvé que la concentration 0.125 µl/ml d'air est suffisante pour inhiber la croissance de ce champignon filamenteux. Cette dernière valeur est presque identique de ceux des valeurs observées sur notre huile essentielle d'origan.

Par définition, les huiles essentielles sont un mélange complexe de plusieurs composants, donc il est difficile d'attribuer leur activité biologique à un constituant particulier, généralement, les composants majoritaires sont responsables de la propriété recherché (Bakkali et al., 2008). Certes, nos analyses chromatographiques ont permis d'identifier 23 composants chimiques de l'huile essentielle d'origan avec une prédominance du carvacrol, c'est pourquoi la fongitoxicité de cette huile est probablement liée à sa teneur très élevé en carvacrol (plus de trois quarts de la composition chimique). Cette constatation, a été déjà prouvée par plusieurs auteurs notamment : Daouk et al. (1995), Guarda et al. (2011) et Zabka et Pavela, (2013).

Selon des études réalisées par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1999), le thymol (analogue au carvacrol) possède une activité intéressante contre nombreuse espèces fongiques. Ainsi que, selon Thompson (1989), Pinto et al. (2006), Baser (2008), Koroch (2007), Abbaszadeh et al. (2014) et Corliss et al. (2015), le thymol et le carvacrol avaient une forte activité antimicrobienne y compris les champignons pathogènes. De plus, Sokovic et al. (2002) et Marković et al. (2011), ont estimé que le carvacrol a un très haut potentiel antifongique avec très faible CMI et CMF que les antifongiques conventionnels comme le miconazole et streptomycin.

Généralement les huiles essentielles en particulier celles riches en composés phénoliques comme l'huile d'origan, ont le potentiel de modifier à la fois la perméabilité et la

fonction des protéines de la membrane cellulaire en pénétrant dans la couche de phospholipides de la paroi cellulaire, se liant aux protéines et bloquant leurs fonctions normales (Sakkas et Papadopoulou, 2017). De plus, comme ceci prouvé dans l'étude de Lambert et *al.* (2001) que le thymol se lie aux protéines membranaires et fait augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire.

A propos de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L., les analyses de la composition chimique ont révélé que camphor, linalool, borneol L, α -thujone et α -pinene sont les composés majoritaires. Chu et kemper, (2001) signalent que l' α -pinène est responsable de l'activité antifongique d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L., ainsi que linalool est connu par ses propriétés contre les champignons d'après Svoboda et Hampson (1999). Dans une autre étude, le linalool et le camphor ont rassuré une grande efficacité (Dorman et Deans, 2000).

Le mécanisme d'action des constituants chimiques de nos huiles essentielles, se déroule comme ils ont démontré Inouye et *al.* (2006) sur les monoterpènes. Ces auteurs, expliquent que les composés monoterpéniques provoquent des dommages à la membrane et la lyse des cellules fongiques, même à la phase vapeur.

Sur les deux huiles essentielles testées, nous avons détecté 30/37 et 16/23 composés minoritaires pour la lavande et l'origan respectivement. Il est évident que ces composés minoritaires agissent de manière synergique avec ceux des composés majoritaires. De cette manière, la valeur thérapeutique d'une huile essentielle tient à son totum, c'est à dire dans l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (Lahlou, 2004). C'est pourquoi, l'évaluation de la contribution individuelle des principaux composants comme le camphre, linalool, γ -terpinène et α -fenchone, n'a montré aucune activité antimicrobienne significative (Khoury et *al.*, 2016).

En fin, un autre paramètre important déterminant l'activité antifongique des huiles essentielles est décrit, qui est le type des microorganismes. Car la sensibilité des souches testées de la même espèce *Aspergillus niger*, est toute a fait différente. Cela revient probablement aux caractères génotypiques de chaque souches, mais aussi, il est nécessaire de savoir que plus le pouvoir pathogène des espèces augmente, plus sa résistance aux substances actives augmente aussi (Shokri, 2014).

IV. Conclusion

Notre travail est une contribution à l'étude de l'évaluation antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Lavandula stoechas* L et *Origanum floribundum* Munby. largement répandue en Algérie.

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, ont fourni un bon rendement sur tout pour celui de *Lavandula stoechas* 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 l'huile essentielle de *Origanum floribundum* Munby. à chémotype carvacrol, a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis des isolats cliniques d'une moisissure pathogène responsable d'infection auriculaire chez l'homme dans la région de Guelma .De même que l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. à chémotype α -thujene a montré un pouvoir antifongique non négligeable.

Ainsi, le potentiel antifongique de la fraction volatile des huiles essentielles testé a révélé une excellente activité pour l'huile essentielle de *Origanum floribundum* Munby et pour celui de *Lavandula stoechas* L. les résultats restent importante.

L'activité antifongique des huiles essentielles est attribuée à la richesse de ces huiles en composés biochimiques actifs.

En fin, nous pouvons conclure que les huiles essentielles testées dans le présent travail constituent une source fiable des alternatives des produits fongicides conventionnels surtout contre *Aspergillus niger*.

En perspective, il serait très intéressant de réaliser des études plus approfondie sur les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L et *Origanum floribundum* Munby. en faisant :

- Etude « in vivo » pour estimer leur l'efficacité contre *Aspergillus niger*, chez des patients ayants soufferts d'une otite clinique.
- Etude pour évaluer leur toxicité autant que substance curative.
- Production des médicaments à base des huiles essentielles comme molécules bioactifs.
- L'exploitation des huiles essentielles dans plusieurs domaines.
- Faire des synergies avec d'autre huile essentielle/végétal.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abarca M.L., Accensi F., Cano J. & Cabanes F.J. 2004. Taxonomy and significance of black aspergilli. *Antonie Van Leeuwenhoek* 86, 33–49.
<http://dx.doi.org/10.1023/B:ANTO.0000024907.85688.05>
2. Abbaszadeh S., Sharifzadeh A., Shokri H., Khosravi A.R. & Abbaszadeh A. 2014. Antifungal efficacy of thymol, carvacrol, eugenol and menthol as alternative agents to control the growth of food-relevant fungi. *Mycologie Médicale.*, 459:6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.01.063>
3. Allaby M., 1992. *The Concise Oxford Dictionary of Botany*. Oxford University Press. In Bouchikhi.T.Z.2011.
4. Alexopoulos C.J. & Mims C.W. 1979. *Introductory Mycology*. : 1-613.
5. Aligiannis N., Kalpoutzakis E., Mitaku S. & Chinou I.B. 2001. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Origanum Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 49: 4168-4170.
6. Amara N., Boukhatem M.N., Ferhat M.A., Kaibouche N., Laissaoui O. & Boufridi A. 2017. Applications potentielles de l’huile essentielle de lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.) comme conservateur alimentaire naturel. *Phytothérapie.*, 1–9.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10298-017-1158-4>
7. Amvam Zollo P.H., Biyiti L., Tchoumboungang F., Menu CG., Lamaty & Bouche P.1998. Aromatic plants of tropical central Africa. XXXII -Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroon. *Journal Flavour Fragrance.*, 13 : 107-114.
8. Andersen M.R., Salazar M.P., Schaap P.J., van de Vondervoort P.J., Culley D. & Thykaer J., et al. 2011. Comparative genomics of citric-acid-producing *Aspergillus niger* ATCC 1015 versus enzyme-producing CBS 513.88. *Cold Spring Harbor Laboratory Press*. 21:885–897.
<http://dx.doi.org/10.1101/gr.112169.110>
9. Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S. & Cabras P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 54: 4364-4370.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf0603329>
10. Association Française de Normalisation, 1986, Recueil de normes Françaises “Huiles essentielles”, AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.

