

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie.

كلية علوم الطبيعة والحياة
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

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus limon* et *Citrus sinensis* sur le dermatophyte: *Microsporum canis*

Présenté par : IDIOU Nissa Dikra
BOUHADJIRA Ines

Le 26/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadrante: Melle. BELMESSIKH A. M. A. A. - UFM Constantine 1.
Examinatrice 1: Melle. ABDELAZIZ O. M. C. B. - UFM Constantine 1.
Examinatrice 2: Mme. MERGOUD L. M. A. A.- UFM Constantine 1.

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

D'abord, nous sincères remerciements vont en lieu à Dieu, le tous puissant, le tout miséricordieux pour nous avoir guidé vers la connaissance et le savoir par sa grâce on a réussi à mener bien ce travail.

Ensuite nous adressons nos plus vifs remerciements

A notre encadrant Aicha BELMESIKH; M. A. A. - UFM Constantine 1 ; pour sa disponibilité, ses précieux conseils, sa douceur et sa gentillesse.

Aux examinatrices, Mme Ouided Abdelaziz ; Chef de Département de la Microbiologie, Faculté SNV et M. C. B. UFM Constantine 1 ; et également à Mme Lilia MERGOUD, M. A. A. - UFM Constantine 1 ; d'accepter l'évaluation de ce modeste travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Un grand merci au docteur Nabil BOUDERSSA ; chef de labo de la biochimie pour tous ses conseils et sa serviabilité.

Nous tenons aussi à exprimer nos remerciements à toutes les techniciennes du laboratoire de Microbiologie RDC, Samira, Hanen et Soumia pour leur gentillesse et leur disponibilité permanente,

A toutes l'équipe du laboratoire de parasitologie de CHU Constantine.

A l'ensemble de nos enseignants de la promotion.

En fin, merci à tous ceux qui ont rendu possible ce travail de près ou de loin.

Dédicace

Avec un grand respect, et avec toute l'ardeur de mes sentiments, je dédie mon travail à:

Mes parents

Ma chère mère **ATIKA BENZERNADJI** et mon adorable père **MOUHAMED SALAH**.

Pour leurs soutiens inconditionnels et leur amour grâce auquel, j'ai eu la chance de réaliser mes études, chacun de leur manière.

Mes chers Frères et Sœurs:

ZINA, MOUNA, ABD RAHIM et ISLEM pour leur appui et encouragement.

A toutes les familles **IDIOU** et **BENZERNADJI**

Chacun a son nom.

A ma chère grand-mère **AYCHA IDIOU** qui ne m'oublie pas toujours par ses prières, que Dieu nous la protège.

A mes grands-pères **Salah Benzernadji** et **Ahmed Idiou**, ma grande mère **Yamina Deghbal** et Mes oncles **Yousef** et **Abd Elwahab** Allah yerhamhom.

A mes précieux oncles et tantes.

A tous mes amis de près ou de loin surtout:

Malak, Rania, Nour et Yousef.

A mon adorable binôme **Ines.**

A tous mes chères cousins et cousines **Rania**, Nouha, **Lamis**, Massi, Chaima, Rawen, Balkis, Berdis, Lina, Nada que je l'adore.

Merci d'être toujours là pour moi.

NISSA DIKRA

Dédicace

C'est avec une grande joie, que j'exprime ma gratitude et mes sentiments les plus nobles en dédiant ce travail à : **Mes très chers parents** pour le soutien.

Je remercie mon père «MESSAOUD BOUHADJIRA» rabi yerhmou nchllh,

Pour ses encouragements qu'ils m'ont apporté durant mes années d'études et dès mon premier jour d'école, il était très ravi et espérait être présent aujourd'hui, mais le destin est plus fort, j'espère que tu es fier de moi papa l3ziz !!!

Ma très chère mère BELMOKRE SOUMEYA, tu as toujours été pour moi un exemple de la mère respectueuse, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer la femme que tu es. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployé pour mon éducation et ma formation.

Mes chères sœurs : BOUCHRA RAZAN, ALAA et ASSALA

Tous mes amis qui ont rendu ma vie agréable et pleine de bons souvenirs ABIR , NARDJESSE , NESRINE et bien sur mon meilleur binôme **NISSA** ,Merci pour tous les bonsmoments qu'on a partagé.

Sans oublier **tous les professeurs** que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Toute la promo de Mycologie et Biotechnologie Fongique

2021-2022

INES BOUHADJIRA

Résumé

Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux fruits d'agrumes de la famille *Rutacées*: *Citrus sinensis* et *Citrus limon* récoltés en Algérie, vis-à-vis une souche fongique dermatophyte : *Microsporum canis*. Les deux huiles essentielles étudiées sont extraites par Hydrodistillation de type Clevenger à partir de zeste de citron et d'orange qui sont considérées comme les fruits les plus consommés en Algérie.

Ce modeste travail met entre les mains du lecteur, une étude simple qui traite à la fois l'évaluation de quelques indices physicochimiques de ces huiles essentielles, et ainsi leur activité antifongique sur la dermatophyte ciblée *Microsporum canis* par 3 méthodes différentes (incorporation dans la gélose, diffusion sur gélose par puits et par disques). Les résultats obtenus nous mènent à confirmer que la relation entre la concentration des HE des agrumes et leur efficacité contre la souche de *Microsporum canis* est une relation directe proportionnelle et que l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) ayant une forte efficacité et une bonne activité antifongique contre la *Microsporum canis* par rapport l'huile essentielle d'orange (*Citrus sinensis*).

Par conséquent, les huiles essentielles des agrumes peuvent aider à traiter ou on peut dire limiter l'effet de quelques dermatophytes (*Microsporum canis*) de la vie de tous les jours par leur action antifongique dans les différents secteurs.

Mots-clés:

Activité antifongique, *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, Huiles essentielles, Hydrodistillation, *Microsporum canis*.

الملخص

يركز هذا العمل على دراسة الفعالية المضادة للفطريات للزيوت الأساسية لفاكهة حمضيات من عائلة *Citrus Rutaceae* *sinensis* و *Citrus limon* المقطوعان في الجزائر ، ضد السلالة الفطرية *Microsporume canis* تم استخلاص الزيتين الأساسيين المدروسين عن طريق التقطير المائي من نوع Clevenger من قشر الليمون والبرتقال والتي تعتبر من أكثر الفواكه استهلاكاً في الجزائر.

يضع هذا العمل المتواضع بين يدي القارئ ، دراسة بسيطة تتناول كلاً من تقييم بعض المؤشرات الفيزيائية والكيميائية لهذه الزيوت الأساسية ، وبالتالي نشاطها المضاد للفطريات على الفطريات الجلدية المستهدفة *Microsporume canis* بثلاث طرق مختلفة (التضمين في الأجار ، الانتشار على أجار بواسطة الأبار والأقراص). النتائج التي تم الحصول عليها تقودنا إلى تأكيد أن العلاقة بين تركيز الزيوت الأساسية في ثمار الحمضيات وفعاليتها ضد سلالة *Microsporume canis* هي علاقة تناسبية مباشرة وأن زيت الليمون الأساسي (*Citrus limon*) له فعالية عالية ومضاد جيد للفطريات. النشاط ضد *Microsporume canis* مقارنة بالزيت العطري للبرتقال (*Citrus sinensis*)

لذلك ، يمكن أن تساعد الزيوت الأساسية من الحمضيات في العلاج أو يمكننا أن نقول الحد من تأثير بعض الفطريات الجلدية (*Microsporume canis*) في الحياة اليومية من خلال عملها المضاد للفطريات في مناطق مختلفة.

الكلمات الدالة:

نشاط مضاد للفطريات ، ليمون حمضيات ، حمضيات سينينسيس ، زيوت عطرية ، التقطير المائي ، *Microsporume canis*

ABSTRACT

This work focuses on the study of the antifungal activity of essential oils of two citrus fruits of the *Rutaceae* family: *Citrus sinensis* and *Citrus limon* harvested in Algeria, against a dermatophyte fungal strain: *Microsporum canis*. The two essential oils studied are extracted by Clevenger-type hydrodistillation from lemon and orange zest which are considered to be the most consumed fruits in Algeria.

This modest work puts in the hands of the reader, a simple study which deals with both the evaluation of some physicochemical indices of these essential oils, and thus their antifungal activity on the targeted dermatophyte *Microsporum canis* by 3 different methods (incorporation into the agar, diffusion on agar by wells and by discs). The results obtained lead us to confirm that the relationship between the concentration of essential oils in citrus fruits and their effectiveness against the strain of *Microsporum canis* is a direct proportional relationship and that lemon essential oil (*Citrus limon*) having a high efficacy and a good antifungal activity against *Microsporum canis* compared to essential oil of orange (*Citrus sinensis*).

Therefore, citrus essential oils can help to treat or we can say limit the effect of some dermatophytes (*Microsporum canis*) of everyday life by their antifungal action in different areas.

Key words:

Antifungal activity, *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, Essential oils, Hydrodistillation, *Microsporum canis*.

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Les dermatophytes

1	Définitions.....	3
	Les dermatophytes.....	3
	Les dermatophytose.....	3
2	Histoire de classification des dermatophytes	4
3	Classification actuelle	5
	Le genre <i>Microsporum</i>	5
	Le genre <i>Trichophyton</i>	5
	Le genre <i>Epidermophyton</i>	5
4	Groupements écologiques et sources d'infection.....	6
	Les dermatophytes géophiles	6
	Les dermatophytes zoophiliques	6
	Les dermatophytes anthropophiles.....	6
5	Taxinomie	8
6	Morphologie	8
	Le genre <i>Epidermophyton</i>	8
	Le genre <i>Microsporum</i>	9
	Le genre <i>Trichophyton</i>	9
7	Facteurs favorisants.....	10
	Facteurs liés à l'hôte.....	10
	Facteurs liés à l'environnement.....	11
8	Pathogénie	11
	Mode de végétation sur la peau.....	11

	Mode de végétation dans l'ongle	11
--	--	-----------

Chapitre2 : Les huiles Essentielles

1	Définitions	12
2	Rôle des huiles essentielles	12
3	Localisation	12
4	Choix du processus d'extraction	13
5	Quelques méthodes d'extraction	13
	Par Hydrodistillation.....	13
	Extraction par les solvants	13
	L'enfleurage	14
	Entrainement à la vapeur d'eau	14
	Extraction assistées par les micro-ondes	15
6	Domaines d'utilisation.....	15
7	Composition chimique	16

Chapitre3 : Les agrumes

1	Généralités sur les agrumes	17
2	Production des agrumes	18
	Mondiale	18
	En Algérie.....	18
3	L'usage multiple d'agrumes	20
4	Systématique (classification botanique).....	20
5	Classification agronomique	20

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1	Matériel végétal.....	23
	Citron	23
	Orange	23
2	Préparation des zestes.....	24
3	Préparation des extraits	24

4	Conservation des huiles essentielles.....	25
5	Détermination de rendement en huile essentielle.....	25
6	Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles	26
6-1	pH.....	26
	L'indice d'acide (IA)	26
	Densité relative	27
7	La chromatographie sur couche mince (CCM).....	28
8	Etude de L'activité antifongique	31
	La souche testée et le milieu utilisé.....	31
	Préparation de la suspension fongique	31
	Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique.....	33
	Par l'incorporation à la gélose.....	33
	Technique de l'Aromatogramme (DDM)	34
	Diffusion en gélose par puits.....	36

Résultats et discussion

1	Rendement de l'huile essentielle	38
2	Teneur et propriétés organoleptiques	38
3	Caractéristique physicochimique des huiles essentielles étudiées	39
3-1	pH	39
3-2	L'indice d'acide	40
4	Analyse par la chromatographie sur couche mince (CCM).....	41
5	Activité antifongique.....	45
	Par la méthode de l'incorporation	45
	Méthode de diffusion en gélose par puits	49
	Technique de l'Aromatogramme (DDM)	51
	Conclusion	54
	Références bibliographiques	56

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

°C : degré Celsius.

AFEP: Association Française des Entreprises Privées.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

CCM: Chromatographie sur couche mince.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nation.

g : gramme.

HE: Huile essentielle.

IA: Indice d'acide.

KMnO₄: permanganate de potassium

KOH: hydroxyde de potassium.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

PDA: Potatos Dextrose Agar.

pH: Potentiel hydrogène.

R%: le rendement des huiles essentielles en pourcentage.

RF: rapport frontal

Liste des figures

Figure 1: Macroconidies des dermatophytes (Dvorac et al., 1969)	25
Figure 2: Morphologie des Conidies des dermatophytes du genre <i>Microsporum</i> (Delorme et al., 1997).....	25
Figure 3 : Dermatophytes du genre <i>Trychophyton</i> (Delorme et al., 1997)	26
Figure 4: Montage d'entrainement à la vapeur d'eau (Lemesle, 2012)	31
Figure 5: Schéma représentant les principaux composants des HE (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).....	32
Figure 6: Coupe transversale d'une orange (Bousbi, 2011).....	34
Figure 7: Production des agrumes en Algérie de l'année 2018 (MADR, 2018).....	35
Figure 8: Citron (<i>Citrus Limon</i>)	40
Figure 9: Orange (<i>Citrus sinensis</i>)	41
Figure 10: L'appareil de clevenger utilisé rempli par le zeste et l'eau distillée.....	42
Figure 11: Photo de l'huile essentielle pure d'orange et de citron	42
Figure 12: pH mètre de la marque «HANNA»	43
Figure 13: Résultat obtenus pour HE de citron	44
Figure 14: Résultat obtenus pour HE d'orange.....	44
Figure 15: Huiles essentielles commerciales « citron et orange ».....	45
Figure 16: Dépôts des échantillons à l'aide d'une pipette Pasteur.....	46
Figure 17: Position de la plaque CCM dans la cuve	46
Figure 18: La révélation par la solution de permanganate de potassium.....	47
Figure 19: Plaque à UV 254 nm de la marque CAUTION	47
Figure 20: Tube d'un dermatophyte « <i>Microsporum canis</i> » cultivé sur la gélose de Sabouraud Agar contenant du chloramphénicol, provient du laboratoire de parasitologie CHU de Constantine	48
Figure 21: Le dermatophyte « <i>Microsporum canis</i> » cultivé sur la gélose de Sabouraud après repiquage.....	49
Figure 22: La préparation de la suspension fongique	49
Figure 23: Spectrophotomètre de la marque «SHIMADZU»	50
Figure 24: Réalisation de l'incorporation.....	51
Figure 25: Réalisation des disques	52
Figure 26: Réalisation des puits	53
Figure 27: La valeur de pH d'HE de citron affichée sur le pH mètre.....	56

Figure 28: La valeur de pH d'HE d'orange affichée sur le pH mètre	56
Figure 29: Nombre des taches pour chaque huile essentielle	60
Figure 30: Plaque CCM des huiles essentielles extraits (orange/citron) et des huiles essentielles commerciales sous une lampe UV	60
Figure 31: Chromatogramme de nos huiles essentielles et commerciales d'agrumes après révélation avec le $KMNO_4$	61
Figure 32: Chromatogramme des huiles essentielles et commerciales d'agrumes après révélation avec le $KMNO_4$ (Didi et Yakoubi, 2021).....	61
Figure 33: Témoin de la souche pour la méthode d'incorporation sur le PDA et le Sabouraud	63
Figure 34: L'incorporation avec l'huile de citron sur milieu Sabouraud.....	63
Figure 35: L'incorporation avec l'huile de citron sur milieu PDA	64
Figure 36: L'incorporation avec l'huile d'orange sur milieu PDA.....	65
Figure 37: L'incorporation avec l'huile d'orange sur milieu Sabouraud	65
Figure 38: Témoin pour les tests de diffusion en gélose par puits et aussi par disques	66
Figure 39: Résultat obtenu pour le citron après 24h	66
Figure 40: Résultat obtenu pour l'orange après 24h.....	67
Figure 41: Résultat obtenu pour le citron	68
Figure 42: Résultat obtenu pour l'orange.....	69

Liste des tableaux

Tableau 1: Principales espèces de dermatophytes et leur habitat d'origine préférentiel.....	23
Tableau 2: Différentes espèces de dermatophytes pathogènes (Ajello, 1980)	27
Tableau 3: Production des agrumes en Algérie de 2010 à 2020 en 1000 tonnes métriques (STATISTA, 2022)	35
Tableau 4 : Les différents groupes d'agrumes du point de vue agronomique et leurs caractères (Dugo et Di giacomo, 2002)	37
Tableau 5: Rendement des huiles essentielles d'agrumes.....	55
Tableau 6: Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'agrumes.....	55
Tableau 7: Le PH des huiles essentielles d'agrumes	56
Tableau 8: Les valeurs d'indice d'acide des huiles essentielles d'agrumes	57
Tableau 9 : La densité des huiles essentielles	58
Tableau 10: Rapports frontaux des taches migrées sur la plaque CCM pour chaque huile essentielle.....	59
Tableau 11: Rapports frontaux des taches avant et après la révélation par MNO4	62
Tableau 12: La zone de croissance dans la présence de l'huile essentielle de citron..... ?.....	64
Tableau 13: la zone de croissance de la souche en présence de l'huile essentielle d'orange	65
Tableau 14: Effets des huiles essentielles extraites sur la souche fongique dermatophyte par la méthode de diffusion en gélose par puits.....	67
Tableau 15: Effets des huiles essentielles extraites sur la souche antifongique par le teste de l'Aromatogramme (DDM)	69

Introduction

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux kératinophiles, appartenant, d'après la classification la plus largement utilisée aux trois genres anamorphiques : *Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton*. Ces agents pathogènes présentent une affinité pour la kératine, expliquant l'atteinte préférentielle de l'épiderme ou des phanères.

Selon la Pharmacopée européenne, une huile essentielle définit comme un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie grâce aux plusieurs méthodes d'extractions. Cette matière peut être l'agrume qui est un terme collectif désignant d'une part les arbres qui portent des fruits tels que les oranges, les mandarines, les citrons, les pomelos, les kumquats, c'est-à-dire essentiellement les arbres appartenant au genre *Citrus*, et d'autre part les fruits de ces mêmes arbres.

