



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



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

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Microbiologie

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan vis-à-vis deux espèces
d'intérêt médicale *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans***

Présenté par :

Yaiche Hadil Lina
Ynineb Yousra
Zair Aya

Le : 12 /06/2024

Jury d'évaluation:

Président : Benserradj Wafa (MCA- UFM Constantine1).

Encadrant : Zaamouchi Ahlem (MAB- UFM Constantine1).

Examineur(s) : Boufercha Oumeima (MCB- UFM Constantine1).

**Année universitaire
2023 – 2024**

Remerciements

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier tout d'abord et en premier lieu **Dieu** tout puissant qui nous a donné la force, le courage et la patience de bien mener ce travail.

Notre profonde gratitude pour notre encadreur Docteur **Zaamouchi Ahlem** qui nous a fait l'honneur de diriger notre mémoire de master.

Vous n'avez ménagé aucun effort malgré vos nombreuses responsabilités,
Merci pour vos orientations votre disponibilité et votre généreuse
Patience.

Notre remerciement s'adresse également :

A notre présidente de jury, Madame **Benserradj Wafa** MCA à l'université Constantine1. Nous vous remercions vivement d'avoir accepté de juger ce travail. Nous sommes particulièrement honorées de vous avoir vu assurer la présidence de ce jury de mémoire.

Madame **Boufercha Oumeima** MCB à l'université Constantine1. Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous avez fait d'être l'examineur de ce travail. Nous sommes très honorées d'avoir bénéficié de vos remarques et corrections et tenons à vous exprimer notre profonde gratitude.

Nous remercions en fin tout ce qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribues de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.

Dédicace

Grace a la volonté divine d'Allah notre dieu tout puissant et bien veillant
qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail, que

Je dédié !

A mes très chers parents, source de tendresse, de noblesse et d'affection
qu'Allah, le tout-puissant, vous préserve, vous accorde santé, bonheur, et
vous protège de tout mal.

A mon cher frère Amin

A mes chères sœurs Ahlem, Sofia et Rania

A mes meilleurs amies Aya, Hadil, Ilhem, Mayssa

A tous mes collègues de la promotion de Master II Microbiologie
appliquée

À tous ceux qui m'aiment et me sont chers

Congratulations 2024



Yousra

Dédicace

Je remercie tout d'abord le bon dieu qui m'a donné la force de surmonter Tout les obstacles, la patience pour passer tout les moments difficiles et la Volonté pour accomplir ce travail Du profond de mon cœur, Je dédie ce modeste travail
Aux Tire les plus chers à moi

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

Maman chérie **Nadjet**, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.

A la mémoire de mon père **Mohamed**

Puisse ton âme reposer en paix. Que Dieu, le tout puissant, te couvre de Sa Sainte miséricorde Et t'accueille dans son éternel paradis.

A mes chères sœurs **Rayene** et **Sara** et mes chères frères **Hamza** et **Bilal**
et mon bon frère **Ramzi**

A ma nièce la petite **Miral** (mimi) et mon neveu **Timou**.

A toutes mes copines Surtout mes proches **Hadil**, **Yousra** pour les bons souvenirs qu'on a passé ensemble

A tous mes collègues de la promo master 2 microbiologie appliquée

Aux personnes qui m'ont toujours encouragée et croyez en moi

Et merci a moi



Dédicace

Je tiens tout d'abord à remercier bon **DIEU** le tout puissant pour la
Volonté, la santé et la patience qui m'a donné durant
Toutes les années d'études.

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous qui me sont chers

À ma merveilleuse **mère**, la perle de ma vie, j'aimerai toujours vous remercier pour tous ce que vous avez fait pour moi jusqu'à notre jour là, aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour éternel pour vous.

Maman, reposez votre cœur, votre rêve est devenu réalité, enfin votre petite fille est devenue diplômée comme que vous avez tant imaginée et désirée.

À mon cher **père**, à celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection. Mon support qui était toujours à mes côtés pour m'encourager. Merci pour votre confiance que vous m'avez toujours accordée.

À mes chers frères **Souheil** et **Yacine**, et à ma sœur unique **Sérine** en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie d'être l'épaule sur laquelle je peux toujours compter.

À tous **mes amis** surtout mes chères copines **Aya** et **Yousra** que j'ai vécues avec elles des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

À la plus belle tante **Souad** pour son amour et sa tendresse.