11. Athamnia I., Djaibet C. & Zaghdoudi G. 2018. 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*. Mémoire de Master. Université de Guelma. 38p.
12. Bachiri L., Bammou M., Echchegadda G., Ibijbijen J., El Rhaffari L., Haloui. Z. & Nassiri L. 2016. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux espèces de lavande: *Lavandula dentata* SPP. *Dentata* et *Lavandula pedunculata* SPP. *Pedunculata*. *Phytothérapie.*, 13 :1-9.
<http://dx.doi.org/10.19044/esj.2017.v13n21p293>
13. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Zhiri A. & Idaomar M. 2005. Cytotoxicity and gene induction by some EOs in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research.*, 585:1–13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.03.013>.
14. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oil. *Food and chemical toxicology.*, 46:466-475.
<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.fct.2007.09.106>
15. Barlier L. 2014. Etat des lieux de l'utilisation des huiles essentielles au CHU d'Angers (de 2000 à 2013). Th. Doc. D'Angers.
16. Basak S. & Guha P. 2018. A review on antifungal activity and mode of action of essential oils and their delivery as nano-sized oil droplets in food system. *Journal of Food Science Technology.*, 12: 4701–4710.
<http://dx.doi.org/10.1007/s13197-018-3394-5>
17. Baser K.H.C., Kürkçüoğlu M., Houmani Z. & Abed L. 2000. Composition of the Essential Oil of *Origanum floribundum* Munby. from Algeria, *Journal of Essential Oil Research.*, 12: 753-756.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712208>
18. Baser K.H.C. 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Current pharmaceutical design.*, 14:3 106-3119.
19. Baysal T. & Starmans D.A.J. 1999. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone and Linalene from Caraway Seeds. *Journal of Supercritical Fluids.* 14: 225-234.
[https://doi.org/10.1016/S0896-8446\(98\)00099-0](https://doi.org/10.1016/S0896-8446(98)00099-0)
20. Belyagoubi L. 2006. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures des détériorations des céréales .Th. Mag. Abou Bekr Belkaid.

21. Bendahou M., Muselli A., Dubois M.G., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F. & Costa J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry.*, 106: 132-139.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.050>
22. Benabelkader T., Zitouni A., Guitton Y., Jullien F., Maitre D., Legendre L. & Kamelie A. 2011. Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. *Chemistry & Biodiversity.*, 8:937-953.
<https://doi.org/10.1002/cbdv.201000301>
23. Benabelkader T. 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Th. Doc. Université Jean Monnet.
24. Besombes C., Berka-Zougali B. & Allaf K. 2010. Instant controlled pressure drop extraction of lavandin essential oils: Fundamentals and experimental studies. *Journal of Chromatography A.*, 1217: 6807–6815.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.08.050>
25. Bessah R. & Benyoussef. 2015. La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des énergies renouvelable.*, 18 : 513 – 528 .
26. Bérengère A., 2008. Les plantes médicinales. 2ème Edition, Sélection du Reader's Digest. France. 256p.
27. Bouchikhi T.Z. 2011. Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Th. Doc. écologie animale. Université Aboubaker Belkaid.
28. Bouddine L., Louaste B., Achahbar S., Chami N., Chami F. & Remmal A. 2012. Comparative study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against *Aspergillus niger* using three different methods. *African Journal of Biotechnology.*, 11 :14083-14087.
<http://dx.doi.org/10.5897/AJB11.3293>
29. Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y. & Dakka N. 2016. Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie.*16:254–267.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10298-016-1058-z>

30. Bouyahya A., Et-Touys A., Abrini J., Talbaoui A., Fellah H., Bakri Y. & Dakka N. 2017. Lavandula stoechas essential oil from Morocco as novel source of anti leishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.*, 12: 179–184.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.003>
31. Bouzouita N., Kachouri F., Hamdi M. & Chaabounri M.M. 2005. Volatile constituents and antimicrobial activity of lavandula stoechas L. oil from Tunisia. *Journal Essential Oil Research.*, 17: 584–586.
<http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2005.9699003>
32. Brada M., Saadi A., Wathélet J.P. & Lognay G. 2012. The essential oils of Origanum majorana L. and Origanum floribundum Munby in Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants.*, 15: 497–502.
<https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644078>
33. Bruneton J., 1993 *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes Médicinales.* Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 2ème édition. 915 p.
34. Bruneton J., 1999. *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales.* Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 1120. In Velé E. 2015.
35. Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales.* 4e éd. Paris : Tec & Doc. Lavoisier. Paris 1269 p.
36. Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal Food Microbiology.*, 94:223–253.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
37. Cabral L.D.C., Pinto F.V. & Patriarca A. 2013. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods. *International Journal of Food Microbiology.*, 166:1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026>
38. Caissard J.C. & Baudino, S. 2012. Sécrétion et stockage des huiles essentielles par les végétaux. In. Mnayer D. 2014.
39. Calzolari C., Stanche B. & Marletta G. P. 1968. Origanum Oils and their Investigation by Gas-chromatographic and Infrared Spectroscopic Analysis. *Analyst*, May., 93 : 311–318.
<https://doi.org/10.1039/AN9689300311>
40. Carette A.S. 2000. *La lavande et son huile essentielle.* Th. Doc. Toulouse.
41. Cavanagh H.M.A. & Wilkinson J.M. 2002. Biological Activities of Lavender Essential Oil. *Phytothérapie.* 16: 301–308.