Dans ce sens, notre recherche vise à étudier l'activité antifongique de deux huiles essentielles appartenant au genre *Citrus* (*Citrus Limon* et *Citrus Sinensis*) vis-à-vis d'un dermatophyte pathogène (*Microsporum canis*), pour ce faire, on a souligné les objectifs suivants :

- Extraction des huiles essentielles du citron et d'orange à partir de la méthode de l'hydro-distillation.
- Etude de quelques caractéristiques physicochimiques de ces extraits.
- Repiquage de la souche « *Microsporum canis* » sur un milieu Sabouraud.
- Utilisation de trois méthodes principales (l'incorporation, la diffusion en gélose par puits et par disques) pour étudier l'activité antifongique des HE contre le « *Microsporum canis* ».

De manière générale, notre travail présenté dans ce manuscrit est réparti en 2 grandes parties :

Partie 1: Consiste en une étude bibliographique et elle est scindée en 3 chapitres:

- Le 1^{er} chapitre: fournit un aperçu détaillé des actualités historiques, taxonomiques et morphologiques des dermatophytes.
- Le 2^{ème} chapitre: s'inscrit dans la thématique de l'extraction des huiles essentielles à partir d'écorce d'agrumes par plusieurs procédures d'extractions qui sont utilisées depuis des années.

-Dans le 3ème chapitre nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur les agrumes où nous apportons le genre de ces plantes sélectionnées: *Citrus Limon* et *Citrus Sinensis*.

Partie 2: Une partie expérimentale comporte 2 chapitres, le premier est consacré à la présentation du matériel utilisé et des méthodes suivies pour la réalisation de notre travail et le deuxième chapitre comprend tous les résultats obtenus.

Partie

bibliographique

1- Définitions

Les dermatophytes

Les dermatophytes sont des champignons microscopiques, organismes eucaryotes pourvus d'un noyau, entouré d'une enveloppe nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole (**ANOFEL, 2002**), ils appartiennent à la classe des Ascomycètes ce qui suppose une reproduction sexuée par l'intermédiaire de spores, à la famille des *Arthrodermataceae* et à l'ordre des *Onygenales* et au genre des *Arthroderma* (**Chabasse, 2007**).

Selon **Maillet et Lemullois (2006)**, ces champignons filamenteux ubiquistes sont hétérotrophes, aérobies et immobiles, ils se nourrissent par absorption de matières organiques par l'utilisation du carbone et ils se reproduisent par l'intermédiaire de spores.

Les dermatophytes appartenant aux genres *Trichophyton*, *Microsporum*, et *Epidermophyton*. Bien adaptés à la vie parasitaire, ils présentent une affinité très forte pour la kératine de la couche cornée de la peau et des phanères, déterminant ainsi chez l'homme et chez l'animal différentes lésions cutanées appelées dermatophytoses ou dermatophyties (**Chabasse et Contet-Audonneau, 2011**).

D'après **Vroey (1985)** ce groupe de moisissures sont morphologiquement et physiologiquement apparentées dont certaines sont responsables de mycoses superficielles:

- Des épidermomycoses de la peau glabre
- Des teignes du cuir chevelu et des poils
- Des atteintes unguéales ou onyxis

Ces infections engendrent des réactions de la part de l'hôte qui sont très variables (discrètes ou sévères) selon l'espèce parasitaire, la localisation anatomique des lésions, les facteurs intrinsèques à l'hôte et l'environnement (**Chabasse et Guiguen, 1999**).

Ils peuvent également être responsables de manifestations allergiques (**Koenig, 1995**) et enfin exceptionnellement, envahir les tissus profonds.

Les dermatophytose

Les dermatophytoses sont des mycoses fongiques superficielles ou des affections cutanéomuqueuses causées le plus souvent par des dermatophytes (Parfois appelée dermatophytose ou tinea chez les anglo-saxons) (**Amari, 2015**).

Ces mycoses sont à l'origine de lésions cutanées rondes superficielles (*tinea corporis*, *tinea corporis* ou *tinea corporis*), de *tinea corporis* des mains, notamment des pieds (*tinea corporis*) et de *tinea corporis* (*tinea corporis*). Ces lésions sont discrètes ou hautement

Inflammatoires selon qu'il s'agit de dermatophytes adaptés à l'homme et du statut immunitaire de l'hôte. Certains dermatophytes sont des parasites de l'homme comme *Trichophyton rubrum* ou des animaux comme *Microsporum canis*. D'autres espèces sont des parasites occasionnels du sol comme *Microsporum gypseum*, et enfin d'autres espèces de tellure ne sont que des plantes saprophytes du sol comme *Trichophyton ajelloi* (**Christian, 2013**).

2- Histoire de classification des dermatophytes

Les Dermatophytes ont été décrits comme l'un des premiers micro-organismes à être des agents pathogènes des lésions cutanées alors des lésions cutanées observées à l'époque chez l'homme et l'animal (**Gruby, 1841**).

D'après **Seeliger (1985)**, entre 1840 et 1875, cinq des principales espèces connues aujourd'hui, à savoir *Microsporum audouinii*, *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton schoenleinii*, *T. tonsurans* et *T. mentagrophytes*, avaient déjà été décrits. Il convient de mentionner que la première classification des dermatophytes a été établie plusieurs décennies avant que Louis Pasteur ne mette au point la méthode d'obtenir des cultures pures, ce qui indique l'importance de l'observation de la dermatomycose à l'époque était importante.

Entre 1870 et 1920 en utilisant la méthodologie de Sabouraud comme norme, seize autres espèces de dermatophytes ont été identifiées, principalement associées à des infections humaines (**Sabouraud, 1910**).

En 1930, une classification botanique (basée sur l'observation microscopique des cultures) a été proposée par Langeron médecin et mycologue français, avec Milochevitch. Cette hétérogénéité de caractère a été ensuite modifiée par Vanbreuseghem et six genres sélectionnés : *Epidermophyton*, *Keratinomyces*, *Langeronia*, *Sabouraudites* ou *Microsporum*, *Trichophyton*, et *Ctenomyces* mais en 1934, Emmons publie la troisième grande classification couramment utilisée dans tout le monde anglo-saxon (**Badillet, 1991**), reposant sur les caractères parasitaires (type d'invasion pileaire) et sur les caractères culturels des dermatophytes, les genres *Ctenomyces* et *Keratinomyces* précédemment cités ont été rattachés au genre *Trichophyton* (**Chabasse et al., 2008**).

Les concepts génériques sont restés confus, ce qui a conduit à des changements de noms répétés avec un total de 350 noms vers l'année 1950. Par la suite, la nomenclature des anamorphes s'est stabilisée grâce à la large acceptation d'*Epidermophyton*, *Microsporum* et *Trichophyton* comme genres couvrant tous les dermatophytes (**De Hoog et al., 2017**).

3-Classification actuelle

La classification actuellement utilisée est la classification d'Emmons en 1934, elle reconnaît trois genres :

- Le genre *Microsporum*
- Le genre *Trichophyton*
- Le genre *Epidermophyton*

Les formes parfaites (ou formes sexuées) des espèces de *Microsporum* font partie du genre *Nannizzia*, celles des espèces de *Trichophyton*, du genre *Arthroderma*. Pour *Epidermophyton sp.*, la forme parfaite n'est pas connue (**Koenig ,1995**).

Le genre *Microsporum*

Il regroupe une dizaine d'espèces dont cinq en pratique métropolitaine peuvent être retrouvée chez l'homme (*Microsporum canis*, *M. audouinii var langeroni*, *M. persicolor*, *M. praecox*, *M. gypseum*). Le parasitisme pileaire est de type microsporique. Au niveau microscopique, on note la présence de macroconidies fusiformes à paroi verruqueuse ou échinulée, et de microconidies le plus souvent piriformes, mais parfois rondes (**Chabasse et al., 2004**), il parasite la peau et les cheveux, attaque rarement les ongles.

Le genre *Trichophyton*

Dont est issue la majorité des dermatophytes (plus d'une vingtaine d'espèces répertoriées). En pratique, une dizaine d'espèces seulement, peuvent parasiter la peau et les phanères de l'homme. Ces espèces attaquent la peau, les ongles, les poils et les cheveux. Sur le plan taxinomique, le genre *Trichophyton* se définit par la présence de macroconidies à paroi lisse, et de microconidies rondes ou piriformes selon les espèces (**Chabasse et al., 2004**).

Le genre *Epidermophyton*

Ce genre ne contient qu'une seule espèce, *Epidermophyton floccosum*, (**Chabasse et al., 2004**) qui se caractérise par l'absence de microconidies et la présence de macroconidies (ou grappes de bananier) à paroi mince en forme de palette. Ce type parasite uniquement la peau, il n'attaque pas les cheveux ni les poils, et attaque rarement les angles (**Chabasse et al., 2008**).

4-Groupements écologiques et sources d'infection

Les dermatophytes ont été divisés en trois groupes écologiques : géophiles, zoophiles et anthropophiles. Il est probable que certains de ces champignons pathogènes, à partir de leur habitat naturel dans le sol, ont développé une spécificité d'hôte, ce qui a donné lieu à ces trois groupes (**Georg, 1959**).

Les dermatophytes géophiles

Ils sont principalement associés aux substances kératiniques telles que les poils, les plumes, les sabots et les cornes après leur dissociation et leur décomposition à partir d'animaux vivants. Elles peuvent provoquer des infections chez les humains et les animaux (**Chmel, 1980**).

Il s'agit de : *Microsporum gypseum*, *Trichophyton ajelloi* et *Trichophyton terrestre*

Les dermatophytes zoophiliques

Les zoophiles sont essentiellement des agents pathogènes animaux, bien qu'ils puissent provoquer des infections chez l'homme par contact direct avec le pelage des animaux malades ou porteurs sains, ou indirect par les poils parasités de l'animal laissés notamment *Microsporum canis* à l'origine de petites épidémies autolimitées dans les écoles (**Subelj et al., 2014**).

D'après **Contet-Audonneau et Leyer (2010)**

- *Microsporum canis*, transmis le plus souvent par le chat, mais aussi par le chien, le lapin
- *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*, transmis par le cheval, la souris, le hérisson, le hamster...
- *Trichophyton mentagrophytes* var. *porcellae*, transmis par le cochon d'Inde
- *Microsporum persicolor*, qui parasite spécifiquement les rongeurs tels que la souris.
- *Trichophyton gallinae* retrouvé chez les Gallinacés (poule, dindon, faisan, ...).

Les dermatophytes anthropophiles

Les dermatophytes anthropophiles sont des parasites obligatoires, leurs distribution d'affinité humaine est internationale et la contamination est toujours interpersonnelle et limitée à l'homme. Les infections provenant de ces espèces sont généralement bien tolérées et moins enflammées, mais sont chroniques et peuvent évoluer en épidémie. Les infections animales

de ces espèces sont difficilement transmissibles aux animaux (zoonoses inversées rares), mais ils sont possibles (**Moriello et DeBoer, 1991**).

On retrouve principalement :

- *Trichophyton rubrum*,
- *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*,
- *Trichophyton violaceum*, *T. tonsurans*, *T. soudanense*, *T. schoenleinii*
- *Microsporum audouinii*,
- *Epidermophyton floccosum*

Tableau 1: Principales espèces de dermatophytes et leur habitat d'origine préférentiel
(**Danis et al., 2007**).

Espèces anthropophiles	Espèces anthropophiles
Genre <i>Microsporum</i>	<i>M. audouinii</i>
Genre <i>Trichophyton</i>	<i>T. tonsurans</i>
	<i>T. violaceum</i>
	<i>T. soudanense</i>
	<i>T. rubrum</i>
	<i>T. mentagrophytes</i>
	<i>T. interdigitale</i>
	<i>T. schoenleinii</i>
Genre <i>Epidermophyton</i>	<i>E. floccosum</i>
Espèces zoophiles	Espèces zoophiles
Genre <i>Microsporum</i>	<i>M. canis</i> (chien, chat...)
	<i>M. persicolor</i> (rongeurs sauvages)

	<i>M. praecox</i> (cheval)
Genre <i>Trichophyton</i>	<i>T. mentagrophytes</i> (lapin, hamster, cochon d'Inde...) <i>T. verrucosum</i> (bovins) <i>T. erinacei</i> (hérisson) <i>T. gallinae</i> (volailles)
Espèces telluriques	Espèces telluriques
Genre <i>Microsporum</i>	<i>M. gypseum</i>
Genre <i>Trichophyton</i>	<i>T. mentagrophytes</i> <i>T. terrestre</i> <i>T. ajelloi</i>

5-Taxinomie

Les dermatophytes appartiennent à la classe des *Ascomycètes*, à l'ordre des *Onygnéales*, de la famille des *Arthrodermataceae* (**Christian, 2013**) et au genre *Arthroderma*.

Ils sont alors classés dans le Phylum des Deutéromycètes (ou *Fungi imperfecti*, les champignons imparfaits) et la classe des *Hyphomycètes* (**Chabasse et al., 2004**).

6-Morphologie

Le genre *Epidermophyton*

Dans le genre *Epidermophyton*, seules les macroconidies (**Figure 1**) sont présentes (20-35 x 6-8 µm) en forme de massues, à paroi et cloisons minces, elles sont disposées en bouquet.

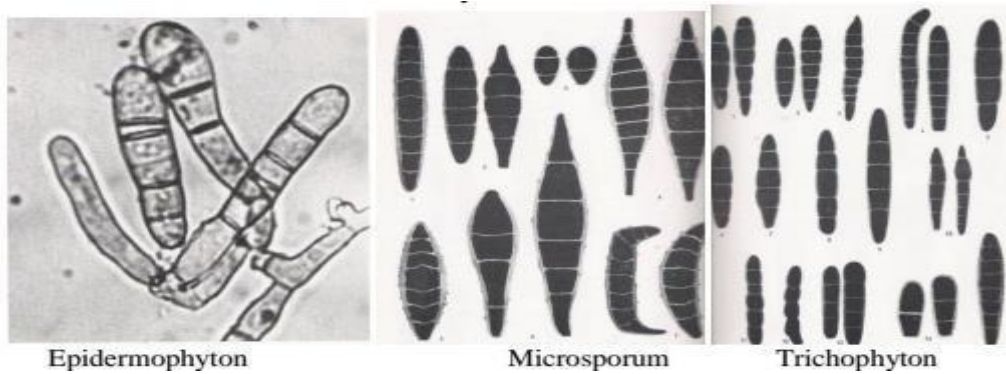
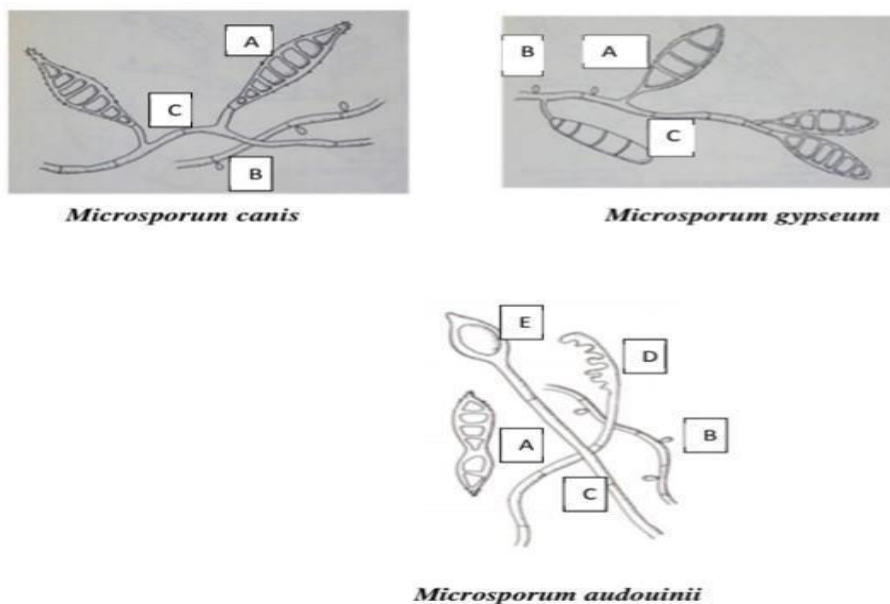


Figure 1: Macroconidies des dermatophytes (Dvorac et al., 1969).

Le genre *Microsporium*

Selon **Feuilhade (2005)**, dans le genre *Microsporium*, il existe la plupart du temps, des macroconidies fusiformes à paroi épaisse et rugueuse, de grande taille (40 à 160 μm sur 8 à 20 μm) et des microconidies pyriformes (parfois rondes).



A : Macroconidie.

B : Microconidie.

C : Mycelium septé.

D : Mycélium pectiné.

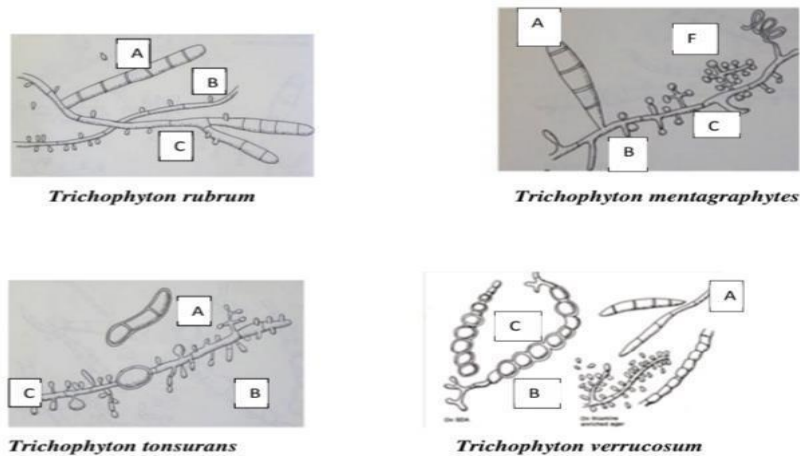
E : Chlamydospore terminale.

Figure 2: Morphologie des Conidies des dermatophytes du genre *Microsporium* (Delorme et al., 1997).

