

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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB -BLIDA-1



MEMOIRE

De fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master II en sciences Agronomiques
Spécialité : Biotechnologie des plantes Aromatiques et Médicinales et des Produits Naturels

Thème

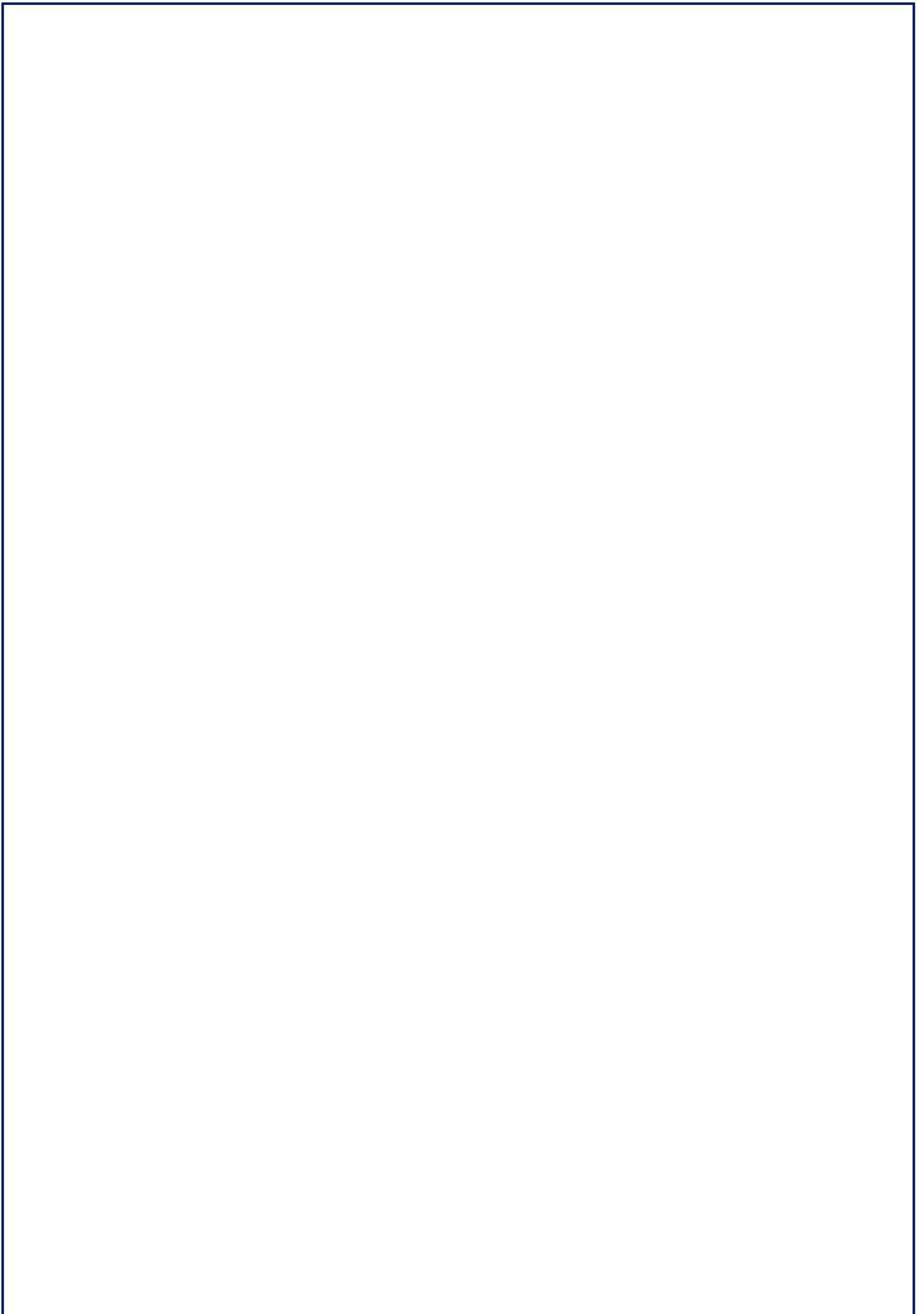
**Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de
la Menthe pouliot**

Présentée par : **DJEDDI NORA YASMINE**

Devant le jury composé de :

Mr BENDALI.AA	MAA	USDB 1	Président
Mme AYACHI.N	MAA	USDB1	Examinatrice
Mme MOUMENE.S	MCB	USDB 1	Promotrice

Année universitaire 2015/2016



REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

*J'ai eu la chance d'effectuer ce travail minutieux dans trois laboratoires de recherche, au laboratoire privé d'extraction des huiles essentielles de Mr **LAMOURI .S** à*

Ain Taya.

*Au laboratoire du département de biotechnologie des plantes Médicinales et aromatiques sous la direction de Mme **MOUMENE.S***

*Au centre de recherche et de développement C.R.D – Saidal el Harrach sous la direction de Mme **AYACHI.N**.*

*Tout d'abord je remercie sincèrement Mme **MOUMENE.S** directrice de thèse, maitre de conférences B au département de biotechnologies, faculté sciences de la nature et de la vie, université de Blida 1 de ce travail, pour avoir accepté de m'encadrer, pour ses orientations, ses encouragements et pour l'effort consenti à me faire profiter de ses connaissances.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mr **BENDALI.AA** maitre assistant au département de biotechnologies, faculté sciences de la nature et de la vie, université de Blida 1 qui m'a fait l'honneur de présider le jury de ce modeste travail malgré vos charges personnelles.*

*Je dois une reconnaissance particulière à Mme **AYACHI.N** maitre assistante au département de pharmacie, Faculté de médecine, université Blida 1 pour votre aide précieuse, votre gentillesse et vos encouragements.*

Dédicace

*A mon cher papa, celui qui a guidé mon chemin avec force et lumière celui qui a
autant*

Sacrifié pour me permettre de continuer mes études dans les meilleures conditions.

A ma chère mère, la force de ma faiblesse, l'être le plus chère au monde.

*A ma grand-mère, mon grand père et ma tante Nacera qui m'ont toujours entouré
d'amour*

.Que Dieu les protège et les garde en bonne santé

Je dédie aussi cette modeste réalisation à :

Mes très chers frères Brahim, Lila, Omar et surtout Mohamed

ملخص

الالتهابات الجرثومية هي خطيرة وزاد وتيرتها في السنوات الأخيرة. ركز العمل الحالي على دراسة القدرة المضادة للفطريات للزيوت الأساسية المستخرجة من النعناع من منطقة البويرة بطريقة التقطير بالبخار على العزلات الفطرية طريق عن وكلاء الخميرة المسؤولة عن أمراض الجلد البشري والسلالات الممرضة والجينات السامة الفطرية المنقولة الأغذية

دراسة النشاط المضاد للفطريات في المخبر لمستحلب الزيت بتركيز 5% بمحلول تعليق المياه والأجار 20%، تم اختبارها ضد الأمراض الجلدية للعزلات :

Pityrosporum ovalé , *Candida parapsilosis* , *Candida albicans* , *Aspergillus nidulans* et *Trichophyton rubrum*

والسلالات الممرضة والجينات السامة الفطرية : *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* :

في الواقع، تم اختيار ثلاثة أساليب الدراسة *microsphère* الأقراص والاتصال المباشر لهذه الدراسة

. تم إجراء التحليل الكيميائي للزيوت الأساسية بطريقة CPG وهكذا، فإن المركبات التي تم تحديدها هي : بوليغون (60.82%)، المونتون (14.27%) و الميثانول (8.92%). وبالإضافة إلى ذلك، تقنية الاتصال المباشر تسمح بتثبيط نمو مهم جدا على جميع الفطريات و الخمائر ماعدا *Aspergillus nidulans* .

في هذا المعنى، كريم ومضاد لأمراض الجلدية أعدت لإجراء مزيد من التجارب.

كلمات البحث: الالتهابات الجرثومية، الطاقة المضادة للفطريات، النعناع الأوروبي، الزيوت الأساسية، التحليل الكيميائي.

Résumé

Les infections microbiennes restent des affections graves et leur fréquence a augmenté au cours des dernières années .Le présent travail a porté sur l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de la Menthe pouliot de la région de Bouira extraite par la méthode d'entraînement à la vapeur, sur les isolats fongiques et des levures agents responsables de dermatoses humaines et des isolats pathogènes et mycotoxinogènes d'origine alimentaire.

L'étude de l'activité antifongique *in vitro* de l'émulsion de cette huile préparée à la concentration 5% par la suspension d'eau agar à 0.2%,a été testée sur des isolats de dermatoses de *Pityrosporum ovalé*, *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans* et *Trichophyton rubrum* ainsi que, sur des isolats pathogènes et mycotoxinogènes d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*. En effet, trois techniques d'étude de microsphère, de disques et de contact direct ont été retenues pour cette étude.

L'analyse chimique de l'huile essentielle de la menthe pouliot a été réalisée par CPG. Ainsi, les composés majoritaires identifiés sont la pulegone (60.82%), la menthone (14.27%) et le menthol (8.92%). En outre, la technique de contact directe a permis une inhibition intéressante de la croissance de l'ensemble des champignons et levures mis à part celle d'*Aspergillus nidulans*.

Dans ce sens, une crème et un emulgel anti dermatoses ont été préparés pour des tests de confirmation ultérieurs.

Mots clés : Pouvoir antifongique, Menthe pouliot, Huile essentielle, analyse chimique, formulation galénique

Abstract

Antifungal activity of *Mentha pulegium* L. against dermatophytes and mycotoxinogen fungi and gallenical formulation assay against dermatoses

This study was based on the antifungal power of the essential oil of pennyroyal collected from Bouira region and extracted by the steam drive method, on the fungal isolates and agents yeasts responsible for human skin diseases and on pathogenic and mycotoxinogen isolates.

The study of the *in vitro* antifungal activity of the oil emulsion prepared at a concentration of 5% by the suspension at 0.2% of water agar, was tested against *Pityrosporum ovalé* , *Candida parapsilosis* , *Candida albicans* , *Aspergillus nidulans* and *Trichophyton rubrum* dermatoses isolates and, on pathogenic and mycotoxinogen isolates of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger*. Indeed, the microsphere, discs and direct contact methods were selected for this study.

The chemical analysis of this essential oil was performed by the GPC. Thus, the identified majority compounds are pulegone (60.82%), menthone (14.27%) and menthol (8.92%). In addition, direct contact method has an interesting inhibitory power on growth of all fungi and yeasts except for that of *Aspergillus nidulans*.

In this sense, a cream and anti dermatoses Emulgel were prepared for further confirmatory testing.

Keywords: antifungal Power, Pennyroyal, essential oil, chemical analysis, gallenical formulation

Glossaire

Antibiotique : substance naturelle ou synthétique qui détruit les bactéries

Antifongique : médicament qui agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites

Antiseptique : agent propre à prévenir les infections

Anti-inflammatoire : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation.

Antispasmodique : médicament qui calme les spasmes

Cicatrisant : se dit d'une substance qui favorise la cicatrisation

Dermatophytie : mycose produite par Dermatophyte

Eczéma : syndrome caractérisant plusieurs maladies cutanées.

Epidermophytie : eczéma marginé des pieds

Moisissure : champignons filamenteux issus du sol où ils vivent habituellement en saprophytes

Keratinophyle : champignon qui présente une affinité pour la kératine animale ou humaine

Septicémie : infection généralisée de l'organisme d'origine bactérienne

Lésion : c'est un terme qui réunit toutes les modifications anormales d'un tissu biologique

Onyxis : inflammation du lit et de la base de l'ongle

Liste des abréviations

PAM: Plantes aromatiques et Médicinales

PDA: Milieu de culture à base de Pomme de terre –Dextrose-Agar

HE: Huile essentielle

CPG: Chromatographie en phase gazeuse

TI: Taux d’Inhibition

C.albicans: *Candida albicans*

C.parapsilosis: *Candida parapsilosis*

T.rubrum: *Trichophyton rubrum*

P.ovalé: *Pityrosporum ovalé*

A.nidulans : *Aspergillus nidulans*

A.niger : *Aspergillus niger*

A.flavus : *Aspergillus flavus*

HEC : Hydroxyethylcellulose

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractères morphologiques et descriptifs des souches de dermatoses étudiées

Tableau 2 : Les antifongiques azolés à usage local

Tableau 3 : Caractéristiques de quelques mycotoxigènes

Tableau 4: Données sur le matériel fongique étudié

Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle de Menthe pouliot par CPG

Liste des figures

Figure 1 : Feuilles de menthe pouliot

Figure 2 : Description botanique de menthe pouliot

Figure 3 : La morphologie de la menthe pouliot

Figure 4: Aspect microscopique du genre Trichophyton

Figure 5 : Aspect microscopique de *Candida albicans*

Figure 6: Aspect microscopique de *Malassezia furfur*

Figure 7 : Aspect morphologique des dermatoses superficielles

Figure 8 : Aspect microscopique des 3 *Aspergillus spp.* GR x125

Figure 9: Morphologie de la plante Menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*) dans son biotope
Naturel

Figure 10 : Site d'échantillonnage de Lakhdaria

Figure 11 : Dispositif d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau du Dr Lamour S (2015)

Figure 12 : Appareillage du chromatographe en phase gazeuse utilisé

Figure 13 : Echantillon de l'huile essentielle de Menthe pouliot extraite par entrainement à la
Vapeur d'eau au laboratoire du Dr Lamouri S(2015)

Figure 14: Activité antifongique de l'huile essentielle de Menthe pouliot selon les méthodes
d'études

Figure 15 : Présentation des formules galéniques préparées à partir e l'huile essentielle de Menthe
pouliot

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION.....1

Chapitre1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.Generalités sur les plantes aromatiques et médicinale.....	3
1.1.1 Introduction sur les plantes aromatiques et médicinales.....	3
1.1.2 Biodiversité des plantes aromatiques et médicinales.....	3
1.1.3 Importance des Plantes Aromatiques et Médicinales.....	4
1.1.4 La composition chimique des Plantes Aromatiques et Médicinales	4
1.1.5 Vertus des Plantes Aromatiques et Médicinales.....	4
1.2 Les huiles essentielles (HE).....	5
1.2.1 Localisation des HE au niveau de la plante.....	5
1. 3 La Menthe pouliot	
1.3.1 Généralités	6
1.3.2 Description botanique.....	7
1.3.3 Taxonomie.....	9
1.3.4 Répartition géographique.....	9
1.3.5 Propriétés thérapeutiques	9
1.3.6 Principes chimiques	10
1.4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	11