42. Chabasse D., Bouchara J. P., De Gentile L., Brun S., Cimon B. & Penn P. 2002. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation Biologie médicale., 25: 46-123.
43. Chikhoun A. 2007. Huile essentielle des espèces endémique en Algérienne : composition chimique et l'activité antioxydante vis à vis de l'huile de tournesol. Th. Mag. INA Alger. 118.
44. Chouitah O. 2012. Composition chimique Activité antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles de glycyrrhiza glabra. Th. Doc. Oran.
45. Christos N .H.2010.Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from Lavandula stoechas in mediterranean region. Biochemical Systematics and Ecology., 38: 493–501.
<https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.05.002>
46. Chu C.J. & Kemper K.J. 2001. Lavender (Lavandula spp.). Longwood Herbal Task Force., 32p.
47. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for borth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard-Second Edition. CLSI Document; Clinical and Laboratory Standards Institute: PA, USA, 2008.
48. Clinical and Laboratory Standards Institute. Method Disck diffusion susceptibility testing fungi; Approved Guideline. CLSI Document ; Clinical and Laboratory Standards Institute: PA, USA, 2010.
49. Couderc V.L. 2001. Toxicité des huiles essentielles. Th. Doc. Toulouse.
50. Couic-mariner F. & Lobstein A. 2013. Mode d'utilisation des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques., 52:18-21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2013.02.007>
51. Couic-mariner F. 2018. Les huiles essentielles en pratique, administration et précautions d'emploi. Actualité pharmaceutique., 58 : 26-29.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2018.09.006>
52. Couturaud F. 2004. Aspergillus et poumon. Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique 44 :83–88.
<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.allerg.2003.10.017>
53. Cowan M.M. 1999. Plants products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews., 12:564–582.
<https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
54. Daouk R.K., Dagher S.M. & Sattout E. J. 1955. Antifungal activity of the essential oil of Origanum syriacum L. Journal of Food Protection., 58: 1147–1149.

<https://doi.org/10.1080/10412905.1993.9698227>

55. Da Porto C. & Decorti D. 2008. Analysis of the volatile compounds of flowers and essential oils from *Lavandula angustifolia* cultivated in North Eastern Italy by headspace solid-phase micro extraction coupled to gas chromatography mass coupled to gas chromatographmass spectrometry. *Planta Medica.*, 74:182–7.
<https://doi.org/10.1055/s-2008-1034295>
56. Dastmalchi K., Dorman H.J.D., Oinonen P.P., Darwis Y., Laakso I. & Hiltunen R. 2008. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food Science and Technology.*, 41: 391-400.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.03.007>
57. Delille L. A., 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Berti édition. Alger.
58. Dob T., Dahmane D., Agli M. & Chelghoum C. 2006. Essential oil composition of *lavandula stoechas* from Algeria. *Swets & Zeitlinger.*, 44: 60–64.
59. Dorman H.J.D. & Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology.*, 38: 308-316.
60. Dwivedy A.K., Kumar M., Upadhyay N., & Prakash B. & Dubey N.K. 2016. Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. *Current Opinion in Food Science.*, 11:16–21.
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.010>
61. Ebani V.V., Nardoni S., Bertelloni F., Najar B., Pistelli L. & Mancianti F. 2017. Antibacterial and antifungal activity of essential oils against pathogens responsible for otitis externa in dogs and Cats. *Médecine.*, 4: 21. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.010>
62. Eberhard T., Robert A. & Annelise L. 2005. Plante aromatiques, épics, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc. Lavoisier. Éd. médicales internationales. Cachan. Paris : 362 -365.
63. Fabrocini V.C. 1999. Comment se soigner avec l'Aromathérapie et guérir. Editions de Vecchi S.A. Paris. 97p.
64. Fantino N.S. 1990. Etude du polymorphisme au d'une population de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill). Détermination de critères précoces de sélection. Th. Doc. La Rochelle.
65. Festy D., 2015. Les huiles essentielle ça marche ! Avec 140 formules à réaliser soi-même ou à commander en pharmacie. Editions Leduc.s.Paris.326p.
66. Fernandez X. & Chemat F. 2012. La chimie des huiles essentielles Tradition et innovation. Edition Vuibert. 288p.
67. Flück H. & Weitzel R. 1942. Nos plantes médicinales. Edition Payot.

68. Franchomme P., Jollois R. & penoel D. 2007. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1er édition Roger Jollois. Paris : 490.
69. Gören A.C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmuş Z. & Pezzuto J.M. 2002. The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *Stoechas*. *Zeitschrift fur Naturforsch.*, 57:797-800.
<https://doi.org/10.1515/znc-2002-9-1007>
70. Glido P., 2006. Précis de phytothérapie, Larousse Encyclopedie MEMO, Edition Alpen, p3-6
71. Guarda A., Rubilar J.F., Miltz J. & Galotto M.J. 2011. The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Journal of Food Microbiology.*, 146: 144–150.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.011>
72. Guillaume V., 2006. Mycologie auto-évaluation manipulations .Editions de Boeck université Bruxelles. 56p.
73. Hazzit M. Baaliouamer A., Faleiro M.L. & Miguel M.G. 2006. Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal Agric. Food Chemistry.*, 54: 6314–6321.
<https://doi.org/10.1021/jf0606104>
74. Hazzit M. & Baaliouamer A. 2009. Composition of the essential oils of the Leaves and flowers of *thymus pallescens* de Noé and *Origanum floribundum* Munby From Algeria. *Journal of Essential Oil Research.*, 21: 267–270.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2009.9700166>
75. Heinemann S., Symoens F., Gordts B. & Jannes H. & Nolard N. 2004. Environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus flavus* during an outbreak of postoperative infections. *Journal of Hospital Infection.*, 57: 149–155.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2004.02.007>
76. Helal G.A., Sarhan M.M., Bu Shahla A.N.K. & Abou El-Khair E.K. 2006. Effects of *Cymbopogon citratus* L. essential oil on the growth, lipid content and morphogenesis of *Aspergillus niger* ML2- strain. *Journal of Basic Microbiology.*, 46:456–469.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200510084>
77. Heni S. 2016. Sélection d'extraits bio-actifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels. Th. Doc. Badji mokhtar – Annaba.

78. Houmani Z., Azzoudj S., Naxakis G. & Skoula M. 2002. The essential oil composition of Algerian Zaâtar: *Origanum* spp. and *Thymus* spp. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants.*, 9: 275–280.
https://doi.org/10.1300/J044v09n04_03
79. Hua H., Xing F., Selvaraj J.N., Wang Y., Zhao Y., Zhou L., Liu X. & Liu Y. 2014. Inhibitory effect of essential oils on *Aspergillus ochraceus* growth and ochratoxin A production. *Plos one.*, 9:9, e108285.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108285>
80. Huang H.S., Chang L.H., Jong T.T., Nien Y.F & Chang C. M. J. 1995. Supercritical carbon dioxide extraction of turmeric oil from *Curcuma longa* Linn. and purification of turmerones. *Separation and Purification Technology.*, 47:119–125.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.06.018>
81. Hyldgaard M., Mygind T. & Meyer R.L. 2012. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers Microbiology.*, 3:1–24.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
82. Inouye S., Abe S., Yamaguchi H. & Asakura M. 2003. Comparative study of antimicrobial and cytotoxic effects of selected essential oil by gaseous and solution contacts. *Journal of aromatherapy.*, 13: 33-41.
[https://doi.org/10.1016/S0962-4562\(03\)00057-2](https://doi.org/10.1016/S0962-4562(03)00057-2)
83. Inouye S., Nishiyama Y., Uchida K., Hasumi Y., Yamaguchi H. & Abe S. 2006. The vapor activity of oregano, perilla, tea tree, lavender, clove, and geranium oils against a *Trichophyton mentagrophytes* in a closed box. *Journal of Infection and Chemotherapy.*, 12 :349–354.
<https://doi.org/10.1007/s10156-006-0474-7>
84. Inouye S. & Abe S. 2007. Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie.*, 1 :2-4.
<https://doi.org/10.1007/s10298-007-0200-3>
85. ISO/DIS 9235.2: 1997. Aromatic and Natural Raw Materials—Vocabulary. Geneva. International Standard Organisation.
86. Jackman A., Ward R., April M. & Bent J. 2005. Topical antibiotic induced otomycosis. *Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.*, 69: 857-860.
<https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2005.01.022>
87. Jacquemin P. & Jacquemin J.L. 1980. *Parasitologie Clinique*. Editions Masson. Paris. 228p.