6- 3 Le genre *Trichophyton*

Le genre *Trichophyton* regroupe des espèces très différentes. Certaines (*T. verrucosum*, *T. schoenleinii*, *T. violaceum*) donnent rarement des spores. D'autres, donnent des macroconidies à paroi et cloisons minces et lisses, de petite taille (10 à 50 μm sur 3 à 6 μm) et des

microconidies rondes ou piriformes (*T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*) (Delorme et al., 1997).



A: Macroconidie.

B: Microconidie.

C: Myceliumsepté.

F: Vrille

E: Chlamydospore terminale.

Figure 3 : Dermatophytes du genre Trychophyton (Delorme et al., 1997).

7-Facteurs favorisants

L'apparition de la dermatophytose, est liée à un ordre physiologique ou pathologique pour certains, mais le plus souvent liée au mode de vie (profession, habitudes vestimentaires, loisirs...) (Bioforma, 2004).

Facteurs liés à l'hôte

-Facteurs immunologiques

Comme l'immunosuppression liée au SIDA, une corticothérapie, un traitement immunosuppresseur, ou une chimiothérapie, un diabète, etc (Chabasse et al., 1999). Le mode de vie peut aussi influencer ces infections comme la pratique de certains sports (par exemple : «des pieds d'athlète» à *Trichophyton tonsurans* sont fréquentes chez les judokas et les maîtres-nageurs) (Chabasse et al., 1999).

-Facteurs hormonaux

On observe la guérison de la plupart des teignes à la puberté. (Christian, 2013) avec une prédominance de l'atteinte masculine (Naamoune et Berkat, 2020).

Facteurs liés à l'environnement

Les facteurs climatiques, locaux et généraux tels que la chaleur et l'humidité sont favorables à la croissance dermatophytique (**Koenig, 1995**), ainsi que la macération favorisent les dermatophytoses (plis inguinaux, espaces interdigitaux plantaires).

8-Pathogénie

Mode de végétation sur la peau

Selon **Hammadi (2007)**, la peau sans poils est affectée par la pénétration de dermatophytes, qui peuvent produire des enzymes lytiques, dans l'épiderme (stratum corneum). Sa progression s'arrête au niveau du coller du bulbe pileux sans kératine et forme une ligne appelée (Frange d' Adamson).

Mode de végétation dans l'ongle

L'invasion dermatophytique débute le plus souvent au niveau de l'hyponychium et de la couche cornée du lit unguéal. La pénétration est favorable dans les ongles déjà malades : l'infiltration se fait progressivement de la partie distale vers la partie proximale (**Koenig, 1995**).

Tableau 2: Différentes espèces de dermatophytes pathogènes (**Ajello, 1977**).

<i>Epidermophyton</i>	<i>Microsporum</i>	<i>Tricophyton</i>
<i>E.floccosum</i>	<i>M.audouinii</i>	<i>T.concentricum</i>
	<i>M.canis</i>	<i>T.equinum</i>
	<i>M.cookei</i>	<i>T.gourvilii</i>
	<i>M.distortum</i>	<i>T.megninii</i>
	<i>M.equinum</i>	<i>T.mentagrophytes</i>
	<i>M.ferrugineum</i>	<i>T.rubrum</i>
	<i>M.fulvum</i>	<i>T.schoenleinii</i>
	<i>M.gallinou</i>	<i>T.simii</i>
	<i>M.gypseum</i>	<i>T.tonsurans</i>
	<i>M.nanum</i>	<i>T.verrucosum</i>
	<i>M.persicolor</i>	<i>T.violaceum</i>
	<i>M.praecox</i>	<i>T.yaoundei</i>
	<i>M.racemosm</i>	
	<i>M.ranbreuseghemii</i>	

1-Définitions

De nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. Les huiles essentielles « HE » ou "essences", doivent leur nom à leur inflammabilité (**Bernard et al., 1988**).

Une huile essentielle est un produit huileux de composition complexe de métabolites secondaires volatils (**Kalemba et Kunicka, 2003**). Elles sont des substances volatiles incolores ou légèrement teintées, désignées par le terme «essence» obtenues par hydrodistillation à la vapeur d'eau, par expression mécanique, incision ou par enfleurage de végétaux aromatiques, hautement volatiles, marqués par une forte odeur qu'est à l'origine des parfums (**Budavari et al., 1996 ; AFNOR, 2000 ; Benyad, 2008**).

2-Rôle des huiles essentielles

La fonction exacte des huiles essentielles pour les plantes est encore mal connue mais elle semble jouer un rôle important dans son adaptation à l'environnement (**Dorosso, 2002 ; De Sousa, 2012**).

Dans le côté aromatique, l'odeur des essences a la capacité d'interférer avec le processus de pollinisation, et il permet également aux plantes de se protéger des agressions extérieures grâce aux propriétés attractives ou répulsives des prédateurs (herbivores, insectes, etc.) (**Guignard, 2000**). En outre, le pouvoir antiseptique des huiles essentielles peut protéger les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et champignons et les virus du sol (**Kaloustian et Hadji 2012**). Enfin, les essences sont capables de protéger les plantes de la lumière soit par diminution soit par concentration (**Small et Catling, 2000**).

Selon **Chemloul (2013)**, l'utilité des huiles essentielles pour les plantes du désert est liée au maintien de l'eau, indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques ont la propriété de saturer l'air autour de la plante, l'empêchant de devenir insupportable le jour et excessif la nuit. De plus, les huiles essentielles fournissent une source d'énergie et favorisent certaines réactions chimiques par exemple l'activité photosynthétique (**Figueredo, 2007**).

3-Localisation

Selon (**El kalamouni, 2010**), les huiles essentielles peuvent être obtenues à partir de divers organes dans la plante:

- Les fruits, (fenouil, anis, épicarpes des Citrus....)
- Les graines, (noix de muscade, coriandre.....)
- Le bois et les écorces, (cannelle, santal, bois de rose.....)

- . Les fleurs (oranger, rose, lavande; le bouton floral (girofle)....)
- Les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, Laurier, sauge, aiguilles de pin, sapin...)
- Les organes souterrains, (racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)....)

Mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres (**Burt, 2004**).

La synthèse des essences est l'accumulation de ces huiles qui sont classées comme des métabolites secondaires, et se produisent généralement au niveau de structures histologiques particulières que l'on trouve couramment à la surface des plantes (**Trad, 2020**).

4- Choix du processus d'extraction

D'après **Fernandez et Cabrol (2007)**, la variété et la complexité des huiles essentielles rend le choix du procédé d'extraction très précis. La méthode choisie ne doit pas faire la distinction entre les composés polaires et non polaires et ne doit pas provoquer ou entraîner de réactions biochimiques, de pyrolyse, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changements de pH, perte de composés volatils.

5- Quelques méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction et pour chaque méthode de nombreuses variantes mais les plus utilisées sont:

Par Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode traditionnelle d'élimination des huiles essentielles est l'une des méthodes les plus anciennes et les plus faciles (**Meyer-Warnod et al., 1984**).

Elle est utilisée pour isoler les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales. Les huiles essentielles sont évaporées par chauffage d'un mélange d'eau ou d'un autre solvant et de matières végétales, suivi de la liquéfaction des vapeurs dans un condenseur. L'installation comprend également un condenseur et un décanteur pour recueillir le condensat et séparer les huiles essentielles de l'eau, respectivement. Le principe d'extraction est basé ici sur la distillation isotrope (**Hesham et al., 2016**).

Extraction par les solvants

L'extraction par solvant peut être utilisée pour extraire les huiles essentielles qui sont thermiquement labiles (par exemple, celles des fleurs). Au cours de cette méthode la matière végétale est placée dans un bain de solvant qui la dissout. Après l'extraction, le mélange

liquide qui contient l'huile essentielle (ainsi que d'autres composés) passe par un processus de filtration et une distillation ultérieure (**Stratakos et Koidis, 2016**).

Les solvants qui sont couramment utilisés pour l'extraction sont l'alcool, l'hexane, l'éthanol, l'éther de pétrole et le méthanol. Le principal avantage de l'extraction par rapport à la distillation est qu'une température plus basse est utilisée au cours du processus, ce qui réduit le risque de modifications chimiques dues à des températures élevées, qui sont souvent à l'origine de problèmes de santé. L'extraction par solvant est peu coûteuse et relativement rapide et utilisée beaucoup plus par l'industrie de la parfumerie (**Stratakos et Koidis, 2016**).

L'enfleurage

L'enfleurage est une autre méthode d'extraction conventionnelle. Elle a été utilisée principalement pour l'extraction d'huiles essentielles de fleurs (par exemple: le jasmin). Au cours de cette méthode, une graisse froide inodore et purifiée est étalée sur le matériel végétal. Les odeurs sont dégagées par les fleurs et sont donc dissoutes dans la graisse. Les nouvelles fleurs remplacent les anciennes et le processus est répété pendant de très longues périodes jusqu'à ce que la graisse soit saturée. Ensuite, la graisse est recueillie et extraite avec de l'alcool. Par rapport aux normes actuelles, il s'agit d'une méthode longue, laborieuse et coûteuse (**Stratakos et Koidis, 2016**).

Entraînement à la vapeur d'eau

La proportion des différentes huiles essentielles extraites par distillation à la vapeur est de 93 % et les 7% restants sont extraits par les autres méthodes (**Masango, 2001**).

C'est une méthode simple, facile qui nécessite l'eau, chaleur et un alambic avec un résultat super. L'alambic en général est une cuve métallique inerte telles que le cuivre ou l'acier inoxydable avec un tamis au fond pour garder les plantes hors de contact directe avec l'eau. La vapeur générée traverse le végétal et arrache par les gouttelettes d'huile essentielle. Cette vapeur chargée est refroidie dans un serpentin par un circuit d'eau froide, retourne à l'état liquide pour se séparer dans l'essencier ou vase florentin. L'HE est hydrophobe et souvent moins dense que l'eau, flotte dans la majorité des cas à sa surface et est recueillie après décantation, grâce à un vase florentin ou essencier (**Baudoux et al., 2012**).

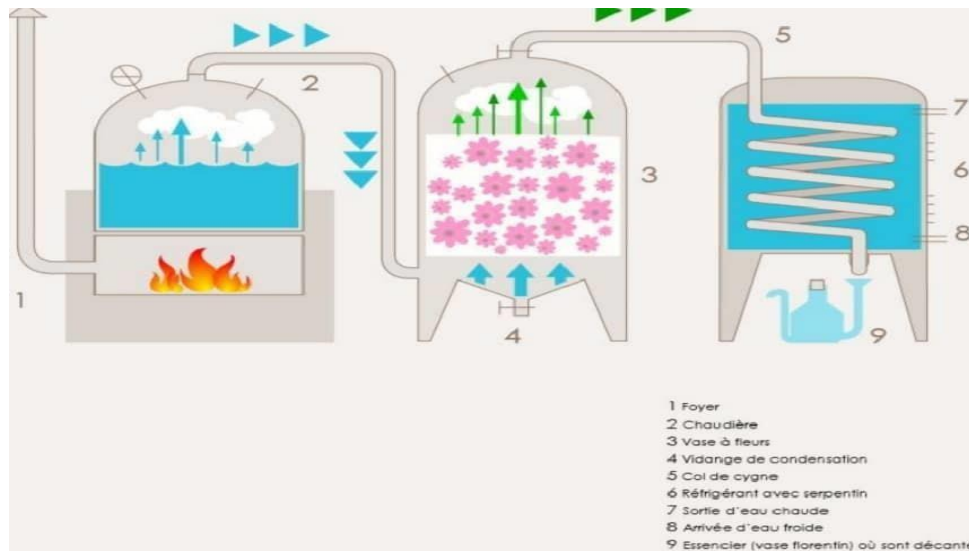


Figure 1: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Lemesle, 2012).

Extraction assistées par les micro-ondes

L'utilisation des micro-ondes pour l'obtention des huiles essentielles est une méthode décrite au début des années 1990. Alors c'est une hydrodistillation par les micro-ondes, sous vide. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant; les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formé à partir de l'eau contenue dans le végétal (Piochon, 2008).

Pour l'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Mais elle fait aujourd'hui l'objet aussi de beaucoup d'études parce qu'elle présente beaucoup d'autres avantages: technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (Boukhatem et al., 2019).

6- Domaines d'utilisation

Plus de 200 huiles essentielles sont couramment utilisées en cosmétique, pharmacie, savonnerie, agro-alimentaire et biologie (Entomologie, Microbiologie, etc.) (Morris et al., 1972).

Elles sont consommées depuis longtemps en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc. (Seu-Saberno et Blakeway, 1984).

Récemment, le marché des fabricants d'huiles essentielles s'est élargi en raison de l'utilisation accrue en aromathérapie. Et bien qu'il existe de nombreuses plantes et utilisations

traditionnelles de leur préparation pour repousser les insectes et ravageurs (**Isman et al., 2011**).

7-Composition chimique

Selon **Kaloustian et Hadji-Minaglou (2012)**, la figure 6 illustre quelques composants des HE sont divisés en 3 grands groupes à partir de 3 voies de biosynthèse différentes:

- . Les terpénoïdes
- . Les dérivés du phénylpropane
- . Les composés divers

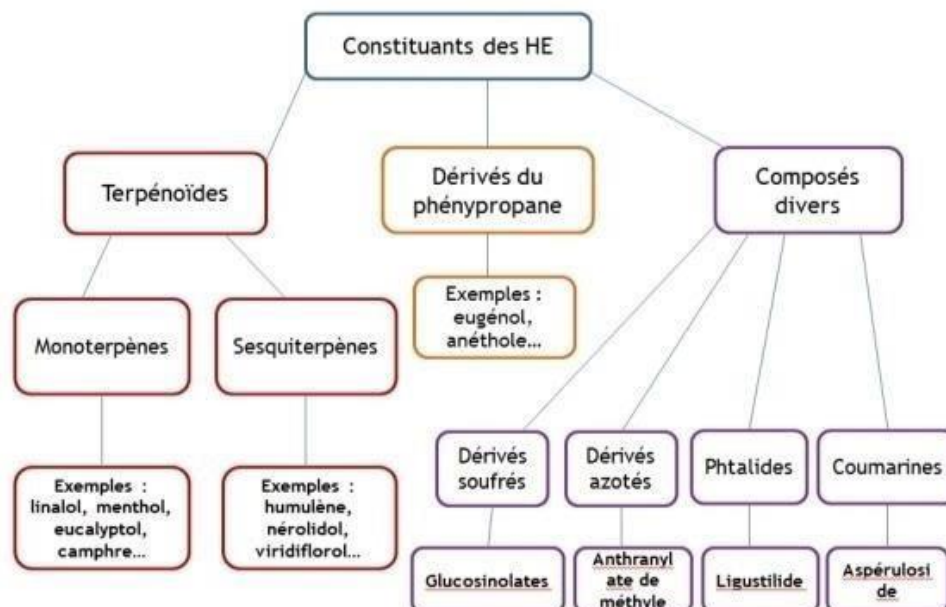


Figure 2: Schéma représentant les principaux composants des HE (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

Selon **Benzeggouta (2004)**, le groupe des terpénoïdes (les plus volatils, ou de faible poids moléculaire), notamment les monoterpènes : Cinéole, menthol et des sesquiterpènes, caryophyllène, humulène, et des diterpènes peuvent également exister, etc.

Un groupe de composés aromatiques : Sont dérivés moins courants du phénylpropane, tels que le saffrole, l'apiolène, l'ansaldéhyde, l'eugénol, la vanilline, le cinnamaldéhyde. Ils peuvent également contenir une variété de produits résultant de processus de décomposition qui comprennent des composants non volatils (contribuant souvent aux arômes de fruits)

1- Généralités sur les agrumes

Agrumes dans les pays méditerranéens, citrus dans les pays anglo-saxons, et d'après **Barrère (1950)**, ces mots désignent une famille d'arbre fruitier à feuilles persistantes, qui mûrissent leurs fruits en hiver et dont les plus connues sont l'oranger et le citronnier.

Le terme général agrumes dérivé de l'adjectif «aigre», il signifie simplement que l'on parle de fruits acides mais ce n'est pas toujours vrai car on trouve certaines variétés dénuées d'acidité (**Huet, 1991**).

Ils sont distingués par leur grande diversité (orange, mandarines, Thomson, clémentine, pomélos, citron, limes, pamplemousses, pour ne citer que les plus courants) avec une dominance dans le commerce international des fruits frais mais une part très importante de la consommation des citrus se fait sous la forme de confitures et de jus (**Robert, 1947**).

L'origine présumée est l'Asie du Sud-Est, des tropiques aux Subtropical du sud de la Chine au nord-est de l'Inde en passant par l'Australie (**Gmitter et Hu, 1990**). Cependant, l'origine géographique exacte des agrumes reste floue. On dit que les oranges sont originaires de Chine, le cédrat et le citron des Indes, puis grâce aux échanges commerciaux entre les pays elle s'est propagée au reste du monde.

Tous les fruits des citrus ont presque la même structure. La partie externe de l'écorce est appelée " flavédo " en raison de la présence de composés flavonoïdes on trouve également ici de nombreuses glandes à huile essentielle. Et pour la partie interne de l'écorce, l'albédo (nom qui vient du latin (albus = blanc).

Le flavédo et l'albédo forment tous deux l'écorce (**Figure 6**), qui est généralement la partie non comestible du fruit. La partie comestible est intégrée par les segments ou locules. Chaque locule est recouverte d'une membrane, légèrement grossière et couverte de faisceaux vasculaires qui transfèrent les nutriments pour la croissance du fruit (**Dugo et Di giacomo, 2002**).

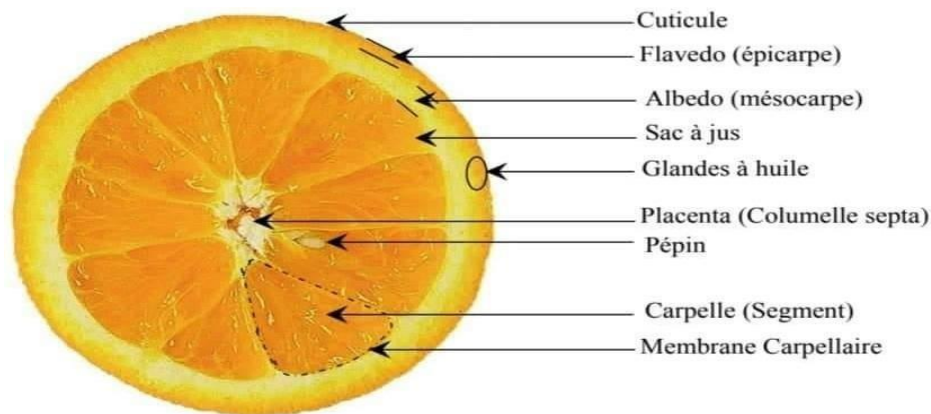


Figure 6: Coupe transversale d'une orange (**Bousbia, 2011**).