À tous **mes collègues** de la promotion de Master II
microbiologie appliquée (2023 – 2024)

Hadil Lina



Congratulations 2024

RESUME

Argania spinosa une espèce rare présente dans le sud du Maroc et le sud-ouest de l'Algérie, C'est un arbre d'une grande importance écologique et économique. Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique d'huile essentielle de cette plante aromatique et médicinale vis-à-vis deux champignons à intérêt médicale. L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* est une étude pertinente dans le domaine de la recherche médicale, compte tenu de l'importance de ces souches dans les infections fongiques. En utilisant des méthodes de diffusion par puits et par disque. Les résultats relatifs aux différents diamètres d'inhibition montrent une activité inhibitrice significative observée suite aux traitements avec l'huile essentielle d'argan brut contre les deux souches. Cependant, à faibles doses (D1, D2, témoins) l'huile essentielle utilisée n'affecte pas la croissance des souches. Les résultats positifs obtenus suggérant que l'huile d'argan pourrait être utilisée comme une option thérapeutique alternative ou complémentaire dans le traitement des infections fongiques. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives dans la recherche de traitements antifongiques, mettant en lumière le potentiel des produits naturels dans la lutte contre les maladies infectieuses.

Mots-clefs: *Argania spinosa*, Activité antifongique, Huile essentielle d'argan, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

ABSTRACT

Argania spinosa, a rare species found in southern Morocco and southwestern Algeria, is a tree of great ecological and economic importance. This study focuses on the evaluation of the antifungal activity of essential oil from this aromatic and medicinal plant against two medically significant fungi. Assessing the antifungal activity of argan essential oil against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* is a relevant study in the field of medical research, given the importance of these strains in fungal infections. Using well diffusion and disc diffusion methods, the results regarding different inhibition zone diameters show significant inhibitory activity observed following treatment with raw argan essential oil against both strains. However, at low doses (D1, D2, controls), the essential oil used does not affect strain growth. The positive results suggest that argan oil could be used as an alternative or complementary therapeutic option in the treatment of fungal infections. These findings open up new perspectives in antifungal treatment research, highlighting the potential of natural products in the fight against infectious diseases.

Key Words: *Argania spinosa*, Antifungal activity, Essential oil of argan, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

ملخص

Argania spinosa نوع نادر يوجد في جنوب المغرب وجنوب غرب الجزائر، وهو شجرة ذات أهمية بيئية واقتصادية كبيرة. تركز هذه الدراسة على تقييم النشاط المضاد للفطريات لزيت الأركان الأساسي من هذه النباتات العطرية والطبية ضد فطرين ذوا أهمية طبية. يعتبر تقييم النشاط المضاد للفطريات لزيت الأركان الأساسي ضد *Candida albicans* و *Aspergillus fumigatus* دراسة ذات صلة في مجال البحث الطبي، نظرًا لأهمية هذه السلالات في العدوى الفطرية. باستخدام طرق انتشار البئر والقرص، تظهر النتائج المتعلقة بأقطار منطقة التثبيط المختلفة نشاطًا مثبطًا ملحوظًا ملاحظًا بعد العلاج بزيت الأركان الأساسي الخام ضد السلالتين. ومع ذلك، في الجرعات المنخفضة (DI) لا يؤثر الزيت الأساسي المستخدم على نمو السلالة. تشير النتائج الإيجابية إلى أن زيت الأركان يمكن استخدامه كخيار علاجي بديل أو مكمل في علاج العدوى الفطرية. تفتح هذه النتائج آفاقًا جديدة في بحوث علاج الفطريات، مما يسלט الضوء علىثباتقدرة المنتجات الطبيعية في مكافحة الأمراض المعدية.

الكلمات المفتاحية: *Argania spinosa*، نشاط مضاد للفطريات، زيت أساسي للأركان، *Candida albicans*، *Aspergillus fumigatus*.

Liste des Tableaux

Tableau 1: Classification botanique de l'arganier.....	8
Tableau 2: Taxonomie du genre <i>Aspergillus fumigatus</i>	21
Tableau 3: Classification actuelle de <i>C.albicans</i>	25
Tableau 4: Identification macroscopique de la souche <i>A.fumigatus</i>	35
Tableau 5: Identification macroscopique de la souche <i>C.albicans</i>	36
Tableau 6: Zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan et les espèces <i>A.fumigatus</i> et <i>C.albicans</i>	38