1.5 Les Dermatoses	
1.5.1 Généralités sur les dermatoses et les dermatophytes.....	12
1.5.2 Traitement des dermatoses	17
1.6 Généralités sur les champignons toxigènes et les mycotoxines.....	20
1.6.1 Description morphologiques des <i>Aspergillus</i> étudiés.....	21
1.7 Analyse chimique des huiles essentielles.....	26
1.7.1 Par chromatographie en phase gazeuse	26
1.8 Techniques D'étude du pouvoir antifongique	27
1.8.1 Technique de diffusion en phase vapeur ou Méthode des microsphères.....	27
1.8.2 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)	27
1.3.3 Méthode de contact direct.....	27

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1 INTRODUCTION.....	28
2.1.1 Matériel biologique.....	28
2.1.1.1 Matériel végétal.....	28
2.1.1.2 Matériel fongique.....	30
2.1.2 Extraction de l'huile essentielle de Menthe pouliot.....	32
2.1.3 Analyse chimique de l'huile essentielle.....	33
2.1.4 Etude de l'activité antifongique <i>in vitro</i> de l'huile essentielle de Menthe pouliot	34
2.1.5 Formulations galéniques à partir de l'huile essentielle de Menthe pouliot.....	36

Chapitre 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1.1 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle.....	38
3.1.2 Composition chimique.....	38
3.1.3 Activité antifongique <i>in vitro</i> de l'huile essentielle <i>Menthe pouliot</i>	39
3.1.4 Formulations galéniques à partir de l'huile essentielle de <i>Menthe pouliot</i>	43

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....44

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

GLOSSAIRE

ANNEXES

L'utilisation des plantes aromatiques par l'homme est une pratique antique (Majinda et al., 2001). De nos jours la majorité des habitants du globe terrestre utilisent de très nombreuses plantes, compte tenu de leurs propriétés aromatiques, comme source d'assaisonnement ou comme remède en médecine traditionnelle. Cependant, cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement sur des observations au cours des siècles.

Actuellement, Les dermatoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Pihet, 2013). Bien qu'on dispose aujourd'hui des médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile vu l'insuffisance de principes actifs réellement efficaces, leur coût très élevé et, la sélection de souches microbiennes résistantes suite à l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques (Dzoyem et al., 2010) (Sheehan et al., 1999)

Par ailleurs, les maladies d'origine alimentaire constituent aussi l'un des problèmes de santé publique les plus répandus à l'échelle internationale. Elles sont causées en particulier par les champignons toxigènes connus par la sécrétion de substances hautement toxiques appelées mycotoxines (Abdellah, 2004).

Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances pouvant être une solution alternative aux médicaments chimiques. Dans ce contexte, les chercheurs se sont orientés vers les ressources naturelles particulièrement le monde végétal (Ouraini et al., 2007).

En effet, les huiles essentielles représentent une source potentielle de molécules naturelles bioactives (Ismaili, 2005). De nombreuses espèces de plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle pour ces principes bioactifs appartenant à plusieurs classes chimiques. Elles ont des activités thérapeutiques souvent puissantes et parfois toxiques. Pour cela, elles doivent être utilisées de manière appropriée (Ismaili, 2005).

L'Algérie est considérée parmi les pays connus par leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée et son étendue entre la Méditerranée et l'Afrique subsaharienne. La flore algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être présentes (Pottier, 1981).

A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à l'espèce de la famille des lamiacées, connue comme source d'épices et extraits à fort pouvoir antimicrobien. Notre choix d'étude a porté sur une plante à large distribution géographique et spontanée: la Menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.) dont peu de travaux de recherche ont été porté sur cette plante et aucune étude sur les dermatoses (Ismaili, 2005).

Ainsi, notre étude vise la valorisation de la menthe pouliot récoltée dans la région de Bouira, wilaya de Blida par l'activité antifongique de son huile essentielle sur les dermatophytes responsables de mycoses humaines pour aboutir à une formulation galénique biologique et aussi leur pouvoir détoxifiant sur les champignons mycotoxinogènes .

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 INTRODUCTION

Notre étude vise l'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de la Menthe pouliot vis-à-vis des isolats fongiques et des levures ; agents causals de dermatoses humaines et des isolats mycotoxinogènes d'origine alimentaire.

Elle a nécessité l'utilisation d'un matériel biologique et comporte les 4 parties d'études suivantes :

- Extraction de l'huile essentielle de la menthe pouliot,
- Analyse chimique de l'huile essentielle,
- Etude de l'activité antifongique *in vitro*,
- Formulation galénique à base de l'huile essentielle.

L'expérimentation a duré 7 mois et a été réalisée dans les 3 laboratoires différents :

- L'extraction de l'huile essentielle au laboratoire privé de Mr Lamouri . S à Ain Taya .
- L'étude de l'activité antifongique au niveau de l'unité de microbiologie du laboratoire de recherche des PAM , au niveau du département de Biotechnologies de l'Université de Blida1.
- La formulation galénique au niveau du laboratoire de Saidal d' El Harrach.

2.1.1 Matériel biologique

Notre étude a nécessité l'utilisation d'un matériel végétal et d'un matériel fongique.

2.1.1 Matériel végétal

La menthe pouliot a été récoltée pendant la période de floraison au mois d'Avril 2015, dans son biotope naturel au centre Algérien dans la région de Lakhdaria, wilaya de Bouira.

Les sommités fleuries des plants coupées ont été prélevées au laboratoire privé du Dr Lamouri pour la distillation de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur.



Figure 9 : Morphologie de la plante Menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.) dans son biotope naturel

Situation géographique

Lakhdaria se trouve à 33 kilomètres au nord-ouest de Bouira et à 74 kilomètres au sud-est d'Alger sur une boucle de l'oued Isser. La ville est entourée de montagnes dont la plus haute est "Lalla Moussaad ". L'oued a creusé sur 4 km dans la montagne des gorges qui portent le nom de gorges de Ammal (ONS,2011)



Figure 10 : Site d'échantillonnage de Lakhdaria(ONS,2011)

-Étapes de cueillettes :

La récolte a été faite en 3 fois pour 3kg d'échantillon de menthe pouliot

L'identification a été conformément aux critères botaniques par Quezel et santa (1963)

Pour le séchage, les sommités fleuries fraîchement récoltées ont été séchées et placées sur une paille à l'air libre à température ambiante pendant 30 jours. Les échantillons séchés ont servi pour l'extraction de l'huile essentielle

Poids frais = 3kg

Poids sec = 2.8 kg

-Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement est obtenu par rapport à la matière végétale sèche et exprimé selon la formule ci-dessous :

$$R_H = (V/M_{MV}) \cdot 100$$

Où

R_H: Rendement des huiles essentielles en (ml) par rapport à 100g de matière sèche (%)

V: volume d'huile essentielle en ml

MMV: masse de la matière végétale sèche (g)

2.1.1.2 Matériel fongique

Cinq isolats de dermatophytes dont deux levures et trois champignons pathogènes ont été prélevés chez des patients immunodéprimés âgés entre 40 et 60 ans identifiés dans le laboratoire de Hachemi Ould rouis. Aussi, deux isolats pathogènes et mycotoxinogènes prélevés des graines d'orge en conservation, ont fait l'objet de l'étude du pouvoir antifongique. Les données concernant l'isolement et l'identification de l'ensemble des isolats étudiés sont résumées dans le Tableau 4.

Les souches *P.ovalé* et *C.parapsilosis* ont été conservées dans des boîtes fermées ,

T.rubrum et *C.albicans* ont été conservées dans des tubes à essai dans le milieu sabouraud

Tableau 4 : Données sur le matériel fongique étudié

Nom de l'isolat	Type d'isolat	Maladie	Lieu de collecte	identification
<i>Pityrosporum ovalé</i>	levure	Cuir chevelu	Laboratoire d'analyse Hachemi Ould Rouis Blida	Prélèvement scotch-test. Identification : Observation blastospores/urease positive
<i>Candida parapsilosis</i>	levure	septicémie des ongles des pieds	Laboratoire d'analyse Hachemi Ould Rouis Blida	Prélèvement : écouvillon stérile Identification : pseudomycélium sur Rat/Pcb
<i>Aspergillus nidulans</i>	Champignon	Infections pulmonaires	Laboratoire d'analyse Hachemi Ould Rouis Blida	Caractérisation morphologique Dr Moumene S., laboratoire des PAM
<i>Candida albicans</i>	levure	Les infections de la peau et des muqueuses	Hôpital Hadjout service parasitologie	Prélèvement : écouvillon stérile Identification : -test de blastése -Présence de chlamydo-spores
<i>Trichophyton rubrum</i>	champignon	onyxis des mains et des pieds	Hôpital Hadjout service parasitologie	Prélèvement : en grattant sous l'ongle quelques copeaux de kératine puis on ajoute une goutte de koh. Identification : urease négative

<i>Aspergillus flavus</i>	Champignon toxigène	Aspergillose pulmonaire et production des aflatoxines	Céréales de l'orge	Mycothèque de Dr Moumene S., laboratoire de recherche des PAM
<i>Aspergillus niger</i>	Champignon toxigène	infections cutanées, pulmonaires et production des aflatoxines	Céréales de l'orge	Mycothèque de Dr Moumene S., laboratoire de recherche des PAM

2.1.2 Extraction de l'huile essentielle de Menthe pouliot

Les sommités fleuries des plants coupés ont servi pour l'extraction d'huile essentielle par méthode d'entraînement à la vapeur.

Cette technique ne met pas en contact direct l'eau à la matière végétale à traiter. En effet, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse le matériel végétal situé au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers les plantes de Menthe pouliot les cellules et libèrent l'huile essentielle qui est diffusée sous l'action de la chaleur pour former un mélange eau+huile essentielle. Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparée en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale puis entre l'eau et les molécules aromatiques évitent certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Franchome, 1990).

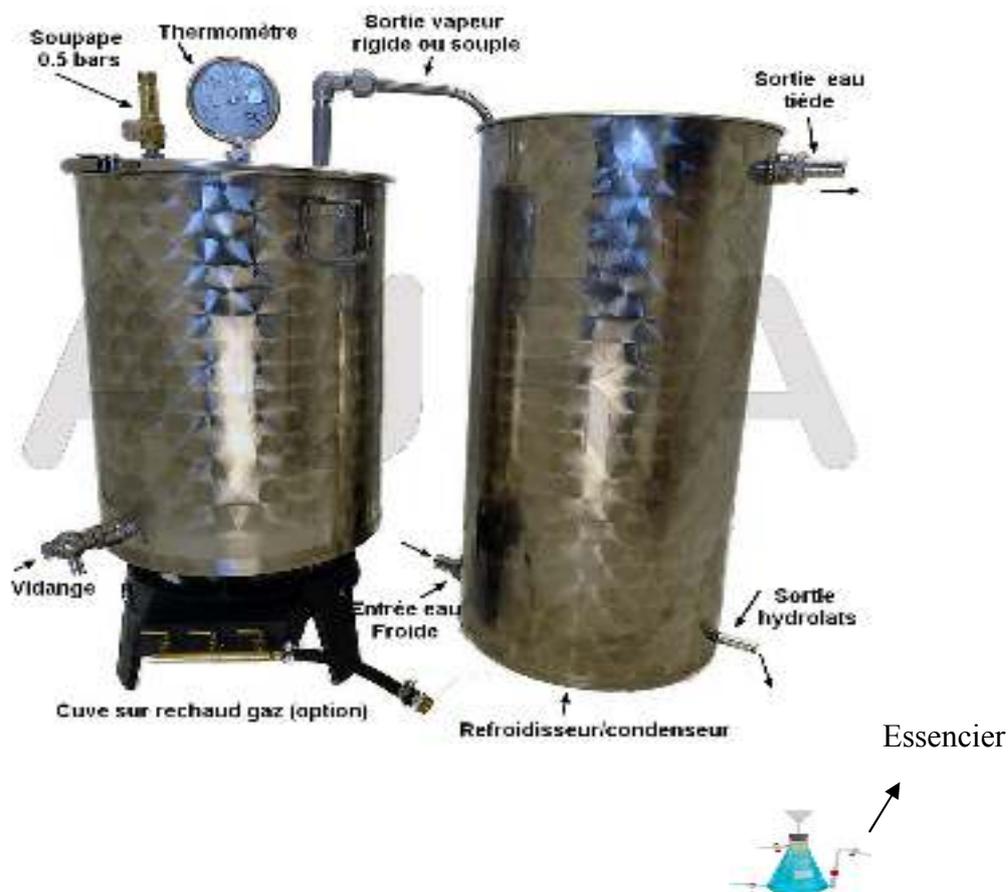


Figure 11: Dispositif d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau du Dr Lamouri. S (2015)

2.1.3 Analyse chimique de l'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle a été déterminée par analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG) au laboratoire de chimie, au niveau de la Fac centrale d'Alger.

La CPG a été effectuée sur deux types de colonnes :

Une colonne capillaire apolaire de type DBI de dimension 30ml ,0.12mm DI ,0.25 μ m épaisseur du film. Le détecteur à ionisation de fonction flamme à l'air comprimé et à l'hydrogène. Le gaz vecteur est l'hélium, le débit est de 1ml/mn. La quantité d'huile essentielle injectée est de 1 μ L sans dilution. La température de l'injecteur est de 250°C. Le gradient de température suit une programmation de 60°C (5mn) à 240 °Cà raison de 3°C /mn et une isotherme de 5mn à 240°C. Le débit de fuite est de 60ml/mn. La vitesse de l'intégrateur est de 0.5cm/s.

Le type de colonne choisi est polaire et le DBI est DB 1701, CPSil 18

Une colonne capillaire polaire de type carbowax 20mm de dimension ,30ml ,0.32mm, 0.25 μ m épaisse du film. Avec toujours l'hélium comme gaz vecteur dont le débit est de 1ml/mn. Le débit de fuite est de 40ml/mn. la vitesse de l'intégrateur est de 0.5cm/s. le volume injecté est de 0.4 μ L sans dilution (Adams ,1995).