2-Production des agrumes

Mondiale

Les agrumes représentent la 5^{ème} fruit produit Au niveau mondial avec 75 millions de tonnes en 2020 (**Statista, 2020**), après la banane (119millions de tonnes), pastèque, pommes et raisin (respectivement 101, 86 et 78 millions de tonnes), la production totale d'agrumes augmente.

La moitié de la production mondiale est destinée à l'autoconsommation. Les principaux producteurs sont la Chine, le Brésil, les États-Unis, la Mexique, l'Inde et Espagne (**FAOSTAT, 2020**). La Floride et la région de Sao Paolo sont les deux régions les plus importantes de la production d'agrumes (principalement les oranges).

En Algérie

Les agrumes sont parmi les fruits les plus cultivées en Algérie. Ils sont d'excellente qualité et sont très appréciés pour leur valeur nutritionnelle et rafraichissante (**Issolah, 2019**).

Et selon une note d'**ITAFV** cité dans express dz la production totale des agrumes sont estimée annuellement à 13.417.540 quintaux avec un rendement moyen de 224 qx/ha.

Le verger agrumicole est constitué de tous les groupe Citrus avec une prédominance des oranges avec 73% de la surface totale suivis par des clémentiniers, des citronniers, des

mandariniers et en dernière place les pomelos avec des taux respectivement de 16%, 6,9%, 4% et 0,1% (**figure 7**).

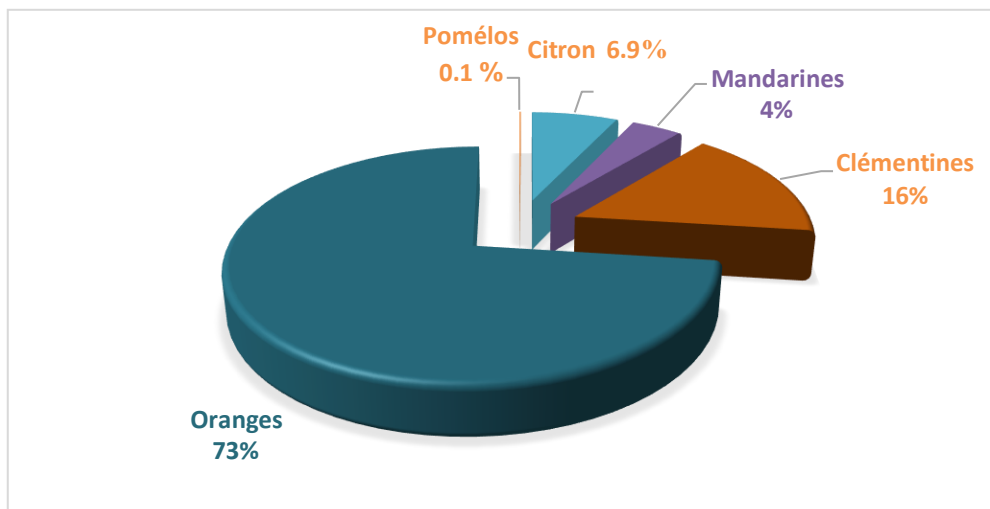


Figure 7: Production des agrumes en Algérie de l'année 2018 (MADR, 2018).

En 2020, la production totale d'agrumes algérienne a dépassé 1.56 million de tonnes métriques. A partir de 2010, la production d'agrumes du pays a généralement augmenté, à l'exception d'une baisse en 2012 et 2016. Une grande quantité d'agrumes est produite en Algérie pour la consommation intérieure et pour l'exportation (**Tableau 3**).

Tableau 1: Production des agrumes en Algérie de 2010 à 2020 en 1000 tonnes métriques (STATISTA, 2022).

Production (en 1000 tonnes métrique)	Année
788.61	2010
1,107.3	2011
1,088.38	2012
1,205.4	2013
1,271.56	2014
1,342.57	2015
1,203.8	2016
1,344.89	2017
1,478.05	2018
1,584.1	2019
1,564.92	2020

3-L'usage multiple d'agrumes

La consommation en Afrique est surtout sous la forme des fruits frais tels que les oranges et les mandarines. Parallèlement L'industrie du jus accompagnée des différents processus de transformation constitue un débouché en extension constante. La confiture, la confiserie et les concentrés offrent d'autres sources d'utilisation des jus.

Au niveau de sous-produits, on peut citer l'extraction des huiles de graines de l'industrie chimique (extraction de pectines, d'acide citrique) et de l'alimentation du bétail (**Parfonry, 2001**).

4-Systématique (classification botanique)

D'après **Adjdir et bensnoissi (2009)** la position taxonomique des agrumes est indiquée comme suit:

Règne : *Plantae*.

Embranchement : *Spermaphytes*.

Classe : *Eudicotylédones*.

Ordre : *Germinale(Rutales)*.

Famille : *Rutaceae*.

Genre : *Citrus, pocirus, fortunella*.

Le genre *citrus* c'est le plus important avec 145 espèces.

5-Classification agronomique

Du point de vue agronomique, les agrumes peuvent être regroupés comme suit:

Tableau 4 : Les différents groupes d'agrumes du point de vue agronomique et leurs caractères (**Dugo et Di giacomo, 2002**).

Nom d'agrumes	Espèce et caractère
Orange douce	<p>l'espèce <i>Citrus sinensis</i> qui est le principal arbre à agrumes.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Quatre groupes existent: <ul style="list-style-type: none"> - Oranges Navel: se distinguent par la présence d'un nombril à l'extrémité styloïde, 'Washington, thompson'. - Oranges communes: appelées oranges blanches. Elles comprennent la plupart des variétés anciennes cultivées dans différents pays. - Oranges sanguines: caractérisées par la présence d'anthocyane dans le fruit, ce qui lui donne une couleur rouge plus ou moins intense au jus, à la pulpe ou à l'écorce. - Oranges sans acide: également appelées oranges à sucre ou oranges sucrées en raison de la faible acidité du jus.
Mandarines	<p>Il s'agit d'un groupe assez complexe, On peut citer les principaux groupes suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Groupe Satsuma : c'est l'espèce <i>Citrus unshiu</i> le principal agrume cultivé au Japon. - Groupe des mandarines ou clémentines : se distinguent par une couleur plutôt profonde de l'écorce par rapport à la couleur plus pâle des fruits, une couleur assez profonde de l'écorce qui contraste avec l'aspect plus pâle du <i>satsuma</i>. La clémentine appartient au groupe <i>citrus climentina</i>. - Mandarine méditerranéenne: la mandarine commune du bassin méditerranéen <p>Elle appartient à l'espèce <i>Citrus.deliciosa</i> Généralement avec des graines.</p>
● Citron	<p>Ils appartiennent tous à l'espèce <i>Citrus limon</i> Ils ont généralement une acidité élevée, bien qu'il existe aussi des cultivars non acides. Elle est cultivée en dehors des zones subtropicales.</p>

● Pamplemousse	Ils appartiennent à l'espèce <i>citrus paradisi</i> Ils ont des fruits assez gros, blancs ou pigmentés. Les principales variétés sont 'Marsh' et 'Redblush'.
● Limes	Principalement cultivés dans les régions tropicales et subtropicales où il existe des substituts aux citrons. Le citron vert mexicain ou 'Key' lime est la balançoire aux <i>Citrus aurantifolia</i> .
● Orange amère	l'espèce <i>Citrus aurantium</i> ; elles sont cultivées pour la préparation de marmelades. Ils ont généralement un nombre assez élevé de graines et l'écorce du fruit a une couleur orange plus profonde que la plupart des autres fruits.
● Pomélo	Également appelé Shaddock. Ils sont principalement cultivés pour la consommation fraîche dans plusieurs pays d'Asie. Le nom botanique est <i>Citrus.paradisi</i> . Les fruits sont plus gros que les pamplemousses mais présentent des similitudes avec eux.

Partie expérimentale

Ce test a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie dans la faculté des sciences de la nature et vie d'université des Frères Mentouri Constantine (RDC).

1-Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé c'est le zeste frais de citron (*Citrus Limon*) et d'orange (*Citrus Sinensis*). Les deux fruits utilisés sont récoltés le 14/04/2022 dans un jardin à Lonama Constantine, sous des conditions naturels.

Citron

Le citron utilisé (**Figure 8**) se caractérise par:

- Une couleur jaune et une écorce molle.
- Une taille moyenne.
- Une forme ovale.
- Une épaisseur d'environ 5mm.
- Pulpe juteuse et acidulée.



Figure 8: Citron (*Citrus Limon*)

Orange

L'orange utilisé (**Figure 9**) se caractérise par:

- Une couleur orangée.
- Une taille moyenne.
- Une forme ronde.
- Une épaisseur d'environ 1.30 cm.
- Une pulpe très juteuse et un peu acidulée.



Figure 9: Orange (*Citrus sinensis*).

2-Préparation des zestes

Les zestes sont préparés comme suit :

- Laver les fruits fraîchement récoltés.
- Ensuite les sécher avec un papier absorbant.
- Les frotter à la râpe afin d'être réduits en zeste pure.
- Peser les zestes obtenus.
- Puis les mettre dans des boites en plastiques de 200g propres et destinées à la conservation.
- Conserver dans une température ambiante.

3-Préparation des extraits

L'extraction a été réalisée par l'hydro-distillation dans un appareil de type clewenger (**Figure 10**), qui consiste à immerger directement le matériel végétal (200g), dans un ballon rempli avec une quantité d'eau distillée suffisante, pour recouvrir la matière végétale (500mL), qui est ensuite portée à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Lors de chauffage, l'HE va être entraînée avec la vapeur d'eau, ce mélange monte alors dans le clewenger et passent ensuite dans le réfrigérant qui est en permanence refroidi par une circulation d'eau. Au contact des parois froides les vapeurs sont condensées et sont récupérés dans une fiole propre.



Figure 10: L'appareil de clevenger utilisé rempli par le zeste et l'eau distillée.

4-Conservation des huiles essentielles

L'huile essentielle obtenue est mise dans des tubes en verre couverts en aluminium ou dans des vials de couleur brune (**Figure 11**), et conservée au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'analyse (**Bousbia, 2011**).



Figure 11: Photo de l'huile essentielle pure d'orange et de citron.

5-Détermination de rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante sec à traiter (**AFNOR, 1986**). Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R0 = (M' / M) \times 100$$

R0 : Rendement en huile essentielle en(%).

M' : Masse d'huiles essentielles récupérées en gramme(g).

M : Masse du matériel Végétal en gramme(g).

6-Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles

pH

- On prend les flacons des huiles essentielles de citron et d'orange.
- rincer la sonde de ph mètre avec l'eau distillée.
- séchage avec le papier absorbant.
- immergée la sonde dans le flacon.
- le ph a été mesuré par le ph mètre (**Figure 12**).



Figure12: ph mètre de la marque «HANNA».

L'indice d'acide (IA)

On pèse 0.5g d'huile essentielle de l'échantillon du citron ou d'orange qu'on dissout dans 1.25ml d'éthanol à 96°. Le mélange est neutralisé par l'hydroxyde de potassium (KOH) 0.1M en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine utilisé comme indicateur coloré.

La titration se termine lorsque la couleur rose persiste, et on note alors le volume (**Figure 13 et 14**).

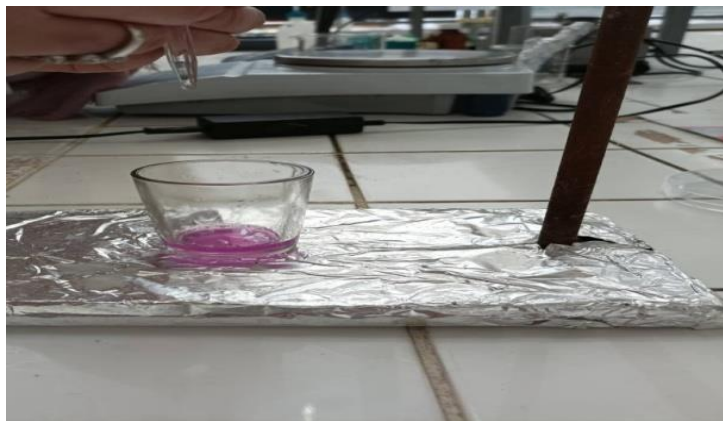


Figure13: Résultat obtenus pour HE de citron.

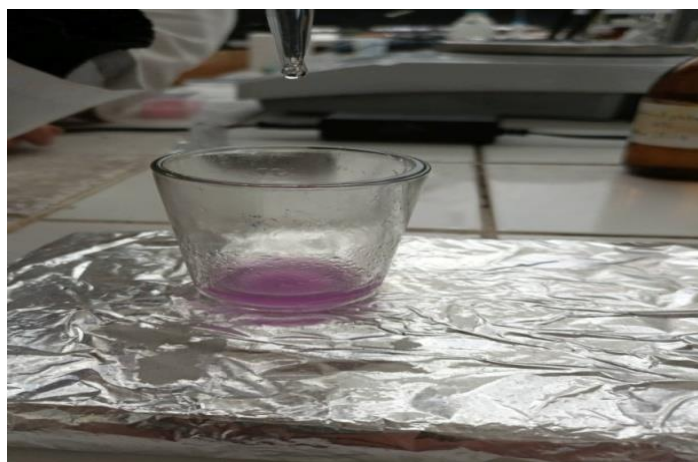


Figure 14: Résultat obtenus pour HE d'orange.

La mesure

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante : $IA = (56.1 \times C \times V) / m$

IA: Indice d'acide (sans unité).

V: Volume de KOH utilisé pour la titration (en l).

m: Masse en grammes de l'huile essentielle (en g).

56,1: Masse molaire de KOH.

Densité relative

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillé, à 20°C. La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique (**Franchomme, 2001**).

La mesure

On pèse 1 ml d'eau distillé, et 1 ml de chaque l'huile essentielle (citron/orange), la mesure est par le rapport suivant :

$$d = m(\text{HE}) / m(\text{eau})$$

d: Densité

m (HE): La prise d'essai de l'huile essentielle.

m (eau): La prise d'essai de l'eau distillé.

7-La chromatographie sur couche mince (CCM)

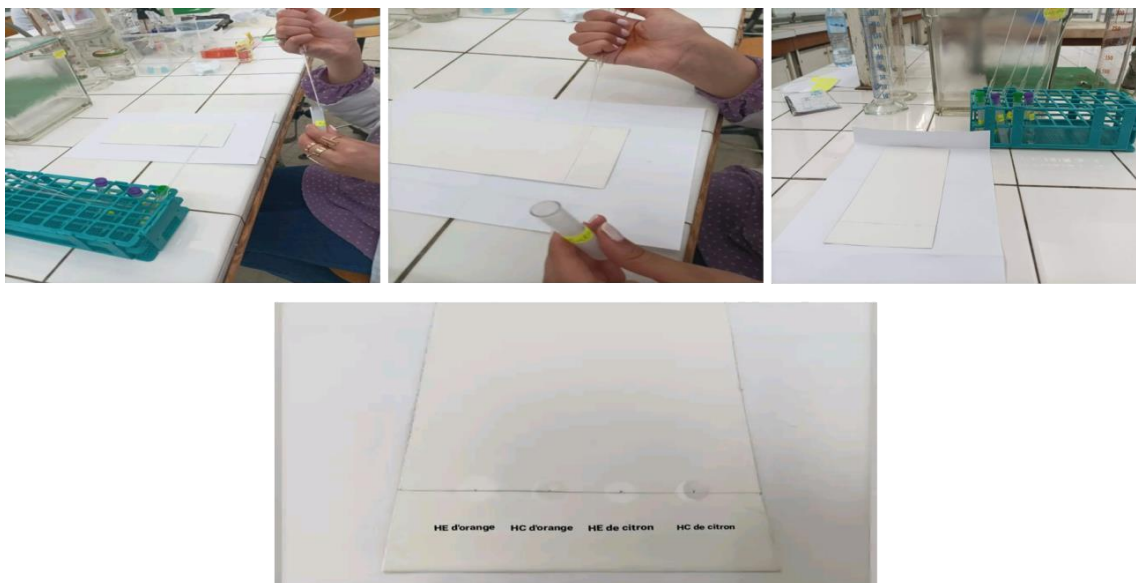
-Tracer un trait horizontal (la ligne de base) à environ 2 cm du bas de la plaque de CCM.

-Dissoudre 0,5 ml de chaque échantillon d'huile dans 1 ml d'hexane. Cette solution est appliquée au point E (échantillon) à environ 2 cm du fond de la plaque recouverte de gel de silice (phase stationnaire). A environ 2 cm du Point E se trouve un échantillon de référence dissous dans de l'hexane (essence commerciale pure "Citron et Orange" (**Figure 15**).



Figure 15: Huiles essentielles commerciales « citron et orange ».

-Une pipette Pasteur jetable en verre a été utilisée de manière verticale pour distribuer la solution. Cela ne permet qu'une petite quantité de chaque solution d'être distribuée dans le puits approprié. J'ai plusieurs dépôts consécutifs du même échantillon au même endroit, cet exercice vous permet de vous concentrer sur la tâche qui vous a été confiée, les étapes sont motionné dans la figure suivante:



HE: Huile essentielle extraite

HC: huile essentielle commerciale

Figure16: Dépôts des échantillons à l'aide d'une pipette Pasteur.

-cette plaque est introduite dans une cuve contenant un éluant (phase mobile) constitué d'un mélange binaire de deux solvants (cyclohexane et acétone, 150 ml pour chaque solvant) pour éviter les réactions photochimiques (**Figure 17**).