Liste des Figures

Figure 1 : Aire de Répartition d' <i>Arganiaspinosa</i> à Tindouf	4
Figure 2 : Aspect générale de l'arganier.....	4
Figure 3 : Tronc d'arganier à TouirefBouàam.....	5
Figure 4 : Les rameaux de l'arganier.	5
Figure 5 : Feuille de l'arganier.....	6
Figure 6 : Les Fleurs de l'arganier	6
Figure 7 : Les fruits de l'arganier.....	7
Figure 8 : Les racines de l'arganier.....	7
Figure 9: Schéma d'une tête aspergillaire	19
Figure 10: <i>Candida albicans</i>	23
Figure 11: Morphologie de <i>C.albicans</i> sous forme levure(A), pseudofilament(B)	24
Figure 12: Extrait d'huile d'argan.....	26
Figure 13:Etapes d'extraction traditionnelle de l'huile d'argan	27
Figure 14:Réactivation des souches fongiques	28
Figure 15 : Les souches fongiques après réactivation.....	28
Figure 16: La préparation de la suspension fongique	29
Figure 17: Préparations des concentrations d'huile d'argan	30
Figure 18: Préparation des dilutions d'huile d'argan.....	31
Figure 19: Méthode de diffusion par disque.....	32
Figure 20: Schéma représente les étapes de la méthode de diffusion par disque.	33
Figure 21: Les étapes de la méthode de diffusion par puits.	34
Figure 22: Identification microscopique de la souche <i>A.fumigatus</i>	36
Figure 23: Identification microscopique de la souche <i>C.albicans</i>	37
Figure 24: Résultats de l'activité antifongique des de l'HE sur <i>Aspergillus fumigatus</i> /5j.....	39
Figure 25: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations	39
Figure 26: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce <i>A.fumigatus</i>	40
Figure 27: Résultats de l'activité antifongique de l'HE sur <i>Candida albicans</i> /5j	40
Figure 28: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations	41

Figure 29: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce <i>C.albicans</i>	42
Figure 30: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations de l'HE sur <i>Aspergillus fumigatus</i>	42
Figure 31: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations	43
Figure 32: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce <i>A.fumigatus</i>	43
Figure 33: Résultats de l'activité antifongique de l'HE	44
Figure 34 : Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations	44
Figure 35: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce	45
Figure 36 :Étude comparative des diamètres des zones d'inhibition, en présence de différentes concentrations d'HE d'argan sur <i>A.fumigatus</i> et <i>C.albicans</i>	45

Liste des abréviations

C.albicans : *Candida albicans*

A.fumigatus : *Aspergillus fumigatus*

HE : Huile Essentielle

R: Recto

V: Verso

C° : Degré Celsius.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DO : Densité Optique

PDA : Potato Dextrose Agar

UFC : Unité Formant Colonie

NCCLS: National Committee for Clinical Standard

M : Moyenne

ECT : Écart type

Table des matières

RESUME	
Liste des Tableaux.....	I
Liste des Figures.....	II
Liste des abréviations	III
Introduction.....	1
Etude bibliographique	
Chapitre 1 : Généralités sur la plante <i>Argania spinosa</i>.....	3
1.1 Généralités sur la plante <i>Argania spinosa</i>	3
1.2 Historique.....	3
1.3 Répartition géographique	3
1.4 Etude botanique la plante <i>Argania spinosa</i>	4
1.4.1Description	4
a) Tronc	4
b) Les rameaux	5
c) Les feuilles	5
d) Les fleurs	6
e) Les fruits.....	6
f) Les racines	7
1.4.2 Classification	7
1.5 Intérêt d' <i>Argania spinosa</i>	8
1.5.1 Intérêts écologiques.....	8
1.5.2Intérêts socio-économiques	9
1.5.3Intérêts médicales	9
1.5.3.1 Huile d'argan dans la prévention des maladies neurodégénératives	9
1.5.3.2 Huile d'argan en prévention de la prolifération cancéreuse	9
1.5.3.3 Huile d'argan et diabète.....	9
1.5.3.4 Huile d'argan et arthrose	10
Chapitre 2 : Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	11
2.1 Généralités sur les huiles Essentielles	11
2.1.1 Définition	11
2.1.2 Localisation des huiles essentielles dans les plantes	11
2.1.3 Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles	11
2.2 Extraction des huiles essentielles	12
2.2.1 La distillation	13

