



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département: Microbiologie

قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé :

**Évaluation de l'activité antifongique
de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis de
Fusarium spp. d'intérêt médical: Etude prospective.**

Présenté et soutenu par :

Le : 28/06/2020

MATOUGUI Manel et BENZAGOUTA Djihad

Jury d'évaluation:

- Président du jury : M^{me} ALATOU Radia (MCA - UFM Constantine 1).
Rapporteur : M^{me} MIHOUBI Ilhem (Professeur - UFM Constantine 1).
Examinatrice : M^{me} GHORRI Sana (MCB - UFM Constantine 1).

***Année universitaire
2019 – 2020***

REMERCIEMENTS

En premier lieu et avant tout, nous sommes heureux de remercier DIEU malgré les circonstances que nous vivons cette année avec le Corona virus. Notre DIEU toujours avec nous, qui nous a soutenu par la force, le courage, la Volonté pour achever et compléter ce modeste travail de fin d'études de master.

Nous remercions exceptionnellement notre encadreur Professeur MIHOUBI Ilhem et nous vous exprimons notre gratitude pour votre présence permanente avec nous et votre soutien, aussi pour vos conseils précieux, vos remarques pertinentes et votre aide durant la période de la réalisation de ce travail malgré vos nombreuses responsabilités. Nous sommes très honorées de votre accompagnement et de travailler avec vous.

Nous tenons à remercier Docteur ALATOU Radia qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance

Nous tenons à remercier Docteur GHORRI Sana qui a généreusement accepté d'examiner notre travail. Nous la remercions pour son aide, sa gentillesse et son soutien.

Merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire à :

*La plus proche de mon cœur et la plus cher, ma grande mère Wahchia grâce
à ses prières à notre Dieu pour moi et son soutien*

*Ma chère et douce maman Fatiha que j'aime beaucoup, j'ai terminé ce travail
seulement grâce à sa présence dans ma vie, sa satisfaction et ses sacrifices*

*Mon cher père Nasreddine grâce à sa grande confiance en moi et son
encouragement à défier les obstacles de mon chemin*

*Ma poupée, ma chérie, Maria juste j'ai de la chance parce qu'elle est ma petite
sœur et mon amie au même temps et pour la fierté que je vois dans ses yeux
pour moi*

*Ma copine, ma collègue, mon binôme Djihad, parce que nous nous soutenons
et nous étions sincères dans notre travail*

Manel

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire à ...

*Mes très chers parents Ahmed et Ouassila
Vous avez été pour moi au long de mes études le plus grand symbole d'amour,
de dévouement qui ont ni cessé ni diminué.
Votre bonté et votre générosité sans limite.
Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.
J'espère de tout mon cœur qu'en ce jour vous êtes fières de moi, et que je
réalise l'un de vos rêves.*

Ma chère sœur : Chaima

Mes frères : Abdou et Youcef

Mes grandes mères Zohra et Fatiha

Mes oncles, mes tantes et toutes paternels et maternels et leurs enfants

A tout la famille Benzagouta

Mes très chères amies surtout : Nawal et Sara

*Ma chère amie, mon binôme Manel, Et tout que j'aime de ma promotion
master Mycologie et Biotechnologie Fongique 2019-2020*

Tous les enseignants et personnels du département de Microbiologie

Et toute personne qui me connait de près ou de loin.

Djihad

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification du genre <i>Fusarium</i>	9
Tableau 2 : Classification de l'espèce <i>F. oxysporum</i>	15
Tableau 3 : Classification taxonomique de <i>F. solani</i>	16
Tableau 4 : Classification botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	20
Tableau 5 : Principaux composés des HE d' <i>E. globulus</i>	24
Tableau 6 : Les concentrations d'HE utilisées	35

Liste des figures

Figure 1 : Classification générale des champignons	5
Figure 2 : Fructifications et modes de fructification de <i>Fusarium</i> (A : Monophialide, B : Polyphialides , C: Macroconidie, D: Microconidies, E: Chlamydozspores, F: Mésoconidie) 9	9
Figure 3 : Schéma d'infection de l'ongle	10
Figure 4 : Observation à la lampe à fente d'une kératite à <i>Fusarium</i>	11
Figure 5 : Lésion cutanée à <i>F. solani</i> chez un patient atteint de leucémie aigüe myéloïde	12
Figure 6 : Mycétome du pied	12
Figure 7 : Aspects morphologique de <i>F.oxysporum</i>	14
Figure 8 : Caractéristique macroscopique (A) et microscopique de <i>F. solani</i> (B, D : macroconidies, C : monophialides, E : microconidies, F : chlamydozspores)	16
Figure 9 : <i>Eucalyptus globulus</i>	19
Figure 10 : Schéma du procédé d'hydrodistillation	26
Figure 11 : Exemples de différents aspects obtenus avec la technique du E-test lors la détermination de la sensibilité des levures et des champignons filamenteux aux antibiotiques.....	30
Figure 12 : Extraction de l'HE par hydrodistillationà l'aide d'appareil de type Clevenger.....	32
Figure 13 : Souches <i>F. oxysporum</i> (A) et <i>F. solani</i> (B).....	33
Figure 14 : Illustration de la technique de confrontation directe / indirecte.....	36
Figure 15 : Illustration de la diffusion par la technique des puits.....	37
Figure 16 : Plaque de microtitration	39

Liste des abréviations

AFNOR	: Association française de normalisation
ANSM	: Agence Nationale de Sécurité du Médicament
ATCC	: American type culture collection
BS	: Bouillon Sabouraud
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute) (Institut clinique des laboratoires standards
CMF	: Concentration minimale fongicide
CMI	: Concentrations minimale inhibitrice
DMSO	: Diméthylsulfoxyde
<i>E. globulus</i>	: <i>Eucalyptus globulus</i>
EUCAST	: European committee on antibiotic susceptibility testing
FSSC	: <i>Fusarium solani</i> Species Complex (Complexe d'espèce <i>Fusarium solani</i>)
HE	: Huile essentielle
HECT	: Huile essentielle chémotypée
HSV	: Herpès simplex virus NCCLS
MCI	: Milieu de Culture Inoculé
Mh	: Masse d'huile essentielle
Mv	: Masse de matériel végétal
NCCLS	: National Committee For Clinical Laboratory Standards
OMS	: Organisation mondiale de la santé
PAM	: Plantes aromatiques et médicinales
PDA	: Potatos dextrose agar
RHE	: Rendement en Huile essentielle
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute
UFC	: Unité Formant Colonie

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : LES CHAMPIGNONS

1. Généralités sur les champignons	3
2. Caractéristiques des mycètes	3
3. Classification des champignons	4
3.1. Les levures.....	6
3.2. Les moisissures	7
4. <i>Fusarium sp</i>	7
4.1. Généralités.....	7
4.2. Critères d'identification de <i>Fusarium</i>	8
5. Classification de genre <i>Fusarium</i>	10
6. Pathogénicités de <i>Fusarium</i> chez l'homme	11
6.1. Infections localisées	11
6.1.1. Les onychomycoses.....	11
6.1.2. La kératite.....	12
6.1.3. Infection cutanée.....	12
6.1.4. Mycétome.....	13
6.2. Infections disséminées.....	14
6.3. <i>Fusarium oxysporum</i>	14
6.3.1. Description de l'espèce.....	14
6.3.2. Critères d'identification de <i>F.oxysporum</i>	15
6.3.3. Classification de <i>F.oxysporum</i>	16
6.4. <i>Fusarium solani</i>	16
6.4.1. Description de l'espèce.....	16
6.4.2. Critères d'identification de <i>F.solani</i>	16
6.4.3. Classification taxonomique de <i>F.solani</i>	17

CHAPITRE II : *EUCALYPTUS GLOBULUS*

1. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales	18
2. Les Eucalyptus	18
2.1. Historique de la plante	18
2.2. Utilisation des Eucalyptus.....	19
2.2.1. Utilisation en médecine	19

2.2.2.	Utilisation thérapeutique	19
2.3.	<i>Eucalyptus globulus</i>	20
2.3.1.	Description botanique	20
2.3.2.	Répartition géographique de la plante	21
2.3.3.	Classification botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	21
2.3.4.	Composition chimique d'Eucalyptus	21
3.	Les propriétés de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	22
3.1.	Propriétés antibactériennes	22
3.2.	Propriétés antivirales	22
3.3.	Propriétés antifongiques	22
3.4.	Activité antiparasitaire	22

CHAPITRE III : LES HUILES ESSENTIELLES

1.	Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?.....	24
2.	Notion de chémotype ou chimiotype	24
3.	Caractéristiques physiques des huiles essentielles	24
4.	Composition chimique des huiles essentielles	25
4.1.	Composition chimique d'huile d'Eucalyptus	25
5.	Toxicité des HE.	26
6.	Procédés d'extraction des HE.	26
6.1.	Hydrodistillation	26
6.2.	Extraction au moyen des solvants	27
6.3.	Extraction par enfleurage	27
7.	Domaines d'utilisation des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> et leurs activités antifongiques	28
7.1.	Activité antifongique d'huile d'Eucalyptus	28

CHAPITRE IV : ACTIVITE ANTIFONGIQUE

1.	Méthodes de références	29
1.1.	Méthode CLSI	29
1.2.	La technique EUCAST	30
1.3.	Méthode de diffusion	30
1.3.1.	Méthode de diffusion par puits	30
1.3.2.	E-test	30

CHAPITRE V : QUELQUES TECHNIQUES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DE L'HE D'*EUCALYPTUS GLOBULUS*

1.	Matériel végétal	32
1.1.	Traitement de l'échantillon	32
1.2.	Extraction des HE	32
1.2.1.	Hydrodistillation	32

1.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	33
1.2.3. Expression à froid	33
1.2.4. Extraction assistée par microondes	33
2. Matériel fongique	34
3. Détermination de rendement de l'HE	34
4. Evaluation de l'activité antifongique	35
4.1. Préparation de la suspension sporale	35
4.2. Préparation des concentrations de l'HE	35
5. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique	36
5.1. Confrontation directe	36
5.2. Confrontation indirecte	36
5.3. Diffusion sur milieu solide par la technique des puits	37
5.4. Méthode de microdilution	38
CONCLUSION.....	41
REFENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42
ANNEXE	
RESUMES	

Introduction

Les espèces de *Fusarium* spp. sont bien connues par leurs pathologies humaines, elles sont responsables des infections cutanées et d'autres disséminées (Thomas, 2017). Elles sont responsables de plusieurs fusarioses humaines et végétales qui peuvent engendrer des maladies graves, ainsi que chez les animaux.

Malgré la diversité des médicaments antifongiques existants, le traitement des mycoses reste difficile, d'une part, par rapport à leur disponibilité limitée et leurs coûts très élevés ; et d'autre part, par rapport à la résistance de certaines souches suite à leur utilisation abusive et leurs toxicités.

Historiquement différentes espèces végétales sont connues par leurs effets antimicrobiens, en général, et antifongiques en particulier. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante en substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels. Les propriétés médicales de ces plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques (El Mansouri, 2013). Dans le réservoir chimique de ces plantes, les huiles essentielles (HE) représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie (Nedjai *et al.*, 2017) car elles présentent une activité antiseptique non négligeable (Kaloustian, 2008) et en différentes autres domaines. Les HE ont un spectre d'activité très large, principalement dû à leurs natures (Bouzouita *et al.*, 2008). Elles peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques (El Mansouri, 2013) et sont d'usage courant en thérapeutique traditionnelle en Algérie ainsi que dans d'autres pays dans le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique. Ces substances végétales qui sont riches en antifongiques (ATF) naturels sont utilisées pour lutter contre les *Fusarium* spp. notamment.

Dans cette étude prospective, nous allons surtout aborder les différentes techniques permettant d'évaluer l'activité antifongique *in vitro* des extraits de la plante *Eucalyptus globulus* sur la croissance des pathogènes fongiques de la collection ATCC (American type culture collection) *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*. En effet, plusieurs techniques fiables et pertinentes pour la détermination de la sensibilité ou la résistance aux ATF sont disponibles dont certaines sont commercialisées et d'autres de références. Par ce modeste travail, nous allons essayer de mettre à la portée des étudiants, les principales méthodes qui leur permettront, à l'avenir, de tester l'efficacité de l'huile essentielle d'eucalyptus (ou d'autres HE) à l'égard des champignons responsables de fusariose humaine.

Pour ce faire, le premier volet de cette étude a été consacré à la description des données bibliographiques relatives aux champignons d'intérêt médical et aux huiles essentielles en mettant en exergue leurs bienfaits ainsi que leur toxicité. Quant au second volet, il permet d'expliquer les étapes nécessaires mise en œuvre pour tester l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis de *F. oxysporum* ATCC et *F. solani* ATCC. Pour tendre vers cet objectif, certaines passages préalables sont indispensables, telle que l'extraction des principes actifs. Ils sont donc décrites dans ce manuscrit.

Les Champignons

1. Généralités sur les champignons

Les Champignons, encore appelés "Fungi" (contraction du latin "funus", funéraille, et d'"ago", produire) ou mycètes (du grec mukês, champignon), sont aujourd'hui érigés en règne autonome, au même titre que les Procaryotes (Archéobactéries, Bactéries, Cyanobactéries), les Protistes, les Végétaux et les Animaux. En effet, les comparaisons des séquences génétiques des différentes espèces du monde vivant ont permis d'établir un arbre phylogénétique dans lequel les champignons prennent une place bien individualisée. Ils sont nettement séparés des divers groupes de plantes auxquels on les avait autrefois rattachés (particulièrement en raison de leur paroi polyosidique). Ils sont aussi éloignés des Oomycètes ou champignons-algues (les Oomycètes sont des organismes à l'appareil végétatif peu développé, essentiellement aquatiques, parasites des végétaux (mildious, rouilles blanches, etc.) ou des animaux (poissons, nématodes, etc.). Par contre, les Chytridiomycètes sont considérés comme des champignons sur la base d'homologies de séquences (Boiron, En ligne, consulté le 05.04.2020).

2. Caractéristiques des mycètes

Les champignons sont appelés aussi : les mycètes qui ont pendant très longtemps été classés parmi les végétaux à cause de leur mode de vie et de la constitution de leurs cellules. Ils font maintenant partie d'un règne à part dont leurs caractéristiques sont les suivantes: (Branger, 2007)

- ce sont organismes Eucaryotes, c'est-à-dire, qu'ils ont un vrai noyau (avec une membrane nucléaire, chromosome et nucléole).
- ils possèdent un appareil végétatif simple, constitués d'un mycélium pluricellulaire généralement et filamenteux ou unicellulaire
- ils ne possèdent pas de chlorophylle
- ce sont des hétérotrophes, ils jouent un grand rôle dans le recyclage de la matière organique par leur nutrition par absorption de cette dernière
- ils sont partout dans le monde (ubiquistes), certaines d'entre eux vivent en symbiose avec les espèces animales ou végétales, par exemple, avec les algues (lichen) ou avec des arbres (mycorhizes) et d'autre sont des parasites (dans les aliments, avec l'homme, les plantes, les légumes et les fruits) en passant quelque fois par le commensalisme (Chabasse *et al.*, 2002)

- ils sont caractérisés par la présence d'une paroi constituée de polysaccharides, notamment des bêta-glucane et de la chitine. L'ergostérol est le principal constituant de leur membrane.
- Leur reproduction est faite par l'intermédiaire des spores, elle résulte de la production de ces dernières par voie sexuée ou asexuée.