Figure 12 : Appareillage du chromatographe en phase gazeuse utilisé

2.1.4 Etude de l'activité antifongique *in vitro* de l'huile essentielle de Menthe pouliot

L'étude du pouvoir antifongique de l'huile essentielle de menthe pouliot a nécessité l'utilisation des milieux de cultures : Sabouraud pour les levures et PDA composition en Annexe 1 pour les champignons et la préparation d'émulsion d'huile essentielle à la concentration de 5% en Annexe 1 . Pour cela, 2 ml d'huile essentielle ont été dilués avec 40ml de suspension d'eau agar à 0.2 %, puis stérilisée à l'autoclave.

En effet, l'activité antifongique de l'émulsion ainsi préparée a été réalisée en présence d'isolats témoins et à raison de trois répétitions selon les trois méthodes d'études suivantes :

-Méthode de microsphère décrite Selon (Bousbia ,2004) : consiste à imbiber le disque de papier filtre stérile de 6mm de diamètre par 10 μ l d'émulsion d'HE et le placer sur le couvercle de la boîte de Pétri. Les boîtes ainsi préparées sont fermées et incubées à la température ambiante pendant 30mn pour la diffusion des composés volatiles. Pour les témoins, l'émulsion a été substituée par de l'eau distillée stérile. L'inoculation des isolats a été faite par le dépôt de disque d'inoculum de 5mm de diamètre, prélevé d'une culture âgée de 20 jours pour les champignons et d'une semaine pour les levures sur les milieux de cultures cités précédemment.

-Méthode de contact direct décrite par Pandey et *al.*, 1982 : consiste à verser d'abord 1.5ml d'émulsion d'HE puis couler le milieu de culture en surfusion, selon l'isolat étudié. Les boîtes de Pétri contenant seulement le milieu de culture sont considérées pour les isolats témoins. L'inoculation des isolats s'est faite comme la méthode précédente.

-Méthode d'aromatogramme selon Bousiba, 2004 : consiste à verser séparément dans chaque boîte de Pétri contenant le milieu approprié pour chaque isolat, 200 µl de suspension ajustée à 10^6 spores d'inoculum/ml puis, l'étaler à l'aide d'un écouvillon stérile. Des disques de papier filtres stériles de 6 mm de diamètre ont été imbibés d'émulsion d'HE et substitués par de l'eau distillée stérile pour les isolats témoins.

L'incubation de l'ensemble des boîtes de Pétri inoculées a été faite à une température de 37°C pendant 5 jours pour les champignons et 28°C pendant 2 jours.

-L'évaluation de la croissance des isolats témoins et/ou traités a été basée sur leur survie ou leur inhibition par l'huile essentielle.

La croissance a été déterminée par la mesure du double diamètre de la colonie tracée au verso de la boîte de Pétri pour la méthode de microsphère et celle de contact direct de l'HE.

Par contre, elle a été basée sur la mesure du diamètre d'inhibition

Aussi, les taux d'inhibition de la croissance des isolats pour la technique d'aromatogramme a ont été calculés selon la formule de (Pandey et *al.*, 1982)

$$I (\%) = 100 \times (D_c - D_e) / D_c$$

- I (%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage
- D_c : Diamètre de colonies dans les boîtes témoin
- D_e : Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

Ainsi, on peut déduire le pouvoir inhibiteur de l'huile essentielle et la sensibilité de la souche selon l'échelle suivante :

- L'huile essentielle est très active pour taux d'inhibition compris entre 75 et 100 % : la souche fongique est dite très sensible,

- L'huile essentielle est active pour des taux d'inhibition compris entre 50 et 75 % : la souche fongique est dite sensible,

- L'huile essentielle est moyennement active pour des taux d'inhibition compris entre 25 et 50% : la souche est dite limitée,

- L'huile essentielle est peu ou pas active pour des taux d'inhibition compris entre 0 et 25% : la souche est dite peu sensible ou résistante.

Par ailleurs, L'étude de l'effet fongicide de l'huile essentielle de menthe pouliot a été basée sur la comparaison de l'aspect cultural et morphologique des isolats fongiques et des levures traités et ceux des témoins, ceci par la description Par la description des cultures et leur observation microscopique après leur prélèvement entre lames et lamelles en présence d'une goutte d'eau distillée stérile.

2.1.5 Formulations galéniques à partir de l'huile essentielle de Menthe pouliot

Deux types de formulations : une crème et un emulgel ont été préparés selon le dictionnaire médical de Sidal à partir de l'huile essentielle de Menthe pouliot, dans le laboratoire de formes galéniques et pâteuses de Sidal d' El Harrach:

Ingrédients :

tween (émulsifiant)

huile de vaseline (comme excipient)

HEC (Stabilisateur d'émulsion)

H₂O

Alcool cétyostéarique (coémulsifiant)

Ethanol glycol (solvant)

carbopol 980 (Agent épaississant)

-La crème a été préparée selon le mélange de deux phases:

La phase aqueuse : 2g de +1.5g de HEC +50 ml de H₂O

La phase huileuse : 40g d'huile de vaseline +2g d'alcool cétyostéarique



rajouter 20 gouttes d'HE de menthe pouliot après refroidissement

A la fin, les deux phases seront mélangées pour l'obtention d'une crème homogène.

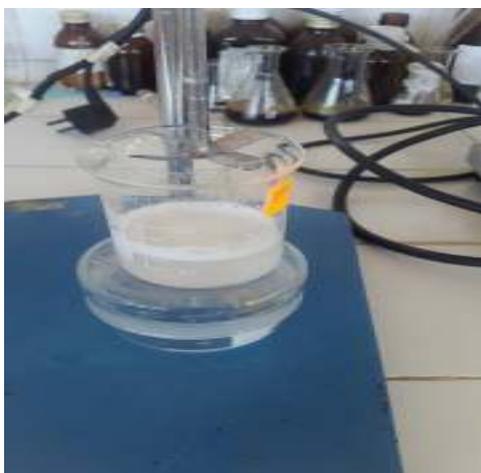


-L'Emulgel est préparé par le mélange de :

2g d'éthanol glycol + 2g HEC on laisse chauffer. pour rajouter 10 gouttes d'HE de menthe pouliot après refroidissement.

-Dans un bécher à part, 40ml d'eau distillée stérile + 2g de carbopol 980 ; on a laissé en agitation à l'aide d'un agitateur pendant 10 mn et on complète par verser le mélange à base d'huile essentielle.

-On rajoute à la fin 1g de parrafine pour obtenir un emulgel visqueux.



CHAPITRE 1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 2
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE 3
RESULTATS ET DISCUSSION

**CONCLUSION
ET PERSPECTIVES**

3.1.1 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle extraite des sommités fleuries des plantes coupées par entraînement à la vapeur d'eau a donné une huile à aspect liquide, de couleur jaune claire et à odeur caractéristiques.



Figure 13 : Echantillon de l'huile essentielle de la Menthe pouliot extraite par entraînement vapeur d'eau au laboratoire du Dr Lamouri S(2015)

- calcul du rendement :

L'extraction de l'huile essentielle a donné 20 ml d'huile essentielle, Et dont le rendement est de 0.71%

3.1.2 Composition chimique

Tableau 5: Composition chimique de l'huile essentielle de Menthe pouliot par CPG

Composition chimique	Teneurs %
Pulegone	60,82
Cyclohexanone 5-méthyl 2	14,27
Cyclohexanol, 5-méthyl 2	8,92
Bicyclo[4,1,0]héptane	2,54
1s- Alpha-pinène	0,33
3-Octanol	1,56

D-limonane	1,77
3-Octanone	0,48
Bicyclo[3.1.1] heptane	0,43
Naphthalane, 1-isocyano	0,40
2,4-Cycloheptadoc-1-one	1.07
Bicyclo[7.2.0] undec-4-	0,89
4,7,10-cycloundecatriene	1,75
Germacrene D	0,21

L'analyse chimique par CPG à colonne capillaire polaire de l'huile essentielle de la Menthe pouliot a mis en évidence 14 composés à des teneurs variables (tableau 5), trois composés chimiques ont été enregistrés à des teneurs remarquables. On peut citer par ordre décroissant deux cétones : la pulegone (60.82%), la menthone (cyclohexanone-5-méthyle 2 14.27%) et le menthol (cyclohexanol, 5-méthyle 2 - 8.92%

Les résultats sont similaires à la majorité des travaux déjà effectués au Maroc (Ouraini et *al.*, 2007); (Chebli et *al.*, 2003);(Ouraini et *al.*, 2005),(Hmiri et *al.*, 2011) qui ont souligné la pulegone comme principal constituant avec une teneur au voisinage de 80,28 %. De même, les travaux entrepris en Tunisie par (Snoussi et *al.*,2008) ainsi que (Hajlaoui et *al.*,2009), ont montré que la pulegone est le composé majoritaire de *M. pulegium*, avec des concentrations respectivement de 44,27 % et 61,11 %. Alors que les travaux de (Mahboubi et *al.*,2008), en Iran ainsi que ceux de(Derwich et *al.*, 2010), au Maroc, ont mis en évidence un autre chémotype dont les composés majoritaires sont la piperitone et le piperitenone, avec de faibles teneurs en pulegone. En plus de la pulegone (43,3 à 87,3 %), (Beghidji et *al.*,2007), ont trouvé dans différentes provenances d'Algérie, un chémotype de *M. pulegium* caractérisé par sa richesse en monoterpènes (α et β -pinènes, camphène, sabinène, α -terpinène et myrcène).

La composition chimique de l'huile essentielle de *M. pulegium* présente une variabilité selon les localités géographiques. Elle a fait l'objet de nombreuses publications citées par (Sutour ,2010). Elle est caractérisée par la présence majoritaire des cétones possédant un squelette menthanique. Les compositions décrites sont dominées par la pulegone 80.3% au Maroc ,65.9-81.3% en Inde ,73.4% en Uruguay et 43.5% en Egypte (Beghidji et al.,2007)

Notre huile essentielle se rapproche de celle de l'Inde et Himalaya pour la menthone estimée respectivement à 8.3 et 8.7%. De même, elle a montré la présence du menthol qui n'était présent qu'à de faibles pourcentages pour l'huile essentielle du Maroc (0.7%) et celle d'Uruguay (0.1%).(Beghidji et al.,200

3.1.3 Activité antifongique in vitro de l'huile essentielle Menthe pouliot

L'activité antifongique de l'He de *Mentha pulegium* a montré une variabilité des champignons et les levures testés et selon également les méthodes d'études (Annexe 3) (Figure7)

En effet, la technique de microsphère n'était pas appropriée pour l'étude des dermatophytes et des isolats fongiques mycotoxinogènes. Les taux d'inhibition de croissance n'étaient enregistrés que sur ces 4 dermatophytes et à de faibles taux .On peut citer par ordre d'importance les taux d'inhibition sur *C.albicans* (30%), *T.rubrum* (20%) , *P.ovalé* (5%) (Annexe 3) (Figure7).

Il en est de même pour la méthode d'aromatogramme (Annexe 3) (Figure7)

En revanche, le pouvoir antifongique était très significatif selon la technique de contact direct mis à part pour l'isolat d'*Aspergillus nidulans* qui n'a pas montré d'inhibition de la croissance. Les taux d'inhibition enregistrés sur les autres champignons et levures ont été remarquables.

En effet, on peut citer par ordre d'importance dans l'ordre décroissant suivant :

Très forte inhibition pour les deux champignons pathogènes et mycotoxinogènes *A.niger* et *A.flavus* (90%) ,assez importante pour *C.albicans* (60%) et modérée pour les autres isolats mise à part l'isolat *A.nidulans* (Annexe3) (Figure7)

La technique de microsphère : elle n'a pas été appropriée parce que l'étude a été basée sur l'étude du pouvoir antifongique des composé volatiles de l'émulsion de l'huile essentielle. Pour connaître son action inhibitrice vis-à-vis les isolats fongiques.

La technique d'aromatogramme : cette étude n'a pas été appropriée car elle a été réalisée sur des suspensions d'isolat fongique et des disques imbibés d'He soit la suspension était très concentré ou la concentration d'émulsion d'He était faible

La technique de contact direct : était fiable parce que l'émulsion était utilisées en contact avec l'isolat fongique ce qui a donné une activité inhibitrice

Nos résultats concordent avec de nombreux travaux :

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles d'*E. camaldulensis* et de *M. pulegium* a été étudié vis-à-vis de deux champignons causant la pourriture des pommes. L'huile essentielle de *M. pulegium* était plus active que celle d'*E. camaldulensis*, elle a provoqué une inhibition de la croissance d'*A. alternata* et de *P. expansum* à partir de 10 µl, alors qu'en présence de l'huile essentielle d'eucalyptus, les deux champignons ont résisté jusqu'à un volume de 30 µl. Cette différence du pouvoir antifongique des huiles essentielles des deux plantes peut être attribuée à leurs compositions chimiques. En effet, la menthe est dominée par la pulégone qui est une cétone alors que l'eucalyptus est constitué principalement du 1,8-cinéole qui est un oxyde terpénique. Des travaux antérieurs de El archete et al. (2003) ; Satrani (2010) ont montré que les cétones sont plus actives contre les agents microbiens que les oxydes terpéniques.

On peut citer d'autres travaux sur le pouvoir antifongique des huiles essentielles de la menthe pouliot et de l'eucalyptus. Comme l'étude de Lahlou et al. (2005) qui, a montré que l'huile essentielle de *M. pulegium* inhibe la croissance d'un *Penicillium* sp. à un volume de 20 µl.

Ouraini et al.(2005 ;2007) ont obtenu une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 2 µg /ml de l'huile essentielle de *M. pulegium*.

Par ailleurs, *Botrytis cinerea*, agent responsable de la pourriture des pommes, ainsi que d'autres espèces fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp.) étaient tous sensibles à l'activité antifongique de l'huile essentielle de la menthe pouliot (Hajlaoui et al.,2009) ;(Chebli et al., 2003).