2.2.1	Entraînement à la vapeur d'eau	13
2.2.2	Hydro-diffusion	13
2.2.3	Extraction à froid	13
2.2.4	Extraction par micro-ondes	13
2.2.5	Extraction par les solvants et les graisses	14
2.2.6	Extraction par du CO ₂ super-critique	14
2.3	Activités biologiques des huiles essentielles	14
2.3.1	Activité antivirale	15
2.3.2	Activité antibactérienne	15
□	Mode d'action contre les bactéries	15
2.3.3	Activité antiseptique	16
2.3.4	Activité anti-oxydante	16
2.3.5	Activité antiparasitaire	16
2.3.6	Activité antifongique	16
Chapitre 3 : Mycologie d'<i>Aspergillus fumigatus</i> et <i>Candida albicans</i>		18
3.1	Généralités sur les mycètes	18
3.1.1	Les Moisissures	18
3.1.2	Généralité sur <i>Aspergillus</i>	19
3.1.2.1	Caractéristiques morphologiques	19
a.	Aspect macroscopique	19
b.	Aspect microscopique	20
3.1.3	L'espèce d' <i>Aspergillus fumigatus</i>	20
3.1.3.1	Habitat	20
3.1.3.2	Aspects Morphologiques	20
3.1.3.3	Taxonomie	21
3.1.3.4	Toxicité et pouvoir pathogène	21
3.2	Généralités sur les levures	22
3.2.1	Généralité sur <i>Candida</i>	22
3.2.2	L'espèce <i>Candida albicans</i>	23
3.2.1.1	Habitat	24
3.2.1.2	Aspects Morphologiques	24
3.2.1.3	Taxonomie	25
3.2.1.4	Toxicité et pouvoir pathogène	25
<i>Matériel et méthodes</i>		
1.	Matériel	26
1.1	Matériel végétal	26
1.1.1	Préparation de l'huile d'argan	26

1.1.1.1 Récolte des fruits d'argan :	26
1.1.1.2 Extraction traditionnelle :	26
2. Microorganismes utilisés	27
2.1 Réactivation de la souche	28
3. Mise en évidence de la pureté des souches fongiques.....	29
4. Préparation de l'inoculum.....	29
4.1 Détermination de la concentration de l'inoculum par turbidimétrie	30
4.2 Préparation de concentration des huiles essentielles.....	30
5. Evaluation de l'activité antifongique.....	31
5.1 Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan sur <i>A. Fumigatus</i> et <i>C. albicans</i>	31
5.1.1 Méthode de diffusion par disque.....	32
5.1.2 Méthode de diffusion par puits	33

Résultats et discussion

1. Mise en évidence de la pureté des souches fongiques.....	35
1.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	35
1.1.1 Etude macroscopique	35
1.1.2 Etude microscopique	36
1.2 <i>Candida albicans</i>	36
1.2.1 Etude macroscopique	36
1.2.2 Etude microscopique	37
2. Détermination de l'activité antifongique.....	38
2.1 Activités antifongique estimées par la méthode des disques	38
2.1.1 Activité antifongique contre <i>Aspergillus fumigatus</i>	39
2.1.2 Activité antifongique contre <i>Candida albicans</i>	40
2.2 Activités antifongique estimées par la méthode des puits	42
2.2.1 Activité antifongique contre <i>Aspergillus fumigatus</i>	42
2.2.2 Activité antifongique contre <i>Candida albicans</i>	44
Discussion	46
Conclusion	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes.....	



Introduction

Le monde prend de plus en plus conscience du potentiel médical et économique des ressources naturelles, qui fournissent les matières premières nécessaires pour le progrès de la pharmacologie, l'industrie cosmétique et agro-alimentaire (Cheritiet *al.*, 2011). Depuis toujours, les plantes sont utilisées comme source de remèdes traditionnels sous forme de préparations (Djerrou, 2011). Environ 75-80% de la population utilise des médicaments à base de plantes pour traiter de nombreuses maladies. Ces médicaments présentent une meilleure adéquation avec le corps humain et ont moins d'effets secondaires (Nahidaet *al.*, 2015).

Les infections fongiques sont causées par différents micro-organismes et sont la cause de maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antifongiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de résistance fongique.

Le genre *Candida* est fréquemment associé à la pathologie humaine, représentant environ 83 % des infections à levures chez l'homme, avec *Candida albicans* comme espèce la plus impliquée. Les facteurs favorisants comme l'utilisation d'immunosuppresseurs, d'oestrogènes ou de corticoïdes diminuent l'immunité, favorisant la dissémination endogène depuis le tube digestif vers d'autres parties du corps. En revanche, *Aspergillus fumigatus* est principalement incriminé dans 90 % des cas d'infections humaines et animales. Cette espèce démontre une adaptation particulière au parasitisme chez l'homme, nécessitant des conditions favorables telles que des cavités préexistantes ou une immunodépression induite par des interventions médicales lourdes.