88. Jesenska Z., Pieckova E. & Bernat D. 1993. Heat resistance of fungi from soil. *International Journal of Food Microbiology.*, 19:187–192.
[https://doi.org/10.1016/0168-1605\(93\)90076-S](https://doi.org/10.1016/0168-1605(93)90076-S)
89. Kaloustian J. & Minaglou. F.H.2012. La connaissance des huiles essentielles : Qualitologie et aromathérapie.Springer-verlag Science et Business Media. Paris.226p.
90. Keville K. & Green M. 1995. *Aromatherapy: A complete guide to healing art.* Ed 1: The Crossing Pres: 120–140.
91. Kirmizbiekmez H., Demirci B., Yeşilada E., Başer C.K.H. & Demircib F. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* growing wild in Turkey. *Natural Product communication.*, 4:1001 – 1006.
<https://doi.org/10.1177/1934578X0900400727>
92. Khoury M., Stien D., Eparvier V., Ouaini N. & El Beyrouthy M. 2016. Report on the Medicinal Use of Eleven Lamiaceae Species in Lebanon and rationalization of their antimicrobial Potential by Examination of the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Their Essential Oils. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*,
93. Kerbouche L., Hazzit M., Ferhat M.A., Baaliouamer A. & Miguel M.G. 2015. Biological Activities of essential oils and ethanol extracts of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) Briq. And *Origanum floribundum* Munby. *Journal of Essential Oil Bearing Plants.*, 18:1197–1208.
<http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2014.935065>
94. Koroch A.R., Juliani H.R. & Zygadlo J.A. 2007. Bioactivity of essential oils and their components. In: *Flavours and fragrances.* Springer, Berlin, Heidelberg. p. (87-115)
95. Ksouri S., Djebir S., Bentorki A.A., Gouri A., Hadeif Y., Benakhla A., 2017. Antifungal activity of essential oils extracts from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. Against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal de Mycologie Médicale.*, 684 :5.
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2017.03.004>
96. Kunle O.J., okogum O., Egamana E., Emojevwe E. & Shok M. 2003. Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol From *Lippia multiflora* leaf extract. *Phyto med.* 10 :P59-61.
<https://doi.org/10.1078/094471103321648674>
97. Laëtitia M. 2015. Utilisation des huiles essentielle chez l'enfant.Th. Doc. Auvergne

98. Lahlou M. 2004. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and fragrance journal.*, 19:159-165.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1465>
99. Laib N. 2011. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Th. Mag. Mentouri Constantine.
100. Laib I. 2012. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technology.*, 7:44.
101. Lakhdar L. 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : Etude in vitro. Th.Doc. N°: 28/14.
102. Lamamra M. 2018. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Th. Doc. Ferhat Abbas-Setif.
103. Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Cootte P.J. & Nychas G.J.E. 2001. A study of minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Applied Microbiology.*, 91:453-462.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x>
104. Laurent J. 2017. Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Th. Doc. Paul Sabatier Toulouse III.
105. Lardry J.M. & Haberkorn V. 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie.*, 61:14-7.
[https://doi.org/10.1016/S1779-0123\(07\)70308-X](https://doi.org/10.1016/S1779-0123(07)70308-X)
106. Lucchesi M. E. 2005. Extraction sans solvant assistée par les micro-ondes. Th. Doc. La Réunion.
107. Lorrain E. 2013. 100 questions sur la phytothérapie. Editions La boétie. Italie in Lakhdar L. 2015.
108. Machu A. 2008. *Origanum vulgare*. Faculté libre des Sciences et Technologies. Polycopié: 5p. In Merbah D. 2013.
109. Maffei M.E. & Sacco S. 1997. Perfumer and flavorist. *Flavour and Fragrance Journal.*, 13: 61. In Laib N. 2011.

110. Maganga A. 2004. Influence of variety and organic cultural practices on yield and essential oil content of Lavender and Rosemary in Interior BC. South Thompson Organic Producers Association (STOPA). p23.
111. Marković T.L., Chatzopoulou P., Petrovic J.D., Nikolic M., Glamočlija J., Ćirić A. & Soković M. 2011. Chemical analysis and antimicrobial activities of the essential oils of *Satureja Thymbra* L. and *Thymbra Spicata* L. and their main components. *Archives of Biological Sciences.*, 63:457-464.
<https://doi.org/10.2298/ABS1102457M>
112. Mascret C. 2010. La réglementation régissant les huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques.*, 49 :54–56.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0515-3700 \[4\] \(10\)70599-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0515-3700 [4] (10)70599-1)
113. Merbah D. & Megrerouche D.M. 2013. Contribution à la caractérisation de la niche écologique d'espèce menacée: Elément pour sa conservation et sa valorisation. *Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems.*, 19:21.
114. Mohammedi Z. 2010. Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes médicinaux de la région Tlemcen. Th. Mag. Abou bekr Belkaid.
115. Mohammedi Z. & Atik F. 2011. Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Nature et Technologie.*, 4 :34-39 .
116. Mokhtarzadeh S., Demirci B., Ağalar H.G., Khawar K.M. & Kirimer N. 2019. In vitro propagation and volatile compound characterization of *lavandula stoechas* L. sub sp. *stoechas*- An economically important Source of essential oil. *Rec. Nat. Prod.*, 13:121-128.
<http://doi.org/10.25135/rnp.86.18.04.105>
117. Moro-Buronzo A. 2008. Grand guide des huiles essentielles: Santé. Beauté, Bien-Etre. HACHETTE pratique. 14.
118. Miles M. 2013. Les huiles essentielles pour les nuls. Editions First-Gründ. Paris in Laëtitia M. 2015.
119. Millet F. 2010. Les formes galéniques et les huiles essentielles. *Phytothérapie.*, 8: 33–36.
<http://doi.org/10.1007/s10298-009-0523-3>
120. Mnayer D. 2014. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Th. Doc. Avignon.