Su et al. (2006) et Somda et al. (2007) ont mis en évidence le pouvoir antifongique des huiles essentielles d'*E. camaldulensis* de Taiwan vis-à-vis de dix espèces fongiques. Cependant, l'huile essentielle d'*Eucalyptus* sp. de Chine a été inactive vis-à-vis d'*A. alternata*; cette inactivité peut être attribuée à la composition chimique de cette huile L'activité antifongique des huiles essentielles d'*E. camaldulensis* riches en 1,8-cinéole serait due au moins

partiellement à l'action de ce monoterpène ; les mécanismes d'action des monoterpènes sur l'inhibition de la croissance des cellules fongiques et végétales restent encore obscurs malgré les nombreux travaux sur les effets inhibiteurs des monoterpènes sur les plantes. Cependant, de tous les effets possibles des monoterpènes sur les membranes biologiques, les effets délétères sur les membranes mitochondriales devraient provoquer une inhibition du métabolisme énergétique mitochondrial, ce qui entraîne des perturbations dans un large éventail des processus physiologiques et biochimiques dans la cellule. Les travaux de Chebli et al. (2003) ont montré que la pulégone et le 1,8-cinéole purs provoquent une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des concentrations plus élevées que les huiles essentielles dans leur totalité ; ainsi l'activité de l'huile essentielle est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires (Ouraini et al., 2007) ; (Chebli et al., 2003).

-les travaux de Koenig (1995) ont montré le pouvoir antifongique des HE d' Origan, Cyprès, Eucalyptus, Myrte, Lavande dentée ,Menthe pouliot et Gingembre ont été également testés sur

les dermatophytes manifesté par une inhibition complète de la croissance de l'ensemble des dermatophytes à l'exception de l'HE du Cyprès qui était inefficace sur *C. albicans*.

Par ailleurs ,Le pouvoir antifongique de l'HE de la *M. pulegium* a été étudié vis-à-vis de six isolats cliniques de *Candida.sp* . Elle s'est révélée efficace contre toutes les souches testées avec une CMI allant de 0,25 à 0,5%.

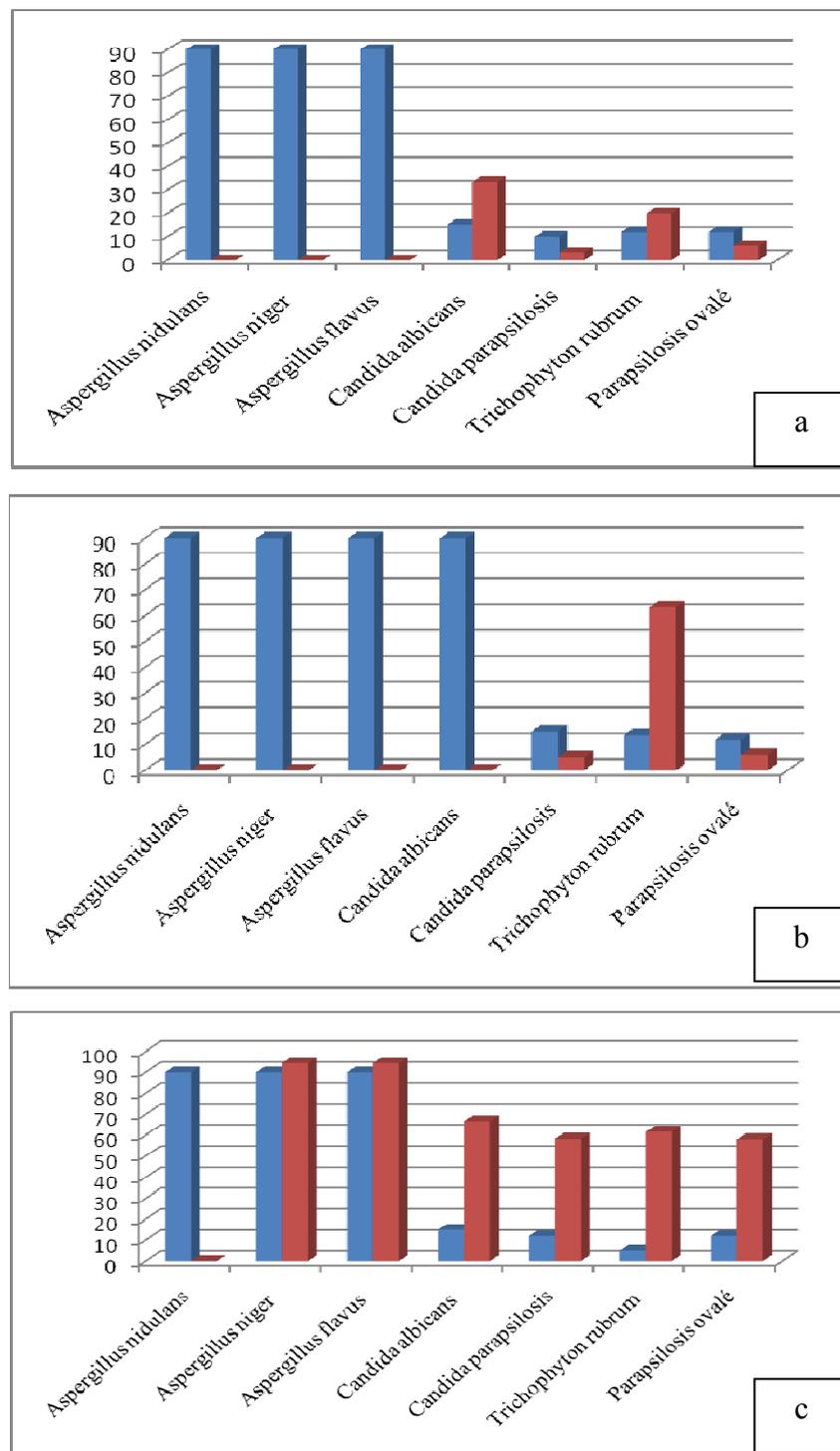
L'équipe de Lahlou (2005) a également montré que l'HE de *M. pulegium* inhibe la croissance d'un *Penicillium sp.* à un volume de 20 µl.

Ouraini et al (2005) ont obtenu une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 2 µg/ml de l'HE de *M. pulegium*.

Hmiri et al (2011) ont pu obtenir une inhibition de la croissance mycélienne d'*Alternaria alternata* ,et de *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* champignons responsables de pourriture de pommes, par l'HE de la Menthe pouliot à partir de 10µl.

On peut citer également d'autres espèces fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma sp.*) sensibles à l'activité antifongique de l'HE de la Menthe pouliot.

Agarwal *et al* (2010) ont pu obtenir également une inhibition de la croissance de *C. albicans* par l'HE de la *Mentha pepperita* à une concentration minimale de 0.05 %



a : Méthode de microsphère, b : Méthode d'aromatogramme, c : Méthode de contact direct
 Taux de croissance témoin ■ % , Taux d'inhibition traité ■ %

Figure 14: Activité antifongique de l'huile essentielle de Menthe pouliot selon les méthodes d'études

3.1.4 Formulations galéniques à partir de l'huile essentielle de Menthe pouliot

La crème est de couleur blanche de texture homogène, et d'odeur caractéristique de l'huile essentielle de Menthe pouliot.

L'émulgel est de couleur transparente, visqueux et homogène et de même odeur que celle de la crème.(Figure 8)



a : Crème , b : Emulgel

Figure15 : Présentation des formules galéniques préparées à partir e l'huile essentielle de Menthe pouliot

Notre travail rentre dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques de l'Algérie :

La Menthe pouliot a été retenue pour l'étude de l'activité antifongique de son huile essentielle sur les dermatophytes et les champignons mycotoxinogènes.

Les sommités fleuries coupées des plants de menthe pouliot ont été récoltées de la région de Bouira. L'extraction a été réalisée par la méthode d'entraînement à la vapeur de l'eau. Son analyse chimique a été effectuée par chromatographie à phase gazeuse (CPG).

Le pouvoir antifongique a été étudié selon la méthode de microsphère, celle d'aromatogramme et la méthode de contact direct, sur un champignon dermatophyte (*Trichophyton rubrum*), des levures dermatophytes (*Pityrosporum ovalé*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*) et des champignons pathogènes et mycotoxinogènes (*Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*). Pour cela, une émulsion de cette huile essentielle a été préparée à 5% par la suspension autoclavée d'eau-agar à 0.2%.

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a montré une variabilité dans l'inhibition de la croissance des champignons et des levures testés et selon également les méthodes d'études.

En effet, les deux techniques de microsphère et d'aromatogramme n'étaient pas appropriées pour l'étude des dermatophytes et des isolats fongiques mycotoxinogènes.

En effet, le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a été confirmé par une activité inhibitrice importante seulement selon la méthode de contact direct sur les souches : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Trichophyton rubrum*, *Pityrosporum ovalé*, *Candida albicans* et *Candida parapsilosis*. Mais, elle demeure inefficace sur la souche d'*Aspergillus nidulans*.

Par ailleurs, deux formulations galéniques ont été préparées à partir de l'huile essentielle pour leur application après essai in vivo sur les isolats de dermatophytes. Une crème blanche et un emulgel visqueux à odeur caractéristique de la menthe pouliot.

Plusieurs portes s'ouvrent à la recherche :

- L'analyse chimique par CG-SM de l'huile essentielle de Menthe pouliot pour identifier avec précision tous les composants chimiques,
- L'étude d'autres activités thérapeutiques de cette He comme : anti-inflammatoire-anti-oxydante-anti-spasmodique, cicatrisante et antiseptique,
- L'étude de l'activité antimicrobienne sur une large gamme de souches microbiennes,
- Tester les formulations galéniques sur des patients présentant les dermatoses étudiées,
- Séparation des composés chimiques par HPLC et les tester séparément ou en synergie entre eux pour identifier les principes actifs de l'huile essentielle,
- Changer le mode d'extraction et le stade phénologique de la plante pour optimiser le rendement en principes actifs.

1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.Generalités sur les plantes aromatiques et médicinales

1.1.1 Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis au moins 7 000 ans, elles représentent la base de la phytothérapie (Tardivon et Chadouli, 2012).

Elles regroupent à la fois les plantes spontanées dites « sauvages » ou «de cueillette » et les plantes cultivées. Les premières sont difficiles ou impossibles de cultiver. Elles représentent d'après certaines firmes importatrices, 60 à 70 % des drogues du marché Européen. Leur valeur médicinale se montre très inégale puis qu'elle varie selon l'origine, le terrain et les conditions de croissance. Les secondes assurent une matière première en quantité suffisante, homogène au double point de vue aspect et composition chimique. Elles peuvent être intensifiées ou non suivant les besoins médicaux (Benakcha, 2001).

Ces drogues d'origine végétale renferment des composés à propriétés médicamenteuses (Farnsworth et *al.* , 1986) et des vertus curatives et parfois même toxiques selon les doses (Messoudi, 2008).

1.1.2 Biodiversité des plantes aromatiques et médicinales

Dans le monde, 35 000 espèces de plantes sont employées à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Ces plantes continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Elqaj et *al.*, 2007).

Dans ce contexte, la flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale, méditerranéenne et paléo tropicale estimée près à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable d'espèces endémiques. Les objectifs fixés sont l'inventaire ainsi que, l'évaluation chimique et pharmacologique des plantes médicinales algériennes dans le but de valoriser et de nationaliser leur usage traditionnel et isoler des composés d'intérêt thérapeutique potentiel (Benkiki ,2006).

1.1.3 Importance économique des Plantes Aromatiques et Médicinales

La valorisation de la filière des Plantes aromatiques et médicinales (PAM) est devenue indispensable dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore. Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (OMS, 2011).

1.1.4 La composition chimique des Plantes Aromatiques et Médicinales

Les PAM renferment des composés chimiques qui se répartissent en deux groupes. Le premier correspond aux protides, glucides, lipides et acides nucléiques. Le second correspond aux pigments, tanins, polymères, hormones et essences végétales dites huiles essentielles. Les premiers sont les constituants du métabolisme primaire ; Il existent en permanence au sein de la plante. Les autres proviennent du métabolisme secondaire et ne sont pas toujours présents chez les végétaux (Bouamer et *al.*, 2004).

1.1.5 Vertus des Plantes Aromatiques et Médicinales

Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, pouvant être appliquées dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture.

Leurs utilisation pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique. De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des PAM sont souvent liés aux produits du métabolisme secondaire qui produisent des métabolites en faibles quantités, mais dont leur intérêt dans différents domaines en particulier pharmaceutique, cosmétique et nutritionnel, sont de la plus grande importance (Mohamedi, 2006).

1.2 Les huiles essentielles (HE)

Les huiles essentielles font partie de ce groupe de métabolites avec les alcaloïdes et les phénols (Haddouchi et *al.*, 2008). Ces composés sont appelés aussi essences végétales, essences aromatiques, huiles volatiles ou parfums (Belkou et *al.*, 2005). Leur étude est toujours d'une brûlante actualité malgré leur ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales (Boukhatem et *al.*, 2010). Ce sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides. Actuellement, leur utilisation en parfumerie et en alimentation est considérable ; c'est pour cette raison que certains organismes de normalisation leur a donné cette définition précise : l'huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une hydrodistillation . Elle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, 2000). Cette définition est restrictive : elle exclut d'une part les produits odorants d'origine animal, et d'autre part les essences obtenues selon d'autres procédés d'extraction (Hamoudi, 2008)

Les huiles essentielles sont des molécules volatiles et odoriférantes, synthétisées grâce à l'énergie solaire, par les cellules sécrétrices. Elles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phényle propane, retrouvés en tant que composés majoritaires dans quelques-unes. Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques. Ces essences peuvent être regroupées en cinq classes: les alcools, les esters, les aldéhydes, les cétones et les lactones (Belkou et *al.*, 2005).

1.2.1 Localisation des HE au niveau de la plante

Les huiles essentielles sont localisées dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées (Belkou et *al.*, 2005). Elles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent ces essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles

regroupent et en particulier les Apiaceae (Coriandre), Lamiaceae (Menthe), Lauraceae (laurier), Rutaceae (Citron), Zingiberaceae...etc. (Bendahou et *al.*, 1990)

Elles peuvent être stockées dans tous les organes : les sommités fleuries (Menthe, Lavande,...), les feuilles (Eucalyptus, Laurier, ...), les rhizomes (Gingembre, ...), les fruits (Agrumes, Badiane, Anis, ...), les écorces (Cannelle, ...) et les graines (Muscades, ..)