-Le niveau d'éluant ne dépasse pas 1 cm du bord inférieur de la plaque et la phase mobile se déplace par le bas le plus élevé en raison de la capillarité le long de la phase stationnaire accompagnée par les composants de l'échantillon. Lorsque le solvant atteint le premier plan (à 1 cm du haut de la plaque chromatographique), retirer la plaque du réservoir et sécher à l'air.

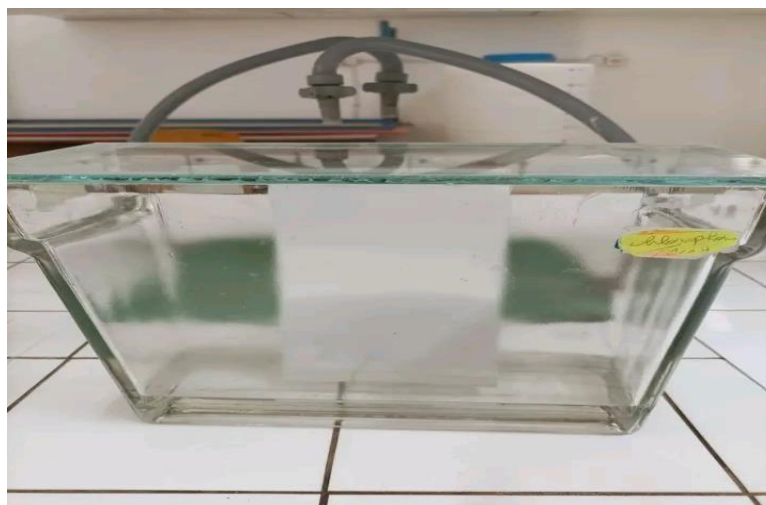


Figure 17: Position de la plaque CCM dans la cuve.

-Pour la révélation, Placer la plaque dans une solution de permanganate de potassium (KMnO_4) à une concentration de 3 g/l (**Figure 18**).



Figure 18: La révélation par la solution de permanganate de potassium.

-Après migration, sécher la plaque à l'air et procéder à sa révélation par la lampe de Wood (ultra violet) à 254 nm (**Figure 19**), la position des substances sur la plaque est exprimée souvent en Rf.



Figure 19: Plaque à UV 254 nm de la marque CAUTION

Selon **Boumidouna et Kouar (2018)**, le rapport frontal (Rf) est déterminé pour chaque constituant comme suit: $Rf = d/D$

Rf: Rapport frontal.

d: Distance parcourue par le constituant.

D: Distance parcourue par le front de l'éluant.

8- Etude de L'activité antifongique

La souche testée et le milieu utilisé

L'évaluation de l'activité antifongique a été réalisée sur le support fongique qui est composé de *Microsporium canis*. Ce dermatophyte est utilisé dans les tests font parties des microorganismes, qui sont pathogènes et contaminants.

La souche étudiée provient du laboratoire de parasitologie du CHU de Constantine, elle a été prélevée des malades du service des maladies infectieuses. Elle a été isolée et cultivée dans des tubes sur la gélose de Sabouraud Agar contenant du chloramphénicol (**Figure 20**).



Figure 20: Tube d'un dermatophyte « *Microsporium canis* » cultivé sur la gélose de Sabouraud Agar contenant du chloramphénicol, provient du laboratoire de parasitologie CHU de Constantine.

Préparation de la suspension fongique

À partir des tubes, les souches fongiques sont repiquées respectivement dans des boites de Pétri sur le milieu Sabouraud, les boites sont cultivées à 30°C pendant 7 à 21 jours pour utilisation ultérieure.

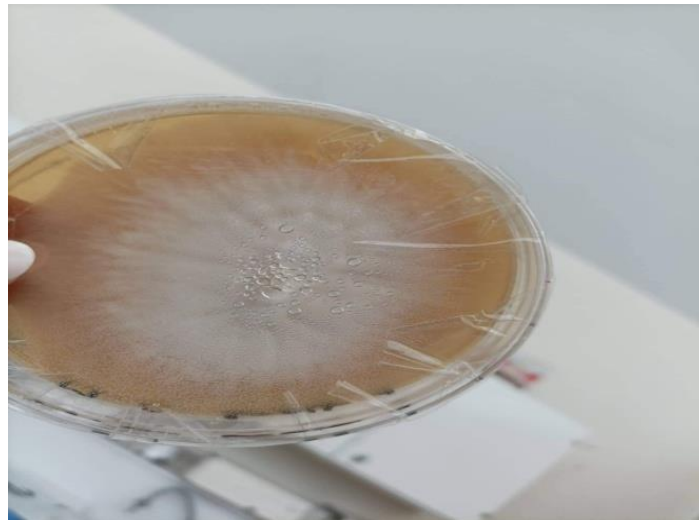


Figure 21: Le dermatophyte « *Microsporum canis* » cultivé sur la gélose de Sabouraud après repiquage.

Après incubation, la suspension fongique est préparée à partir de cultures pures de germes sur milieu d'isolement Sabouraud, 9 ml de l'eau physiologique stérile (0,9%) sont rajoutés à la culture sur boîte, puis le germe est gratté à l'aide d'une anse de platine et mets dans le tube de l'eau physiologique. Le contenu de ce tube est homogénéisé par le vortex (**figure 22**).

On mesure l'absorbance de cette suspension à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 650nm motionné dans la (**figure 23**).

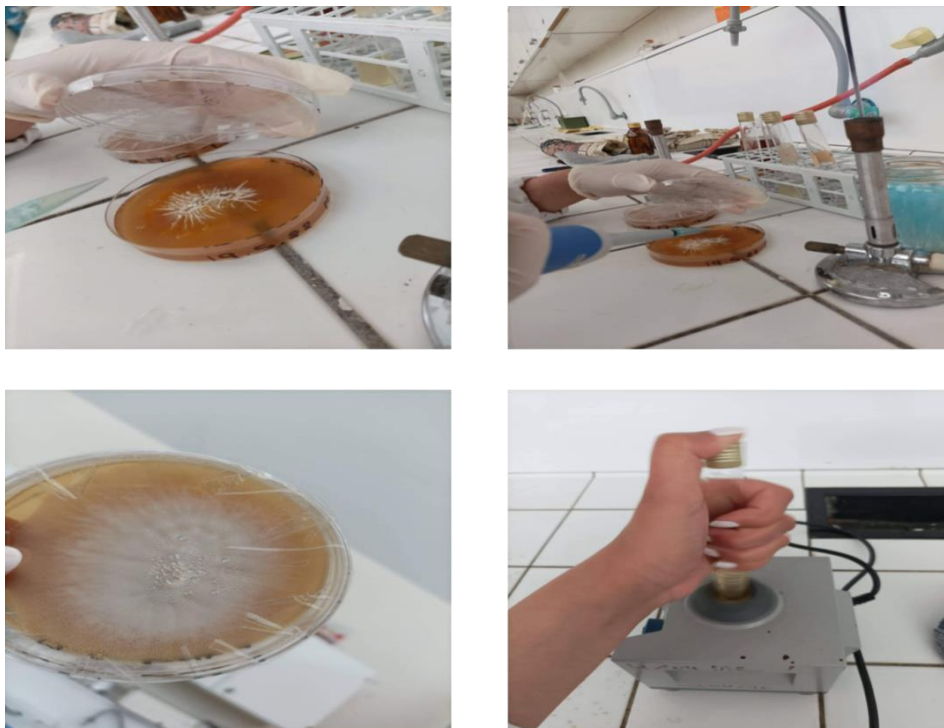


Figure22: La préparation de la suspension fongique.

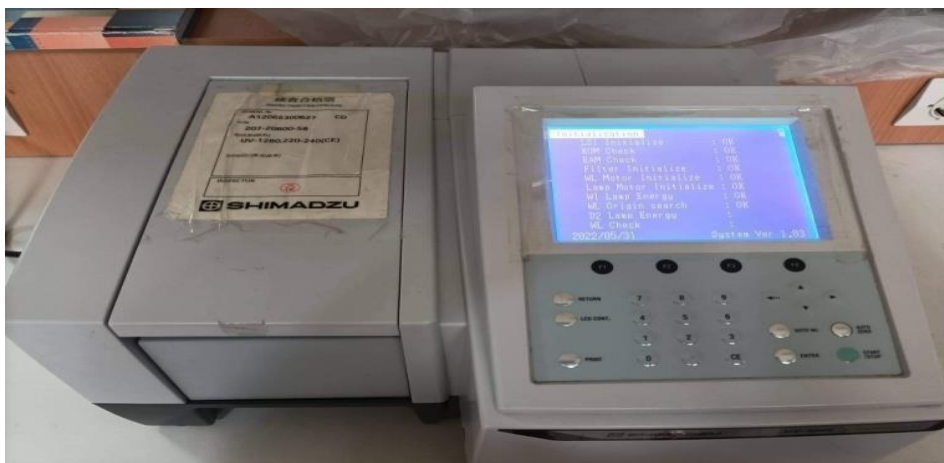


Figure23: Spectrophotomètre de la marque « SHIMADZU ».

Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique

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

Méthode par incorporation à la gélose

-Pour la souche fongique, les tests sont réalisés par incorporation de 1 ml de la dilution dans 9 ml du milieu Gélosé en surfusion, puis le milieu est coulé dans la boîte.

-La gélose estensemencée par un disque mycélien (6 mm de diamètre) prélevé de la périphérie d'un mycélium pré cultivé et déposé au centre de la gélose (**Figure 24**).

-Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 30°C, cette durée permet la colonisation de toute la gélose. Tous les tests y compris les témoins sont répétés 02fois sous les mêmes conditions expérimentales (**Achoub et Khalid, 2020**).

En fin de l'incubation, l'effet des extraits sur les champignons est évalué par le calcul du taux d'inhibition suivant: $Ti = [(N0 - Nc) / N0] \times 100$

Dont : Ti: Taux d'inhibition de la croissance (%).

N0: Nombre de colonies fongiques dans le témoin.

Nc: Nombre ou diamètre de colonies fongiques en présence de l'extrait.

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

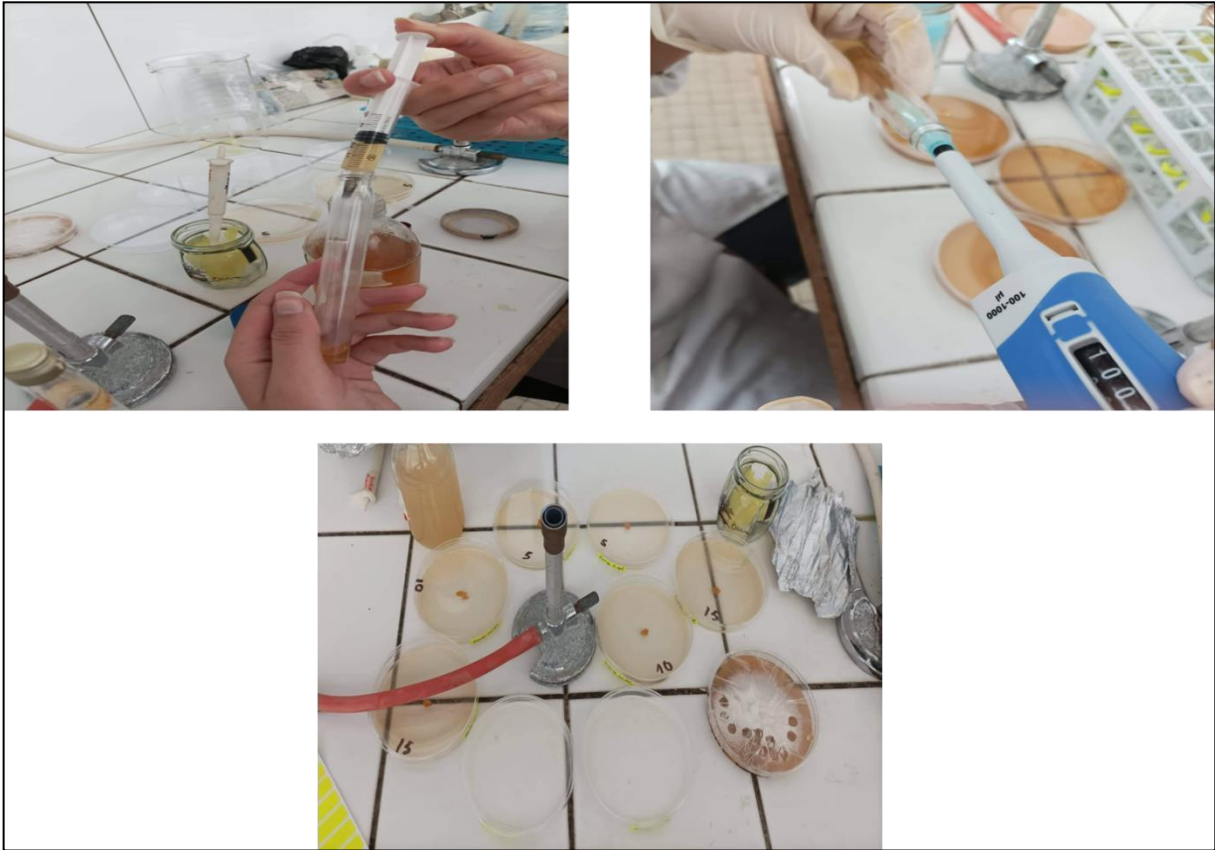


Figure 24 : Réalisation de l'incorporation.

Technique de l'Aromatogramme (DDM)

- Préparation des dilutions

-Préparation de 2 boîtes « témoins »

Témoin 1 : Milieu Sabouraud + étalement de la suspension sporale.

Témoin 2 : Milieu Sabouraud + étalement de la suspension sporale + un disque contient 10 μ l du DMSO pure déposé au centre de la boîte de Pétri.

- Préparation de 2 copies de 3 concentrations différentes pour chaque huile (citron, orange) (20%, 50 %, 100 %) sur chaque disque:

- 1- 20 % HE + 80%DMSO (2 μ l+8 μ l)
- 2- 50 % HE + 50 %DMSO (5 μ l+ 5 μ l)
- 3- 100% HE pure sans solvant (10 μ l)

- Préparation des disques

Des disques ont été préparés à partir du papier Wattman de 6mm de diamètre par l'emporte-pièce. Puis, ces disques ont été stérilisés à 120°C pendant 20 min dans un autoclave.

- Réalisation du test

Selon la **Figure 25**

-Les disques sont ensuite imbibés de 10µl d'extrait à tester avec des concentrations de différents pourcentages.

-La gélose de Sabouraud stérile est coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm puis laissées refroidir.

-L'ensemencement de la suspension fongique est réalisé par écouvillonnage à l'aide d'un coton-tige stérile en tournant la boîte d'environ 60°.

-La dernière étape consiste à déposer à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose ensemencée par la souche étudiée d'une boîte de pétri 3 disques imbibés de 10µl d'extrait à tester.

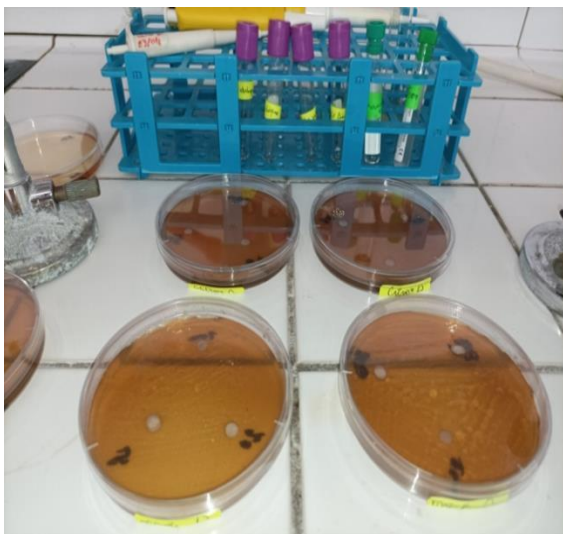


Figure 25: réalisation des disques.

-Les disques sont déposés dans chaque boîte avec des pourcentages de concentrations différentes (20%, 50%, 100%).

- Les boîtes sont incubées pendant 2h à 4°C.

- Puis elles sont incubées à 30°C pendant 24h.

Méthode de diffusion en gélose par puits

- Préparation des dilutions

-Préparation de 2 boîtes « témoins »

Témoin 1 : Milieu Sabouraud + étalement de la suspension sporale.

Témoin 2 : Milieu Sabouraud + étalement de la suspension sporale + un puits perforée au centre de la boîte de Pétri et contient 100 µl du DMSO pure.

- Préparation de 2 copies de 3 concentrations différentes pour chaque huile (citron, orange) (20%, 50 %, 100 %) dans chaque puits:

- 1- 20 % HE + 80%DMSO (20µl+80µl)
- 2- 50 % HE + 50 %DMSO (50µl+ 50µl)
- 3- 20 % HE + 80%DMSO (20µl+80µl)

- Réalisation du test

Nous avons appliqué la technique des puits sur la gélose Sabouraud contaminée par des suspensions fongique. Après le séchage des boîtes, la gélose contaminée est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette pasteur (**Figure 26**), les puits ainsi formés sont remplis par des dilutions préparées et des huiles essentielles concentrées (environ 100 µL par puits) (**Khebichat, 2013**).

- Les boîtes sont incubées pendant 2h à 4°C.

- Puis elles sont incubées à 30°C pendant 24h.

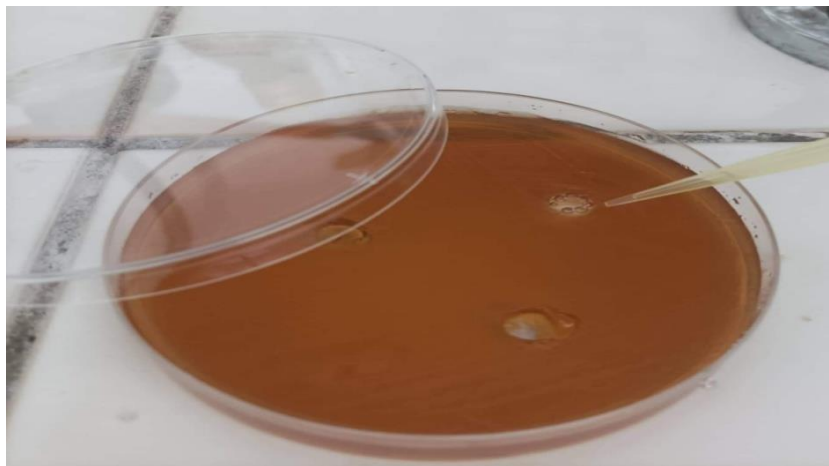


Figure26: Réalisation des puits

► Lecture de deux techniques précédentes

- Durant la période d'incubation, les substances diffusent dans la gélose à partir des disques et des puits, déterminant ainsi des zones d'inhibition.