121. Muthu C., Ayyanar M., Raja N. & Ignacimuthu S. 2006. Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine.*, 2:43
<http://doi.org/10.1186/1746-4269-2-43>
122. Nazzaro F., Fratianni F. & Coppola R. Feo V.D. 2017. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals.*, 10- 86.
<http://doi.org/10.3390/ph10040086>
123. O.M.S, 2002. Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N°4. 6 p.
124. Ocak I., Çelik A., Özel M.Z., Korcan E. & Konuk M. 2012. Antifungal Activity and chemical composition of Essential Oil of *Origanum Hypericifolium*. *International Journal of Food Properties.* 15: 38-48.
<https://doi.org/10.1080/10942911003687249>
125. O'Bryan C. A., Pendleton S. J., Crandall P. G. & Ricke. S. C. 2015. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture—in vitro studies on antibacterial mode of action. *Frontiers in veterinary science.*, 2:35.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00035>
126. Pandey D.K., Tripathi N.N., Tripathi R.D., & Dixit S.N. *J. Plant. Dis. Prot.* 89 (1982) 344-349.
127. Piochon M. 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : Composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Th. maîtrise. Québec.
128. Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Gonçalves M.J., Oliveira S.C. & Cavaleiro C. *et al.* 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology.*, 55:1367–1373.
<http://doi.org/10.1099/jmm.0.46443-0>
129. Pitt J. I. & Hocking A.D. 2009. *Fungi and food spoilage*. Second edition. New York: Springer science and business. 519p.
130. Puškárová A., Bučková M., Kraková L., Pangallo D & Kozics K. 2017. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/getoxnoicity to human HEL 12469 cells. *Scientific reports.*, 7:8211.
131. Quezel P. Santa S., 1962-1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales*. Paris. C.N.R.S. V. 2 1170 p.

132. Rammanee K. & Hongpattarakere T. 2011. Effects of tropical citrus essential oils on growth, aflatoxin production, and ultrastructure alterations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food Bioprocess Technol.*, 4:1050–1059.
<http://doi.org/10.1007/s11947-010-0507-1>
133. Robard I. 2004. Plantes médicinales d'outre-mer et pharmacopées : aspect juridique, économique et culturels. *Phytothérapie.*, 2 :16-21.
134. Roux D., Catier O. *Botanique pharmacognosie phytothérapie*. 2007. Editions 3e .Wolters Kluwer.141p.
135. Roux D., *Conseil en aromathérapie - 2e édition*. Pro-Officina. 2008. In Laurent J. 2017.
136. Roux D. *Conseil en aromathérapie*. 2e éd. Pays-Bas : Pro-Officina; 2011. 187 p.
137. Siddiqui M.A., Khalid M., Akhtar J., Siddiqui H. H., Badruddeen & A. U. (2016). *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3, 96-102.
138. Samate A.D., 2002. *Composition Chimiques Des huiles Essentielle Extraites des plantes aromatique de la zone Soudanienne du Burkina Faso: Valorisation*. Th. Doc. Ouagadougou.
139. Sahin F., Gulluce M., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M., Agar G. & Ozer H. 2004. Biological activities of the essential oil and Methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *Vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey *Food Control.*, 15:549-557.
140. Sakkas H. & Papadopoulou C. 2017. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of Microbiology and Biotechnology.*,27:429-438.
<http://doi.org/27:429-438>. [10.4014/jmb.1608.08024](https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024)
141. Sallé J.L. & Pelletier J. 1991. *Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie*. Edition. Frison-Roche.
142. Schuster E., Dunn-Coleman N., Frisvad J. & Van Dijck P. 2002. On the safety of *Aspergillus Niger*. *Applied Microbiology and Biotechnology.*, 59:426–435.
<https://doi.org/10.1007/s00253-002-1032-6>
143. Soković M.D., Vukojević J., Marin P.D., Brkić D.D., Vajs V., Leo J.L.D. & Griensven V. 2009. Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* Species and their antifungal activities. *Molecules.*, 14 : 238-249.
<http://doi.org/10.3390/molecules14010238>
144. Soualeh N & Soulimani R. 2016. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie* 14:44-57.

145. Shokri H. 2014. Genotypic variation and antifungal susceptibility of *Candida zeylanoides* clinical isolates. *Journal de Mycologie Médicale.*; 24: 179-184.
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.01.001>
146. Siddiqui M.A., Khalid M., Akhtar J., Siddiqui H.H. & Badruddeen A.U. 2016. Lavandula *Stoechas* (Ustukhuddus): A miracle plant. *Journal of Innovations in Pharmaceutical and Biological Sciences.*, 3: 96-102.
147. Singletary K. 2010. Oregano: Overview of the Literature on Health Benefits. *Science Food.*, 45:129-133.
<http://doi.org/10.1097/NT.0b013e3181dec789>
148. Svoboda K.P. & Hampson J.B. 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.*, 16: 1-7.
149. Tian J., Ban X., Zeng H., Huang J., He J. & Wang Y. 2011. Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. *International Journal Food Microbiology.*, 145:464–470.
<http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.01.023>.
150. Thompson D. P., 1989. Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia.*, 81:151-153.
<http://doi.org/10.2307/3759462>
151. Touré D., 2015. Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Th. Doc. Université Félix Houphouet-biogny Côte d'Ivoire.
152. Tullio V., Nostro A., Mandras N., Dugo P., Banche G., Cannatelli M. & Cuffini A.M. Alonzo V. Carlone N.A. 2007. Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods. *Journal of applied microbiology.*, 102:1544-1550.
<http://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03191.x>
153. Vanbreuseghem R., Takashio M. & DeVroey Ch. 1978. Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire. Masson. Paris 264p.
154. Velé E. 2015. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Th. Doc. Angers

155. Wichtl M. & Anton R. 1999. Plantes thérapeutique technique et documentation paris in Couderc V. L .2001.
156. Zabka M. & Pavela R. 2013. Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi. *Chemosphere.*, 93 :1051–1056.
157. Zahalka J., 2010. Les huiles essentielles. Editions du Dauphin .Paris. 367p.
158. Zrira S. & Benjilali B. 2006. The constituents of the oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *atlantica* Br.-Bl. and *L. stoechas* ssp. *stoechas* from Morocco. *Journal of Essential Oil Research.*, 15: 68-69.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9712066>
159. Zuzarte M., Gonçalves M.J., Cavaleiro C., Canhoto J., Vale-Silva L. & Silva M.J. et al. 2011. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér. *Journal of medical microbiology.*, 60:612–618.
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.027748-0>

ANNEXES

Annexe N°1 : Plantes étudiées



***Lavandula stoechas* L. récoltée en mois juin 2015 de la région d'Ain Safra de Djebel Maouna.**



La plante de *Lavandula stoechas* L.



La plante d'*Origanum floribundum* Munby.