(Bouamer et *al.*, 2004). Elles peuvent s'accumuler dans des cellules isolées qui se distinguent des cellules banales par leur teinte plus jaune et leurs parois épaisses, légèrement subérifiées. C'est le cas chez les Lauracées. Elles peuvent former de fines gouttelettes parsemant le protoplasme de cellules épidermiques mais s'accumulent fréquemment en forte quantité en dehors du cytoplasme, soit en repoussant la cuticule (cas de nombreux poils glandulaires), soit en se déversant dans la lumière extracellulaire de canaux sécréteurs (Ombellifères, conifères) ou des poches sécrétrices (Citrus) (Binet et *al.*, 1968).

1.3 La Menthe pouliot

1.3.1 Généralités

La famille des Lamiacées (Labiées) est l'une des familles les plus importantes et les plus distinctes des plantes à fleurs, avec environ 220 genres et près de 4000 espèces dans le monde. C'est l'une des familles de plantes diverse et répandue en termes d'ethnomédecine (Naghbi et *al.*, 2005). *Mentha* est un genre important de cette famille renfermant 25 à 30 plantes aromatiques difficiles à classer en raison de la grande variabilité dans leurs caractères morphologiques et à hybridation fréquentes. Les Menthes sont distribuées dans les endroits humides ou mouillées. Les espèces de ce genre sont les plus importantes sources de production d'huile essentielle dans le monde. Leur production annuelle d'huiles du genre *Mentha*, à savoir, la menthe poivrée (*M. piperita* L.), la menthe japonaise (*M. arvensis* L.) et la menthe verte (*M. spicata*), est supérieure à 23.000 métrique tonnes avec une valeur supérieure à 400 millions \$. Ce qui les rend plus importantes sur le plan économique huiles essentielles produites. *Mentha pulegium* L. est une plante vivace de la famille des Lamiacées, communément connue sous le nom pouliot. C'est une plante herbacée vivace aromatique atteignant jusqu'à 40 cm de hauteur. Elle pousse largement dans les zones humides et dans de nombreuses régions des territoires eurasiens. *Mentha pulegium*, pouliot, connue en Afrique du Nord "Fleyou" est une espèce indigène du bassin méditerranéen (Europe et Afrique du Nord). Elle a été également constaté en Asie Mineure et dans les régions du Proche-Orient (Lawrence, 2007).

1.3.2 Description botanique

Mentha pulegium L. est une plante odorante qui exhale une senteur citronnée. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense, fraîche et pénétrante. Le nom de «pouliot» vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* signifiant la puce, car la plante a la propriété d'éloigner les puces. Cette espèce de menthe est utilisée dans les produits cosmétiques et dans les préparations culinaires pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons. Elle est considérée également bénéfique pour la santé (Sivropoulou et *al.*, 1995 ; Padrini et Lucheroni, 1996). La menthe pouliot est une plante basse ; vivace par ses rhizomes, glabre, de 10 à 30cm de hauteur. Ses tiges sont dressées à inflorescences formées de nombreux verticillatres denses, feuillées et distantes (Quezel et Santa, 1963). Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres (Marie-Pierre et Gallouin ,2003), très ramifiées, étalées ou couchées, elles émettent très facilement des racines adventives à la face inférieure des nœuds. Les feuilles sont opposées, petites de 0,8-1,3 cm x 5-6 mm de dimensions, ovales ou oblongues presque entières , légèrement dentelées ou crénelées, munies d'un court pétiole à base arrondie et à apex obtus (Raybaud, 1985)



Figure 1 : Feuilles de menthe pouliot (Marie-Pierre et Gallouin, 2003)

Les fleurs apparaissent en été, de juillet à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules (faux verticilles) largement espacés le long de la tige. Le calice est velu, glandulaire, tubuleux et la gorge est fermée par des poils connivents.

Il est bilabié, à 5 dents inégales (les 2 dents inférieures sont plus étroites). La corolle gibbeuse (formant une bosse) est composée de 4 lobes semblables. Les 4 étamines sont saillantes. Les 2 carpelles sont soudées (Marie-Pierre et Gallouin, 2003)



Figure 2 : Description botanique de menthe pouliot (Marie-Pierre et Gallouin, 2003)



Figure 3 : Morphologie de la menthe pouliot (Pacchiou, 2014)

1.3.3 Taxonomie

La classification de *Mentha pulegium* L. a été établie selon Quezel et Santa (1963) comme suit :

- Embranchement des Phanérogames ou Spermaphytes
- Sous-embranchement des Angiospermes
- Classe des Eudicots
- Sous-classe des Astéridées
- Ordre des Lamiales
- Famille des Lamiacées
- Genre: *Mentha* (Tourn.) L.
- Espèce: *Mentha pulegium* L.
- Nom vernaculaire Français : Menthe pouliot (Fournier, 1947)
- Nom vernaculaire en Arabe : *Fliou* (Trabut et *al.*, 1995)

1.3.4 Répartition géographique

Le genre *Mentha* est très répandu dans le nord de l'Europe, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie.

En Algérie, les cinq espèces de menthe suivantes sont retrouvées: *Mentha rotundifolia* L., *Mentha spicata* L., *Mentha aquatic* L., et *Mentha pulegium* L.

La menthe pouliot est repandue en Algérie et en général dans tout le nord de l'Afrique, en Europe ainsi que dans les régions d'Asie et d'Amérique (Quezel et Santa 1963).

Elle est très abondante et spontanée dans notre pays où ; elle pousse surtout dans le Tell et se répand dans les terres inondées en hiver, au bord des ruisseaux et des marécages (Quezel et Santa, 1963)

1.3.5 Propriétés thérapeutiques

Connue depuis l'antiquité, la menthe pouliot figure parmi les plantes les plus communément utilisées en médecine traditionnelle (Boullard, 2001). En fait, une infusion de feuilles et/ou de sommités fleuries est recommandée contre la toux, l'asthme (Garnier et *al.* , 1961), le diabète (Ziyyat et *al.*, 1997), la fièvre, les brûlures, l'eczéma, les démangeaisons ou bien pour arrêter la sécrétion lactée (Garnier et *al.*, 1961). Elle possède aussi des propriétés insecticides, cholagogues, antiseptiques et antispasmodiques (Fourment et Roques, 1942).

Elle est également antitussive, conseillée pour l'hygiène buccale, contre les maux de tête, les frissons et les infections broncho-pulmonaires (Bellakhdar et *al.*, 1991).

Par ailleurs, une infusion, un cataplasme ou une inhalation de la plante fraîche est conseillée dans le cas d'une bronchite, d'une cataracte, d'un rhume et d'une infection de la gorge. En outre, une infusion de sommités fleuries a un effet expectorant et désinfectant (Fourment et *al.*, 1941).

Cette plante est également utilisée pour le traitement des peaux grasses. Enfin, une infusion de la partie aérienne a également un effet tonique, digestive et carminative (Bellakhdar et *al.*, 1991).

Sivropoulou et *al.* (1995) ont testé le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, par la méthode de diffusion sur disques, contre les bactéries suivantes: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Ils ont constaté que cette huile présente une faible activité contre l'ensemble des souches testées.

Par ailleurs, Daferera et *al.*(2003) ont également prouvé une faible activité antifongique de cette huile essentielle sur *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

De même, Teixeira et *al.*(2005) ont étudié le pouvoir antifongique de cette huile sur les dermatoses et ils ont révélé son mode d'action moyennement sensible sur *C. albicans*.

Franzios et *al.* (1997) ont testé son activité insecticide sur *Drosophila melanogaster* et ont confirmé son haut pouvoir biocide sur des larves grâce à la présence de la pulégone. Lamiri et *al.* (2001) ont étudié le pouvoir insecticide de cette huile essentielle sur *Mayetiola destructor* (Say.). Ils ont prouvé son pouvoir hautement toxique pour les adultes et les œufs de cette espèce avec 100% de mortalité.

1.3.6 Principes chimiques

L'huile essentielle de la menthe pouliot est un liquide jaunâtre d'odeur très forte, soluble dans l'alcool. Elle est composée de 75 à 80% de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique et de menthol ; de limonène lévogyre, de dipentène . Cette plante contient également du tanin, des matières cellulosiques et pectiques et des sucres (Beloued,1998).

Cette huile est également caractérisée par la prépondérance de pulégone (70-90%) accompagnée d'autres cétones mono terpéniques telles que l'isomenthone, la menthone et la pipérténone (Bremness,2001).

La pulégone fait partie de la famille des terpènes. Le point commun des adhérents de cette famille est la présence dans leur squelette de l'unité de base isoprène qui peut se retrouver plusieurs fois, leur arrangement le plus souvent rencontré est de type (tête-queue), la tête de l'un des motifs isoprène étant relié à la queue (Rahal,2004).

Elle a été obtenue pour la première fois en 1891 par Beckman et Plessiner (Majidi,2003) . Elle peut être isolée de Huile essentielle par chromatographie sur colonne en utilisant le gel de silice 60f254 et en réalisant l'élution par le mélange n-hexane/éther di éthylique (Durum, 2004).

1.4 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, , de leurs activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques (Bendahou et *al.*, 1990).

Certaines espèces microbiennes pathogènes, sont de moins en moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples est à l'ordre du jour. L'usage des huiles essentielles, grâce à leur forte action antimicrobienne développée depuis plus d'une vingtaine d'années, constitue un sérieux substitue au traitement par Les antibiotiques dans les pathologies infectieuses (Pibri, 2006). Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles ainsi que les effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes a mené les chercheurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (Garnero, 1991).

Les composés des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons. Parmi les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Abiaceae (Origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle) sont d'autant des plantes aromatiques à huiles essentielles riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries: *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp.* et *Helicobacter pylori* (Pauli, 2001).

Belleti et *al.* (2004), ont démontré que les huiles essentielles des *Citrus* sont efficaces contre les bactéries pathogènes, les spores bactériennes, mais également sur certaines bactéries responsables de toxi-infections alimentaires telles que: *Mycobacterium jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyphimurium* et *Acrobacte rbutzleri*.

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (Ouraini et *al.*, 2005) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que, *Candida albicans* (levure), *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (Teixeira, 2005).

Des travaux similaires ont été réalisés par Mohammedi (2006) sur l'huile essentielle de *Cistus ladaniferus* contre sept moisissures: *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Pencillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*. Ils ont démontré que les huiles essentielles de thym, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique *in vitro* contre *Aspergillus flavus*.

1.5. Les Dermatoses

1.5.1 Généralités sur les dermatoses et dermatophytes

Une dermatose est une infection causée par les dermatophytes (Candolfi ,2006).

Parmi les mycoses, on distingue:

- Les dermatoses superficielles qui font l'objet de cette thèse: ce sont des mycoses qui touchent la peau, les phanères (ongles, cheveux et poils) et les muqueuses digestives et génitales (Figure 2). Elles ne sont pas mortelles mais souvent très contagieuses, gênantes et inesthétiques et peuvent être aussi un foyer secondaire d'une pathologie mycosique déjà présente mais localisée ailleurs dans l'organisme (Candolfi ,2006).

- Les dermatoses profondes vont atteindre des structures plus profondes de l'organisme comme les organes ou les viscères. A l'inverse des mycoses superficielles, elles sont rarement contagieuses mais peuvent fréquemment et sérieusement engager le pronostic vital (Candolfi ,2006).

Les dermatophytes sont représentés par les champignons et les levures (Tableau1)

Les champignons sont microscopiques filamenteux et kératinophiles. Ils présentent une affinité importante pour la kératine de l'épiderme et des phanères (ongles, poils et cheveux) et respectent les muqueuses. Ils sont absents de la flore commensale de la peau et sont toujours pathogènes pour l'homme et l'animal. Ils entraînent des lésions superficielles désignées sous ces différents termes: dermatophytoses, dermatophyties, épidermomycoses, épidermophytoses, épidermophyties quand elles siègent sur la peau, teignes quand elles touchent le cuir chevelu ou encore onychomycoses quand elles affectent les ongles (Delattre, 2000).

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires de forme ovoïde ou sphérique habituellement commensaux de la peau et des muqueuses. Elles ne deviennent pathogènes que dans certaines conditions. On parle de pathogènes opportunistes qui se reproduisent par bourgeonnement. Selon les espèces, ce bourgeonnement peut s'allonger et donner un pseudofilament (Chabasse, 2003).

- Les candidoses cutanées muqueuses aiguës qui sont les plus fréquentes, secondaires à des facteurs locaux et généraux, facilement curables par un traitement antifongique (Delattre, 2000).

- Les candidoses cutanées muqueuses sont chroniques, exceptionnelles, en relation avec un déficit de l'immunité cellulaire (Delattre, 2000) .

Selon Chabasse (2003), les principales mycoses superficielles, par ordre de fréquence décroissante sont représentées par les genres de levures suivants.

- le genre *Trichophyton* a une affinité pour toutes les structures riches en kératine avec une préférence pour les ongles et les espaces inter-orteils. De nombreuses espèces appartiennent à ce genre et *T.rubrum* est l'espèce la plus courante en France. Les macroconidies sont en forme de saucisse, à paroi mince et lisse alors que les microconidies sont rondes ou piriformes selon les espèces

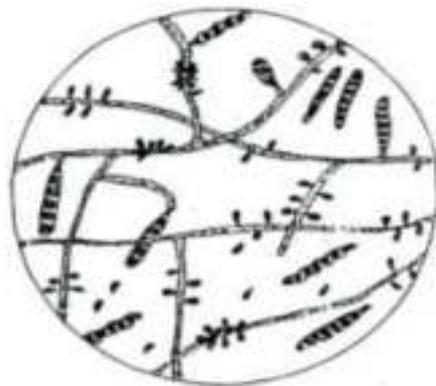


Figure 4 : Aspect microscopique du genre *Trichophyton*(Candolfi ,2006).

- Les infections à *Candida*, appelées candidoses, représentent la majorité des cas de mycoses superficielles (80%). Ce genre regroupe de nombreuses espèces dont la plus courante est *C.albicans*. Cette espèce est retrouvée dans plus de 50% des levures isolées chez l'homme. C'est une levure commensale des muqueuses digestives et génitales Elle n'est jamais présente sur la peau saine mais, devient pathogène dans certaines conditions et provoque des lésions

cutanées muqueuses. Ces facteurs favorables doivent systématiquement être identifiés pour permettre une meilleure prise en charge.