- Après incubation, le diamètre d'inhibition autour des disques et des puits est mesuré à l'aide d'une règle et les valeurs sont exprimées en (mm).

-L'effet du produit antifongique sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition.

- La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

-Non sensible (-) ou résistante : Diamètre < 8mm.

-Sensible (+) : Diamètre compris entre 9 à 14 mm.

-Très sensible (++) : Diamètre compris entre 15 à 19 mm.

-Extrêmement sensible (+++) : Diamètre > 20 mm.

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la croissance mycélienne de la souche étudiée est (**Haddouchi et al., 2009**), calculé par la formule suivante:

$$PI (\%) = (Dt - Dc) / Dt \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance fongique en pourcentage.

Dt : Diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu sans huile essentielle (témoin).

Dc : Diamètre de la croissance mycélienne en présence d'huile essentiel

1-Rendement de l'huile essentielle

La détermination des propriétés physico chimique et de l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles d'agrumes nécessitent une quantité suffisante des huiles.

Les résultat des rendements en huile essentielles après extraction par Clevenger sont exprimés en pourcentage et sont transcrit dans le tableau suivant:

Tableau 5: Rendement des huiles essentielles d'agrumes.

Agrume	Citron	Orange
Rendement	1.955 %	1.925 %

La comparaison ne révèle aucune différence dans le rendement en HE entre l'orange et citron.

Les deux fruits qu'on récolté à Constantine ont donné des quantités en HE importantes, cette valeur qu'on a obtenue est très supérieure à celle obtenue par (Ferhat et al., 2016).

Le rendement des huiles essentielles d'orange et de citron obtenu est considérable et cela du à le temps d'extraction approprié, à la qualité des agrumes utilisées, la fraîcheur et le séchage selon (Ferhat et al., 2016).

2-Teneur et propriétés organoleptiques

L'huile essentielle d'orange et de citron est extraite par technique d'hydro-distillation, les caractéristiques organoleptiques sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 6: Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'agrumes.

Huile essentielle	Caractéristiques organoleptiques		
	Aspect	Couleur	odeur
Citron	Liquide	Blanche pâle	Printanière légère
Orange	Liquide	Transparente	Rafraichissante

3- Caractéristique physicochimique des huiles essentielles étudiées

pH

Le terme pH est l'abréviation de "pondus hydrogeni", « potentiel hydrogène ». Il est utilisé pour estimer les concentrations en ions d'hydrogène et permet de mesurer si le milieu est acide ou basique (**Guilhem et nawez, 2012**).

Les résultats de la mesure de pH des huiles essentielles de citron et d'orange sont mentionnés dans le tableau suivant:

Tableau 7: Le pH des huiles essentielles d'agrumes.

Agrume	Citron	Orange
pH	7.07	7.90



Figure 27: La valeur de pH d'HE de citron affichée sur le pH mètre.



Figure 28: La valeur de pH d'HE d'orange affichée sur le pH mètre.

Le liquide des huiles essentielles d'agrumes selon les références internationales est un milieu légèrement acide (**Huet, 1982**), ici on est probablement au fait que nous n'avons pas mesuré le pH immédiatement après extraction mais après une période assez longue (quelque jours).

L'indice d'acide

L'indice d'acide d'un corps gras est un bon indicateur pour déterminer son altération.

Ile est définie par la quantité en milligrammes de potassium (KOH) nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'huiles essentielles (**AFNOR, 2000**).

Les deux valeurs obtenues des huiles essentielles sont très faibles, avec une petite différence dont la valeur élevée est obtenue avec l'huile essentielle de citron et la faible valeur avec l'huile d'orange (**Tableau 8**).

Tableau 8: Les valeurs de l'indice d'acide des huiles essentielles d'agrumes.

$I_A = (56.1 \times c \times v) / m$	$I_{A \text{ Citron}} = 2.24 \cdot 10^{-3}$	$I_{A \text{ Orange}} = 1.68 \cdot 10^{-3}$
$m = 0.5 \text{ g}$ $c = 0.1 \text{ N}$	$V = 0.2 \text{ ml}$	$V = 0.15 \text{ ml}$

I_A : Indice d'acidité

V : Volume de KOH

c : Concentration en mol par litre

m : Masse

La valeur de l'indice d'acide doit être inférieure à 0.5 (**AFNOR, 2000**).

Donc dans notre cas l'indice d'acide est dans les normes pour les deux huiles essentielles.

Comme en a obtenu une faible valeur dans les deux huiles alors ce résultat est probablement dû à la faible teneur en acides gras libres et les triglycérides ne sont pas altérés lors de l'extraction et la conservation des huiles essentielles. Il est donc nécessaire que les conditions soient strictes afin de limiter une probable dénaturation ultérieure de cette huile (**Dahouenon-Ahoussi et al., 2012**).

L'acidité d'une huile essentielle est un critère de qualité. Sachant qu'une faible valeur est caractérisée par la pureté et la stabilité d'une huile essentielle. L'oxydation de l'huile provoque l'augmentation de l'indice d'acidité (**Clif et Harerimana, 2013**).

La densité relative

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillé, à 20°C. La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique (**Franchomme, 2001**).

-La densité relative d'une huile essentielle à 20°C est un examen physique.

-La densité relative d'HE de citron est égale à 0.81 (**Tableau 9**).

-La densité relative d'HE d'orange est égale à 0.84 (**Tableau 9**).

Tableau 9: La densité des huiles essentielles.

$d = m_{HE} / m_{eau}$	$d_{HE\ citron} = 0.81$	$d_{HE\ orange} = 0.84$
$m_{eau} = 1$	$m_{HE\ citron} = 0.81$	$m_{HE\ orange} = 0.84$

Les valeurs obtenues répondent aux critères de qualité des huiles essentielles fixées par les normes internationales (inférieure à 1). Les propriétés varient selon la nature d'agrumes utilisé.

La densité relative de notre huile de citron et d'orange est inférieure à ceux trouvés par (**Bousbia, 2011**) qu'il a trouvé une valeur de 0,9 dans les mêmes conditions de travail.

Alors les propriétés physicochimique des huiles essentielles d'agrumes obtenues par hydro-distillation par l'appareille de type cleverger suggèrent une huile essentielle de très bonne qualité.

4- Analyse par la chromatographie sur couche mince (CCM)

La (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse utilisée pour isoler et identifier les métabolites. Elle est principalement basée sur le phénomène d'adsorption et s'applique aux molécules pures, aux extraits et aux échantillons biologiques. La séparation

s'effectue par migration des molécules à travers la phase stationnaire dans un solvant ou un mélange de solvants appropriés (phase mobile). Cela s'applique aux molécules pures, aux extraits (mélanges complexes de métabolites) et aux échantillons biologiques. Il permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans l'extrait ou la fraction et permet de bien déterminer les conditions opératoires. Il montre également le nombre de composants dans le mélange réactionnel, permettant un contrôle facile et rapide de la pureté du composé pendant le processus de réaction (**Amarowicz et al., 2005**).

-Les résultats obtenus par la CCM sont résumés dans la figure et le tableau suivants:

Tableau 10: Rapports frontaux des taches migrées sur la plaque CCM pour chaque huile essentielle.

Les huiles essentielles	Nombre de taches migrées	Rapport frontaux
Notre HE extraite d'orange	1	0.56
	2	0.70
	3	0.91
HE commerciale d'orange	1	0.30
	2	0.69
	3	0.70
	4	0.77
	5	0.85
	6	0.91
Notre HE extraite de citron	1	0.55
	2	0.63
	3	0.70
	4	0.77
	5	0.88
	6	0.91
HE commercial de citron	1	0.60
	2	0.91

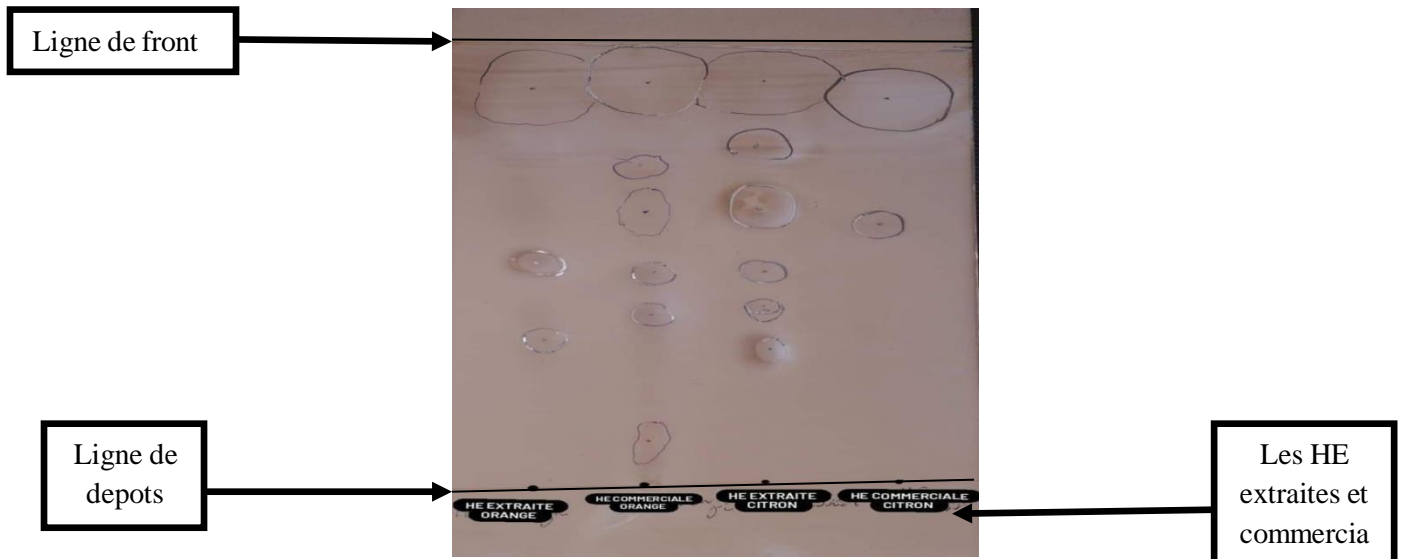


Figure 29: Nombre des taches migrées sur la plaque CCM pour chaque huile essentielle.

D'après l'analyse CCM (**Figure 29 et Tableau 10**)

En comparant les Rf de notre HE d'orange avec celui de l'HE commerciale, on trouve 4 taches communes situées dans le même niveau d'immigration sur la plaque CCM avec un Rf égale à successivement (0.70 et 0.91) pour chaque paire.

Pour notre HE du citron avec celui de l'HE commerciale on remarque que on a seulement 2 taches identiques avec un Rf= 0.91.

Donc pour la méthode d'hydro-distillation, les huiles essentielles extraites des agrumes sont composées de plusieurs taches communes avec les huiles essentielles commerciales exactement dans la plus grande tache avec un Rf (=0.91).

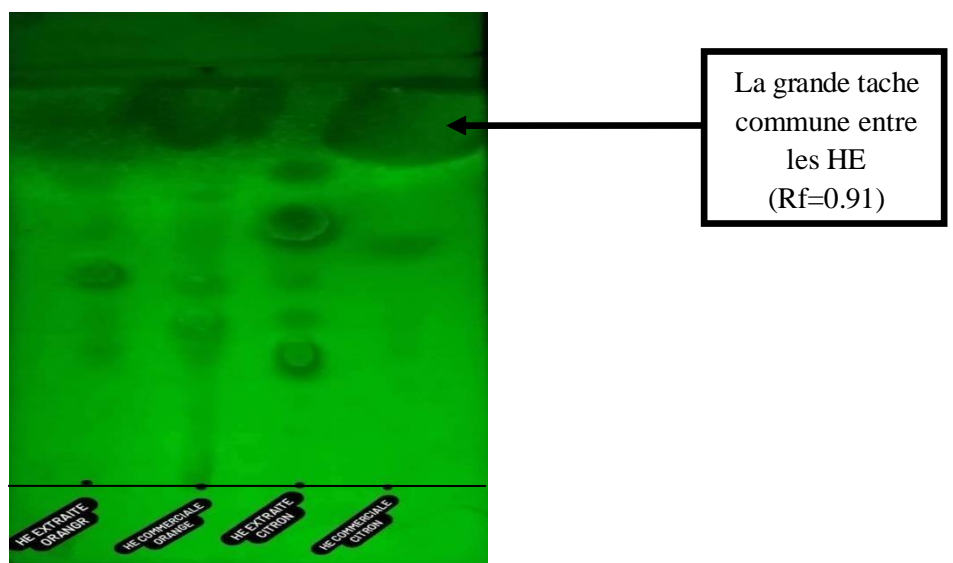


Figure 30: Plaque CCM des huiles essentielles extraites (orange/citron) et des huiles essentielles commerciales sous une lampe UV.

Les taches communes montrées à chaque fois entre les huiles essentielles extraites et commerciales sur notre plaque CCM sous UV (**Figure 30**) confirment l'identité de la composition de ces taches huileuses et sur tout la présence d'un constituant principale commun entre les HE étudiées (**Figure 31**), pour cela on a fait une étude comparative entre notre analyse et l'analyse CCM à partir de la (**Figure 32**) de **Didi et Yakoubi (2021)**.

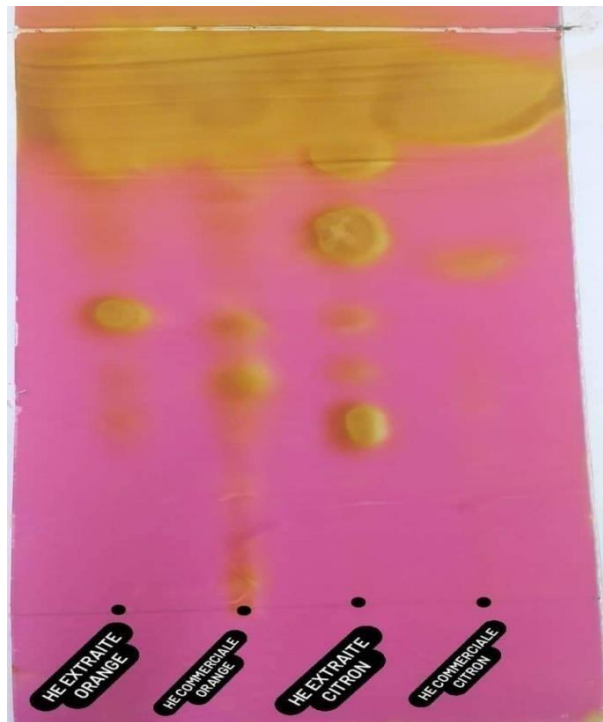


Figure 3: Chromatogramme des huiles essentielles et commerciales d'agrumes après révélation avec le KMNO_4 .



Figure 32: Chromatogramme des huiles essentielles et commerciales d'agrumes après révélation avec le KMNO_4 (**Didi et Yakoubi, 2021**).

Selon **Didi et Yakoubi (2021)** et comme l'affiche le **Tableau 11**, l'huile essentielle d'orange extraite par hydro-distillation de type Clevenger montre la présence d'une seule tache ayant un rapport frontal identique à celui de notre analyse ($R_f = 0.56$) et ($R_f = 0.69$) pour l'huile essentielle d'orange commerciale.

On trouve aussi la présence d'une tâches dans la même position et ayant un rapport frontal identique ($R_f=0.55$) pour l'HE du citron et ($R_f=0.6$) pour l'HE commerciale du citron.

Tableau 11: Rapports frontaux des taches avant et après la révélation par KMNO₄.

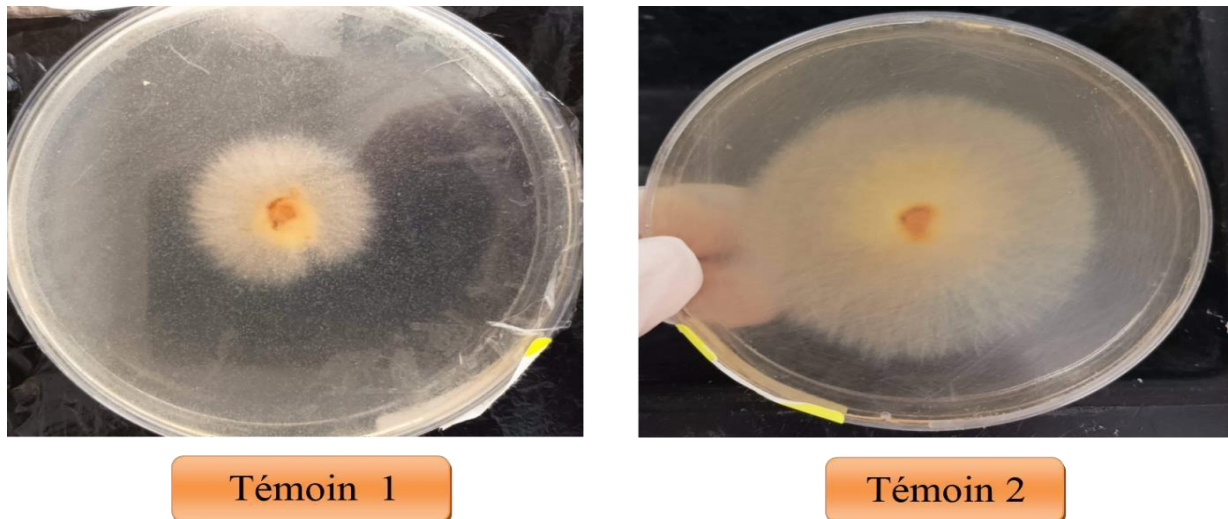
Les huiles essentielles	Nombre de taches communes entre les deux analyses CCM	Rapport frontaux
Notre extrait d'orange	1	0.56
Commerciale d'orange	1	0.69
Notre extrait de citron	1	0.55
Commercial de citron	1	0.6

Selon cette étude comparative on peut confirmer que notre extraits d'orange et du citron contient le limonène et d'autres composés non identifiés. Des points forts sur le chromatogramme correspondant au limonène indiquent que le limonène est le composé majoritaire et principal des HE d'agrumes.