3. Classification des champignons

Meyer *et al.* (2004) se sont basées sur la morphologie des champignons pour leur classification (Kermiche et Chougui, 2014). D'autres critères de classification sont tenus en compte et qui sont : (Branger, 2007)

- Aspect du thalle (siphon, hyphes, unicellulaire)
- Caractères de la reproduction sexuée (mode de production des spores : libres ou à l'intermédiaire des sacs ; avec présence ou non de flagelle)
- Mode de vie (leur rôle très important dans la dégradation des matières organiques, avec symbiose ou par une phytopathogénicité (Kermiche et Chougui, 2014)).

La classification de Hawksworth *et al.* (1970) modifiée par Kwon Chung et Bennett (1992), puis par Hoog (1995), qui est la plus utilisée.

Selon la modalité de leur reproduction sexuée, on peut classer nos champignons en quatre classes : les Mastigomycotina, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina. Dans le cas où la reproduction sexuée n'est pas connue des champignons, on les nomme des champignons imparfaits (Fungi imperfecti) qui sont les Deuteromycotina (Figure 1) (Chabasse *et al.*, 2002)

a. Les Mastigomycotina

Sont très impliqués en pathologie humaine, il existe deux sous divisions dans cette classe : les Chytridiomycètes et les Oomycètes (Chabasse *et al.*, 2002). Ils sont caractérisés par leurs spores flagellés et sont présents, le plus souvent, dans la panse des ruminants (Branger, 2007).

b. Les Zygomycotina

Sont caractérisés par leurs spores sexuées appelés Zygosporés (Chabasse *et al.*, 2002), ils sont non flagellés et possèdent un thalle siphonné (Branger, 2007). Cette division présente de nombreux champignons pathogènes, dont essentiellement, les Mucorales qui provoquent des

mucormycoses et les Entomophthorales qui sont des agents d'entomophthromycoses (Chabasse *et al.*, 2002).

c. Les Ascomycotina

Cette division englobe aussi un grand nombre de pathogènes, on y trouve des levures (Saccharomyces), (Branger, 2007) des dermatophytes (*Microsporum sp*, *Trichophyton sp*) en plus des *Aspergillus* (champignon filamenteux). Les spores d'une reproduction sexuées sont appelées des ascospores qui se situent dans des sacs appelés des asques. Donc ils sont endogènes (Chabasse *et al.*, 2002).

d. Les Basidiomycotina

Leurs spores d'une reproduction sexuée sont appelées des Basidiospores, elles sont formées par un bourgeonnement. Cette division est caractérisée par un thalle cloisonné avec présence de boucle au niveau des cloisons.

Les basidiomycètes présentent généralement des saprophytes de l'environnement ou pathogènes de plantes et qui ne présentent qu'un peu d'une pathologie humaine, tel que *Cryptococcus* notamment *C.neoformans*. Avec d'autres levures comme *Malassezia*, *Rhodotorula* et *Trichosporon*. (Chabasse *et al.*, 2002).

e. Les Deuteromycotina (champignons imparfait)

Dans cette division, on trouve un grand nombre de champignons d'intérêt médical. Elle est très hétérogène, englobe toutes les espèces qui se multiplient par voie asexuée (Chabasse *et al.*, 2002) et elle ne présente aucune reproduction sexuée précise (Branger, 2007). Ces Deuteromycotina sont divisées en trois classes suivantes :

- Les Blastomycètes qui constituent les espèces levuriformes.
- Les Hyphomycètes regroupent toutes les espèces de champignons filamenteux et qui représentent un thalle cloisonné et des cellules productrices de conidies et qui sont libres.
- Les Coelomycètes ressemblent aux champignons filamenteux mais leurs cellules sont contenues dans des organes producteurs des conidies appelés les pycnides.

Les Deuteromycètes représentent quelques genres tels que : *Geotrichum*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Candida*, *Torula*... (Branger, 2007).

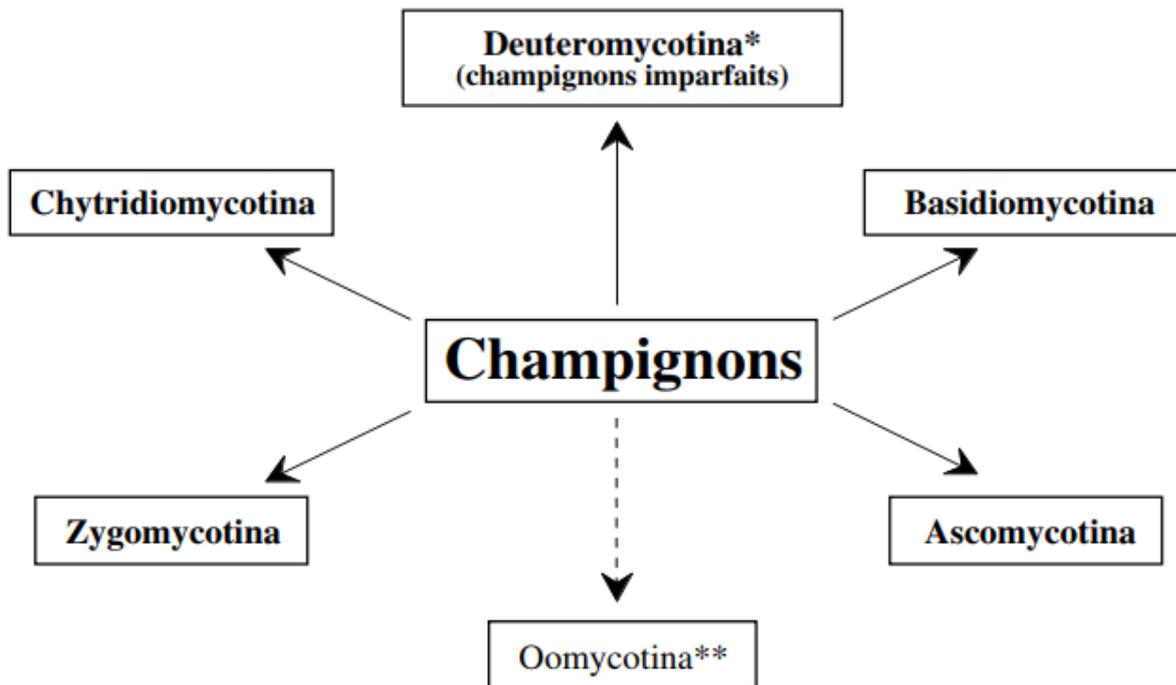


Figure 1 : Classification générale des champignons (Chabasse *et al.*, 2002)

En général, les champignons sont classés en deux classes essentielles : les levures et les moisissures

3.1. Les levures

Les levures sont des champignons microscopiques, unicellulaires eucaryotes et chimio-hétérotrophe, c'est-à-dire qu'elles sont capables de tirer leur énergie à partir des réactions d'oxydo-réduction ou de fermentation de composés chimique tels que les sucres (Guiraud, 1996). Elles ne sont pas filamenteuses, se multiplient par bourgeonnement ou par division binaire (scissiparité), soit par une reproduction sexuée par production de spores (Kermiche et Chougui, 2014). Elles présentent un grand nombre d'applications industrielles par rapport aux procaryotes (Charouana *et al.*, 2018).

3.2. Les moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques ubiquitaires (Pitt *et al.* , 2000), filamenteux (Guiraud, 2012) thallophytes car elles sont caractérisées par un appareil végétatif sous forme d'un thalle composé de longs filaments ramifiés souvent cloisonnés (hyphes), parfois fois siphonné. Ce sont des hétérotrophes, leur nutrition se fait à partir d'absorption des matières organiques et donc assure leur recyclage. Dépourvus de pigment photosynthétique, ils sont incapables de fabriquer les substances organiques nécessaires à la croissance de leurs cellules. Ils sont donc obligés de consommer des molécules élaborées par d'autres organismes (Al-Bakkali, 2016).

Les moisissures peuvent se reproduire grâce à un mode végétatif (asexué) ou par voie sexué. Sont très peu exigeants sur les conditions environnementales du substrat, (Tabuc, 2007), nécessitent de l'oxygène car ce sont des aérobies, en général des acidophiles, se développant même à des basses températures. Ont un besoin en eau faible, généralement 0.65 (Guiraud, 2012). Certains d'entre eux peuvent être pathogènes provoquant des mycoses chez les animaux, les plantes et les êtres humains (Al-Bakkali, 2016). Ils provoquent des altérations des qualités organoleptiques qui se traduisent par un changement de couleurs, de gout, d'odeur et de texture des aliments crus et transformés sur lesquels ils se développent. Il s'agit des métabolites secondaires ne jouant pas de rôle strict dans la croissance du champignon mais vont exercer une action néfaste sur d'autres organismes vivants, végétaux ou animaux. L'exemple le plus connu de pathologie humaine liée à des mycotoxines est l'ergotisme, pathologie mortelle en lien avec l'ingestion d'alcaloïdes de l'ergot de seigle via des céréales contaminées par les champignons (Thomas, 2017).

La plupart des genres rencontrés dans plusieurs denrées alimentaires sont divisés en deux groupes, le premier regroupe des champignons de champ (*Alternaria*, *Cladosporium* et *Fusarium*). Le deuxième groupe englobe les champignons de stockage, (*Aspergillus* et *Penicillium*) qui peuvent croître à une humidité très élevée comprise entre 70% et 90%.

4. *Fusarium* sp.

4.1. Généralités

Le genre *Fusarium* sp est économiquement très important (Anaisie *et al.*, 1986 ; 1989) car il regroupe plus de 50 espèces de champignons filamenteux non pigmentés (hyalohyphomycètes). Ce genre est largement distribué dans l'environnement (ubiquiste),

cosmopolite, opportuniste et saprophyte du sol, des plantes (Bastides, 2010), à la surface des végétaux, dans la poussière de l'air ainsi que dans les eaux marines (Swathi *et al.*, 2013). Les espèces de *Fusarium* se trouvent aussi dans la mycoflore normale des produits de base comme le riz, le haricot, le soja et d'autres cultures (Pitt *et al.*, 1994). Alors que la plupart des espèces sont plus fréquentes dans les zones tropicales et subtropicales, certaines colonisent les sols dans les climats froids (Al-Bakkali, 2016). Elles vivent en saprophytes mais seules une douzaine d'espèces d'entre elles sont pathogènes chez l'homme et parmi les plus fréquentes : *Fusarium solani* (50 %), *Fusarium oxysporum* (20 %), *Fusarium verticilloides* (10 %), *Fusarium moniliforme* (10 %) (Nucci *et al.*, 2007), ils peuvent produire de mycotoxines par la contamination des denrées alimentaires, sont susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes, provoquant des maladies appelées Fusarioses (Anaissie *et al.*, 1986, 1989) en plus peuvent engendrer des maladies graves et assez large chez les animaux et les êtres humains.

Les infections dues à l'agent opportuniste *Fusarium sp.* ont une notion primordiale, que leur pathologie est dépend du terrain sur lequel se développe.

4.2. Critères d'identification de *Fusarium*

Ce genre, pratiquement *in vitro*, pousse sur un milieu Sabouraud sans cycloheximide (Actidione) et surtout sur milieu PDA, à une température entre 22 et 37°C. Les colonies sont d'un aspect duveteux ou cotonneux, de couleur variable selon l'espèce (blanche à crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas).

Microscopiquement, les *Fusarium* sont caractérisés par un thalle végétatif naissant des conidiophores courts et généralement ramifiés. Ce dernier portent des phialides qui permettent la production des conidies, par des sites de bourgeonnement unique (monophialide) situé à l'extrémité d'un col allongé (cas de *F.solani*) ou court et trapus (cas de *F.oxysporum*). Chez d'autres espèces, on trouve plusieurs sites de bourgeonnement (polyphialides) (Chabasse, *et al.*2002). Il existe deux types de conidies (Al-bakkali, 2016) :

- Des macroconidies fusiformes, souvent courbées, assez pointues aux extrémités avec une cellule basale pédicellée formant une sorte de talon. Ils sont pluriseptés des
- Des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes.

Il est à noter que certaines espèces produisent les deux types de spores, d'autres ne forment que des macroconidies. D'autres espèces présentent, en plus des macroconidies et les microconidies, des mésoconidies (Figure 2) (appelées aussi blastoconidies) (Thomas, 2017).

Les chlamydospores sont parfois présentes ou absentes, terminales ou intercalaires, différenciées par le mycélium ou par les conidies. Les *Fusarium* étant connus par leur mycélium septé (cloisonné) et incolore (Debourgogne, 2013)

Ce genre correspond à des espèces anamorphes (formes asexuées) mais certains complexes d'espèces possèdent des formes téléomorphes (formes sexuées) ; c'est notamment le cas de *Fusarium solani* ou de *Fusarium verticillioides*. Autres complexes d'espèces, comme *Fusarium oxysporum* sont connus exclusivement sous formes anamorphes (Thomas, 2017).

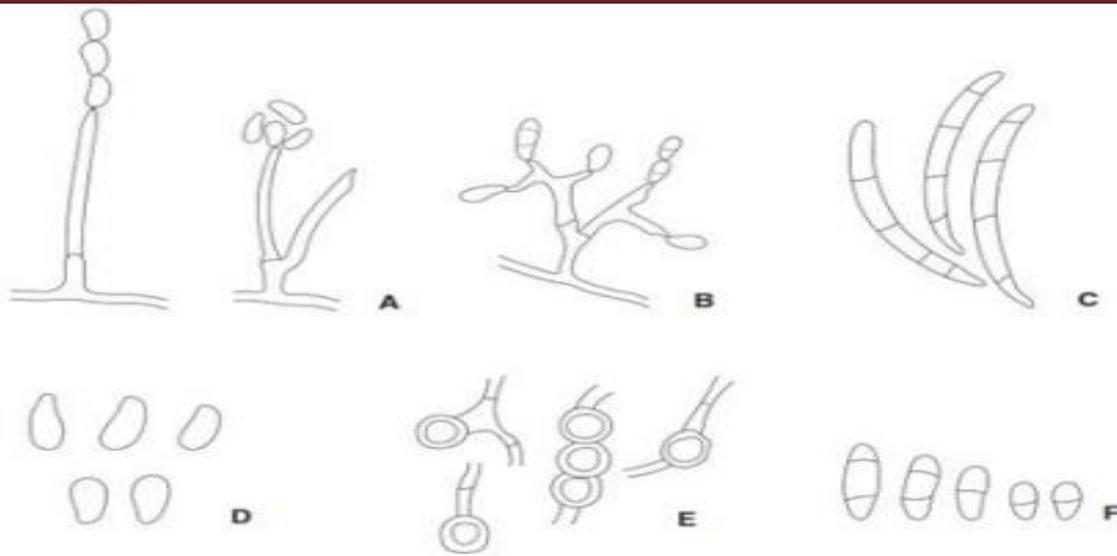


Figure 2 : Fructifications et modes de fructification de *Fusarium* (A : Monophialide, B : Polyphialides , C : Macroconidie, D : Microconidies, E : Chlamydospores, F :Mésoconidie (Thomas, 2017).

5. Classification du genre *Fusarium*

Les *Fusarium* sont très complexes et nécessitent pour leur identification exacte des techniques de biologie moléculaire. Ils appartiennent au règne des Fungi, au phylum des Ascomycota, à la classe des Pezizomycotina, à l'ordre des Hypocreales et à la famille des Hypocreaceae (Tableau 1).

Tableau 1 : Classification du genre *Fusarium* (Hoog *et al.*,1995 ; Thomas, 2017).