Figure 5 : Aspect microscopique de Candida albicans(Candolfi ,2006)

- Les levures appartenant au genre *Pityrosporon* sont lipophiles, kératinophiles et pour la plupart lipodépendantes. Ce sont des commensales de la flore cutanée et vivent en saprophytes sur la peau de l'homme, principalement localisées dans les zones riches en glandes sébacées de par leur lipophilie. La kératinophilie explique leur absence au niveau des muqueuses. Sous l'influence de différents facteurs tels que, la chaleur et l'humidité, l'immunodépression, la peau grasse, la grossesse, l'hypercorticisme. Ces levures vont devenir pathogènes. *M. furfur* est l'espèce la plus représentative de ce genre. Elle est saprophyte et fréquente de la peau surtout séborrhéique.

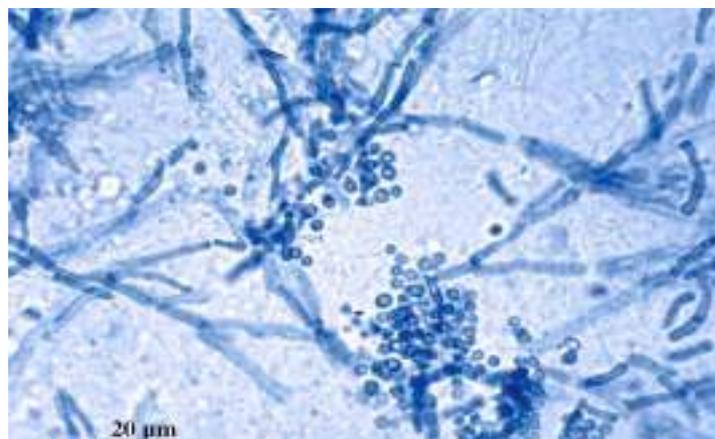


Figure 6: Aspect microscopique de Malassezia furfur(Candolfi ,2006).



Figure 7 : Aspect morphologique des dermatoses superficielles (Feuillhade et *al.*,2002)

a : dermatose à *T.rubrum* de la main

b : dermatose à *T.rubrum* de la plante

Tableau 1: Caractères morphologiques et descriptifs des souches de dermatoses étudiées

Dermatophyte	Habitat	Pouvoir pathogène	Aspect morphologique	Références
<i>Candida albicans</i>	Muqueuses digestives et vaginales, la levure sous forme de blastospores,	Infections cutanées et muqueuses (candidoses vaginales)	Colonies blanches crémeuses levure non capsulée, non pigmentée, et aérobie. peut mesurer de 3 à 15 µm.	(Pfaller et Diekema, 2007) (Benedict et al., 1994)
<i>Candida parapsilosis</i>	Infections cutanées	Originaire des ongles des pieds Contamination par la peau Septicémie	Levure forme variable ronde a allongée Pseudomycelliumrudimentaire,non pigmentée	(Langeron et Talice, 1932)
<i>Pityrosporum ovalé</i>	Infections cutanées zones riches en glandes sébacées (thorax, visage, cuir chevelu)	Affection prurigineuse du thorax taches chamois	Levures de forme variable rondes à ovalaires et de taille variable.	(Baillon ,1889)
<i>Trichophyton rubrum</i>	Transmission par contact avec les lésions cutanées	Onyxis des mains, Onyxis des pieds	Macroconidies à paroi lisse et mince avec plusieurs cloisons isolées ou en bouquets Microconidies abondantes	(Sabouraud, 1864-1938)

1.5.2 Traitement des dermatoses

Depuis plusieurs années, l'arsenal thérapeutique des antifongiques s'est considérablement enrichi, notamment pour le traitement des mycoses cutanées, cutané-muqueuses et des phanères.

On dispose aujourd'hui d'un grand éventail de molécules, ayant un spectre d'activité plus ou moins large et présentes sous différentes galéniques, pour soigner ces mycoses. Bien que le choix de l'antifongique repose sur l'identification de l'agent pathogène isolé, il va aussi dépendre de la localisation, du type et de l'étendue de la lésion ainsi que du contexte clinique. Par ailleurs, pour un traitement efficace, la restauration de l'état immunitaire du patient, l'élimination des facteurs favorisant les mycoses superficielles et les règles d'hygiène sont indispensables à la guérison en complément des antifongiques.

La plupart des dermatoses superficielles se soignent par un traitement local mais cependant elles peuvent nécessiter un traitement par voie orale (Chabasse, 2001).

1-Les antifongiques d'origine naturelle (Chabasse, 2003)

- La griséofulvine: GRISEFULINE* (comprimés)
- Les polyènes: (formes orales et à usage local) .Cette famille est représentée par:
 - la nystatine: MYCOSTATINE* (comprimés, suspension buvable)
 - l'amphotéricine B: FUNGIZONE* (gélules, suspension buvable, lotion à usage local)

2- Les antifongiques de synthèse (Chabasse, 2003)

Les dérivés azolés :

Les antifongiques azolés ont l'avantage d'avoir un large spectre d'activité et sont utilisés dans le traitement des infections locales et systémiques. Ils sont actifs sur l'ensemble des champignons impliqués dans les mycoses superficielles

Tableau 2: Les antifongiques azolés à usage local (Chabasse, 2003)

Tioconazole	TROSYD (crème 1%) GYNO-TROSYD* (ovule gynécologique)
Sertaconazole	MONAZOL (crème 2% et ovule gynécologique)
Econazole	PEVARYL 1%, DERMAZOL* 1%, ECONAZOLE 1%, FONGERYL* 1%, FONGILEINE 1%, MYCOAPASYL* 1% (crème, émulsion, solution-spray, poudre) GYNO-PEVARYL* 150mg, GYNOPEVARYL LP 150mg
Sulconazole	MYK* (crème, solution, poudre)
Butoconazole	GYNOMYK (ovule gynécologique)
Bifonazole	AMYCOR 1% (crème) AMYCOR ONYCHOSET* (pommade associée à de l'urée)
Isoconazole	FAZOL 2% (crème, émulsion, poudre) FAZOL G* (ovule gynécologique)
Kétoconazole	KETODERM 2% (crème, sachet de gel moussant) KETODERM* 2% monodose (gel moussant)

-L'amorolfine: LOCERYL 5%, CURANAIL 5% (solution filmogène)

-La terbinafine: LAMISIL (comprimés à 250 mg, crème et spray-solution à 1%),
LAMISILATE* 1% (crème), LAMISILATE MONODOSE* 1% (solution)
LAMISILDERMGEL 1% (gel), FUNGSTER 250 mg (comprimés)

-La ciclopiroxolamine: MYCOSTER 1% (crème, poudre, solution alcoolisée) SEBIPROX
1,5% (shampooing)

-Le sulfure de sélénium: SELSUN 2,5%(suspension pour application locale), SELSUN BLUE 1% (suspension utilisée en shampoing)

-Le tolnaftate: SPORILINE 1% (lotion pour application cutanée)

-L'acide undécyclénique: MYCODECYL (crème, poudre et solution pour application locale)

3-Les antiseptiques : (Chabasse, 2003)

- la povidone iodée: BETADINE - l'héxétidine: HEXTRIL - l'hypochlorite de sodium: DAKIN - la chlorhexidine: SEPTAL- l'alcool - la solution de Milian - le sulfate de cuivre: DERMOCUIVRE, CREME DE DALIBOUR - le para-hydroxybenzoate de benzyle: NISASOL, NISASEPTOL, NISAPULVOL

On distingue deux types d'antifongiques :

-Les antifongiques systémiques principalement indiqués pour soigner les mycoses profondes et sous cutanées, mais dans certaines situations, ils peuvent être utilisés pour le traitement de mycoses superficielles. Les teignes du cuir chevelu, les onychomycoses avec atteinte de la matrice, et les dermatophytes étendues ou récidivantes nécessitent souvent l'emploi d'antifongiques per os en complément des antimycosiques topiques.

- Les antifongiques topiques à usage local sont très nombreux et se présentent sous des formes galéniques variées .Ils peuvent parfois être associés à des antibiotiques et/ou des corticoïdes ou des kératolytiques dans certaines spécialités. Ils sont indiqués pour le traitement de la plupart des mycoses superficielles ou en relais ou en complément de la voie orale. Le choix de la galénique dépend de la localisation de la mycose (peau glabre, muqueuse, zone pileuse, plis ou digestive), de l'aspect clinique des lésions (sèche, suintante, inflammatoire) ou encore de l'âge du patient. Les différentes galéniques existantes confèrent donc aux antifongiques topiques des indications préférentielles:

-Antifongiques par os à action locale : sont administrés par voie orale, certains antimycosiques ne sont pas absorbés par la muqueuse digestive et par conséquent ils exercent une action locale par contact directe avec le champignon au niveau de cette muqueuse. C'est le cas de l'amphotéricine B, de la nystatine et du miconazole qui sont utilisés pour traiter les mycoses buccales et digestives. Ces spécialités sont commercialisées sous forme de solutions buvables, de gels buccaux ou de comprimés à sucer (Chabasse, 2003)

1.6 Généralités sur les champignons toxigènes et les mycotoxines

Environ 25 % des denrées alimentaires sont contaminées par des mycotoxines, métabolites secondaires de diverses moisissures. Ces moisissures et mycotoxines entraînent des problèmes économiques pour les marchands de grains, pour les producteurs de volailles et de bétails, les industries alimentaires fabriquant des produits pour les animaux et l'homme. Tout au long de la chaîne alimentaire, depuis le champ jusqu'à l'assiette du consommateur ou la mangeoire de l'animal, tel ou tel groupe de moisissures est susceptible de se développer et de produire des toxines (Tableau 3) si les conditions écologiques, notamment l'humidité, lui sont favorables (Figure 3) (Chabasse et *al.*, 2002). La contamination des aliments ou des graines peut avoir lieu avant ou pendant le stockage. Les champignons toxigènes sont classés en 4 groupes suivant le moment auquel ils se développent :

- Pathogène pour la plante (ex. *F. graminearum* élaborant la zéaralénone),
- Champignons producteurs de mycotoxines sur plantes sénescentes ou stressées (ex *F. moniliforme* produisant la fumonisine et *A. flavus* produisant les aflatoxines),
- Champignons colonisant à l'origine la plante et prédisposant celle-ci à la contamination par la mycotoxine lors de la récolte (ex *F. roseum* produisant des trichothécènes)
- Champignons existant dans le sol et dans le matériel de putréfaction et qui proliféreront lors du stockage (ex *A. ochraceus* et *P. viridicatum* élaborant tous deux l'ochratoxine A).

En effet, plusieurs sortes de mycotoxines sont retrouvées dans les aliments seulement certaines sont toxiques pour la santé humaine (Chabasse et *al.*, 2002).

Tableau 3 : Caractéristiques de quelques champignons mycotoxinogènes**(Chabasse et al. 2002)**

Isolats fongiques	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aspergillus Niger</i>	<i>Aspergillus nidulans</i>
Ecologie	Sol, graines d'arachides, les graines de céréales	Plantes herbacées	Sol, air, substrats végétaux
Pouvoir pathogène	Aspergillose pulmonaire	Aspergillome, otites, sinusites, infections cutanées, pulmonaires	Infections pulmonaires
Croissance	Température entre 10 et 42°C (37°C optimale) Croissance de 2à3jours	Temperature 25 et 30°C. Inhibition par l'actidione	Température entre 25et 30 °C (optimale 37°C)

1.6.1 Description morphologique des *Aspergillus* étudiés (Chabasse et al., 2002).

Aspergillus flavus : C'est un agent responsable d'aspergillose pulmonaire ou généralisée c l'immunodéprimé. D'un point de vue morphologique, il se distingue des autres espèces d'*Aspergillus* par la couleur vert-jaune de ses colonies et par ses conidiophores à paroi verruqueuse.

Répartition, fréquence, habitat

Ce champignon est présent dans toutes les régions du globe, mais on le trouve plus fréquemment dans les zones tropicales et subtropicales. En France, il figure cependant parmi les espèces les plus rencontrées. On le trouve dans différents types de sols, et plus particulièrement dans les solscultivés. Dans les zones tropicales, il se développe dans le fruit

de l'*Arachis hypogea* (Arachide), c'est pourquoi une attention toute particulière doit être accordée à la contamination des produits alimentaires qui en dérivent, car de nombreuses souches peuvent produire des aflatoxines. Ce champignon se développe également souvent sur les graines de céréales (maïs, avoine...).

Caractères culturaux/ Aspect macroscopique

Ce champignon est facilement isolé sur milieu de Sabouraud. Sur milieu de Czapek, les colonies sont typiquement vert-jaune (d'abord blanche, puis jaune, et enfin vert-jaune). Leur aspect est généralement granuleux dans les zones centrales et plus poudreux en périphérie. Le verso est de couleur variable puisque, selon les isolats, il est presque incolore, rosé, ou brun-rouge. Cette espèce a une croissance rapide (2 à 3 jours). Il se développe entre 10 et 42°C (voire 48°C exceptionnellement) avec un optimum thermique à 37°C. Son développement est inhibé par l'actidione.

Morphologie microscopique

La multiplication de cette espèce est végétative. Il n'y a pas de reproduction sexuée connue, ni présence de « Hülle cells ». On observe alors des structures conidiogènes (ou conidiophores) qui se développent rapidement à partir du mycélium végétatif incolore. Ces structures sont caractérisées par un filament dressé appelé stipe. Ce stipe (700 à 1000 µm de longueur) possède une paroi épaisse, hyaline et verruqueuse surtout vers la zone supérieure qui se termine par une vésicule sphérique de 10 à 60 µm de diamètre. Les cellules conidiogènes (ou phialides) sont, soit insérées directement sur la vésicule, soit portées par des métules. Dans une même colonie, on peut observer les deux types, parfois sur la même vésicule. Les conidies sont produites en longues chaînes qui forment une structure irrégulièrement radiée. Elles sont typiquement de couleur vert-jaune, globuleuses à subglobuleuses, échinulées, et mesurent 3,5 à 4,5 µm de diamètre. La tête aspergillaire est donc unisériée ou bisériée, mesure 300 à 400 µm de long, est radiée puis se scinde en plusieurs colonnes sporales mal individualisées (Figure 3,c)

Aspergillus niger : Ce champignon peut provoquer chez le sujet non immunodéprimé des aspergillomes, mais aussi des otites ou des sinusites. On le rencontre plus rarement chez l'immunodéprimé, où il est responsable d'infections cutanées, pulmonaires ou généralisées. Au niveau morphologique, il se caractérise par des têtes aspergillaires radiées, bisériées, noires à maturité.