Annexe N°2 : Obtention des extraits par l'appareil de Clevenger

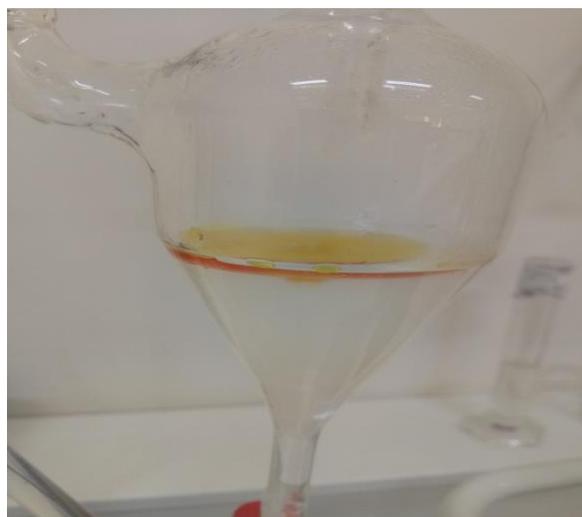


L'appareille de clevenger

Huile essentielles extrait

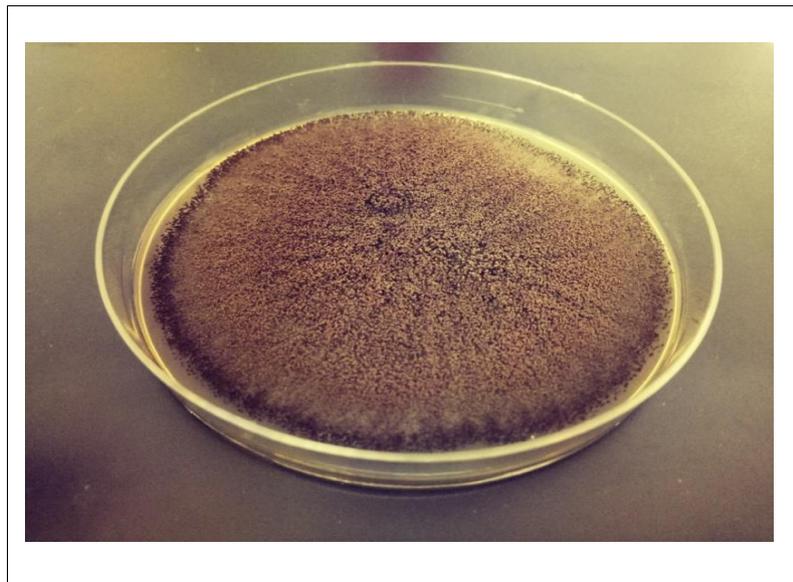


L'HE *LS*



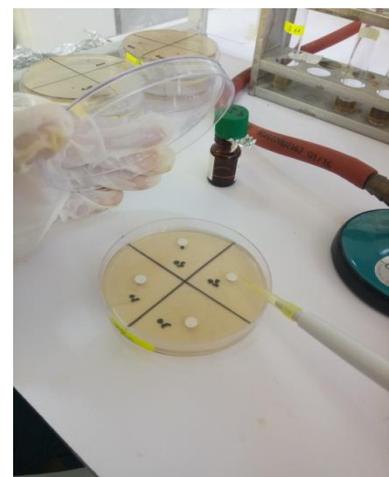
L'HE *OF*

Annexe N°3 : Matériel fongique *Aspergillus niger*

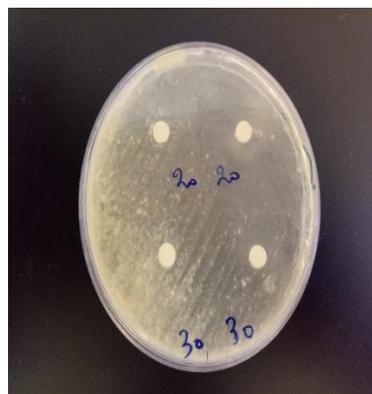
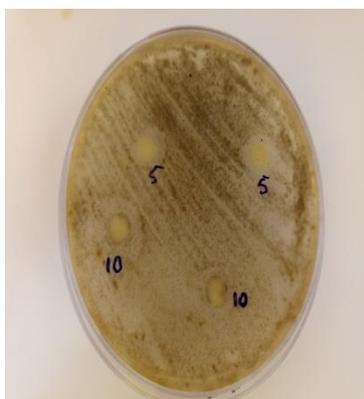