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Pezizomycotina
Sous classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Hypocreaceae

6. Pathogénicités de *Fusarium* chez l'homme

Une grande variété d'espèces du genre *Fusarium* est responsable de diverses infections humaines (Fusarioses) : infections localisées ou disséminées, manifestations allergiques, manifestations toxiques (Thomas, 2017). Ces pathologies sont indirectement induites par la production des mycotoxines. Leur pouvoir pathogène chez l'homme est varié, certains d'entre eux sont à l'origine des kératites (suit à un traumatisme), d'onyxis des mains ou des pieds, d'autres fois des mycétomes en zone tropicale. Certains d'entre eux colonisent des lésions de brûlures étendus et d'autres sont impliquées dans les infections systémiques tel que *F.solani* chez les patients qui ont une hémopathie maligne, ou encore une péritonite chez les patients dialysés (Chabasse *et al.*, 2002). D'autre part, les champignons du genre *Fusarium* peuvent être des agents d'infections nosocomiales, parce que l'hôpital englobe une population de patients immunodéprimés sujets aux infections microbiennes.

6.1. Infections localisées

6.1.1. Les onychomycoses

Les Onyxis sont définis comme des infections fongiques des ongles des pieds et des mains, l'un des représentants des mycoses superficielles et environ la moitié des pathologies unguéales (Welsh *et al.*, 2010). Cette infection varie chez les patients selon les zones géographiques, selon les conditions climatiques (chaleur, humidité), les modes de vie, l'accès aux soins ...(Gupta *et al.*, 2016). Parmi les principales moisissures responsables de cette infection le *Fusarium* qui peut être infectées plusieurs endroits (Figure 3) (Thomas, 2017).

- Infection sous unguéale proximale dans laquelle des leuconychies et/ou une inflammation péri unguéale peuvent être associées.(Figure flèche A)
- Infection superficielle (Figure flèche B)
- Infection sous unguéale distale (Figure flèche C)

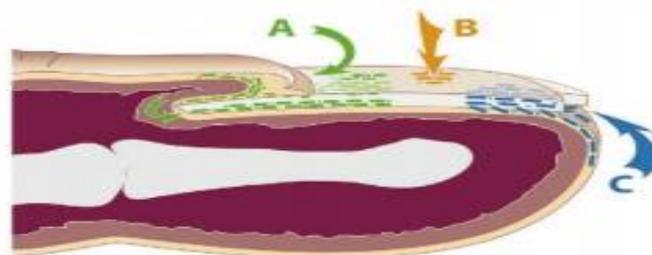


Figure 3 : Schéma d'infection de l'ongle (Bran *et al.*, 2007).

6.1.2. La kératite

Est une inflammation de la cornée, c'est-à-dire infection des yeux. Elle est due principalement à un agent fongique. La kératite fongique à *Fusarium* n'est pas cliniquement différentiable d'une autre kératite fongique mais elle se caractérise par une ulcération cornéenne, la plus part du temps associée par une suppuration (Figure 4). Le patient infecté souffre de douleur oculaire, d'une sensation de corps étranger, peut être associé ou pas à une baisse de l'acuité visuelle (He *et al.*, 2011).

Cette infection se caractérise par rougeur de l'œil et certaines manifestations comme la présence de marges d'infiltrat en « plumes », présence de lésions satellites, d'infiltrats en anneaux, de plaques endothéliales ou d'un hypopion (pue s'accumulant dans la partie inférieure de l'œil) (Al-Hatmi *et al.*, 2014. ; Alfonso, 2008).



Figure 4 : Observation à la lampe à fente d'une kératite à *Fusarium* (Al-Hatmi *et al.*, 2014).

6.1.3. Infection cutanée

Dans cette infection qu'est due à *Fusarium*, on observe deux types d'infection (Nucci *et al.*, 2015) : les infections primaires (primitives) et les infections secondaires touchant la peau. Comme toutes les infections fongiques, les fusarioses cutanées du premier type peuvent affecter tous types de patients immunodéprimés (Figure 4) tels que les diabétiques (Pai *et al.*, 2010), les patients greffés (Nucci *et al.*, 2015) et les patients brûlés (Nakamura *et al.*, 2007). Cela ne l'empêche pas de se présenter même chez les patients immunocompétents (Pai *et al.*, 2010). Les lésions sont généralement nécrotiques et peuvent alors évoluer vers un ulcère (Hay, 2017).

Il est important de différencier entre une véritable infection à *Fusarium* (Figure 5) et une simple colonisation d'une lésion dermique préexistante, par un examen anatomopathologique

du derme qui peut alors discriminer ces deux situations. Dans la première situation, des filaments seront observés dans l'intégralité du derme tandis que dans la seconde, les filaments ne seront observés qu'en superficie (Wheeler *et al.*,1981).



Figure 5 : Lésion cutanée à *F. solani* chez un patient atteint de leucémie aigue myéloïde (Delia *et al.*,2016)

6.1.4. Mycétome

Parmi les champignons impliqués dans les mycétomes, les *Fusarium* du complexe d'espèces FSSC (*Fusarium solani* Species Complex) sont très exceptionnellement en cause. Un mycétome est une infection fongique chronique caractérisée par des fistules, des grains et une tuméfaction (pseudo-tumeur inflammatoire) touchant une partie du corps plus généralement les pieds (Figure 6). Le tissu osseux peut également être touché (Tomimora *et al.*, 2003). C'est une pathologie rare.



Figure 6 : Mycétome du pieds (Bonifaz *et al.*, 2014)

6.2. Infections disséminées

Une infection disséminée se définit par l'invasion d'au moins deux sites non contigus, faisant supposer une dissémination hématogène de l'agent infectieux (objectivée ou non par des hémocultures). Cliniquement une infection fongique disséminée à *Fusarium* se caractérise par un tableau septique persistant malgré une antibiothérapie à large spectre. Bien que toutes les localisations tissulaires soient susceptibles d'être observées, l'atteinte cutanée est prédominante (environ 80 % des cas), suivie par l'atteinte pulmonaire (30 % des cas). Lorsqu'elles sont observées, les manifestations cutanées sont multiples, parfois douloureuses et atteignent volontiers les extrémités des membres. Ces lésions apparaissent précocement, ce qui explique qu'il s'agisse fréquemment du point d'appel diagnostique. L'atteinte pulmonaire quant à elle, n'est pas distinguable cliniquement et radiologiquement d'une atteinte aspergillaire. La toux, la fièvre, l'hémoptysie et les douleurs thoraciques sont les principales manifestations retrouvées et il existe le plus souvent des images pulmonaires à infiltrats alvéolaires non systématisés (Thomas, 2017).

La première description de fusariose disséminée remonte à 1973, chez un enfant présentant une leucémie aiguë. Depuis lors, la littérature fait état de nombreux cas de fusariose disséminée. Les *Fusarium* étant des agents pathogènes opportunistes, les fusarioses disséminées ne sont observées que chez les patients immunodéprimés (Thomas, 2017).

Dans cette étude nous nous intéressons aux deux espèces *Fusarium oxysporum* et *F. solani* qui sont les principaux représentants de la cinquantaine d'espèces connues par leur pathologies (Lynch *et al.*, 2003)

6.3. *Fusarium oxysporum*

6.3.1. Description de l'espèce

Cette espèce vit dans tous les types de sols (persiste dans les sols secs) pendant plusieurs années sous forme de chlamydospores ou de conidies et fréquemment isolée à partir des racines et des tiges des plantes, sont ciblées pour leur richesse en éléments nutritifs (protéines). Elle est connue exclusivement par leur forme anamorphe, qu'est une forme de reproduction asexuée (Thomas, 2017). Cette espèce serait plus virulente lors de la rencontre avec le champignon *Rhizoctonia solani* qui est présent aussi dans le sol (Brigitte, 2019),

Les *F.oxysporum*, dits pathogènes, sont les principaux agents des maladies vasculaires. Par ailleurs, ils sont souvent responsables des onyxis, des kératites, d'endophtalmies, de péritonites et des infections disséminées (Chabasse *et al.*, 2002).

6.3.2. Critères d'identification de *F. oxysporum*

Macroscopiquement, sur un milieu de culture PDA les colonies, généralement caractérisées par un mycélium aérien blanc grisâtre assez lâche, ont l'aspect d'un cône aplati en raison d'un mycélium beaucoup plus développé dans la partie proche du fragment végétal qu'au niveau de la zone frontale de la colonie. Le pourtour de la culture est souvent caractérisé par un mycélium ras en forme de mèches. La pigmentation du mycélium au contact du milieu de culture est la plupart du temps blanchâtre pendant les 15 premiers jours qui suivent l'isolement, puis se pigmente dans la zone centrale d'une couleur lie de vin (Bernard, 1988)

Microscopiquement, leur identification est difficile, elle est basée sur la morphologie de spores comme toutes les espèces du genre *Fusarium*. *F.oxysporum* est caractérisé par de nombreuses microconidies fusiformes et sont déposées sur des fausses têtes (Tello-Marquina *et al.*, 1984). L'espèce possède, également, des macroconidies abondantes, incurvées ainsi que des cellules basales bien marquées (Figure 7) (Chabasse *et al.*, 2002). Il y'a présence de plusieurs organes de conservation qui sont les chlamydospores : hyalines, lisses ou rugueuses, globuleuses, terminales ou intercalaires (Komi, 1993).

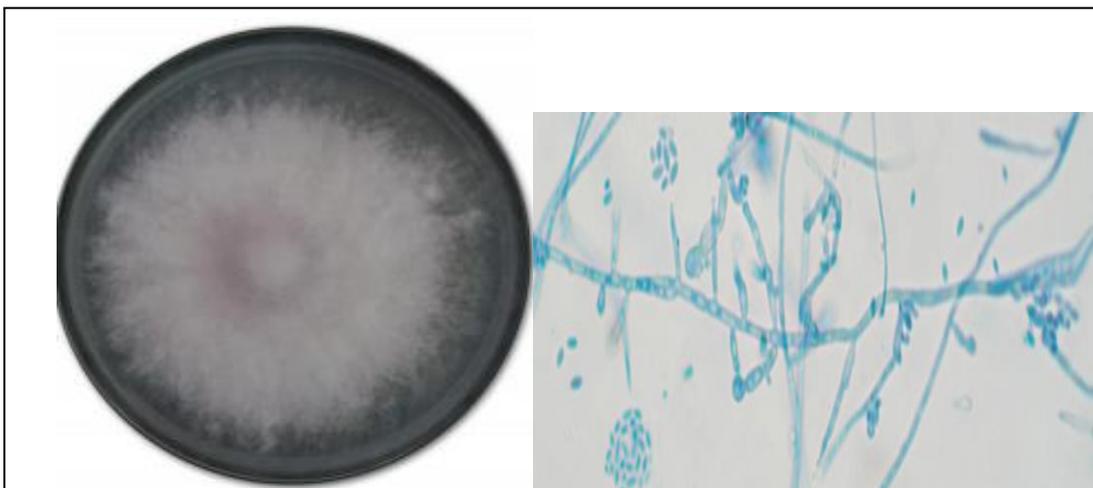


Figure 7 : Aspects morphologique de *F.oxysporum* (Chabasse, 2002).

6.3.3. Classification de *F.oxysporum*

Selon Henni (1998) et Hoog, *et al.* (1995), la classification taxinomique de cette *Fusarium oxysporum* est la suivante :

Tableau 2 : Classification de l'espèce *F. oxysporum* (Hoog *et al.*,1995 ; Henni,1988).

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Sous-classe	Hypocreomycetidae
Famille	Hypocreaceae
Ordre	Hypocreales
Genre	Fusarium
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>

6.4. *Fusarium solani*

6.4.1. Description de l'espèce

Le nom *Fusarium solani* est très utilisé mais il faut maintenant considérer qu'il s'agit d'un complexe appelé FSSC (Zhang *et al.*, 2006)) regroupant au moins une quarantaine d'espèces. Ces différentes espèces sont morphologiquement très proches et difficiles à identifier, elles sont généralement regroupées sous le nom générique de *F. solani*.

6.4.2. Critères d'identification de *F.solani*

Dans le cas du complexe d'espèces *Fusarium solani*, leur culture sur Oatmeal agar pousse rapidement et doit présenter un mycélium aérien de couleur blanche à crème avec une teinte verte à brune (Figure 8). Le revers de la culture ne présente pas de couleur, seulement pour certaines souches présente une pigmentation de couleur lie de vin (Debourgogne, 2013). Microscopiquement, FSSC présente des conidiophores simples ou disposées en verticilles (Chabasse *et al.*, 2002) avec des filaments aériens, de type monophialides avec une collerette distincte. Les macroconidies sont produites sur des conidiophores courts et branchés et sont généralement peu incurvées, avec une base apicale courte et émoussée et sans cellule basale distinguable (Debourgogne, 2013 Selon Chabasse *et al.*, 2002) sont en forme fuseau asymétriques de six cellules au maximum.

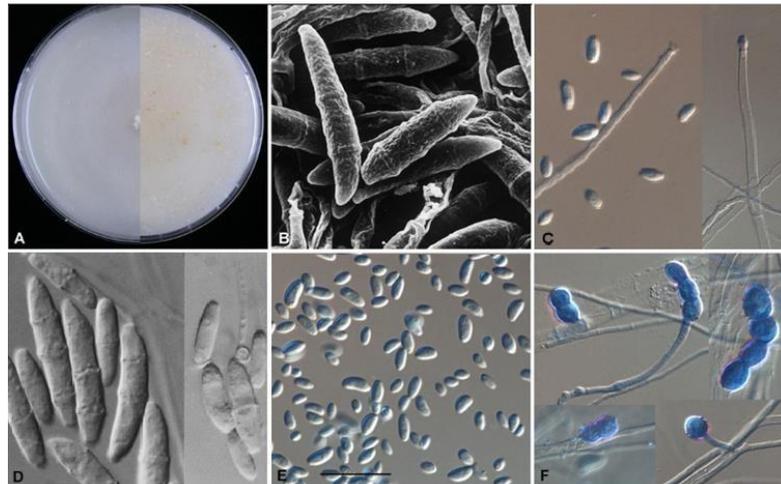


Figure 8 : Caractéristique macroscopique (A) et microscopique de *F. solani* (B, D : macroconidies, C : monophialides, E : microconidies, F : chlamydospores) (Thomas, 2017).

Les microconidies, habituellement abondantes, sont produites sur des conidiophores allongés et verticillés et mesurent 8 - 16 x 2,0 - 4,5 µm (Debourgogne.2013). Les chlamydospores sont fréquentes, uniques ou en paires, terminales ou intercalaires, lisses ou rugueuses et mesurent de 6 à 10 µm de diamètre (Hoog *et al.*, 2011).

6.4.3. Classification taxonomique de *F. solani*

La classification taxinomique complète, actuelle et corrigée de cette espèce (ou complexe d'espèces) est la suivante :

Tableau 3 : Classification taxonomique de *F.solani* (Debourgogne, 2013)

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Sous-classe	Hypocreales
Ordre	Nectriaceae
Genre	Fusarium
Espèce	<i>Fusarium solani</i>

Eucalyptus
globulus

1. Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'homme depuis l'antiquité. Elles sont dites médicinales lorsqu'elles sont inscrites à la pharmacopée et qu'elles présentent des propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Moreau, 2003)

Actuellement, leur utilisation augmente de jour en jour dans des divers industries et sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces (Mouas *et al.*, 2017). Les effets des plantes médicinales sont traditionnellement connus mais leurs vertus thérapeutiques peuvent varier en fonction de la partie utilisée de la plante (Colette, 2004).

Les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel dans la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments grâce à leur efficacité à traiter diverses maladies. Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : Alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, quinones, vitamines,...et huiles essentielles (Nadjai *et al.*, 2017).

On peut classer les plantes médicinales comme une source naturelle renouvelable (inépuisable). En effet, de leurs apparitions et leur disparition se fait périodiquement et continuellement dans des saisons définies par la nature. Ces ressources subissent des dégradations irréversibles, comme on l'assiste aujourd'hui en Algérie (Mokkadem, 1999).

2. Les Eucalyptus

2.1. Historique de la plante

Les Eucalyptus sont de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées. On dénombre aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'Eucalyptus. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'acclimater.