Répartition, fréquence, habitat

Cette espèce est extrêmement commune dans le monde entier. Ce champignon est omnivore et peut contaminer les substrats les plus divers. Toutefois, dans nos régions tempérées, on observe un pic atmosphérique en été, qui peut s'expliquer par son affinité pour les plantes herbacées.

Caractères culturels/ Aspect macroscopique

Ce champignon croît facilement sur milieu de Czapek, une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, avec le mycélium extensif hyalin en grande partie immergé dans la gélose. Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. En effet, ce champignon produit également du mycélium aérien blanc et de très nombreuses structures sporifères érigées, pulvérulentes, brun-noir, qui sont généralement disposées en cercles concentriques. Le verso est incolore à jaune. Un exsudat jaune pâle peut être produit en toutes petites gouttelettes. Cette espèce a une croissance rapide, avec un optimum thermique compris entre 25 et 30°C, mais il peut pousser jusqu'à 42°C. Son développement est aussi inhibé par l'actidione.

Morphologie microscopique

La multiplication de cette espèce est végétative. Il n'y a pas de reproduction sexuée connue, ni présence de « Hülle cells ». On observe alors des têtes conidiennes larges, brun-rouge très sombre à noir, tout d'abord sphériques et secondairement radiées. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 µm de diamètre). Les phialides, très serrées, sont insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule. Métules et phialides sont légèrement teintées de brun. Les conidies sont produites en très longues chaînes qui, au fil du temps, ont tendance à se regrouper en plusieurs colonnes compactes. Elles sont typiquement globuleuses, brunes, échinulées à très verruqueuses, et mesurent 3,5 à 5 µm de diamètre. La pigmentation n'est pas répartie de façon uniforme sur toute la surface de la conidie, mais correspond à des granulations ornementales regroupées en crêtes irrégulièrement distribuées. La tête aspergillaire est donc bisériée, radiée, et noire à maturité (Figure 3,a)

Aspergillus nidulans Ce champignon peut provoquer des sinusites ou même des infections pulmonaires chez le sujet immunodéprimé. Il se distingue des autres *Aspergillus* par différents facteurs. Tout d'abord par l'existence d'une reproduction sexuée, et par la présence de « Hülle cells ».

Puis également par ses colonies vert foncé à revers rougeâtre, ses conidiophores courts et bruns, et ses têtes en colonne bisériées.

Répartition, fréquence, habitat

L'*Aspergillus nidulans* est isolé du sol, de l'air et de divers substrats végétaux.

Caractères culturels/ Aspect macroscopique

La croissance est rapide, notamment sur milieu de Czapek où une colonie peut atteindre 5 à 6 cm de diamètre en deux semaines. La colonie apparaît duveteuse voire poudreuse ; elle a une couleur habituellement vert foncé ou vert cresson, avec une marge blanchâtre qui correspond à la zone d'extension. Après 3 ou 4 semaines de culture, des granulations de couleur crème voire jaunâtre apparaissent, en nombre variable, au sein du tapis vert. Ces formations correspondent à la reproduction sexuée, contrairement aux zones vertes qui concernent la reproduction asexuée. Le verso de la colonie est coloré en rouge-pourpre. L'optimum thermique pour la croissance est compris entre 25 et 30°C, mais le champignon pousse également à 37°C. Sa croissance est également inhibée par l'actidione.

Morphologie microscopique

➤ Forme asexuée

Les têtes conidiennes forment des colonnes évasées vers l'extérieur. Elles sont portées par des conidiophores courts (75 à 100 µm de long), bruns, lisses, sinueux. La vésicule est sphérique, brune et petite. Elle possède des métules insérées uniquement sur l'hémisphère supérieur, qui portent les phialides. Les conidies sont rondes (3 à 5 µm de diamètre), vertes, échinulées et souvent disposées en chaînes. La tête aspergillaire est donc bisériée en colonne, courte et compacte.

➤ Forme sexuée

Cette moisissure est homothallic et donne le plus souvent la forme sexuée *Emericella nidulans* dans les mêmes cultures que la forme asexuée. On observe des cléistothèces globuleux (100 à 300 µm de diamètre), brun-orangé à maturité, à paroi bien délimitée. Ils renferment de nombreux asques octosporés. Les ascospores rouge-vif, sont ornementées de deux crêtes équatoriales. On observe également chez ce champignon la présence de « Hülle cells », ou cellules dites en noisette. Ces cellules arrondies de 10 à 20 µm de diamètre, ont une paroi épaisse et réfringente. Elles sont disposées autour des cléistothèces ou de façon éparse sur le mycélium végétatif. La fonction de ces cellules est encore à ce jour inconnu (Figure 3,b)

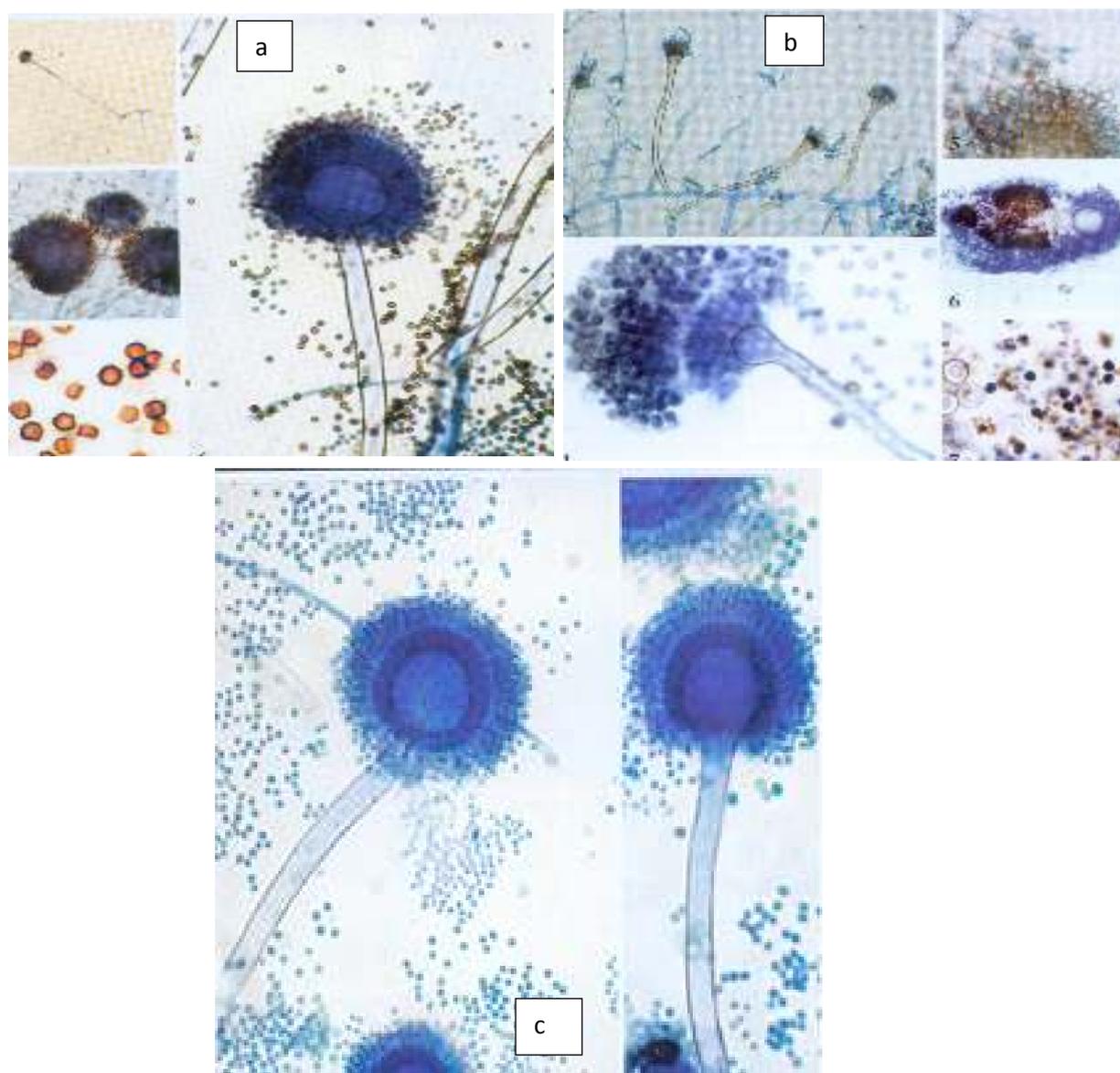


Figure 8 : Aspect microscopique des *Aspergillia* spp. (GR x 125) (Chabasse et *al.*,2002)

a : *Aspergillus niger* , b : *Aspergillus nidulans* , c : *Aspergillus flavus*

1.7 Analyse chimique des huiles essentielles

La connaissance parfaite de la composition chimique des huiles essentielles permettrait aux professionnels des secteurs de pouvoir contrôler leur qualité et de les valoriser. L'identification des composés d'une HE reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires.

La technique incontournable pour individualiser les constituants d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG), son couplage à un détecteur à ionisation de flamme (DIF) permet la quantification des constituants et le calcul de leur indices de rétention.

La CPG est souvent combinée avec une technique d'identification spectrale, généralement la spectrométrie de masse ou la spectrométrie infrarouge par transformée de fourier FTIR.

Elle permet l'analyse quantitative et qualitative des mélanges très complexes de composés gazeux ou susceptibles d'être vaporiser par chauffage sans décomposition (Jacob et *al.*, 1979).

1.7.1 Chromatographie en phase gazeuse

La CPG repose sur le principe de migration différentielle des constituants d'un mélange à travers une phase stationnaire .elle est basée sur l'apparition des composés injectés entre une phase stationnaire (liquide ou solide) et une phase mobile gazeuse .durant leur passage à travers la colonne ,les composés analysés se repartissent entre la phase mobile et la phase gazeuse suivant les règles physico-chimiques de partition (gaz-liquide)ou d'absorption (gaz-solide).les constituants du mélange analysé parcourent la colonne chromatographique dans des temps de rétention différents .Ces derniers sont liés aux conditions opératoires de l'analyse et pour s'affranchir de leur variabilité ,des indices calculés à partir d'une gamme étalons d'alcanes ,en isothermes ou en programmation de température ont été mis en place (Jacob et *al.*, 1979).

1.8 Techniques D'étude du pouvoir antifongique

L'évaluation qualitative de l'activité antifongique des HE consiste à estimer l'inhibition de la croissance des souches testées soumise au contact de l'HE et ceci par 3 méthodes.

1.8.1 Technique de diffusion en phase vapeur ou Méthode des microsphère (Bousbia, 2004)

Le disque de papier filtre stérilisé imprégné d'essence est disposé au centre géométrique du couvercle de la boîte de Pétri et non plus au contact avec la gélose. La boîte est hermétiquement fermée. Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte. La lecture des résultats de ce test porte sur la croissance ou non de l'inoculum, se traduisant par un halot qui sera mesuré par un pied à coulisse. Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des huiles essentielles, elle met en évidence seulement la sensibilité du microorganisme testé aux constituants volatils à la température d'incubation.

1.8.2 Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) (Janssen et al., 1986)

La méthode d'aromatogramme par diffusion sur des disques imprégnés d'huile essentielle. Des disques de papier filtre de 6mm de diamètre imprégné d'huile essentielle pure sont déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de pétri (1 disque de papier filtre par boîte) préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension fongique de 10^6 spores/ml pendant 4 jours.

L'incubation à $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm, disque inclus.

1.8.3 Méthode de contact direct (Bousbia, 2004).

La technique par contact direct consiste à mettre en présence l' H.E. et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé ou liquide Dans la boîte de Pétri on ajoute 1.5ml Emulsion d'HE et on coule le milieu de culture o laisse refroidir puis on repique les disques mycéliens au centre. Pour chaque souche on fait 3 répétitions de témoin et 5 répétitions de la méthode. L'incubation des boites est faite à 37°C pendant 3 jours.

Les taux d'inhibition de croissance sont déterminés pour caractériser l'efficacité de l'extrait de plante et la sensibilité de l'isolat microbien.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- **AFNOR**, 2000. Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles, 2 (1). 6ième Edition AFNOR, Paris, 663p.
- **Agarwal V., Priyanka L. et Vikas P.**, 2007. Effect of Plant Oils on *Candida albicans*. *J of Microbiol Immunol Infect* , *India*, 43: 447-451.
- **Baillon H .**, 1889 . Traité de botanique médicale cryptogamique. Octave Douin Paris, France, 376p.
- **Beghidji N., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S., and Chalchat J.C.**,2007.Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the East of Algeria. *Chem. Nat. Compd.*, 43 (4), 481-483.
- **Belkouch H., Beyoud F., Taleb Bahmed Z.**, 2005 .Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*Mentha spicata* L) dans la région de Ouargla Memoire DES, Université de Ouargla, 261p.
- **Bellakhdar J., Chasse R., Fleurentin J. and Younos C.**, 1991. Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopeae. Maroc, *J of Ethnopharmacology*,15 :123-143
- **Beloued A.**, 1998. Plantes médicinales d'Algérie. Ed. Office des publications universitaires, Alger, 277p.
- **Benakcha R.**, 2001. Etude phytochimique de deux plantes algériennes : *Centaurea pungens* et *Salsola vermiculata*, activité biologique. Thèse de magister chimie-Constantine.
- **Bendahou M., Benyoucef M., Benkada D., Soussa Elisa M.B.D., Galvao E.L., Marques M.M.O., Muselli A., Desjobert J.M., Bernardini A.F. and Costa J.**, 2007. Influence of the Processes Extraction on Essential Oil of *Origanum glandulosum* Desf. *Journal of Applied Sciences*, 7: 1152-1157.
- **Benedict D.S.N, Susan C.R.N.A., Colagreco F.A.A.N., Joseph M.S., 1994.** Fungal infections associated with malignancies, treatments, and AIDS. An International Journal for Cancer Care, 17 (5): 367-446.
- **Benkiki N.**, 2006. Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Ruta montana* ,*Matricaria pubescens* et *Hypericum perforatum*".Thèse de doctorat en chimie. Université El hadj lakhder Batna, 153p.