Annexe N°4 : Méthode du disque

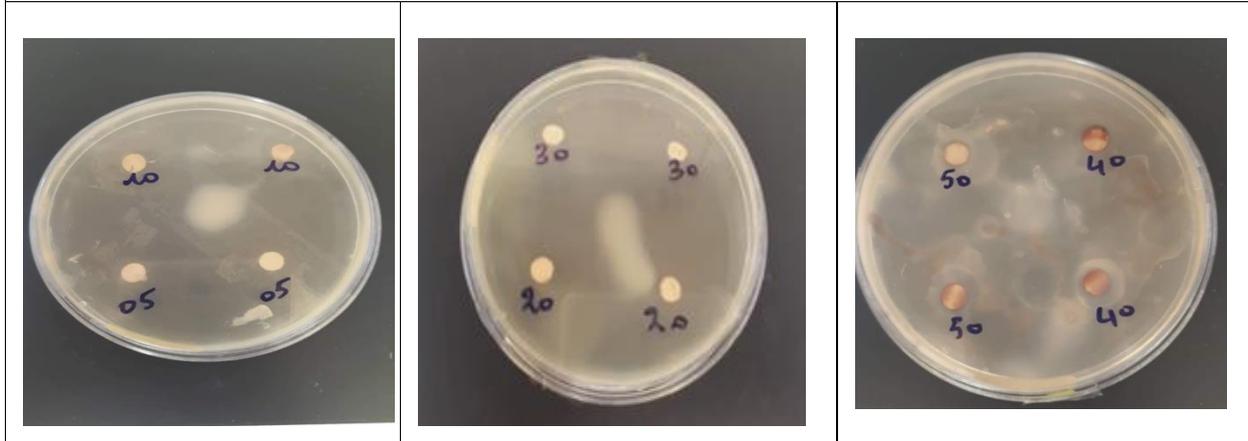
Méthode



Les résultats d'huile essentielle de LS

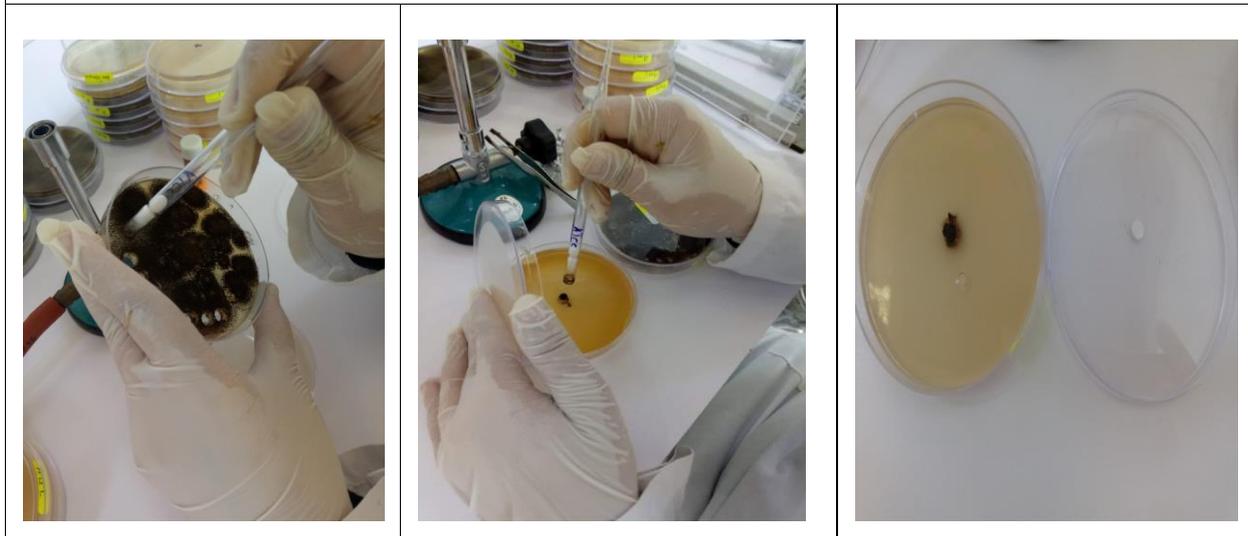


Les résultats d'huile essentielle d'OF

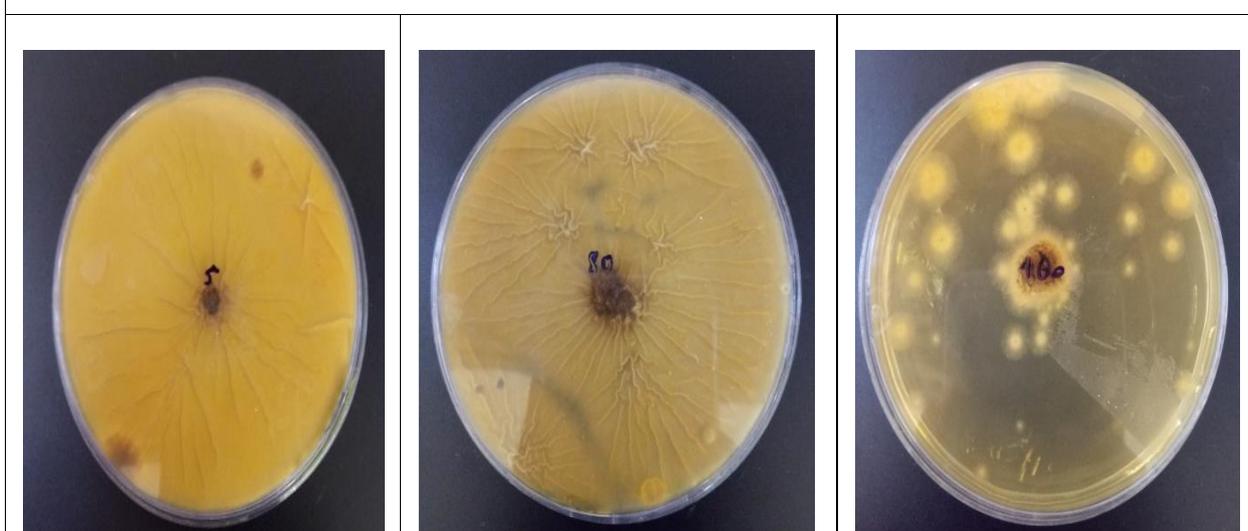


Annexe N°5 : Méthode de la fumigation

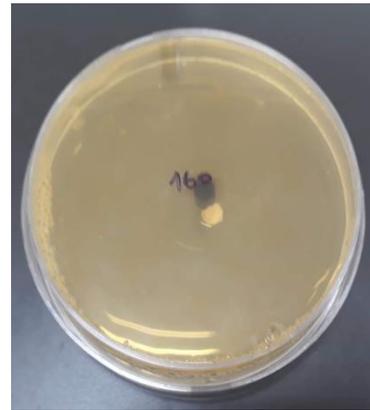
Méthode



Les résultats d'huile essentielle de LS

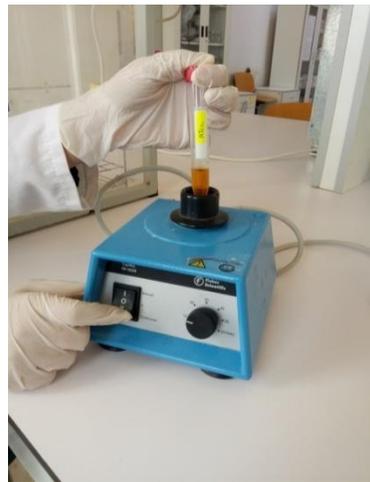


Les résultats d'huile essentielle d'OF

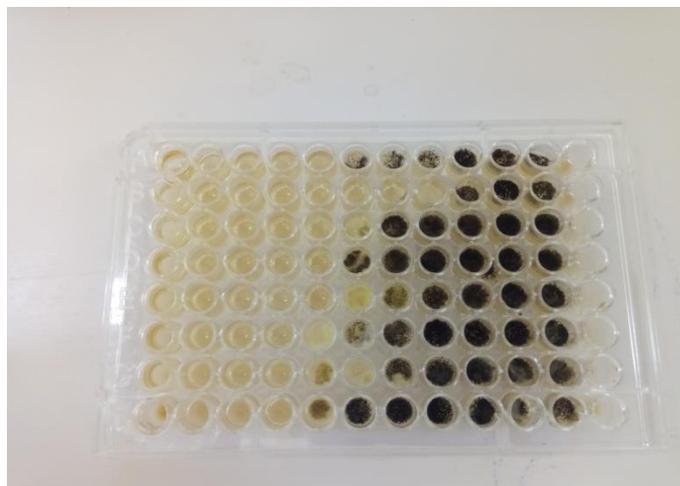


Annexe N°6 : Méthode de la micro-dilution

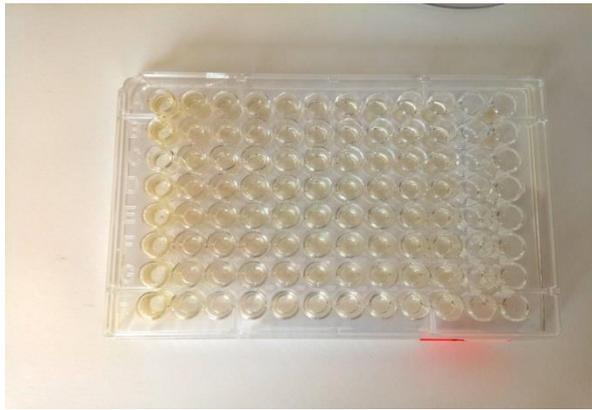
Méthode



Résultat d'huile essentielle de LS



Résultats d'huile essentielle d'OF



ملخص

في الوقت الحالي، تمثل المواد الطبيعية والزيوت الأساسية بشكل خاص حلاً بديلاً لمبيدات الفطريات، لذا فإن دراستنا مكرسة لتقييم النشاط المضاد للفطريات لزيتين أساسيتين من نباتين عطريين تنمو بشكل تلقائي في منطقة قالمة مقابل ثلاث سلالات من رشاشيات نيجر المسؤولة عن الإصابة بالتهاب الأذن الفطري عند البشر وسلالة مرجعية من نفس النوع اخترنا طريقة الجو الصغرى وطرق M38-A و M51-A الموصى بهم من قبل CLSI لتقييم نشاط مضاد للفطريات و كذلك تم استخراج الزيوت الأساسية بواسطة التبخير باستخدام جهاز من نوع Clevenger.