En 1850, plusieurs espèces d'Eucalyptus avaient été introduites en Algérie notamment *E. globulus* Labill., *E. viminalis*, *E. robusta* Sm., *E. rostrata* SchL, etc... Ils avaient la réputation d'assécher les marais, de faire disparaître les Anophèles et de supprimer le paludisme. Dans les années qui suivirent, on constata qu'ils croissaient très rapidement et

qu'ils donnaient au bout de peu de temps du bois d'œuvre et du bois de feu, des traverses de chemins de fer, etc. Ils se multiplièrent donc rapidement (Chevalier,1952).

Un savant botaniste Louis Trabut, professeur à l'Ecole de Médecine d'Alger et Directeur du Service botanique du Gouvernement général de l'Algérie, s'attacha à l'étude des *Eucalyptus* à partir de 1880. Il en introduisit diverses espèces en Afrique du Nord. Son attention fut attirée sur des formes nouvelles apparues dans les plantations des colons européens. Il signale tout d'abord la forme X *E. rameliana* Trabut venue de la Côte d'Azur qui réussit bien et est un Hybride de *E. botryoides* Smith et de *E. rostrata* Schlecht. Il fit connaître par la suite d'autres formes hybrides : *E. algeriensis* Trabut (hybride de *E. rostrata* et de *E. rudis* Endl.) ; *E. trabuti* Hort. (hybride de *E. rostrata* et *E. botryoides*, donc voisin de *E. rameliana* Trab.) ; Enfin *E. aranensis* Trabut (hybride ou forme dérivée de *E. occidentalis* observé dans la région d'Oran) (Chevalier ,1952).

2.2. Utilisation des Eucalyptus

Leurs domaines d'utilisation est très varié, nous trouvons parmi eux : (Baid, 2018)

2.2.1 Utilisation en médecine

L'utilisation de *Eucalyptus globulus* en médecine a été peu à peu reconnue puis adoptée. Par exemple, l'OMS a approuvé l'usage des feuilles (par voie interne) et de l'huile essentielle (par voie interne et externe) de cette plante, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires. Nous allons donc nous intéresser à deux types de médecine : la phytothérapie (est une médecine naturelle qui utilise les plantes afin de lutter contre les maladies, c'est l'une des méthodes thérapeutiques les plus anciennes) et l'aromathérapie (est une médecine qui fait l'usage des extraits aromatiques (Les HE) de plantes), puisqu'elles exploitent les nombreuses vertus de l'eucalyptus.

2.2.2. Utilisation thérapeutique

On utilise les feuilles de cette plante qui sont très odorante, elles sont riches en huile essentielle dont leur composant majeur est l'eucalyptol. Ce dernier possède des propriétés : Mucolytique (il agit comme fluidifiant des sécrétions pulmonaires et favorise leur évacuation), Antitussive (il supprime l'irritation des bronches dans les bronchites aiguës et chroniques), Antiseptique et antibactérienne. L'huile essentielle étant éliminée en grande partie par voie pulmonaire, elle agit directement sur la gorge et les bronches. L'eucalyptus est donc indiqué pour soigner les infections et les inflammations de l'appareil respiratoire

tel que le rhume, la bronchite aigue ou chronique, la toux grasse et la sinusite. Il est à noter que l'utilisation de l'eucalyptus ne se limite pas à ces deux domaines, d'autres ont fait également leur preuve, telle que son utilisation e, chimie, en papeterie et même dans la construction...

2.3. *Eucalyptus globulus*

2.3.1. Description botanique

Eucalyptus globulus est une PAM, elle appartient à la famille des Myrtacées grande famille de 72 genres et 300 espèces. Les Eucalyptus sont de grands arbres aromatiques qui caractérisent cette famille. Elles peuvent être de 100 m d'hauteur mais de 40 à 50 m en moyenne et de 1.5 m de diamètre (Bey Ould-Si-Said, 2014 ; Chibah *et al.*, 2018). Cette plante a une rapidité de croissance remarquable, elle est connue dans le monde sous le nom de gommier bleu de Tasmanie (Kermiche et Chougui, 2014).

Ce genre de plante est caractérisé par la production d'huile (Daroui-Mokaddem, 2012). La plupart des Eucalyptus ont des feuilles persistances, sont couvertes de glandes à l'huile. Les feuilles sont plus au moins étalées, longues, obliques à la base, presque aigue ou légèrement obtues, larges de 3 à 6 cm (Kermiche et Chougui, 2014). Leur fleurs sont variées, en fonction de l'espèce, de couleur blanche et peuvent être solitaires ou groupées en 2 ou 3 avec une forme régulière (Figure 9) (Chibah *et al.*, 2018). Les fruits sont large et des fois très petits avec des graines brunes, longues environ de 2 mm à 3 mm généralement (Kermiche et Chougui, 2014).

Cet arbre a une propriété exceptionnelle, c'est sa capacité d'absorption de l'eau du sol sur lequel il croit, il assèche rapidement les marais qu'il colonise (Chibah *et al.*, 2018).



Figure 9: *Eucalyptus globulus* (Bey-Ould-Si-Said, 2014).

2.3.2. Répartition géographique de la plante

L'origine de cette plante d'*Eucalyptus* est d'Australie, la majorité de ses espèces sont à l'origine de l'île de Tasmanie et de l'île principale d'Australie. Elle est rapidement plantée dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. Elle est intégrée dans le reste du monde par le botaniste Sir Joseph Banks notamment : Afrique du nord, Brésil, Afrique du sud, Californie... En 1857, elle est introduite en Algérie pour drainer les terrains de régions touchées par la malaria (Treiner, 2000).

2.3.3. Classification botanique d'*Eucalyptus globulus*

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure, (Cronquist, 1981) il est représenté en tableau 4.

Tableau 4 : Classification botanique d'*Eucalyptus globulus* (Cronquist. 1981)

Règne	Plantae
Sous-Règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>E. globulus</i>

2.3.4. Composition chimique d'*Eucalyptus*

Ces principaux composants sont : (Chibah *et al.*, 2018)

- L'huile essentielle (HE) contenant des sous composants terpéniques en site le principale qui le Eucalyptol
- Les Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine) (Carnesecchi *et al.*, 2001).
- Les Tanins

3. Les propriétés de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

Les HE du genre *Eucalyptus* ont fait l'objet d'un grand nombre d'études, ils sont classés en fonction de leurs compositions. Cette dernière qui est responsable de leurs propriétés (Daroui-Mokaddem, 2012). L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, grâce à son composant majoritaire, le 1,8-cinéole va lui conférer plusieurs propriétés (Koziol, 2015) :

3.1. Propriétés antibactériennes

Cette huile est active principalement contre les bactéries Gram positif tels que : *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* (European Scientific Cooperative on Phytotherapy, 2009). L'efficacité de l'huile essentielle d'*E. globulus* comme agent naturel de la conservation des aliments a été démontrée, cependant, elle n'est pas active sur *Escherichia Coli* ou *Pseudomonas aeruginosa* (Bey-Ould-Si-SAid, 2014).

3.2. Propriété antivirale

Des études ont démontré que l'HE d'*Eucalyptus globulus* possède une forte activité antivirale contre l'herpès simplex virus (HSV). Elle est utilisée pour traiter les boutons de fièvre, soit par application directe sur le bouton à l'état pure sinon en mettant 1 goutte dans une pommade d'aciclovir (Koziol, 2015).

3.3. Propriété antifongique

En plus de ses propriétés antibactériennes et antivirales, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente des propriétés antifongiques Vilela *et al.*, En (2009) ont démontré une activité sur certaines espèces d'*Aspergillus*, *Candida albicans* (Bey-Ould-Si-Said, 2014). Dans ce cas le 1,8-cinéole seul n'a pas d'effet sur les mycéliums, il n'est pas le seul responsable de l'effet antifongique mais qu'il s'agit d'une synergie de molécules qui donnent cette action (Koziol, 2015).

3.4. Activité antiparasitaire

De nombreuses études sur l'activité antiparasitaire de l'HE de *E. globulus* ont été réalisées. Elle agit contre *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*, appelé aussi tique du bétail, où une concentration de 5% de cette huile a pu inhiber 25% de la reproduction chez ce

parasite (Khodadad, 2009). Par ailleurs, d'autres propriétés ont été mises en évidence, notamment :

- expectorante
- cicatrisantes
- insecticide
- antidouleur
- hypoglycémiant
- anticancéreuses

Les huiles essentiell

1. Que ce qu'un huile essentielle ?

En général les HE sont des extraits liquides concentrés qui ne sont pas vraiment huileux contrairement à ce que son nom pourrait indiquer. Les HE sont obtenues à partir d'une partie végétal (feuilles, tige, rameaux...etc...), leur structure est complexe. En effet, leurs compositions par des molécules aromatiques volatiles, d'où leurs nombreuses propriétés (Koziol, 2015).

ANSM a défini les HE comme étant des produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.

2. Notion de chémotype ou chimiotype

Un même végétal peut sécréter des HE biochimiquement différentes en fonction de son biotope (composition du sol, climat, ensoleillement...). C'est pour cette raison que la notion de chémotype a été créée (Koziol, 2015). Donc, on dit que ce sont des huiles essentielles chémotypées (H.E.C.T). Les H.E.C.T sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une HE (Mayer, 2012).

3. Caractéristiques physiques des huiles essentielles

Selon plusieurs auteurs, les HE possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques (Laib, 2011) :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la pluparts des solvants organiques.
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, cette faible densité est due à la forte teneur en monoterpènes
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune pale.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes (Nedjai *et al.*, 2017)

- Leur indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.

4. Composition chimique des huiles essentielles

Comme toutes les substances, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable (Larbi *et al.*, 2014). Parmi le nombre de molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle, on y trouve des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (Pibiri, 2006). Ce sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon exclusive, à deux groupes : le groupe de terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (Paris et Hurabielle, 1981).

4.1. Composition chimique d'huile d'Eucalyptus

Pour notre HE d'Eucalyptus le composé majoritaire est l'eucalyptol ou le 1,8 cineole avec une concentration de 70 à 85% (Tableau 5) (Opdyke, 2002; Zhiri et Baudoux, 2005). Cette huile a un aspect liquide, limpide, presque incolore à jaune claire son odeur est caractéristique rappelant celle de l'eucalyptol (Buronso, 2008). Elle est utilisée comme agent de flaveur dans l'industrie alimentaire à une dose $\leq 5\text{mg/Kg}$ (Batish *et al.*, 2008).

Tableau 5: Principaux composés des HE de *E. globulus* (Bey Ould.2014).

Composition	Auteur
Feuilles: 1,8-eucalyptol: 72,71 %, α -pinene: 9,22 %, α -terpineol: 2,54 %, globulol: 2,77 %, α -terpineolacetate: 3,11%, et alloaromadendrene: 2,47%.	Selon (Song et al, 2009)
Fruit: aromadendrene: 31,17%est le composé le plus abondant, suivi du 1,8-cineole: 14,55%, globulol: 10,69%, et du ledene: 7.13%.	Selon (Mulyaningsiha et al,2010)

La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographique en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique (Laib, 2011).

5. Toxicité des HE

Malgré leur image de produits naturels, les huiles essentielles ne sont pas dépourvues de toxicité. Ce sont des molécules actives, elles provoquent de graves effets secondaires, agissent comme des allergisants ou hyper-sensibilisants, photo-sensibilisants dus aux furocoumarines, neurotoxiques dus aux cétones, néphrotoxiques dus aux terpènes, hépatotoxiques dus aux phénols (Larbi *et al.*, 2014). En général elles provoquent certaines toxicités (intoxications aiguës) chez l'homme ; les plus souvent observés chez les petits enfants par ingestion de quantité importante (Laib, 2011) Pour cela, il est important de respecter la posologie et la durée de la prise.

6. Procèdes d'extraction des HE

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique (Garnero, 1977). Différentes méthodes sont utilisées pour l'extraction des essences végétales, la diversité de ces procédés est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (Laib, 2011).

6.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation (ou entraînement à la vapeur d'eau) est une méthode d'extraction dont le rôle est d'entraîner les composés volatiles des produits naturels avec la vapeur d'eau. Ce procédé est aussi appelé « entraînement à la vapeur ». Son principe est de porter à ébullition un mélange eau + végétal : les cellules du végétal éclatent et libèrent alors les espèces chimiques odorantes qui (non solubles dans l'eau) sont entraînées par la vapeur d'eau puis récupérées dans un autre récipient après condensation dans le réfrigérant (Figure 10). L'hydrodistillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi qu'une phase organique constituée par l'huile essentielle. Lorsque les densités de ces deux phases sont proches on peut observer une émulsion (Chabbi, 2019).

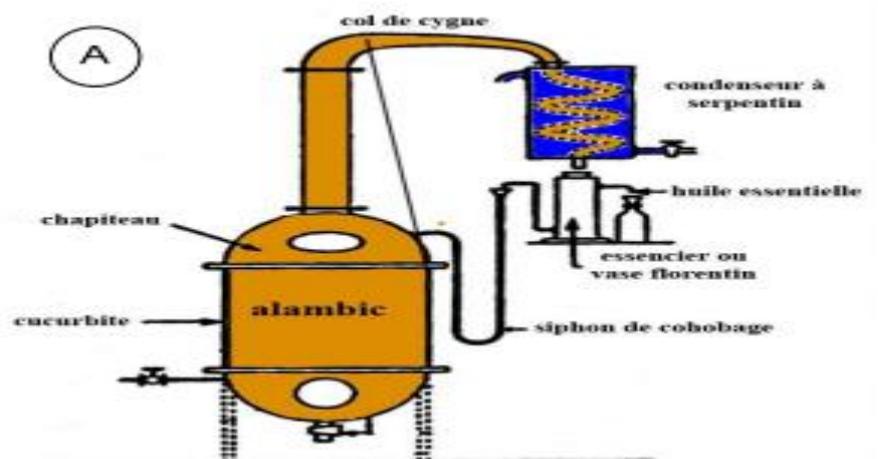


Figure 10: Schéma du procédé d'hydrodistillation (Bousbia, 2011).

6.2. Extraction au moyen des solvants

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau ou l'hydrodistillation. C'est le cas des fleurs de jasmin, d'œillet, de tubéreuse ... (Bousbia, 2011) et pour extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau. On utilise cette technique qui consiste à extraire une espèce chimique d'un milieu solide (extraction liquide-solide) ou liquide (extraction liquide-liquide) par solubilisation dans un solvant. Lorsque l'espèce chimique est extraite d'un liquide (mélange ou solution), ce liquide et le solvant extracteur doivent être non miscibles. Au cours de l'extraction on obtient deux phases (ou parties non mélangées). La phase supérieure correspond au liquide dont la densité est la plus faible (Chabbi, 2019).

6.3. Extraction par enfleurage

La technique de l'enfleurage (ou macération à saturation) est ancienne, Ce procédé utilise les organes végétaux fragiles qui ne supporte pas la chaleur à la distillation consiste à mettre une couche de ces substances végétales entre deux couches épaisses de matière grasse. On renouvelle les matières végétales fraîche jusqu'à saturation de la graisse en fragrance. (Chabbi, 2019). Le corps gras est ensuite épuisé par l'alcool absolu et ce solvant évaporé sous vide pour ne laisser que les substances végétales (Benabdelkader, 2012).

7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et leurs activités antifongiques

Les plantes aromatiques en général et en particulier la plante d'*Eucalyptus* donnent les HE, essences destinées à l'utilisation industrielle (Lamamra, 2010). L'huile d'*Eucalyptus* est aujourd'hui présents dans les savons, les crèmes, les détergents, lessives et dans l'industrie agro-alimentaire (Makhloufi, 2010). Son intérêt en médecine humaine en phytothérapie et vétérinaire est grandissant (Degryse *et al.*, 2008) et ce, grâce leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (Makhloufi, 2010). Elles sont utilisées par voie orale, rectale, ou par inhalation directe (Degryse *et al.*, 2008).