- **Bezanger - Beauquesne I., Debraux G.,** 1961. Ressources médicinales de la flore française. Tome II, Ed. Vigot Frères, Paris. 1511p.
- **Binet P. et Brunel J.P.,** 2000. Physiologie Végétale. Tome II. Edit., Doin, 54p.
- **Bouamer A., Bellaghit M. et Mollay A.,** , 2004 .Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe verte et la menthe poivrée de la région de Ouargla
- **Bouchet P.H., Guignard J.L., Madulo-Leblond G., Régli P.,** 1989. Mycologie générale et médicale. Masson, Paris, Milan, Barcelone, Mexico. 179 p.
- **Boukhatem Z.F, Domergue O., Bekki A., Merabet C., Sekkour S., Bouazza F., Duponnois R., De Lajudie P., Galiana A.** 2012. Symbiotic characterization and diversity of Rhizobia associated with native and introduced Acacias in arid and semi-arid regions in Algeria. *FEMS Microbiology Ecology*,. 80: 534–557.
- **Boullard.,** 2001. Dictionnaire des plantes médicinales du monde et réalités. Ed. estem , Paris, 636p.
- **Bousbia N.,** 2004. Extraction et identification de quelques huiles essentielles (Nigelle, Coriandre, Origan, Thym, Romarin).Etude de leurs activités antimicrobiennes.Thèse de Magistère, INA, El Harrach, option : sciences alimentaires INA, El Harach Algérie : 147p.
- **Bremness L.,** 2001 .Plantes médicinales et aromatiques. Ed. Bordas, France, 304p.
- **Candolfi E., Filisetti D., Letscher-Bru V., Villard O., Waller J.**2006. Parasitologie-Mycologie. Université Louis Pasteur de Strasbourg. Institut de Parasitologie et de Pathologie Tropicale. DCEM 1. 4. 92. http://www-ulpmed.ustrasbg.fr/medecine/cours_en_ligne/e_cours/parasito/Polycopie_Parasito_Myco_.pdf 24/06/2016
- **Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Cimon B., Brun S. et Penn P.,** 2002. Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de Formation Biologie Médicale, 25, Egoprime éd., Paris, 189p.
- **Chabasse D.,** 2003. Les moisissures d'intérêts médicaux, édition Bioforma , Paris, 160p.
- **Chebli B., Achouri M., Idrissihassani L.M. and Hmamouchi M.,** 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers.: *Fr. J. Ethnopharmacol.*, 89: 165-169.

- **Daferera D.J., Ziogas B.N. and Polissiou M.G.**, 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44.
- **Delattre C.**, 2000. Les Mycoses Superficielles, Conseils à l'Officine et Traitements. Thèse Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Lille 2., 60p.
- **Derwich E., Benziane Z., and Boukir A.**, 2010. GC-MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* Grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3): 191-198.
- **Dung N.T., Kim J.M. and Kang S.C.**,2008. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3632-3639
- **El arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechta I.M., Blaghen M. et Talbi M.**, 2003. Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Bot. Gallica*, 150 (3) : 267-274.
- **Elqaj M., Ahami A. et Belghyti D.**, 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc, Juin 2007.
- **Pfaller M.A., Diekema D.J.** 2007. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.*, 20:133–163.
- **Farnsworth N., Akerele O. , Bingel A.S., Soejarto D.D. et Guo Z.**, 1986. Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé,64(2) :159-164.
- **Feuilhade M., Bazex J., Claudy A. et Roujeau J.C.**, 2002. Infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques. Infections à dermatophytes de la peau glabre, des plis et des phanères. *Ann. Dermatol. Venereol.* 129-130 :1359-1363.
- **Fourment P. et Roques H.**, 1942. Répertoire des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Documents et Renseignements Agricoles. Bulletin, 61, 159p.

- **Fournier P.V., 1947-1948.** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France, Paris. Tome 1, Edition le chevalier, 1048p.
- **Franzios G., Mirotsou M., HatziApostolou E., Karl J., Scouras Z.G., Mavargani-Tsapidou P., 1997.** Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 45 : 2690-2694.
- **Garnero J., 1996.** Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345 pp 1-45.
- **Garnier G., Bezanger-Beauquesne I. et Debraux G., 1961.** Ressources médicinales de la flore française. Tome 2I, Ed. Vigot Frères, Paris. 682p.
- **Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A. et Benmansour A., 2008.** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique science*, 5 (2) : 246-259.
- **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R. and Bakhrouf A., 2009.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 2227-2238.
- **Hamoudi R., 2008.** Contribution à la mise en évidence des principes actifs des plantes *Teucrium poliumgeryrii* provenant de la région de Tamanrasset. Thèse de Magister université Kasdi Merbah Ouargla, 175p.
- **Hmiri S., Rahouti M., Habib Z., Satrani B., Ghanmi M. et ELAjjouri M., 2011.** Evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80 : 824-836.
- **Ismail-Alaoui K., Alaoui Y., Cherrah M., Amrani M. and Belabas A., 2005.** Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *International journal of innovation and scientific research*, 12 (2) : 499-505.
- **Jacob M., Pellecier J. et Tomei R., 1979.** Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.*, 11 : 26-30.
- **Koenig H., 1995.** Guide de mycologie médicale. Strasbourg: Ellipses, 288p.
- **Lahlou N., 2005.** Étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* : essais biologiques variés. Les cahiers de la recherche. 6 : 7-16.

- **Lamiri A., Lhaloui S., Benjilali B. and Berrada M.,** 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Research*, 71:9-15.
- **Langeron, M. and Talice, R. V.,** 1932 .Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes. *Annales des Parasites Humaines*, 10 : 1-89.
- **Lawrence M.,** 2006. *Mint: The Genus Mentha*. CRC Press .USA ,598p.
- **Mahboubi M. and Haghi G.,** 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *J. Ethnopharmacol.*, **119**: 325-327.
- **Majinda R.R.T., Abegaz B.M. and Bezabih M.,** 2001. Results from natural production research at the *Univ. of bostawana* . *Pure and Applied Chemistry* 73(7): 1197–1208.
- **Mohamedi Z.,** 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Université Tlemcen, 155p.
- **Naghbi M., Mosaddegh S.M. and Ghorbani A.,** 2005. Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iran. J. Pharm.*, 2: 63–79.
- **Ouraini D., Agoumi A., Ismaili-Alaoui M., Alaoui K., Cherrah Y., Amrani M. et Alaoui-Belabbas M.,** 2005. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, **4** :147-157.
- **Pacchioni I.,**2014. *Aromathérapie tout sur les huiles essentielles*, Edition Aromathera, 352p.
- **Padrini F. et Lucheroni M.T,** 1996. *Le grand livre des huiles essentielles*. France .Ed de Vecchi, Barcelone, 115p.
- **Pauli A.,** 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*,11 :126-133.
- **Pibiri M. C.,** 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne,161p.
- **Pottier A.G.,** 1981. *Artemisia herba-alba*. Flore de la Tunisie : angiospermes-dicotylédones. Gamopétales, 2.Tunisie, Minist Ens Sup Rech Sci. / Minist Agric. Tunisia,.1012p.

- **Quezel P et Sauta S.**, 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tomes 1 et 2. Ed. CNRS, Paris, 1170p.
- **Raha S.**, 2004. Chimie des produits naturels et des êtres vivants. Office des Publications Universitaires, Alger, 162p.
- **Raybaud E.**, 1985. Critique de la systématique des menthes. Thèse de Doctorat d'état en pharmacie galénique, faculté de pharmacie, Marseille .France
- **Sabouraud R.**, 1864-1938. Synthèse dermatologique : Les maladies séborrhéiques (1902), Les maladies desquamatiques, Pityriasis et alopecies pelliculaires. Annales de l'Institut Pasteur, 60(4): 345-350 1902-1929.
- **Satrani B.**, 2010. Valorisation des plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc. Éditions Universitaires Européennes, ISBN : 978-613-1-51855-3, 153p.
- **OMS**, 2011. <http://www.who.int/fr/> Date de consultation 22 Juin 2016.
- **Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S , Smith C.K., Moore C.A., Aahi E.N. and Smart A.**, 1996. Human skin absorption and metabolism of the contact allergens. cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxico S. Appl. Pharmacol.* 168(3) :189-99.
- **Snoussi M., Hajlaoui H., Noumi E., Usai D., Sechi L.A., Zanetti S. and Bakhrouf A.**, 2008. *In vitro* anti-vibrio spp. activity and chemical composition of some Tunisian plants. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 24 : 3071-3076.
- **Su Y., Ho C., Wang E. I., and Chang S.**, 2006. Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four Eucalyptus. *Taiwan J. For. Sci.*, 21(1): 49-61.
- **Sutour S.**, 2010. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes. Thèse de doctorat de l'université de corse discipline : chimie organique et analytique, 213p.
- **Tardivon C. et Chadoul M.**, 2012. Un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich. Tétouan exposition photographique Jean-Christophe Tardivon et Chadouli Si-Mohamed du 5 novembre au 8 décembre 2012.
- **Teixeira M.C., MaraFigueira G., Sartoratto A., Rehder V.L.G. and Delarmelina C.**, 2005. Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 97(2): 305-11.

- **Trabut L.**, 1935. Flore du Nord de l'Afrique : Répertoire des noms indigènes des plantes spontanées, cultivées et utilisées dans le Nord de l'Afrique, Collection du Centenaire de l'Algérie, Alger. 355p.
- **Vidal** , 2010, Le dictionnaire, 86ème édition. Issy-les-Moulineaux, Edition du Vidal, 2006-3200p.
- **Ziyyat A., Legssyer A., Mekhfi H., Dassouli A., Serhrouchni M. and Benjelloun W.**, 1997. Phytotherapy of hypertension and diabetes in orientai. *J of ethbopharmacol*, Morocco. 58(1): 45-54.

Liste des Annexes

Annexe 1 : Matériel utilisé dans l'expérimentation

Annexe 2 : Composition des milieux de cultures (Sabouraud, 1864-1938)

Annexe3 : Pouvoir inhibiteur d'He sur les dermatophytes et isolats fongiques

Annexe 4 : Aspect cultural des dermatophytes et des isolats fongiques

mycotoxigenes

Annexe 5 : Méthodologie d'étude de l'activité antifongique

ANNEXES

Annexe 1 : Matériel utilisé dans l'expérimentation

Agitateur Vortex

Ballon de 500 ml

Bain Marie

Bec bunsen

Boite de pétrie

Becher

Barreau magnétique

Crayon marqueur

Disque de papier Watman 6mm

Ecouvillon

Ependorf

Etiquettes

Erlenmeyer

Alambic

Papier aluminium

Plaque chauffante

Pince Pipette pasteur

Portoir Règle

Seringue

Tube à essai

Autoclave

Eau distillé-

Ethanol

Annexe 2 : Composition des milieux de cultures (Sabouraud, 1864-1938)

Gélose Sabouraud

Peptone.....	10g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml

Milieu PDA dextrose de pomme de terre

Pomme de terre.....	200g
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillé.....	2L

-Eau agar 0.2% :20g d'agar dans 100 ml d'eau distillé

Annexe3 : Pouvoir inhibiteur d'He sur les dermatophytes et isolats fongiques

Technique d'études	Isolat fongique	Taux de croissance des témoins (mm)	Taux de croissance des isolats traités (mm)	Inhibition %
Technique de Microsphère	<i>Aspergillus nidulans</i>	90	90	0
	<i>Aspergillus niger</i>	90	90	0
	<i>Aspergillus flavus</i>	90	90	0
	<i>Trichophyton rubrum</i>	12	10	20
	<i>Pityrosporum ovalé</i>	12	90	6
	<i>Candida albicans</i>	15	10	33.33
	<i>Candida parapsilosis</i>	10	13	3
Technique d'Aromatogramme	<i>Aspergillus nidulans</i>	90	90	0
	<i>Aspergillus niger</i>	90	90	0
	<i>Aspergillus flavus</i>	90	90	0
	<i>Trichophyton rubrum</i>	13.6	5	63.23
	<i>Pityrosporum ovalé</i>	12	90	6
	<i>Candida albicans</i>	90	90	0
	<i>Candida parapsilosis</i>	15	90	5
Technique de Contact direct	<i>Aspergillus nidulans</i>	90	90	0
	<i>Aspergillus niger</i>	90	5	94.44
	<i>Aspergillus flavus</i>	90	5	94.44
	<i>Trichophyton rubrum</i>	13	5	61.53
	<i>Pityrosporum ovalé</i>	12	5	58
	<i>Candida albicans</i>	15	5	66.66
	<i>Candida parapsilosis</i>	12	5	58.33

Annexe 4 : Aspect culturel des dermatophytes et des isolats fongiques mycotoxinogènes



T - *A.nidulans*



Tr-*A.nidulans*



T - *A.niger*



Tr-*A.niger*



T - *A.flavus*



Tr-*A.flavus*



T - *C.parapsilosis*



Tr-*C.parapsilosis*

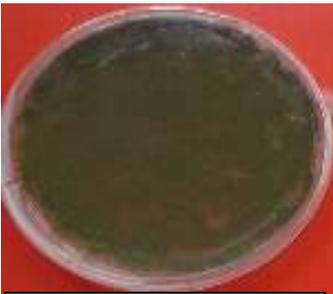
a-Méthode de Microsphère



T-A.nidulans



Tr-A.nidulans



T-A.niger



Tr-A.niger



T-A.flavus



Tr-A.flavus



T-C.albicans



Tr-C.albicans



T-*C.parapsilosis*



Tr-*C.parapsilosis*



T-*P.ovalé*



Tr-*P.ovalé*

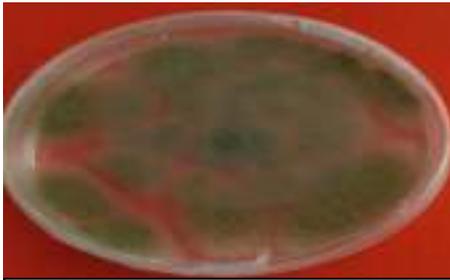


T-*T.rubrum*



Tr-*T.rubrum*

b-Méthode d'Aromatogramme



T-A.niger



Tr-A.niger



T-A.flavus



Tr-A.flavus



T-C.albicans



Tr-C.albicans



T-*C.parapsilosis*



Tr-*C.parapsilosis*



T-*P.ovalé*



Tr-*P.ovalé*

Méthode de contact direct

T : témoin , Tr : traité

Annexe 5 : Méthodologie d'étude de l'activité antifongique