Un grand nombre des plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en agronomie dans le cadre de la lutte biologique contre les agents phytopathogènes, médecine, pharmacie et autres.

Parmi les plantes les plus populaires, ayant des propriétés cosmétique-médicinales l'arganier, un arbre endémique des zones aride et semi-aride, très importantes grâce à ses caractéristiques thérapeutiques due à leurs huiles végétales, l'huile d'argan. Cette huile a une grande importance dans le monde, grâce à leur intérêt écologique, économique, phyto-thérapeutique et cosmétique.

La présence d'huile essentielle dans les plantes explique ces propriétés antimicrobiennes.

Les huiles essentielles sont des composés parfumés concentrés, extraits de plantes par élimination à la vapeur d'eau, hydrodistillation ou pression à froid. Au XVIe siècle, le

médecin suisse Paracelsus von Hohenheim a créé le mot "huile essentielle" afin de désigner le principe actif d'un remède naturel. Environ 3000 huiles sont actuellement disponibles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, principalement pour l'industrie des arômes et des parfums. Cependant, l'actuelle tendance des consommateurs à privilégier une alimentation plus naturelle (Cailletet Lacroix, 2009).

Les huiles essentielles ont des effets antimicrobiens bien établis et leur utilisation en tant que "microbiocide" est devenue une véritable alternative aux antibiotiques et antimicrobiens synthétiques ou hémi-synthétiques (Aouniet *al.*, 2013).

La présente étude a été entreprise afin d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan vis-à-vis deux souches d'intérêt médicale *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*.

Etude bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur la plante *Argania spinosa*

1.1 Généralités sur la plante *Argania spinosa*

L'arganier vient du mot arabe «Argan», d'origine berbère «irgen» qui désigne «tachelhait», qui est le noyau en bois dur de fruit de l'arbre. (Rouhi, 1991).

Les Berbères du Maroc appellent l'arganier ardján ou bien encore argândoù ils tirent une huile réputées : huile d'argan. Selon Ibn-Al-Baytar l'huile d'arganier, c'est une huile qui vient du pays des Nègres, qu'elle est très échauffante et qu'on l'emploie contre les maladies de nature froide (Ibn-Al-Baytar, 1881 traité des simples pages 230, 231).

1.2 Historique

L'arganier est très anciennement connu et utilisé par l'homme, au Xème siècle, auraient utilisé l'huile qu'il produit dans leur comptoir installé le long de la côte atlantique (Kenny et De Zborowski, 2007). L'histoire de l'exploitation et de l'utilisation de l'arganier pendant les premiers temps a été documentée par très peu de sources arabes écrites (Ruas *et al.*, 2016). Les savants et les géographes arabes, notamment Ali-Ibn Roudhouan, El Beckri et El Idrissi, sont les premiers à avoir mentionné l'existence de l'arganier aux Xème, XIème et XIIème siècles (M'heritet *al.*, 1998).

En 1219, Ibn-Al-Baytar a décrit dans son ouvrage « Traité des simples » l'arganier comme « un arbre de haute taille, épineux, donnant un fruit du volume d'une amande et contenant un noyau que l'on recueille, que l'on triture et on extrait l'huile pour l'employer dans les préparations alimentaires ».

En 1515, Hassan El Wazzam dit le Léon l'Africain évoque dans son livre 'Description de l'Afrique, l'existence d'arbres épineux produisant un fruit dénommé «Argan» à partir duquel on extrait une huile servant pour l'alimentation et l'éclairage.

En 1999, l'UNESCO a ajouté cet arbre à la liste de l'héritage mondial (Moroco Guide).

1.3 Répartition géographique

En Algérie, l'*Argania spinosa* est principalement présente dans le Nord-Ouest de la wilaya de Tindouf, couvrant une zone géographique relativement étendue. On la retrouve principalement le long des lits de certains oueds tels que l'Oued El-ma, l'Oued Elghahouane, l'Oued Bouyadhine, l'Oued El-khebi, l'Oued Merkala et l'Oued Targant. Ces cours d'eau forment un réseau dispersé qui s'écoule vers de petites dépressions entre les gorges de

Hamadienne du Drâa, les falaises de K'reb El-hamada et la dépression du Nord de Tindouf (Lotfi *et al.*, 2015).