7.1. Activité antifongique d'huile d'*Eucalyptus*

Le spectre d'action des HE est très large sur les moisissures, levures, bactéries. Elles sont généralement plus actives sur les moisissures et les levures que sur les bactéries (Beyould, 2014). Des études ont démontré des activités intéressantes contre des champignons pathogènes des cultures tels que les genres suivants : *Botrytis*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Pythium*, *Collet otrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Pyricularia*, *Rhizoctonia*, *Cladosporium*, *Lasiodyz»lodia*, *Phomopsis*, *Rhizopus*... (Larbi, 2014), ainsi contre la levure *Candida albicans*.

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches, mais d'une manière générale leurs actions se déroulent en trois phases:

- Attaque de la paroi bactérienne, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort d u microorganisme (Djarri, 2010).

Activité antifongique

Les essais de sensibilité *in vitro* sont réalisés sur des micro-organismes soupçonnés d'être pathogènes ; particulièrement s'ils sont supposés appartenir à des espèces pouvant avoir développé une résistance à des agents antimicrobiens courants. Ces essais sont également utilisés dans le cadre de la surveillance de résistance, des études épidémiologiques de sensibilité, ainsi que pour comparer les nouveaux agents avec ceux existants. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des agents antimicrobiens se fait via des protocoles par dilution qui constituent la méthode de référence pour les essais de sensibilité aux agents antifongiques. Les méthodes de détermination de CMI servent à surveiller la résistance, aux essais comparatifs de nouveaux agents à des fins de recherche ou d'enregistrement, à établir la sensibilité des organismes produisant des résultats ambigus lors d'essais de routine, aux essais sur les organismes lorsque les essais de routine sont peu fiables et à obtenir des résultats quantitatifs nécessaires à un traitement clinique. Plusieurs techniques de référence ont été mises en évidence : CLSI, EUCAST, technique de diffusion, E-test,

1. Méthodes de références

1.1. Méthode CLSI

En 2002, le Clinical and Laboratory Standards Institute a développé la méthode de microdilution qui détermine les seuils de sensibilité et donc la CMI (concentration minimale inhibitrice) de toutes les espèces de *Candida* et de *Cryptococcus*. D'une manière générale, c'est une méthode de référence internationale qui a été standardisée pour déterminer la sensibilité *in vitro* des levures et des champignons filamenteux aux antifongiques (Abbes *et al.*, 2012). Les valeurs seuils qui sont détectées permettent de classer les souches selon leurs sensibilités aux antifongiques en : souches sensibles, résistantes ou sensibles dose dépendant.

La microdilution consiste à ensemencer, par un inoculum standardisé une gamme de concentration décroissante en extrait (HE) à tester. Après incubation l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration du produit capable d'inhiber la croissance de 90% de la population microbienne. Une microdilution est produite dans une microplaque contenant 20 µl DMSO, de manière à générer une gamme de dilution de base 2. La gamme de concentration est alors produite dans les 96 puits. 20 µl d'extrait sont ajoutés dans le premier puits de chaque ligne à partir duquel est effectuée une dilution géométrique de base 2. Puis, 160 µl de milieu

Sabouraud liquide (BS) inoculé avec 20 µl d'une suspension de levures à 10^8 UFC/ml sont ajoutés à chaque puits. Chaque ligne est réservée pour une souche déterminée, Des puits contenant de BS inoculés par la souche déterminée sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le DMSO et BS non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif. Après 48 heures d'incubation à 37°C, la CMI de l'extrait est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance microbienne (Eloff, 1998).

1.2. La technique EUCAST

La technique EUCAST (European committee on antibiotic susceptibility testing) reprend les principales caractéristiques de la méthode CLSI avec quelques modifications, donc elle présente quelques différences mais n'a été validée que pour les *Candida spp.* Dans cette technique le milieu de culture (RPMI 1640) est supplémenté en glucose à 2% (Abbes *et al.*, 2012) et l'inoculum utilisé est plus dense $1-5 \times 10^5$ UFC/ml, ce qui permet une lecture plus précoce après 24 h d'incubation au lieu de 48 h. De plus la lecture des microplaques se fait au spectrophotomètre, elle est donc automatique (Dannaoui, 2006).

1.3. Méthode de diffusion

1.3.1 Méthode de diffusion par puits

Le principe de cette technique repose sur la création des puits creusés stérilement sur la géloseensemencée. Après incubation, à une température optimale de croissance du germe, il se produit un développement des colonies. La formation d'un halo clair autour du puits indique l'absence de la croissance microbienne dont le diamètre dépend de la sensibilité à l'extrait testé (ex. HE) (Wan *et al.*, 1998).

1.3.2. E-test

C'est une méthode commercialisée qui teste la sensibilité *in vitro* des levures et des champignons filamenteux aux antifongiques. La technique E-test est basée sur le principe de la diffusion en milieu gélosé. Il s'agit d'une bandelette en plastique contenant un gradient exponentiel prédéfini de l'antifongique à tester. La bandelette est appliquée à la surface d'un milieuensemencé préalablement avec la souche à tester. La CMI est lue au niveau de l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette (Figure 11) (Abbes *et al.*, 2012). Cette technique a un des avantages d'être plus simple à utiliser que les techniques de référence et donc mieux adaptée aux laboratoires de microbiologie clinique (Dannaoui, 2016).

De nombreux travaux ont montré la bonne reproductibilité de cette technique, de plus, il y a une bonne corrélation pour les levures entre les résultats obtenus avec le E-test et ceux obtenus avec la technique du CLSI (Pfaller *et al.*, 2003) et la technique EUCAST (Cuenca-Estrella, 2005).

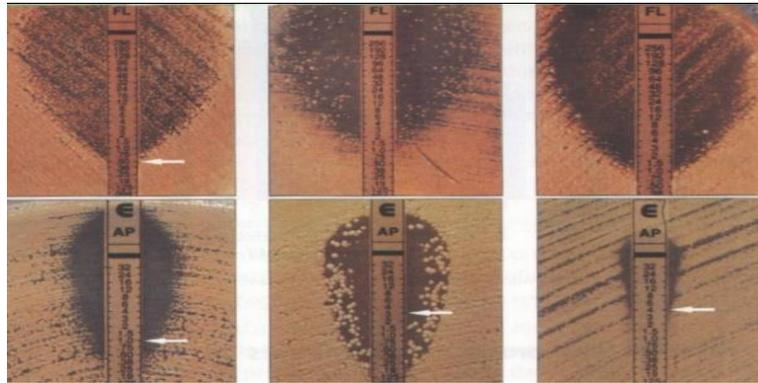


Figure 11 : Exemples de différents aspects obtenus avec la technique du E-test lors la détermination de la sensibilité des levures et des champignons filamenteux aux antifongiques.
(Le fleuter, 2006)

**Quelques techniques
d'évaluation de
l'activité
antifongique de l'HE
*d'Eucalyptus
globulus***

Les méthodes d'évaluation de l'activité antifongique des HE sont nombreuses. Elles peuvent être réalisées aussi bien sur milieu gélosé qu'en milieu liquide, cependant, le protocole expérimental à appliquer reste le même et répond essentiellement à des étapes similaires dans les deux cas, à savoir, l'extraction de l'extrait brute à partir du végétal et la mise en évidence de la sensibilité ou la résistance des souches fongiques à l'égard de l'HE à tester. Dans cette étude, il s'agit de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

1. Matériel végétal

1.1. Traitement de l'échantillon

Après la récolte de la plante *E. globulus*, une identification de cette dernière est indispensable et basée sur des clés de détermination d'auteurs référenciés et répertoriés. Les feuilles sont nettoyées puis mises dans un endroit bien aéré à l'abri de la lumière et à une température ambiante pendant sept jours. Ensuite, une fois séchées, les feuilles sont conservées dans des sacs propres jusqu'au moment de l'étape d'extraction (Boudjehem, 2019).

1.2. Extraction de l'huile essentielle

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les flavonoïdes, les HE, les tanins), le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2011).

1.2.1. Hydrodistillation

L'extraction de l'HE de *E. globulus* est réalisée par la technique d'hydrodistillation par utilisation d'un appareil de type Clevenger (Figure 12). Cette opération consiste à introduire 100g de matériel végétal sec contenant une substance volatile dans un ballon en verre à fond rond de 2L (Boudjehem, 2019), puis les submerger avec une quantité d'eau distillée. À l'aide d'un chauffe-ballon, le mélange est porté à l'ébullition. Les vapeurs d'eau entraînent l'HE volatile, qui est ensuite condensée par un condenseur froid qui les transforme en liquide. Cette HE est plus légère que l'eau, elle surnage à la surface, ensuite elle est récupérée, mesurée et pesée pour déterminer son rendement en fonction de sa matière

sèche. C'est une opération qui nécessite au moins 3h de temps à partir du début d'ébullition (Bouacha *et al.*, 2017).



Figure 12: Extraction de l'HE par hydrodistillation à l'aide d'appareil de type Clevenger (El- Mansouri., 2013).

1.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Moderres et Aichouni, 2018).

1.2.3. Expression à froid

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices (Chemloul, 2014).

1.2.4. Extraction assistée par microondes

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par microondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et

décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (Bey-Ould-Si-Said, 2014).

Il est à noter que les huiles essentielles doivent être conservées dans de bonnes conditions pour éviter leur oxydation. Il faut les conserver dans un endroit frais, à l'abri de la lumière, dans du verre brun ou de l'aluminium vitrifié. Une essence bien distillée se conserve trois ans au moins. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles, à noter des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. Les Huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître (Moderres et Aichouni, 2018).

2. Matériel fongique

Le choix des souches fongiques: *F. oxysporum* et *F. solani* ATCC (American type culture collection) (Figure 13) comme modèle pour cette étude est basé sur le fait que ces souches sont souvent incriminées dans les infections fongiques cutanées et disséminées chez l'être humain. Par ailleurs, elles engendrent également des dégâts dans le domaine de l'agriculture.

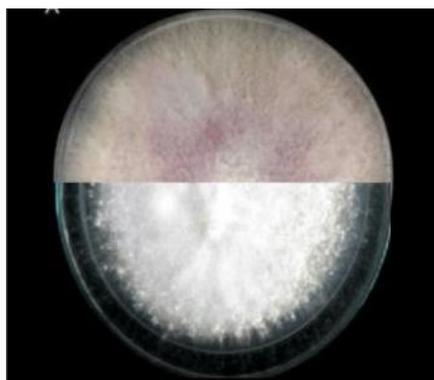


Figure 13 : Souches *F. oxysporum* (A) et *F. solani* (B) (Theresa Cutuli *et al.*, 2015).

Les souches fongiques sont cultivées sur milieu Sabouraud (Annexe 02) afin d'avoir suffisamment de spores. Ensuite une culture finale est réalisée sur le milieu PDA (Pomme de terre Agar Dextrose) supplémenté d'HE d'Eucalyptus à différentes concentrations (Ismaili *et al.*, 2014).

3. Détermination de rendement de l'HE

Selon AFNOR (2000) le rendement de l'huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal sèche utilisé. Ce rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante:

$$\text{RHE}(\%) = (\text{Mh} / \text{Mv}) \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle en %.

Mh : masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

Mv : masse d'essai du matériel végétal en gramme (g)

4. Evaluation de l'activité antifongique

4.1. Préparation de la suspension sporale

A partir d'une culture âgée de 5 jours de l'espèce à tester (*Fusarium spp* dans notre cas), une suspension sporale est préparée par grattage de spores dans des tubes coniques en plastique stériles de 15 ml contenant une solution de l'eau physiologique stérile à 0.9% avec 2 gouttes de Tween 20 (Hadjadji *et al.*, 2018).

A l'aide d'un vortex, la suspension préparée est agitée, puis ajustée à la concentration désirée (10^7 spores/ml) par utilisation d'une cellule de Malassez (Merzoug *et al.*, 2018) qui est une concentration spécifique pour les différentes espèces pathogènes (Hadjadji *et al.*, 2018).

4.2. Préparation des concentrations de l'HE

Une solution mère de l'extrait d'HE d'*E. globulus* est diluée dans une quantité bien déterminée de diméthylsulfoxyde (DMSO) (Kossonou *et al.*, 2019). Des concertations sont effectuées selon la méthode de test de l'activité antifongique utilisée, selon Nadjai *et al.* (2017) la dilution de l'HE est effectuée comme indiqué dans le tableau en dessous :

Tableau 06: Les concentrations d'HE utilisées (Nedjai *et al.*, 2017).

Dilutions	Concentrations	Quantités
Première dilution	5%	50 µl HE + 950 µl DMSO
Deuxième dilution	10%	100 µl HE + 900 µl DMSO
Troisième dilution	50%	500 µl HE + 500 µl DMSO
Quatrième dilution (HE pure)	100%	1000 µl HE + 0 µl DMSO

5. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

5.1. Confrontation directe

La confrontation directe « Souche fongique / HE » est une technique qui consiste en la diffusion de l'HE à travers des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boîtes de Pétri dans un milieu de culture PDA déjà inoculé par les souches fongiques étudiés.

Dans chaque boîte de Pétri, on étale de manière uniforme sur le milieu de culture PDA une quantité de 50µl de la suspension sporale préparée déjà au même jour. Les boîtes sont séchées pendant quelques minutes à l'étuve à 24°C. Ensuite, à l'aide d'un emporte-pièce stérile, des disques de papier Wattman 6 mm de diamètre sont placés au centre des boîtes, puis imbibés par 5µl de l'huile essentielle à tester, à l'aide d'une micro pipette (Figure 14).

Les boîtes sont incubées à une température de 24 °C pendant cinq jours. Ensuite une lecture des résultats se fait par mensuration du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance de la souche fongique au voisinage des disques chargés par les différentes concentrations de l'huiles testée (Boudjehem, 2019).

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des souches testées est calculé comme suit (Serghat *et al.*, 2004) :

$$I_c (\%) = (D_0 - D_c) / D_0 \times 100$$

I_c : pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

D₀ : la croissance diamétrale du témoin

D_c : la croissance diamétrale de la souche fongique teste en présence de l'HE

5.2. Confrontation indirecte

Nous avons utilisés cette méthode dans le but d'exploiter les propriétés de la phase volatile de l'HE. Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase gazeuse sont encore peu nombreux (Tyagi et Malik, 2011). La différence entre cette méthode et les aromagrammes réside principalement dans la position du disque imprégné. Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

Le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 72h ou 5 jours pour les levures et les moisissures, respectivement. Il se produit une évaporation des substances qui, en contact avec les microorganismes ensemencés sur la gélose, va inhiber leur croissance (Figure 14). A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette, à tendance circulaire.

La boîte de contrôle, réalisée pour chaque expérience, est une boîte ensemencée dont le disque déposé au centre de la gélose n'est pas imbibé d'HE. Une autre boîte témoin est ensemencée dans les conditions de l'expérience, sans disque. Elle renseigne sur l'homogénéité du tapis bactérien.