5- Activité antifongique

Par la méthode de l'incorporation

Dans cette méthode on a utilisé deux témoins avec deux milieux différents afin de pouvoir comparer le développement de la souche (**Figure 32**):



Témoin 1

Témoin 2

Témoin 1 : Dermatophyte pousse sur PDA sans HE

Témoin 2 : Dermatophyte pousse sur Sabouraud sans HE

Figure 33: Témoin de la souche pour la méthode de l'incorporation sur le PDA et le Sabouraud.

Selon la **Figure 33** on voit un développement de la souche sur les deux milieux et cela sans HE de citron et d'orange, sachant que la zone de croissance de *Microsporum canis* est plus grande sur le Sabouraud que le PDA.

En dépit que le PDA est le milieu favorable pour la sporulation de tous les champignons, ici on a utilisé le Sabouraud parce que c'est le milieu favorable pour le développement des dermatophytes, et selon **Dufresne (2021)**, il est plus convenable et spécifique pour les espèces qui attaquent les êtres humains.

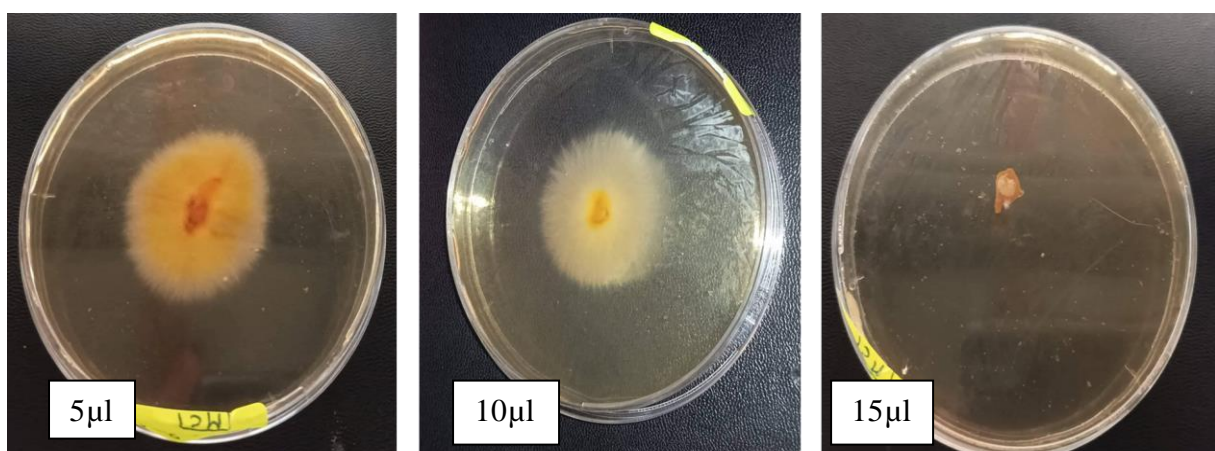


Figure 34: L'incorporation avec l'huile de citron sur milieu Sabouraud.

Figure 35: L'incorporation avec l'huile de citron sur milieu PDA.**Tableau 12:** La zone de croissance de la souche en présence de l'huile essentielle de citron.

Huile essentielle	Concentration	Milieu utilisé	Résultats
HE de citron	5 μ l	PDA	++
	10 μ l		- - -
	15 μ l		- - -
	5 μ l	Sabouraud	+++
	10 μ l		++
	15 μ l		- - -

- - -: Absence de la zone de croissance

++: Présence d'une zone de croissance moyenne

+++ : Présence d'une grande zone de croissance

Selon le (**Tableau 12**):

L'utilisation de la concentration 5 μ l de l'HE a laissé le germe pousser sur les 2 milieux donc HE du citron à faible concentration possède une faible activité antifongique et une mauvaise efficacité sur l'empêchement du développement de *Microsporium canis*. Egalement, la concentration 10 μ l dans le milieu Sabouraud, n'a pas pu empêcher la croissance de la souche. Par contre, sur le milieu PDA, aucune croissance n'a été remarquée.

Par ailleurs, 15 μl de l'HE du citron dans le milieu Sabouraud et dans le milieu PDA: a inhibé la croissance du *Microsporium canis*. Cette huile ayant une forte efficacité à la concentration 15 μl contre la souche utilisée sur les deux milieux donc, une bonne activité antifongique.

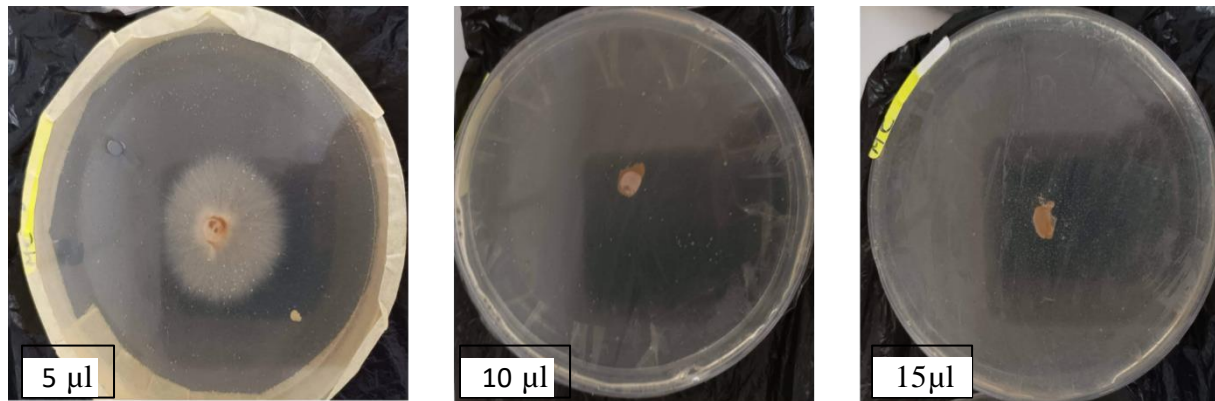


Figure 36: L'incorporation avec l'huile d'orange sur milieu PDA.

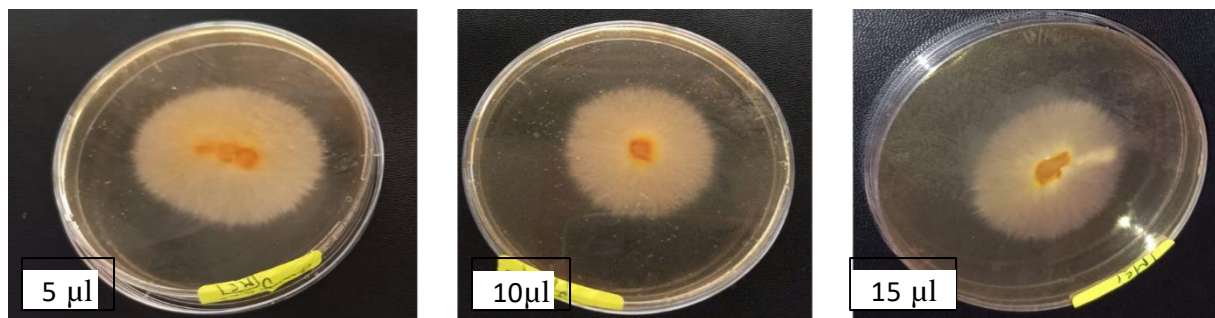


Figure 37: L'incorporation avec l'huile d'orange sur milieu Sabouraud.

Tableau 13 : La zone de croissance de la souche en la présence de l'huile essentielle d'orange.

Huile essentielle	Concentration	Milieu utilisé	Résultats
HE d'orange	5 μl	PDA	++
	10 μl		---
	15 μl		---
	5 μl	Sabouraud	+++
	10 μl		++
	15 μl		++

--- : Absence de la zone de croissance

+++ : Présence d'une grande zone de croissance

Selon le **Tableau 13**:

Sur le milieu Sabouraud les trois cas de concentrations d'HE n'ont donné aucune efficacité contre la souche étudiée.

Par contre, sur le milieu PDA, la souche *Microsporium canis* n'a pas pu pousser avec les concentrations 10 et 15 µl de l'huile essentielle d'orange

Méthode de diffusion en gélose par puits

L'activité antifongique en milieu Sabouraud des extraits de *Citrus Limon* et *Citrus Sinensis* sont testées vis-à-vis d'une seule souche fongique "*Microsporium canis*" via la méthode de diffusion en gélose par puits avec 3 concentrations différentes.

L'activité antifongique des deux extraits (*Citrus Limon* et *Citrus Sinensis*) est estimée par le diamètre de la zone d'inhibition autour des puits (Méthode de diffusion par puits), exprimée en mm.

Les résultats sont présentés dans les figures suivantes:



Figure 38: Témoin pour les tests de diffusion en gélose par puits et aussi par disques.

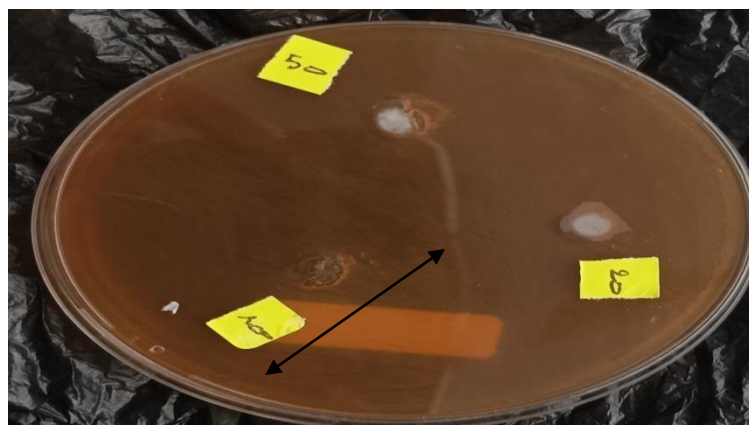


Figure 39: Résultat obtenu pour le citron après 24h.

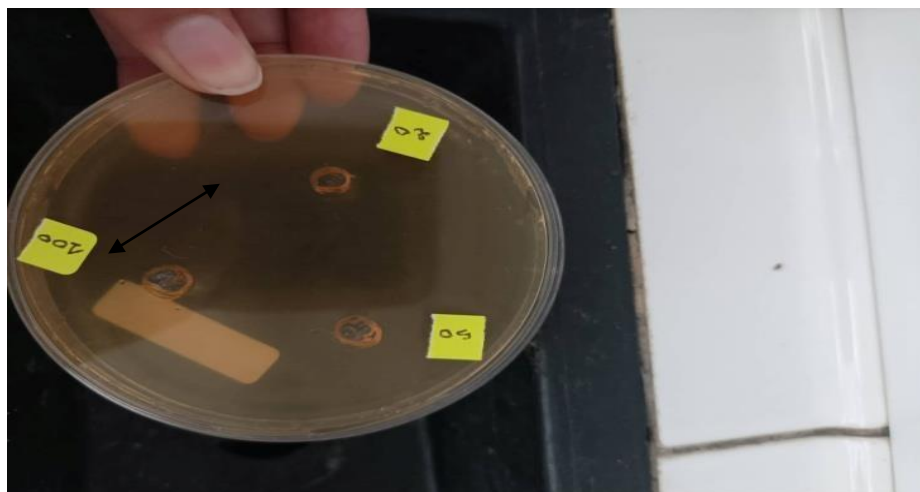


Figure 40: Résultat obtenu pour l'orange après 24h.

Tableau 14 : Effets des huiles essentielles extraites sur la souche antifongique par la méthode de diffusion en gélose par puits.

La souche	<i>Microsporium canis</i>		
Les extraits	pourcentage des concentrations	Mesure de diamètre de la zone d'inhibition	Mesure de diamètre de la zone de témoin
HE du citron (<i>Citrus Limon</i>)	20%	0 mm	Développement dans toute la boîte
	50 %	0 mm	
	100 %	13 mm	
HE d'orange (<i>Citrus Sinensis</i>)	20%	0 mm	
	50 %	4 mm	
	100 %	9 mm	

On remarque que:

La boîte qui contient le témoin (suspension sporale de *Microsporium canis* sans huile essentielle), la souche *Microsporium canis* est bien développée dans toute la boîte (**Figure 33**).

Microsporium canis a présenté un diamètre de zone d'inhibition égal à (0mm, 0mm) (HE citron) et (0 mm, 4 mm) (HE orange) < 8mm, donc la souche est dite résistante aux HE extraites du *Citrus Limon* et du *Citrus Sinensis* avec les deux faibles concentrations de ces huiles 20% 50%.

Microsporium canis a donné un diamètre de zone d'inhibition égal à 13 mm (entre 9 et 14 mm) (**Figure34**), donc la souche est dite sensible au HE extraite du *Citrus Limon* avec la forte concentration 100 % (HE du citron pure).

Microsporium canis a montré un diamètre de zone d'inhibition égal à 9 mm (entre 9 et 14 mm) (**Figure 35**), donc la souche est dite sensible au HE extraite du *Citrus Sinensis* avec la forte concentration 100 % (HE d'orange pure).

Technique de l'Aromatogramme (DDM)

L'activité antifongique en milieu Sabouraud des extraits de l'HE du *Citrus Limon* et du *Citrus Sinensis* est testée vis-à-vis d'une seule souche fongique "*Microsporium canis*" avec 3 concentrations différentes via la méthode de diffusion sur disque du papier filtre.

L'activité antifongique des deux extraits (*Citrus Limon*, *Citrus Sinensis*) est estimée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques, exprimée en mm.

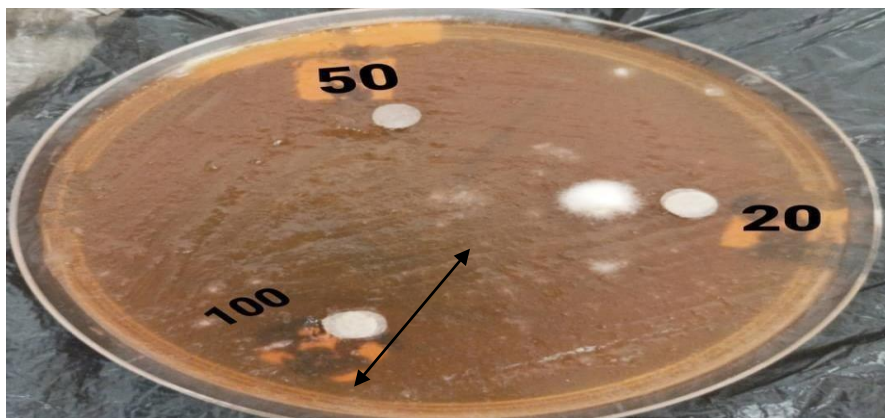


Figure 41: Résultat obtenu pour le citron.

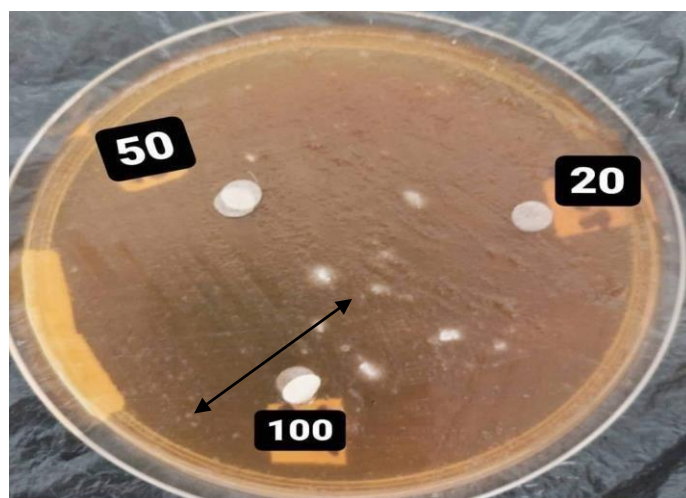


Figure 42: Résultat obtenu pour l'orange.

Tableau 15 : Effets des huiles essentielles extraites sur la souche fongique dermatophyte par le teste de l'Aromatogramme (DDM).

La souche	<i>Microsporium canis</i>		
Les extraits	pourcentage des concentrations	Mesure de la zone d'inhibition	Mesure de la zone de témoin
HE du citron (<i>Citrus Limon</i>)	20%	0 mm	Développement dans toute la boîte.
	50 %	0 mm	
	100 %	12 mm	
HE d'orange (<i>Citrus Sinensis</i>)	20%	0 mm	
	50 %	0 mm	
	100 %	10 mm	

On remarque que:

-La boîte qui contient le témoin (suspension sporale de *Microsporium canis* sans huile essentielle), le *Microsporium canis* a poussé dans toute la boîte (**Figure 33**).

-*Microsporium canis* a présenté un diamètre de zone d'inhibition égal à (0mm, 0mm) (HE citron) et (0 mm, 0 mm) (HE orange) < 8mm, donc la souche est dite résistante au HE extraite

du *Citrus Limon* et du *Citrus Sinensis* avec les 2 faibles concentrations de ces huiles 20% 50%.

-*Microsporium canis* montre un diamètre de zone d'inhibition égal à 12 mm (entre 9 et 14 mm) (**Figure 36**), la souche est dite sensible à l'HE extraite du *Citrus Limon* avec la forte concentration: 100% (HE du citron pure).

-*Microsporium canis* constitue le centre d'une zone d'inhibition de diamètre égal à 10 mm (**Figure 36**), la souche est dite sensible au produit testé (HE extraite du *Citrus Sinensis*) avec la concentration: 100% (HE d'orange pure).