أظهرت تحاليل الكروماتوغرافيا GC/MS أن الزيوت الأساسية، زيت الخزامى و الزعتر تتميز بوجود %20,06 الكافور و من %46,82 من Carvacrol على التوالي كمركبات كيميائية رئيسية. تتراوح قيم CMIs و CMFs التي تم تسجيلها بواسطة تقنية microdilution للسلالات المختلفة من سلالة رشاشيات نيجر بين 14, 52 و 232,5 ميكروغرام/مل اثبتت لزيت الخزامى، أما بالنسبة للزيت الأساسي لنبات الزعتر كان هناك قيمة مشتركة لقيم CMIs و CMFs وهي (0,45 ميكروغرام/مل). النتائج التي تم الحصول عليها من الطور المتحرك للخدمة المتنقلة للزيوت الأساسية التي تم اختبارها نشاطا مهما خاصة لزيت الزعتر حيث أن قيم CMIs و CMFs المتحصل عليها تتراوح ما بين 0,062 و 2 (ميكرو لتر/مل من الهواء) أيضا نشاط معتبر لزيت الخزامى و تبلغ قيمة CMI 2 (ميكرو لتر/ مل من الهواء) . كشفت نتائجنا أن الزيوت الأساسية التي تمت دراستها أنها تمتلك نشاطا ممتازا مضادا للفطريات و هذا راجع لغنى هذه بالمركبات الكيميائية الفعالة.

في الختام، يمكننا أن نقول أن الزيوت العطرية الأساسية التي تم اختبارها في دراستنا يمكن أن تكون أحسن بديل لمبيدات الفطريات من أجل معالجة التهاب الأذن عند الإنسان لكنها تتطلب مزيدا من الدراسات خاصة فيما يتعلق بسميتها.

الكلمات المفتاحية: التبخير ، نبات عطري ، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضاد للفطريات، الرشاشيات النيجيرية ، الزيت العطري ، M38-A ، M51-A.

Abstract

Currently, natural substances and more particularly essential oils represent an alternative solution of fungicides, so our study is dedicated to evaluate the antifungal activity of two essential oils of two aromatic plants *Lavandula stoechas* L. and *Origanum floribundum* Munby. Spontaneously growing in the Guelma area, vis-à-vis three clinical strains of *Aspergillus Niger* responsible for otomycosis in humans and a reference strain of this species

We chose the micro-atmosphere method and M51-A and M38-A methods recommended by CLSI for the antifungal evaluation, as well as the extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation using a device of type Clevenger.

GC / MS chromatographic analyzes showed that the essential oils of *Lavandula stoechas* L. and *Origanum floribundum* Munby. Are characterized by α -thujone (25.49%), camphor (20.06%) and carvacrol (46.82%), p-cymene (18.35%) respectively as major chemical compounds. The MIC and CMF values that were recorded by the micro dilution technique for the different strains of *Aspergillus niger* are between 14.52 and 232.5 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) for lavender oil and for oregano oil. There was a common value of MIC and CMF which is 0.45 ($\mu\text{g} / \text{ml}$). The results obtained from the volatile phase of the essential oils tested have proved an important activity, especially for *Origanum* oil whose MIC are between 0.062 and 1 ($\mu\text{l} / \text{ml}$ of air) and value of CMFs are 0.5 to 2 ($\mu\text{l} / \text{ml}$ of air) and also a significant activity. For lavender oil whose MIC value is 2 ($\mu\text{l} / \text{ml}$ of air). Our results revealed that the two essential oils studied show an excellent antifungal activity which is due to the richness of these essences in chemical compounds.

To conclude, we can say that the essential oils tested in our study may be good alternatives fungicides to control otomycosis in humans but require further study especially on toxicity.

Key words: Otomycoses, *Aspergillus Niger*, essential oil. M51-A, M38-A, fumigation, aromatic plant, antifungal activity.

Résumé

Notre étude s'est consacré à évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatique *Lavandula stoechas* L. et *Origanum floribundum* Munby. poussant à l'état spontané dans la région de Guelma, sur trois souches cliniques d'*Aspergillus niger* responsable d'otomycose chez l'homme et une souche de référence de cette même espèce. Trois techniques ont été choisies, la méthode de micro atmosphère et les méthodes M51-A et M38-A recommandés par le CLSI pour l'évaluation de l'activité antifongique des moisissures. L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type cleverger. Les analyses chromatographiques par GC/SM ont montrés que les huiles essentielles testées sont dominées par α -thujone (25.49%), camphor (20.06%) pour la lavande et par carvacrol (46.82%) et p-cymene (18.35%) pour l'origan. Les valeurs de CMI et CMF qui ont été enregistrées par la technique de micro dilution pour les différentes souches d'*Aspergillus niger* sont entre 14,52 et 232,5 $\mu\text{g/ml}$ pour l'huile essentielle de la lavande. Celle de l'huile essentielle de l'origan, 0,45 $\mu\text{g/ml}$ est l'unique valeur des CMI et CMF qui a été enregistrées. Sur les résultats obtenus de l'évaluation de la phase volatile des huiles essentielles, une activité antifongique importante surtout pour l'huile essentielle d'origan a été notée dont les valeurs de CMI sont entre 0.062 et 1 $\mu\text{l/ml}$ d'air et ceux de CMF sont 0.5 et 2 $\mu\text{l/ml}$ d'air, par contre, l'huile essentielle de lavande a présenté une activité antifongique non négligeable avec la valeur de CMI de 2 $\mu\text{l/ml}$ d'air et CMF non déterminées. Nos résultats ont révélé que les deux huiles essentielles étudiés présentent une excellente activité antifongique qui est dû à la richesse de ces essences en composés chimiques. Donc les huiles essentielles testées au cours de cette étude, constituent une bonne alternatives des fongicides conventionnels et peuvent contrôler les otomycoses chez l'homme mais nécessitant d'autres études surtout celle de l'effet irritatif et toxique des huiles essentielles dans la cavité auriculaire.

Mots clés : Otomycoses, *Aspergillus niger*, huile essentielle. Fumigation, *Origanum floribundum*, *Lavandula stoechas*.