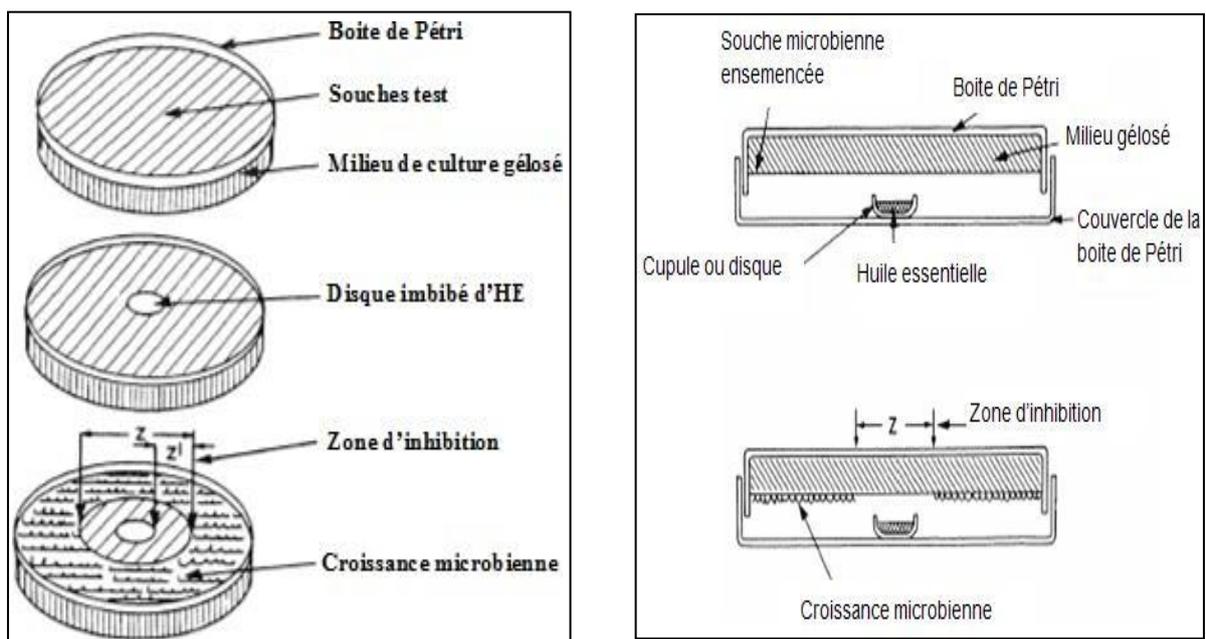


Figure 14 : Illustration de la technique de confrontation directe / indirecte (Tachefine, 2013).

5.3. Diffusion sur milieu solide par la technique des puits

La technique des puits est l'une des méthodes de diffusion en milieu solide qui est la plus utilisée et la plus simple pour évaluer l'activité antifongique des HE.

Généralement, le milieu de culture utilisé est la gélose Sabouraud additionnée d'antibiotique (ou encore le milieu Muller Hinton, dans le cas des champignons filamenteux, tel que *Fusarium sp*) coulé en boîtes de Pétri. Ensuite, 1ml de suspension sporale est étalé à la surface de la gélose. Après séchage, des puits de 5 mm sont réalisés au centre de chaque boîte (Kermiche et Chougui., 2014) pour y introduire une quantité bien déterminée d'extrait. Pour chaque souche, quatre boîtes de Pétri sont réalisées, chacune contenant une quantité d'HE de concentration différente (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 μ l...). Une boîte témoin est également préparée contenant que la souche à tester.

Il est à noter qu'il est possible de réaliser plusieurs puits dans une seule boîte de Pétri et y déposer des concentrations croissantes de l'extrait d'HE à tester (Figure 15).

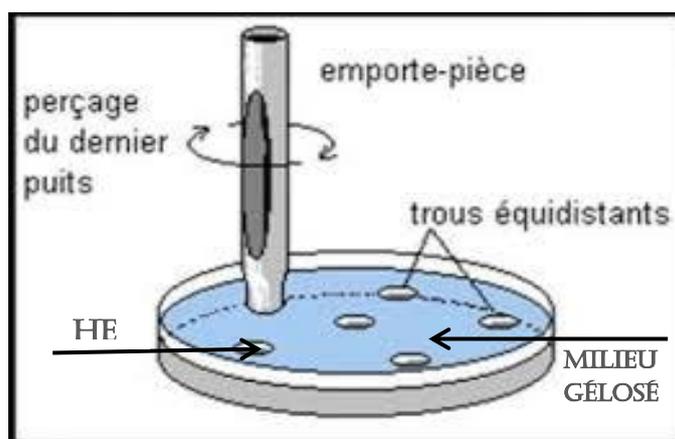


Figure 15 : Illustration de la diffusion par la technique des puits

Enfin après une fermeture hermétique des boîtes de Pétri, celles-ci sont mises dans une étuve à 25°C. Le développement des cultures est en fonction de la concentration en HE maintenue (Kermiche et Chougui., 2014).

L'effet de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la cible est déduit par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition afin qu'on puisse qualifier les souches de souche sensible ou résistante.

5.4. Méthode de microdilution

Pour déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice) et la CMF (concentration minimale fongicide) d'une HE avec précision et d'une manière fiable, il est possible d'utiliser une technique de mise en évidence de l'activité antifongique en milieu liquide sur microplaque de 96 puits (Figure 16). La méthode utilisée est celle du M38-A qui a été décrite par CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) en 2008 (El Mansouri, 2013). Cette méthode de référence permettant la détermination des valeurs de CMI et CMF d'une substance antifongique testée.

A partir d'une culture jeune, de *Fusarium oxysporum* et *F. salani*, sur milieu solide Sabouraud, un inoculum de $0.4-5 \cdot 10^4$ CFU/ml ou MCI (Milieu de culture inoculé) est préparé dans le milieu Sabouraud liquide + gentamycine 0.1 g/L. Dans chaque ligne de la microplaque, 150 µl de milieu Sabouraud liquide – gentamycine sont déposés uniquement dans le puits N°1 puis 100 µl de ce même milieu de culture sont déposés dans les 11 puits restants. Ensuite, 50 µl d'HE à tester sont rajoutés dans le puits N°1. Le contenu du puits N°1 est mélangé, puis 100 µl y sont transférés dans le puits N°2, puis N°3, N°4, ainsi de suite jusqu'au puits N°10 et ce, afin d'obtenir des dilutions semi successives de 250 à 0.49 µl. Les deux derniers puits (N°11 et N°12) sont utilisés comme contrôle de la croissance et de la stérilité du milieu. Enfin, 100 µl de MCI sont déposés dans chaque puits à l'exception du puits N°12. La microplaque est scellée ensuite avec son couvercle et incubée à 35°C pendant 5 jours. Un témoin positif (ex: le fluconazole) et un témoin négatif (culture sans adjonction d'HE) sont inclus en parallèle avec cette même méthode. La lecture des résultats est assurée par l'observation directe des puits à l'aide d'une source lumineuse afin de bien visualiser s'il y a un enchevêtrement filamenteux ou à l'aide d'un spectrophotomètre (48h à 72h d'incubation seulement). Les tests sont répétés trois fois. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'HE qui inhibe complètement la croissance fongique visible dans les puits après 5 jours (ou 72h) d'incubation. Donc, la CMF est la plus faible concentration d'HE ne donnant aucune croissance après repiquage sur gélose de milieu Sabouraud.

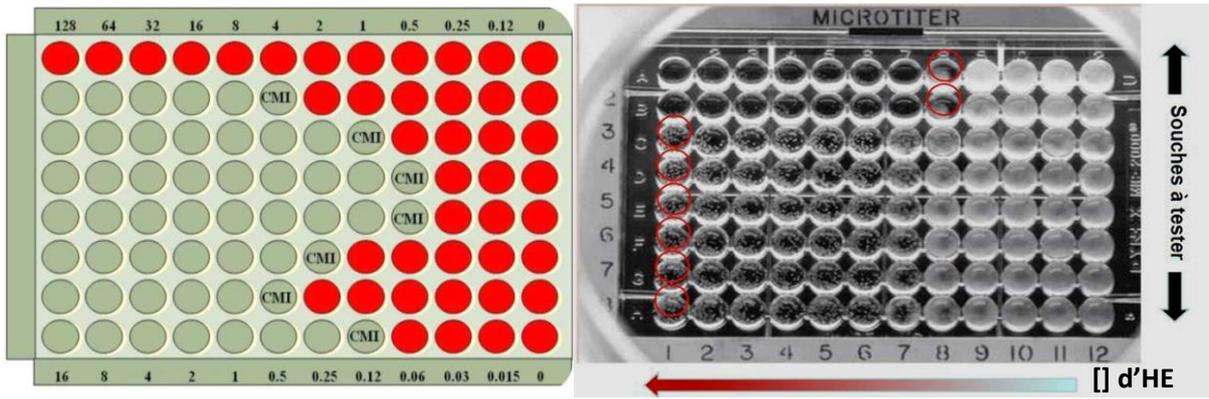


Figure 16: Plaque de microtitration (Dannaoui, 2016)

Conclusion

Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations 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 (Svoboda et Svoboda, 2000). De nos jours, il a été démontré à maintes reprises, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires, dont les huiles essentielles qui sont généralement destinés à plusieurs secteurs (cosmétique, alimentaire, médical,) (Grysole, 2004)

Dans cette étude prospective, nous nous sommes intéressées à mettre en évidence les principales méthodes mises en œuvre pour tester l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* contre 2 espèces fongiques incriminées aussi bien dans les infections localisées que celles disséminées (Thomas, 2017). Les champignons du genre *Fusarium* étant des moisissures largement distribuées dans l'environnement mais ne sont pas au premier plan du point de vue des maladies infectieuses humaines en Algérie, ni dans le monde. De ce fait, aucun travail n'a été rapporté, actuellement, dans ce contexte. Il serait donc, intéressant de faire une prospection dans ce sens et essayer de mettre en évidence l'effet antifongique de l'HE d'*E. globulus* sur les espèces *F. oxysporum* et *F. solani* isolées à partir des personnes souffrant de kératites par exemple ou d'infections invasives.

Références bibliographiques

A

- 1-Abbes, S. Trabelsi, H. Amouri, I. Sallemi, H. Nej, S. Chaikhrouhou, F. Makni, F. (2012). Méthodes d'étude de la sensibilité in vitro de *Candida spp* aux antifongiques. *Annales biologie clinique*. 70 (6), 635-642
- 2-AFNOR. (2000). Recueil de normes : Les huiles essentielles Echantillonnage et méthodes d'analyses (Tome 1).Paris. 440p
- 3-Al-Bakkali, A. (2016). Activité antifongique in vitro de *Mentha pulegium* sur des souches de *Fusarium colmorum* et *Fusarium graminearum*. Mémoire : Faculté Des Sciences et Techniques FES. Algérie : Sidi Mohamed Ben Abdellah, 52p.
- 4-Al-Hatmi, A,M, S et al. .Keratitis by *Fusarium temperatum*, a novel opportunist. *BMC Infect. Dis*, vol. 14. 2014
- 5-Anaïssie E.J. Kantarjian H., Jones P., Barlogie B., Luna M., Lopez-Berenstein G., Bodey G.P. (1986). *Fusarium* a newly recognized fungal pathogen in immunosuppressed patients *Cancer*. 57, 2141-2145.
- 6-Anaïssie E. J., Bodey G.P., Rinaldi M.G. (1989). Emerging fungal pathogens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 8, 323-330.

B

- 7-Baid, S. (2018).Etude de l'effet d'hybridation interspécifique sur teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc par ACP. Mémoire de Master : Sciences et Techniques. Fès : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 30p
- 8-Baran, J. Faergemann, R. Hay.Superficial, J. white onychomycosis A syndrome with different fungal causes and paths of infection. *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 57, no. 5, pp. 879–882, Nov. 2007.
- 9-Bastides.F (2010). Zygomycoses, fusarioses, scédosporioses, trichosporonoses : les nouvelles mycoses émergentes. *Elsevier Masson SAS*, 19, 320-326
- 10-Batish D R, Pal Singh H, Kumar Kohli A , Shalinder Kaur S.(2008).Eucalyptus essential oil as a natural pesticide *Forest Ecology and Management* 256 :2166–2174
- 11-Bernard, T. (1988). Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. HAL[en ligne], 8, (3), (consulté le 06.04.2020) <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885091/document>.
- 12-Benabdelkader T. (2012). Biodiversité, Bio activité et Biosynthèse des Composes Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et

Ecophysiologie Végétale de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et de l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France. P10 ,25

13-Bey Ould Si Said, Z. (2014). Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*. Mémoire : Alimentation et Technologie Alimentaire. Bejaïa : Université Abderrahmane Mira ,109 P.

14-Boiron, P. Généralités [en ligne]. (Consultée le 05.04.2020). https://coursexamens.org/images/Etudes_superieures/Pharmacie/4eme_annee/Parasitologie_mychologie/Cours_1/2/GENERALITE.pdf

15-Bonifaz, A., Tirado-Sanchez A., Calderon L., Saul A., Araiza J., Hernandez M., Gonzalez G.M.,Ponce R.M. "Mycetoma: Experience of 482 Cases in a Single Center in Mexico," PLoS Negl. Trop. Dis., vol. 8, no. 8, Aug. 2014.

16-Bouacha, H., Khafrabi, N., Seghairia, D.(2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans*. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Parasitologie. Guelma : Université 8 Mai 1945, 99 P.

17-Boudjehem, W. (2019). Etude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles pour le contrôle des agents phytopathogènes. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Phytopharmacie et protection des végétaux. Guelma : Université 8 Mai 1945 Guelma, 84 p.

18-Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse : chimie. Alger : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 176

19-Branger,A. et al. (2007). Alimentation et contrôle microbiologiques : champignons et mycètes : *educagri*. 203p

20-Brigitte, M (2019). Fiche technique culture ornementales en serre, Fusariose vasculaire [en ligne] (consultée le 16.02.2020). https://www.agrireseau.net/documents/Document_99524.pdf

21-Buronso A.M. (2008).Grand guide des huiles essentielles Santé Beauté et Bien Etre 23.7362.9 ISBN : 978-2-0123-7362-4.

C

22-Carneseccchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N. Raul, F., (2001). Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Phamacol. Exp. Ther.* 298 (1): 197- 200.

23-Chabasse, D., Bouchara, J.P. Gentile, L. Brun, S. Cimon, B. Penn, P (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Angers : Bioforma.161p

24-Chabbi, R. (2019). Cours méthodes physico-chimiques d'études des molécules biologiques : Techniques D'Extraction D'Espèces Chimiques Organiques.

25-Charouana, N. et al. (2018). Isolement, purification et identification des moisissures du champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique. Mémoire : Mycologie et Biotechnologie fongique. Constantine : université Mentouri, 81p.

26-Chemloul, F. (2014). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en Agronomie option amélioration végétale : Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : 35 p.

27-Chevalier, A. (1952) Travaux français sur le genre *Eucalyptus*. In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 32^e année, bulletin n°353-354. pp. 105-112.

28-Chibah, S. et Djaouher F. (2018). Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'*Eucalyptus*, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire : chimie pharmaceutique. Ain Defla : Djilali Bounaama de khemis Miliana, 124p

29-Colette, K. (2004). Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P58.

30-Cronquist A, (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia univ. Press. New York. 1262 P

31-Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, et al. (2005). Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques. *Clin Microbiol Infect*; 11: 486-92.

D

32-Dannaoui E. (2006). Intérêt des tests de sensibilité in vitro dans la prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives, Conférence de consensus commune SFAR, SPILF, SRLF. Prise en charge des candidoses et aspergilloses de l'adulte. Elsevier, 2004 : 52-59

33-Dannaoui, E. Mycologie: antifongogramme, méthodes et interprétation. Journée de Biologie Clinique, Paris: 18-20. Janvier 2016.

34-Daroui-Mokaddem. (2012). Etude phtochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Mytaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus martimus* et *Chysanthemum trifurcatum* (Asterarceae). Thèse : Biochimie appliqué. Annaba : université Badji Mokhtar, 198p.

35-Debourgogne, A. (2013). Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse : Sciences de la Vie et de la Santé. Université de Lorraine, 204

36-Degryse A. C, Delpla I, et Voinier M.A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé et environnement-IGS-EHESP.P*

37-Delia, M et al., "Fusariosis in a Patient with Acute Myeloid Leukemia: A Case Report and Review of the Literature," *Mycopathologia*, vol. 181, no. 5–6, pp. 457–463, Jun. 2016.