En concluons d'après les 2 techniques précédentes

Selon nos résultats:

- Nous avons pu mettre en évidence les effets antifongiques des extraits des huiles essentielles du citron et d'orange sur la souche *Microsporium canis*.
- Lorsque on augmente la concentration des extraits du *Citrus Limon* et *Citrus Sinensis*, on obtient plus d'efficacité de ces huiles contre le dermatophyte «*Microsporium canis*» qui est une souche dite sensible, donc on a une relation directe et proportionnelle.
- D'après les diamètres des zones d'inhibitions, on peut remarquer que l'HE du citron ayant un effet plus efficace sur le «*Microsporium canis*» par rapport à l'HE d'orange.
- L'absence de l'activité antifongique contre *Microsporium canis* dans certaines cas peut être due au:
 - La souche est plus résistante.
 - L'état physiologique du champignon.
 - Le procédé et les conditions d'extraction.
 - La nature du matériel d'extraction (risque d'oxydation).
 - Les conditions de conservation, de stockage et de transport.
 - La diffusion des extraits à travers la gélose.

Conclusion

L'objectif de ce travail a consisté en l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles des agrumes (*Citrus limon* et *Citrus sinensis*) sur le champignon dermatophyte *Microsporum canis*.

D'après ça, on a appliqué la technique conventionnelle de Clevenger (Hydrodistillation) et on a étudié l'évaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles comme: le pH, l'indice d'acide et la densité, après ça on a utilisé un protocole d'une chromatographie sur couche mince pour connaître la composition de nos HE extraites en la comparant avec d'autres HE commerciales, et on a trouvé le limonène comme un constituant principal dans les deux HE extraites des agrumes choisis.

Ensuite l'activité antifongique de nos huiles essentielles d'agrumes, elle a été évaluée par trois méthodes. La première était la méthode d'incorporation de l'huile dans la gélose où une activité intéressante a été obtenue avec les deux extraits pour la concentration (15µl) dans deux milieux de culture différents (PDA, Sabouraud). La deuxième et la troisième méthode de diffusion en gélose par puis et par disques dont on a obtenu une activité importante avec les deux huiles essentielles à pourcentage (100%) en donnant successivement une zone d'inhibition de la croissance de *Microsporum canis* de diamètre de 13 mm et 12 mm avec l'HE citron et de 9 mm et 10 mm avec l'HE d'orange.

A la lumière de ces résultats on peut conclure:

- La croissance de *Microsporum canis* est plus remarquable et rapide dans le milieu Sabouraud que le milieu PDA.
- La relation entre la concentration des HE des agrumes et leur efficacité contre la souche de *Microsporum canis* est une relation directe et proportionnelle.
- La relation entre la concentration des HE des agrumes et la croissance de *Microsporum canis* est une relation inverse.
- L'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) ayant une forte efficacité et une bonne activité antifongique contre la *Microsporum canis* par rapport l'huile essentielle d'orange (*Citrus sinensis*).

En fin, cette recherche a prouvé la fiabilité des résultats et les valeurs précédemment décrits. Pour confirmer l'efficacité des HE des agrumes et leurs activités antifongiques et augmenter les perspectives de ce travail, il est souhaitable d'approfondir les investigations relatives à la mise en œuvre des effets thérapeutiques naturelles des plantes aromatiques, en développant des études permettant d'une part de limiter l'effet dangereux des dermatophytes et d'autre part d'analyser le comportement de ces HE avec des concentrations variables et leur action

antifongique contre les champignons pathogènes dans les différents domaines biologiques, chimiques et dans tout le secteur de l'industrie.

Références bibliographiques

Achoub, K., Khalid, R. (2020). Evaluation de l'activité antifongiques des huiles essentielles d'ail et argan vis-à-vis deux espèces de genre *Fusarium* : *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*. Mémoire de master: MBF. Constantine: Université Mentouri, 50p.

Adjdir, Z., Bensnoui, A. (2009). Bilan d'une Agrumeraie: cas de de la ferme pilote Moussadek Abdalkader (Remchi Wilaya de Telemcen). Mémoire d'ingénieur, Université Tlemcen, 81 p.

AFNOR. Association Française de Normalisation, Huiles Essentielles, Tome 2, Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles, 6th ed: Paris, France, 2000.

Ahoussi-Dahouenon, E., Adjou, E., Lozes, E., Yehouenou, L.; Hounye, R., Famy, N; Soumanou, M., Sohounhloue, D. (2012). Nutritional and microbiological characterization of pulp powder of locust bean (*Parkia biglobosa*) used as a supplement in infant feeding in Northern Benin. Afr. J. Food Sci, 6(9), 232–238p.

Ajello, L. (1977). Taxonomy of the Dermathophytes :A review of their imperfect and perfect ates. Sabouraudia, 13, 270 -297 p.

Amari, N. (2015). Etude phytochimique potentiel antioxydant et activité antifongique de *Thymelaea hirsuta*. Thèse de doctorat: Biotechnologie végétale. Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis, 18-20p.

ANOFEL. Association française des enseignants de parasitologie. Parasitologie, mycologie. SaintMaur: Format utile; 2002.

Badillet, G. (1991). Dermatophyties et dermatophytes 3 ème edition: atlas Clinique et biologique. Paris: Varia.

Barrère, P. (1950). Les Cahiers d'outre-mer 3: Le marché mondial de la banane. Bordeaux: institut de la France d'outre-mer. 343-369.

Baudoux, D., Breda, M., Zhiri, A. (2012). Aromathérapie scientifique: Huiles essentielles chémotypées. 1e éd. Belgique: J.O.M, 98p.

Benyad, N. (2013). Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines: Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat: Faculté de la science .Maroc: Université Mohammed V-Agdal, 36-49.

Benzeggouta, N. (2004). Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments. Thèse de doctorat: Chimie. Constantine: Université Mentouri de Constantine, 56P.

Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas M. and Gaset A. (1988).

Bioforma. Cahier de formation Biologie médical. (2004) ,31.

Boukhatem, M., Ferhat, A., Kamli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. Revue agrobiologie ,9(2), 1656-1657.

Boumidouna, A., Kouar A. (2019). Contribution à l'étude phytochimique (par chromatographie à couche mince: CCM), des activités antibactériennes et des activités antioxydantes de l'extrait des feuilles de myrte (*Myrtus Cummnis L.*) de la région du nord constantinoise. Mémoire de master: Agroalimentaire et Contrôle de Qualité. Djelfa: Université Ziane Achour, 66p.

Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riche en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduit agroalimentaire. Thèse de mémoire: Sciences Alimentaires. Alger: Ecole Nationale Supérieure Agronomique, P5-7- 8-9.

Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat en cotutelle: chimie. Marseille: université d'Avignon, 128p.

Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman ,P .E., Kinneary, J .F .(1996). The Merk Index-Twelfth edition. USA: Chapman and hall. 2350.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food and Microbiology, 94(3), 223-253.

Ch Stratakos, A., Koidis, A. (2016). Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety: Methods for Extracting Essential Oils. San Diego: Victor R Preedy.31-38.

Chabasse, D. (2008). Les dermatophytes: d'où viennent-ils? Comment sont-ils devenus des parasites?. Journal de Mycologie Médicale / Journal of Médical Mycology [en ligne], 18(1) (page consulté le 20/04/2022)

Chabasse, D., Contet-Audonneau, N. (2011). Dermatophytes et dermatophytoses. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses. 2011;8-614-A-10.

Chabasse, D., Contet-Audonneau, N., Bouchara J., Basile, A. (2008). Moisissures, dermatophytes, levures Du prélèvement au diagnostic. Marcy l'Etoile.190p.

doi:10.1016/j.mycmed.2007.12.002.

Chabasse, D., Guiguen, C., Nelly, C. (1999). Mycologie médicale. Paris: Editions Masson.324P.

Chemloul, F. (2013). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Lavandulaofficinalisde la région de Tlemcen. Mémoire: Agronomie.Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid, 5p.

Chmel, L. (1980). Zoophilic dermatophytes and infections in man. Med Mycol. 85, 61–66p.

Christian, R. (2013). Mycologie médicale. Paris : Lavoisier. Paris. 750 pages.

Contet-Audonneau, N., Leyer, C. (2010). Emergence d'un dermatophyte transmis par le cochon d'Inde et proche de Trichophyton mentagrophytes var. erinacei : T. mentagrophytes var. porcellae. 20(4), 321-325p.

Danis, M., Chabasse, D., Guiguen, C., Richard-Lenoble, D., Botterel, F., Miégevill, M. (2007). Parasitose et mycoses des régions tempérées et tropicales.Paris: Masson, 321p.

De Cliff, S., Harerimana, P. (2013). Extraction de l'Huile Essentielle Complète des Fleurs de Cananga Odorata de la Plaine de l'Imbo: Vers la Vulgarisation d'une Nouvelle Filière de Plante Industrielle au Burundi,(28),1-17.

De déchets de citron et d'orange en vue de leur volarisation. Mémoire de master: Bio-indutrie analyse et control. Constantine: Université Mentouri, 54p.

de Hoog, G.S., Dukik, K., Monod, M., Packeu, A., Stubbe, D., Hendrickx, M., Kupsch, C., Stielow, J., Freeke, J., Göker, M. (2017). Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. Mycopathologia, 182, 5–31p.

De Sousa, D.P. (2012). Medicinal Essential Oils: Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspects.UK: Nova Science Publishers. 1ère éd. 236p.

De Vroey, C. (1985). Epidemiology of ringworm (dermatophytosis). *Seminars in Dermatol*, 4(3), 185-200.

Didi, A., Yakoubi, S. (2021). Extraction analyse et encapsulation d'huile essentielle

Dorosso, A. (2002). Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Thèse de doctorat: Science physique. Université Ouagadougou.18-19.

Dufresne, P. (2021). Identification des champignons d'importance médicale. Guy St-Germain.

Dugo, G., Di giacomo, A. (2002). Citrus: The genus citrus. London: the academic division of T&F Informa plc.19-31.

Dvorac, J., Otcenasek, M. (1969). Mycological diagnosis of animal dermatomycosis. *Junk De Haag*, 57(1), 22p.

El kalamouni, C. (2010). Caractérisations chimiques d'extraits de plantes Thèse de doctorat: sciences des agroréssources. Toulouse: Université de Toulouse, 22-38.

Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. France : Société d'expansion technique et économique. 179-84.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations 2010 [en ligne]. (Page consulté le 4/03/2022).

<https://www.fao.org/faostat/en/#home>

Ferhat, M.A., Boukhatem, M.N., Chemat, F.(2016). Rapid extraction of volatile compound from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 753-781p.

Fernandez, X., Cabrol-Bass, D. (2007). Analyse des arômes, *Techniques-Ingénieur*, 10(1) ,3233P.

Feuilhade de Chauvin, M. (2005). *Dermatology and venereology*. 19(1), 1-42p. Delorme, J., Robert, A. (1997). *Mycologie médicale*. Québec: Décarie Editeur ,184p.

- Figueredo, G. (2007).** Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de doctorat: chimie organique. Franc: Université Blaise Pascal - ClermontFerrand II, 18p.
- Franchomme, P., Pénéol, D. (2001).** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois. 445p
- Georg, L. K. (1959).** Animals in public health: Diagnosis and Nature. US Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service, Bureau of State Services Communicable Disease Centre, Georgia.
- Gmitter, F., Hu, X. (1990).** The possible role of Yunnan China, in the origin of contemporary Citrus species (Rutaceae). *Economic Botany* 44,267-277p.
- Gruby, D. (1841).** Mémoire sur une végétation qui constitue la vraie teigne. Paris: C.R. Acad Sci.72–75p.
- Guignard, J. L. (2000).** Biochimie végétale. Paris: Dunod. 166p.
- Guilhem, B., Farrakh, M. (2012).** Automation of ph measurement and acid-base titration, *Le Cahier des techniques de l'INRA*, 76(2).
- Haddouchi, F., Chaouche, T., Halla, N. (2016).** Screening phytochimique activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de 4 plantes sahariennes d'algérie, 5(2), 4p.
- Hammadi, K. (2007).** Aptitude et dermatophytes dans la production des AB et leurs applications possibles. Thèse de doctorat: Microbiologie appliquée.Oran:Université d'Oran (Es-SENIA), 119p.
- Hesham, H., Abdurahman, H., Rosli, M. (2016).** Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117-127.
- Huet, R (1982).** Fruits Constituants des agrumes à effet pharmacodynamique, 46(4), 267-271p.
- Huet, R (1991).** Fruits les huiles essentielles, 46(4), 501-513p.
- Isman, M. B.; Miresmailli, S.; Machial, C. (2011).** Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture industry and consumer products. *Phytochem*, 10(2), 197–204.

Issolah, R. (2019). Congrès national sur les ressources phylogénétiques en Algérie: synthèse générale et recommandations. Recherche agronomique, 18(1), 67-81.

Kalemba, D., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, 10(10), 813-829.

Kaloustian, J., Hadji-Minaglo, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris: Edition Springer.

Khebichat, A. (2013). Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des cendres de bois du chêne vert «Kourriche ou Ballout» (Quercus ilex).Mémoire de master:Biochimie appliquée .Tlemcen: Univ de Tlemcen, P17.

Koenig, H. (1995). Guide de mycologie médicale. Paris: Editons Ellipses. 284p.

Lemesle, S. (2012). Huiles essentielles et eaux florales de Madagascar: Guide pratique d'une aromathérapie innovante; 2éme Edition; Sologne graphic; ISBN: 978-2-7466-3697-2

L'express Dz. Production d'agrumes [en ligne]. (page consulté le 20/03/2022)

<https://www.express-dz.com/2017/12/12/production-dagrumes-plus-de-13-millions-de-quintaux-enregistres-annuellement/>

MADR. Le verger agrumicol [en ligne]. (page consulté le 20/03/2022).

<http://www.inpv.edu.dz/non-classe/madrp/>

Maillet, M., Lemullois, M. (2006). Biologie cellulaire.Franc: Issy-les-Moulineaux (Hauts-de-Seine): Masson.27-35.

Masango, P. (2001). Towards understanding steam distillation of essential oils by differential quantification of principal components using capillary gas chromatography. Thèse de doctorat. United Kingdom: University of Surrey.

Meyer-Warnod, B. (1984). Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils. Perfume and Flavorist, 9(2), 93-104.

Moriello, K., DeBoer, D. (1991). Fungal flora of the coat of pet cats. Am J Vet Res. 52(4), 602-6p.

Naamoune, N., Berkat, H. (2020). Dermatophytes et dermatophyties. Mémoire de master: MBF. Constantine: Université Mentouri, 114p.

Parfonry, R. (2001). Plantes à fruits. in: raemaekers, agriculture en Afrique tropicale, direction générale de la coopération internationale, bruxelles, 555-588p.

Piochon, M. (2008). Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore

Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologique et hémi-synthèse.

Mémoire de maîtrise: Science fondamentale. Chicotimi: Université du Québec ,200.

Robert, P. (1947). Les agrumes dans le monde. Paris: institut des fruits et des agrumes coloniaux (I.F.A.C). 556p.

Sabouraud, R. (1910). Maladies du cuir chevelu 3me partie: Les teignes. Paris: Masson. 988 pp.

Seeliger, H. (1985). The discovery of *Achorion schoenleinii*. Mykosen. 28(4), 161–182 p.

Seu-Saberno, M., Blakeway, J. (1984). Le mouse de chêne, une base de la parfumerie, Pour la science, Edition Française de Scientifique American, 83.

Small, E., Catling, P.M. (2000). Les cultures médicinales canadiennes. Canada: CNRC Research Press. 4p.

STATISTA. Global fruit production in 2020 by selected variety [en ligne]. (page consulté le 3/03/2022)

<https://www.statista.com/statistics/264001/worldwide-production-of-fruit-by-variety>

STATISTA. Production of citrus fruits in algeria from 2010 to 2020 [en ligne]. (page consulté le 22/03/2022)

<https://www.statista.com/statistics/1182052/production-volume-of-citrus-fruits-in-algeria/>

Subelj, M., Marinko, J.S., Ucakar, V. (2012-2014). An outbreak of *Microsporum canis* in two elementary schools in a rural area around the capital city of Slovenia, Epidemiology and Infection. 6p.

Trad, M. (2020). Etude de l'activité biologique d'huile essentielle de *Juniperus thurifera*.
Mémoire de master: Biochimie appliquée. Biskra: Université Mohamed.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : IDIOU Nissa Dikra
BOUHADJIRA Ines

Thème: Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Citrus limon* et *Citrus sinensis* sur le dermatophyte (*Microsporum canis*)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en du diplôme de Master en Mycologie et Biotechnologie Fongique

Résumé

Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de deux fruits d'agrumes de la famille *Rutacées*: *Citrus sinensis* et *Citrus limon* récoltés en Algérie, vis-à-vis une souche fongique dermatophyte: *Microsporum canis*. Les deux huiles essentielles étudiées sont extraites par Hydrodistillation de type Clevenger à partir de zeste de citron et d'orange qui sont considérées comme les fruits les plus consommés en Algérie.

Ce modeste travail met entre les mains du lecteur, une étude simple qui traite à la fois l'évaluation de quelques indices physicochimiques de ces huiles essentielles, et ainsi leur activité antifongique sur la dermatophyte ciblée *Microsporum canis* par 3 méthodes différentes (incorporation dans la gélose, diffusion sur gélose par puits et par disques). Les résultats obtenus nous mènent à confirmer que la relation entre la concentration des HE des agrumes et leur efficacité contre la souche de *Microsporum canis* est une relation directe proportionnelle et que l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) ayant une forte efficacité et une bonne activité antifongique contre la *Microsporum canis* par rapport l'huile essentielle d'orange (*Citrus sinensis*).

Par conséquent, les huiles essentielles des agrumes peuvent aider à traiter ou on peut dire limiter l'effet de quelques dermatophytes (*Microsporum canis*) de la vie de tous les jours par leur action antifongique dans les différents secteurs.

Mots-clés:

Activité antifongique, *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, Huiles essentielles, Hydrodistillation, *Microsporum canis*.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Microbiologie (RDC), Faculté des Sciences de la Nature et de Vie. (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadrante: Melle. BELMESSIKH A. M. A. A. - UFM Constantine 1.

Examinatrice 1: Melle. ABDELAZIZ O. M. C. B. - UFM Constantine 1.

Examinatrice 2: Mme. MERGOUD L. M. A. A. - UFM Constantine 1.