38-Djarri.L. (2011). Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des Apiaceae *Daucus reboudii* Coss. ex Batt. & Trab., *Kundmannia sicula* (L) DC., et *Elaeoselinum thapsioides* Maire. Thèse de doctorat en Phytochimie. Université : Mentouri de Constantine. 267p.

E

39-Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med.* 64: 711–713.

40-El-Mansouri, Kh. (2013). Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse : Faculté de médecine et de pharmacie. Marrakech : Université Cadi Ayyad. 107p

41-European Scientific Cooperative On Phytotherapy. ESCOP Monographs Second Edition. Second Edition 2009. ESCOP, 2009.

G

42-Garnero M, J. (1977). Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles in Parfumes cosmétiques, arômes .14, p :31-40.

43- Grysole J. (2004) : La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 139-141.

44-Guiraud J.P. (1996). Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, p 9 - 320.

45-Guiraud,J. (2012). Microbiologie alimentaire. Paris: Dunod. 651p.

46-Gupta, C et al. (2016). Genotyping and In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium* Isolates from Onychomycosis in India. *Mycopathologia*, vol. 181, no. 7–8, pp. 497–504.

H

47-Hadjadji, A. et Chemlel M. (2018). Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Phytopathologie et Phytopharmacie. Guelma; Université 8 Mai 1945, 79 p.

48-Hay, R, J. 2007. *Fusarium* infections of the skin, *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 20, no. 2, pp. 115–117.

49-He, D. et al.(2011). Pathogenic Spectrum of Fungal Keratitis and Specific Identification of *Fusarium solani*, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 52, no. 5, p. 2804.

50-HELLAL Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.

51-Henni, J.E.(1998). Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *F. oxysporum f.sp lycopersici*. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran. 171p

52-Hoog, S. Guarro, J. Géné, J et Figueras M. (1995) "Atlas of Clinical fungi v4.1.4

53-Hoog S, Guarro J, Gené J, Figueras M. (2001). Atlas of Clinical Fungi.

I

54-Ismaili, R. Lamiri, A et Moustaid, K. (2014). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines. *International Journal of Innovation and Scientific Research* (ISSN), vol 2351-8014. N°12, 499-505 PP.

K

55-Kermiche, N et Chougui, M (2014). Les activités antifongiques et antioxydantes des huiles essentielles d'*Artimisia herba alba* et *Eucalyptus globulus*. Mémoire : biologie et physiologie végétale. Constantine : université de Constantine 1, 74p.

56-Khodadad P-Kh. Razzaghi-Abyaneh, M , Halajian A.(2009).Acaricidal effect of Pelargonium roseum and Eucalyptus globules essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. *Veterinary Parasitology* 162 :346–349

57-Kossonou, Yk., Kouakou-Kouame, A. Koffi, A. C. Koffi, Y. M. Tra, B.F.H. Tano, K. (2019). Activité Antifongique *In Vitro* des Extraits de Cinq Plantes Locales sur *Colletotrichum Higginsianum*, *Fusarium Oxysporum* et Rhizopus Stolonifer, Agents Pathogènes de la Papaye (*Carica Papaya L.*) et de la Tomate (*Solanum Lycopersicum L.*). *European Scientific Journal March*, Vol 15. N°9, 304-321

58-Komi, A. (1993). Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp vasinfectum* (ATK) SN. Et H : agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier 2. Sciences et techniques du Languedoc.

59-Koziol, N. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Mémoire En Vue de l'Obtention le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie : Pharmacie. Lorraine : Université de Lorraine ,127 P.

L

- 60-Laib,I. (2011). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire : Technologie alimentaire. Constantine : Université Mentouri ,94 p.
- 61-Lamamra M. (2010) : Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula (L.)* Parl. et de *Filipendulahexapeiala* Gibb. Mémoire de Magister. Département de Biologie. Faculté des Sciences. UFA de Sétif. P 107.
- 62-Larbi, S et Rabah, S. (2014). Etude de l'efficacité des huiles essentielles de *Curcuma longa* comme un biopesticide cas antifongique. Mémoire : Agroforesterie. Telemcen : Abou Bekr Belkaïd, 60p.
- 63-Le Fteuter, N. (2006). Evaluation du MAF-Test pour la détection de la sensibilité de *Candida* aux antifongiques. Mémoire: faculté de pharmacie. France: université de Nantes, 157p
- 64-Lynch,DR. Kawchuk,LM. Chen,Q. Kokko, M. (2003). Resistance to *Fusarium sambucinum* in wild and cultivated *Solanum* species. *Am. J. Potato Res.*, 80: 353-358.

M

- 65-Makhloufi A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments : Université de Tlemcen. P 64, 65, 66, 67, 74.
- 66-Mayer F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite, Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université de lorraine. p11, 25, 26, 27
- 67-Moderres, F.et aichouni, C. (2018). Etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. récoltée dans deux régions mekhatria et bathia. Mémoire de master : département des sciences agronomiques, Djilali Bounama, Khmis Miliana : 29 p.
- 68-Mokkadem. (1999). Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Revue Vie et Nature* n° 7, 24-26.
- 69-Moreau, B. (2003) _ maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

70-Mouas, Y., Benrebiha, F.Z. Chaouia, Ch. (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du *Romarin rosmarinus officinalis*. L. Agro biologica, 7(1), 363-370

N

71-Nakamura, Y et al., "Deep cutaneous infection by *Fusarium solani* in a healthy child: Successful treatment with local heat therapy," J. Am. Acad. Dermatol., vol. 56, no. 5, pp. 873–877, May 2007.

72-Nedjai, I et Nedjai, S. (2017). Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire: écologie microbienne. Bejaia: Université A. Mira. 64p

73-Nucci M, Anaissie E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 2007;20:695—704.

74-Nucci, S. Nouér, D. Capone, E. Anaissie, and M. Nucci, "Fusariosis," Semin. Respir. Crit. Care Med., vol. 36, no. 05, pp. 706–714, Sep. 2015.

O

75-Opdyke D.L.J.(2002).Eucalyptus oil .P107.E

P

76-Pai, R. Bloor, K. Shreevidya, and D. Shenoy, "Fusarium solani: An Emerging Fungus in Chronic Diabetic Ulcer. (2010). *J. Lab. Physicians*, vol. 2, no. 1, pp. 37–39.

77-Paris M.et Hurabielle M. (1981): Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339.

78-Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA. (2003). Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and E-test methods: report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program. *J Clin Microbiol*; 41:1440-6

79-Pibiri M.C. (2006) : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat n°3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.

80-Pitt, J.I., Hocking, A.D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B.F.Wheeler K.A., Tanboon-Ek P. The normal 245 mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities. (1994). 246 *Int. J. Food Micro-biol.*, Volume 23, pages 35-53.

81-Pitt J.I., Basílico J.C., Abarca M.L ET Lopez C. (2000).- Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology, Purchase*. 38, 41–46.

S

- 82-Serghat, S. , Mouria, A. Ouazzani Touhami, A. Douira, A. Badoc, A. (2004). Effet de quelques fongicides sur le développement in vitro de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 143, 7-18
- 83-Svoboda, K.P. et Svoboda T.G. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants : a Review and atlas of micrographs. Powis : Micrpscopix Publications.
- 84-Swathi, K, J. Sowjanya, Narendra ,K.M.. Et Satya, A. K. (2013). Bioactivity Assay of an Isolated Marine *Fusarium* sps. Int. J. Bio-Sci. Bio-Technol., vol. 5, no. 5, pp. 179–186.

T

- 85-Tachefine, A. (2013). Etude des activités antibactérienne et antifongique de l’Huile essentielle du Thym (*Thymus vulgaris*). Mémoire : Microbiologie-Bactériologie. Blida : Université Saad Dahleb, 52p.
- 86-Tabuc. N, (2007).Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.
- 87-Teresa Cutulia, M. Alicia Gibelloa. Antonio Rodriguez-Bertosb, M. Mar Blancaa, Morris Villarroelc, Alejandra Giraldo and Josep Guarrod. Skin and subcutaneous mycoses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) caused by *Fusarium oxysporum* in coinfection with *Aeromonas hydrophila*. (2015). Med.Mycol.Case Rep.12;9: 7-11.
- 88-Thomas, B. (2017). Etude épidémiologique des infections à *Fusarium* au CHRU de Nancy sur 10 ans et identification moléculaire d’espèces. Thèse pour le Diplôme D’étude en biologie médicale: faculté de pharmacie. France : Université de Lorraine, 110p.
- 89-Tello-Marquina, J.C. Et al. (1984). Observation de la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. Agronomie 4 (9) : 123-130
- 90-Tomimori-Yamashita J, Ogawa MM, Hirata SH, Fischman O, Michalany NS, Yamashita HK, et al. (2002). Mycetoma caused by *Fusarium solani* with osteolytic lesions on the hand: case report. Mycopathologia. 153 (1):11-4.
- 91-Treiner, J. (2000). Extrait du Bulletin officiel n°6 du 12 Aout 1999, France. 39-143
- 92-Tyagi, A. K., & Malik, A. (2012). Bactericidal action of lemon grass oil vapors and negative air ions. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 13, 169-177.

W

93-Wan J., Wilcock, A. and Oventry M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84 (2). 152–158.

94-Welsh, L. Vera-Cabrera, et E. Welsh, “Onychomycosis,” *Clin. Dermatol.*, vol. 28, no. 2, pp. 151–159, Mar. 2010.

95-Wheeler, M. R. McGinnis, W. A. Schell, and D. H. Walker, *Fusarium* infection in burned patients, *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 75, no. 3, pp. 304–311, Mar. 1981.

Z

96-Zhang N, O’Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, et al. (2006). Members of the *Fusarium solani* Species Complex That Cause Infections in Both Humans and Plants Are Common in the Environment. *Journal of Clinical Microbiology*. 44(6):2186-2190.

97-Zhiri A et Baudoux D. (2008).les huiles essentielles chémotyées :ISBN :2-919905-27-9 Edition Inspir Development. P7, P38

Références bibliographiques

A

- 1-Abbes, S. et al. (2012). Méthodes d'étude de la sensibilité in vitro de *Candida spp* aux antifongiques. *Annales biologie clinique*. 70 (6), 635-642
- 2-AFNOR. (2000). Recueil de normes : Les huiles essentielles Echantillonnage et méthodes d'analyses (Tome 1).Paris. 440p
- 3-Al-Bakkali, A. (2016). Activité antifongique in vitro de *Mentha pulegium* sur des souches de *Fusarium colmorum* et *Fusarium graminearum*. Mémoire : Faculté Des Sciences et Techniques FES. Algérie : Sidi Mohamed Ben Abdellah, 52p.
- 4-Al-Hatmi, A,M, S et al. .Keratitis by *Fusarium temperatum*, a novel opportunist. *BMC Infect. Dis*, vol. 14. 2014
- 5-Anaïssie E.J. Kantarjian H., Jones P., Barlogie B., Luna M., Lopez-Berenstein G., Bodey G.P. (1986). *Fusarium* a newly recognized fungal pathogen in immunosuppressed patients *Cancer*. 57, 2141-2145.
- 6-Anaïssie E. J., Bodey G.P., Rinaldi M.G. (1989). Emerging fungal pathogens. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis*. 8, 323-330.

B

- 7-Baid, S. (2018).Etude de l'effet d'hybridation interspécifique sur teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc par ACP. Mémoire de Master : Sciences et Techniques. Fès : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 30p
- 8-Baran, J. Faergemann, R. Hay.Superficial, J. white onychomycosis A syndrome with different fungal causes and paths of infection. *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 57, no. 5, pp. 879–882, Nov. 2007.
- 9-Bastides.F (2010). Zygomycoses, fusarioses, scédosporioses, trichosporonoses : les nouvelles mycoses émergentes. *Elsevier Masson SAS*, 19, 320-326
- 10-Batish D R, Pal Singh H, Kumar Kohli A , Shalinder Kaur S.(2008).Eucalyptus essential oil as a natural pesticide *Forest Ecology and Management* 256 :2166–2174
- 11-Bernard, T. (1988). Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. HAL[en ligne], 8, (3), (consulté le 06.04.2020) <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00885091/document>.
- 12-Benabdelkader T. (2012). Biodiversité, Bio activité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et Ecophysiologie Végétale de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et de l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France. P10 ,25

13-Bey Ould Si Said, Z. (2014). Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*. Mémoire : Alimentation et Technologie Alimentaire. Bejaïa : Université Abderrahmane Mira ,109 P.

14-Boiron, P. Généralités [en ligne]. (Consultée le 05.04.2020). https://coursexamens.org/images/Etudes_superieures/Pharmacie/4eme_annee/Parasitologie_mychologie/Cours_1/2/GENERALITE.pdf

15-Bonifaz, A et al., "Mycetoma: Experience of 482 Cases in a Single Center in Mexico," PLoS Negl. Trop. Dis., vol. 8, no. 8, Aug. 2014.

16-Bouacha, H., Khafrabi, N., Seghairia, D.(2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans*. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Parasitologie. Guelma : Université 8 Mai 1945, 99 P.

17-Boudjehem, W. (2019). Etude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles pour le contrôle des agents phytopathogènes. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Phytopharmacie et protection des végétaux. Guelma : Université 8 Mai 1945 Guelma, 84 p.

18-Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse : chimie. Alger : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 176

19-Branger,A. et al. (2007). Alimentation et contrôle microbiologiques : champignons et mycètes : *educagri*. 203p

20-Brigitte, M (2019). Fiche technique culture ornementales en serre, Fusariose vasculaire [en ligne] (consultée le 16.02.2020). https://www.agrireseau.net/documents/Document_99524.pdf

21-Buronso A.M. (2008).Grand guide des huiles essentielles Santé Beauté et Bien Etre 23.7362.9 ISBN : 978-2-0123-7362-4.

C

22-Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N. Raul, F., (2001). Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Phamacol. Exp. Ther.* 298 (1): 197- 200.

23-Chabasse, D. et al. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Angers : Bioforma.161p

24-Chabbi, R. (2019). Cours méthodes physico-chimiques d'études des molécules biologiques : Techniques D'Extraction D'Espèces Chimiques Organiques.

25-Charouana, N. et al. (2018). Isolement, purification et identification des moisissures du champ à partir des céréales de Constantine (Blé dur, blé tendre et orge) et évaluation de l'effet

antagoniste des extraits des racines d'une plante endémique. Mémoire : Mycologie et Biotechnologie fongique. Constantine : université Mentouri, 81p.

26-Chemloul, F. (2014). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* de la région de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en Agronomie option amélioration végétale : Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : 35 p.

27-Chevalier, A. (1952) Travaux français sur le genre Eucalyptus. In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 32^e année, bulletin n°353-354. pp. 105-112.

28-Chibah, S. et al. (2018). Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'*Eucalyptus*, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire : chimie pharmaceutique. Ain Defla : Djilali Bounaama de khemis Miliana, 124p

29-Colette, K. (2004). Les plantes médicinales. ALS (séance du 25 Avril 2004). P58.

30-Cronquist A, (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia univ. Press. New York. 1262 P

31-Cuenca-Estrella M, Gomez-Lopez A, Mellado E, et al. (2005). Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four commercial techniques. *Clin Microbiol Infect*; 11: 486-92.

D

32-Dannaoui E. (2006). Intérêt des tests de sensibilité in vitro dans la prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives, Conférence de consensus commune SFAR, SPILF, SRLF. Prise en charge des candidoses et aspergilloses de l'adulte. Elsevier, 2004 : 52-59

33-Dannaoui, E. Mycologie: antifongogramme, méthodes et interprétation. Journée de Biologie Clinique, Paris: 18-20. Janvier 2016.

34-Daroui-Mokaddem. (2012). Etude phtochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Mytaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus martimus* et *Chysanthemum trifurcatum* (Asterarceae). Thèse : Biochimie appliqué. Annaba : université Badji Mokhtar, 198p.

35-Debourgogne, A. (2013). Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse : Sciences de la Vie et de la Santé. Université de Lorraine, 204

36-Degryse A. C, Delpla I, et voinier M.A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles .*Atelier santé et environnement-IGS-EHESP.P*

37-Delia, M et al., “Fusariosis in a Patient with Acute Myeloid Leukemia: A Case Report and Review of the Literature,” *Mycopathologia*, vol. 181, no. 5–6, pp. 457–463, Jun. 2016.

38-Djarri.L. (2011). Contribution a l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des apiaceae *Daucus reboudii* Coss. ex Batt. & Trab., *Kundmannia sicula* (L) DC., et *Elaeoselinum thapsioides* Maire. Thèse de doctorat en Phytochimie .Université : Mentouri de Constantine. 267p.

E

39-Eloff, J. N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Med.* 64: 711–713.

40-El-Mansouri, Kh. (2013). Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse : Faculté de médecine et de pharmacie. Marrakech : Université Cadi Ayyad. 107p

41-European Scientific Cooperative On Phytotherapy. ESCOP Monographs Second Edition. Second Edition 2009. ESCOP, 2009.

G

42-Garnero M, J. (1977). Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles in Parfumes cosmétiques, arômes .14, p :31-40.

43- Grysole J. (2004) : La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. P 139-141.

44-Guiraud J.P. (1996). Microbiologie alimentaire. (Ed) Dunod. Paris, p 9 - 320.

45-Guiraud,J. (2012). Microbiologie alimentaire. Paris: Dunod. 651p.

46-Gupta, C et al. (2016). Genotyping and In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium* Isolates from Onychomycosis in India. *Mycopathologia*, vol. 181, no. 7–8, pp. 497–504.

H

47-Hadjadji, A. et al. (2018). Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes. Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master : Phytopathologie et Phytopharmacie. Guelma; Université 8 Mai 1945, 79 p.

48-Hay, R, J. 2007. *Fusarium* infections of the skin, *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 20, no. 2, pp. 115–117.

49-He, D. et al.(2011). Pathogenic Spectrum of Fungal Keratitis and Specific Identification of *Fusarium solani*, *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.*, vol. 52, no. 5, p. 2804.

50-HELLAL Z. 2011. Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.

51-Henni, J.E.(1998). Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *F. oxysporum f.sp lycopersici*. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran. 171p

52-Hoog, S. Guarro, J. Géné, J et Figueras M. (1995) "Atlas of Clinical fungi v4.1.4

53-Hoog S, Guarro J, Géné J, Figueras M. (2001). Atlas of Clinical Fungi.

I

54-Ismaili, R. Lamiri, A et Moustaid, K. (2014). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques marocaines. *International Journal of Innovation and Scientific Research* (ISSN), vol 2351-8014. N°12, 499-505 PP.

K

55-Kermiche, N et Chougui, M (2014). Les activités antifongiques et antioxydantes des huiles essentielles d'*Artimisia herba alba* et *Eucalyptus globulus*. Mémoire : biologie et physiologie végétale. Constantine : université de Constantine 1, 74p.

56-Khodadad P-Kh. Razzaghi-Abyaneh, M , Halajian A.(2009).Acaricidal effect of Pelargonium roseum and Eucalyptus globules essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. *Veterinary Parasitology* 162 :346–349

57-Kossonou, Yk. Et al. (2019). Activité Antifongique *In Vitro* des Extraits de Cinq Plantes Locales sur *Colletotrichum Higginsianum*, *Fusarium Oxysporum* et Rhizopus Stolonifer, Agents Pathogènes de la Papaye (*Carica Papaya L.*) et de la Tomate (*Solanum Lycopersicum L.*). *European Scientific Journal March*, Vol 15. N°9, 304-321

58-Komi, A. (1993). Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp vasinfectum* (ATK) SN. Et H : agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier 2. Sciences et techniques du Languedoc.

59-Koziol, N. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Mémoire En Vue de l'Obtention le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie : Pharmacie. Lorraine : Université de Lorraine ,127 P.

L

60-Laib,I. (2011). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire : Technologie alimentaire. Constantine : Université Mentouri ,94 p.

61-Lamamra M. (2010) : Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarrasicula (L.)* Parl. et de *Filipendulahexapeiala* Gibb. Mémoire de Magister. Département de Biologie. Faculté des Sciences. UFA de Sétif. P 107.

62-Larbi, S et Rabah, S. (2014). Etude de l'efficacité des huiles essentielles de *Curcuma longa* comme un biopesticide cas antifongique. Mémoire : Agroforesterie. Telemcen : Abou Bekr Belkaïd, 60p.

63-Le Fteuter, N. (2006). Evaluation du MAF-Test pour la détection de la sensibilité de *Candida* aux antifongiques. Mémoire: faculté de pharmacie. France: université de Nantes, 157p

64-Lynch,DR. Kawchuk,LM. Chen,Q. Kokko, M. (2003). Resistance to *Fusarium sambucinum* in wild and cultivated *Solanum* species. *Am. J. Potato Res.*, 80: 353-358.

M

65-Makhloufi A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments : Université de Tlemcen. P 64, 65, 66, 67, 74.

66-Mayer F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite, Thèse de doctorat en Pharmacie. France : Université de lorraine. p11, 25, 26, 27

67-Moderres, F.et aichouni, C. (2018). Etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia L.* récoltée dans deux régions mekhatria et bathia. Mémoire de master : département des sciences agronomiques, Djilali Bounama, Khmis Miliana : 29 p.

68-Mokkadem. (1999). Cause de dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. *Revue Vie et Nature* n° 7, 24-26.

69-Moreau, B. (2003) _ maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.

70-Mouas, Y. et al (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du *Rosmarin rosmarinus officinalis. L.* *Agro biologica*, 7(1), 363-370

N

71-Nakamura, Y et al., "Deep cutaneous infection by *Fusarium solani* in a healthy child: Successful treatment with local heat therapy," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 56, no. 5, pp. 873–877, May 2007.

72-Nedjai, I et Nedjai, S. (2017). Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire: écologie microbienne. Bejaia: Université A. Mira. 64p

73-Nucci M, Anaissie E. Fusarium infections in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 2007;20:695—704.

74-Nucci, S. Nouér, D. Capone, E. Anaissie, and M. Nucci, “Fusariosis,” Semin. Respir. Crit. Care Med., vol. 36, no. 05, pp. 706–714, Sep. 2015.

O

75-Opdyke D.L.J.(2002).Eucalyptus oil .P107.E

P

76-Pai, R. Bolor, K. Shreevidya, and D. Shenoy, “Fusarium solani: An Emerging Fungus in Chronic Diabetic Ulcer. (2010). *J. Lab. Physicians*, vol. 2, no. 1, pp. 37–39.

77-Paris M.et Hurabielle M. (1981): Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339.

78-Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA. (2003). Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and E-test methods: report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program. *J Clin Microbiol*; 41:1440-6

79-Pibiri M.C. (2006) : Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat n°3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.

80-Pitt, J.I., Hocking, A.D., Bhudhasamai, K., Miscamble, B.F.Wheeler K.A., Tanboon-Ek P. The normal 245 mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, small grains and other commodities. (1994). 246 *Int. J. Food Micro-biol.*, Volume 23, pages 35-53.

81-Pitt J.I., Basílico J.C., Abarca M.L ET Lopez C. (2000).- Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical Mycology, Purchase*. 38, 41–46.

S

82-Serghat, S. et al. (2004). Effet de quelques fongicides sur le développement in vitro de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae* Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 143, 7-18

83-Si Mohammed, A. étude de la compatibilité végétative chez des populations de *F. oxysporum* isolées dans l'ouest Algérien. [Mémoire en ligne]. (Consultée le 28.02.2020) <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH3265.pdf>

84-Svoboda, K.P. et Svoboda T.G. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants : a Review and atlas of micrographs. Powis : Micrpscopix Publications.

85-Swathi, K, J. Sowjanya, Narendra ,K.M.. Et Satya, A. K. (2013). Bioactivity Assay of an Isolated Marine *Fusarium sps.* *Int. J. Bio-Sci. Bio-Technol.*, vol. 5, no. 5, pp. 179–186.

T

86-Tachefine, A. (2013). Etude des activités antibactérienne et antifongique de l’Huile essentielle du Thym (*Thymus vulgaris*). Mémoire : Microbiologie-Bactériologie. Blida : Université Saad Dahleb, 52p.

87-Tabuc. N, (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de doctorat. UPSP de Mycotoxicologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.

88-Teresa Cutulia, M. Alicia Gibelloa. Antonio Rodriguez-Bertosb, M. Mar Blancoa, Morris Villarroelc, Alejandra Giraldo and Josep Guarrod. Skin and subcutaneous mycoses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) caused by *Fusarium oxysporum* in coinfection with *Aeromonas hydrophila*. (2015). *Med.Mycol.Case Rep.*12;9: 7-11.

89-Thomas, B. (2017). Etude épidémiologique des infections à *Fusarium* au CHRU de Nancy sur 10 ans et identification moléculaire d’espèces. Thèse pour le Diplôme D’étude en biologie médicale: faculté de pharmacie. France : Université de Lorraine, 110p.

90-Tello-Marquina, J.C. Et al. (1984). Observation de la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie* 4 (9) : 123-130

91-Tomimori-Yamashita J, Ogawa MM, Hirata SH, Fischman O, Michalany NS, Yamashita HK, et al. (2002). Mycetoma caused by *Fusarium solani* with osteolytic lesions on the hand: case report. *Mycopathologia*. 153 (1):11-4.

92-Treiner, J. (2000). Extrait du Bulletin officiel n°6 du 12 Aout 1999, France. 39-143

93-Tyagi, A. K., & Malik, A. (2012). Bactericidal action of lemon grass oil vapors and negative air ions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13, 169-177.

W

94-Wan J., Wilcock, A. and Oventry M. J. (1998). The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, 84 (2). 152–158.

95-Welsh, L. Vera-Cabrera, et E. Welsh, “Onychomycosis,” *Clin. Dermatol.*, vol. 28, no. 2, pp. 151–159, Mar. 2010.

96-Wheeler, M. R. McGinnis, W. A. Schell, and D. H. Walker, *Fusarium* infection in burned patients, *Am. J. Clin. Pathol.*, vol. 75, no. 3, pp. 304–311, Mar. 1981.

Z

97-Zhang N, O'Donnell K, Sutton DA, Nalim FA, Summerbell RC, Padhye AA, et al. (2006). Members of the *Fusarium solani* Species Complex That Cause Infections in Both Humans and Plants Are Common in the Environment. *Journal of Clinical Microbiology*. 44(6):2186-2190.

98-Zhiri A et Baudoux D. (2008).les huiles essentielles chémotyées :ISBN :2-919905-27-9 Edition Inspir Development. P7, P38

Annexe

Les milieux de culture

PDA (Potatos Dextrose Agar)

Eau distillée.....	1000ml;
Filtrat de pomme de terre.....	200g;
D-Glucose.....	20g;
Agar.....	20g.

pH= 4.5

Milieu Sabouraud

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

pH= 6.3

Eau physiologie

Eau distillée.....	1000ml;
NaCl.....	9g.

Résumés

Résumé

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante en substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels. Les propriétés thérapeutiques de ces plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés dont les huiles essentielles. Dans le but de rechercher des molécules naturelles à effet fongicide, ce travail prospectif a porté sur l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'eucalyptus vis-à-vis de deux espèces de *Fusarium* incriminées aussi bien dans les infections humaines que dans les maladies cryptogamiques. Il s'agit des espèces *F. oxysporum* et *F. solani*. Nous mettons en exergue et à la disposition du lecteur (les étudiants, en l'occurrence) les principales techniques et les étapes à suivre pour mettre en évidence l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis des espèces sus nommées. Ce travail n'ayant jamais été rapporté par la littérature.

Mots-clé : *Eucalyptus globulus* ; Activité antifongique ; Huile essentielle ; *Fusarium oxysporum* ; *Fusarium solani*.

ملخص

تشكل النباتات العطرية والطبية ثراءً طبيعياً هاماً للغاية في المواد السامة للفطريات والتي يمكن أن تكون حلاً بديلاً للأدوية الحالية. تعتمد الخصائص العلاجية لهذه النباتات على وجود عوامل نشطة بيولوجيا مختلفة بما في ذلك الزيوت الأساسية. من أجل البحث عن الجزيئات الطبيعية ذات التأثير الفطري ، ركز هذا العمل المرتقب على دراسة النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري للأوكالبتوس مقابل نوعين من الفيوزاريوم الذين تم تجريمهم أيضاً في الالتهابات البشرية من الأمراض المشفرة. هذه هي الأنواع *F. solani* و *F. oxysporum*. نلقي الضوء على التقنيات والخطوات الرئيسية التي تتبعها للقارئ (الطلاب ، في هذه الحالة) التي يجب اتباعها لإبراز النشاط المضاد للفطريات للزيت العطري لنبات الأوكالبتوس الكروي مقابل الأنواع المذكورة أعلاه. لم يتم الإبلاغ عن هذا العمل في الأدب.

الكلمات المفتاحية: *Eucalyptus globulus*; نشاط مضاد للفطريات; زيت أساسي *Fusarium solani*;
Fusarium oxysporum ;

Abstract

Aromatic and medicinal plants constitute a very important natural wealth of fungitoxic substances that can be an alternative solution to current medicines. The therapeutic properties of these plants depend on the presence of various bioactive agents including essential oils. In order to search for natural molecules with fungicidal effect, this prospective work focused on the study of the antifungal activity of the essential oil of eucalyptus vis-à-vis two species of *Fusarium* incriminated in human infections as well as in cryptogamic diseases. These are the species *F. oxysporum* and *F. solani*. We highlight and make available to the reader (the students, in this case) the main techniques and steps to follow to highlight the antifungal activity of the essential oil of *Eucalyptus globulus* against the above-mentioned species. This work has never been reported in the literature.

Keywords : *Eucalyptus globulus* ; Activité antifongique ; Huile essentielle ; *Fusarium oxysporum* ; *Fusarium solani*.

MATOUGUI Manel

BENZAGOUTA Djihad

Date de soutenance : 28/ 06 /2020

Intitulé:

**Évaluation de l'activité antifongique
de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis de
Fusarium spp. d'intérêt médical: Etude prospective.**

*Master en Biotechnologie
Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique*

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une richesse naturelle très importante en substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels. Les propriétés thérapeutiques de ces plantes dépendent de la présence d'agents bioactifs variés dont les huiles essentielles. Dans le but de rechercher des molécules naturelles à effet fongicide, ce travail prospectif a porté sur l'étude de l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'eucalyptus vis-à-vis de deux espèces de *Fusarium* incriminées aussi bien dans les infections humaines que dans les maladies cryptogamiques. Il s'agit des espèces *F. oxysporum* et *F. solani*. Nous mettons en exergue et à la disposition du lecteur (les étudiants, en l'occurrence) les principales techniques et les étapes à suivre pour mettre en évidence l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis des espèces sus nommées. Ce travail n'ayant jamais été rapporté par la littérature.

Mots clés : *Eucalyptus globulus* ; Activité antifongique ; Huile essentielle ; *Fusarium oxysporum* ;
Fusarium solani.

Président du jury : Mme ALATOU Radia (M.C.A. - UFM Constantine 1).

Rapporteur : Mme MIHOUBI Ilhem (Professeur - UFM Constantine 1).

Examinatrice : Mme GHORRI Sana (M.C B. - UFM Constantine 1).