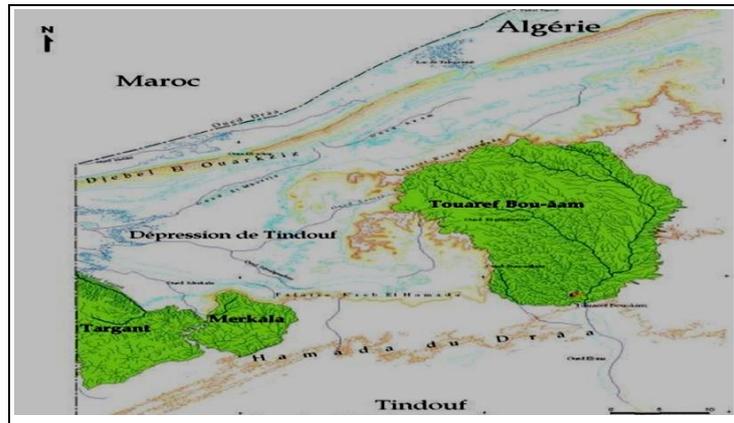


Figure 1 : Aire de Répartition d'*Argania spinosa* à Tindouf (Algérie)

(Source : Conservation des Forêts Wilaya Tindouf, étude 2013).

1.4 Etude botanique la plante *Argania spinosa*

1.4.1 Description

L'arganier est un arbre épineux qui peut atteindre une hauteur de 8 à 10 mètres, et son polymorphisme est remarquable. Parfois, il arbore une allure majestueuse semblable à un chêne, tandis que d'autres fois, son tronc noueux et ses branches le font ressembler à un olivier (Wagret, 1962). (Jaccard, 1926). (Emberger, 2009).



Figure 2 : Aspect générale de l'arganier (Ziani, 2014).

a) Tronc

À maturité, l'arganier présente un tronc court et tortueux, avec une couronne très étendue, à moins qu'il ne soit endommagé par des mutilations ou l'activité des troupeaux. Il peut mesurer entre 8 et 10 mètres de haut. Le tronc de l'arganier est sinueux et généralement

composé de plusieurs tiges entrelacées. L'arganier a un bois extrêmement dur et dense, ainsi qu'une écorce rugueuse qui se fissure en motifs rappelant la peau de serpent (Benkhaira, 2009).

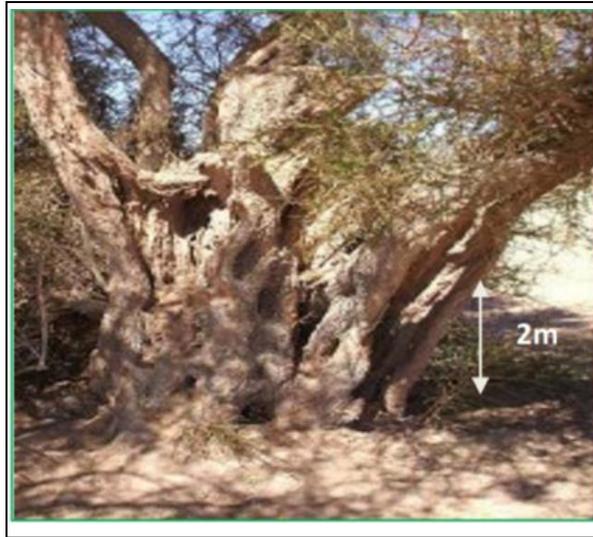


Figure 3: Tronc d'arganier à Touiref Bouàam (Djied, 2011).

b) Les rameaux

Les rameaux de l'arganier sont pourvus de petites feuilles, qui sont longues et continuent de croître, tandis que les extrémités courtes se terminent par une pointe épineuse (Tonelli et Gallouin, 2013).



Figure 4: Les rameaux de l'arganier (Radi.2003).

c) Les feuilles

Les feuilles de l'arganier sont de petite taille, coriaces et d'un vert foncé sur leur face inférieure. Elles sont disposées de manière alternée, souvent regroupées en fascicules, et ont une forme lancéolée ou spatulée qui se rétrécit progressivement en un pétiole plus ou moins distinct. Elles présentent une nervure médiane bien marquée et des nervures latérales très

fines et ramifiées. Le feuillage de cette plante est généralement persistant, bien que lors de périodes de sécheresse sévère, l'arbre puisse perdre ses feuilles partiellement ou complètement (Radi, 2003).



Figure 5 : Feuille de l'arganier (Kechebar 2016).

d) Les fleurs

Les fleurs de l'arganier sont monoïques, avec des fleurs hermaphrodites. Les inflorescences se présentent en glomérules axillaires, composées chacune de 5 sépales pubescents succédant à 2 bractées. La corolle en cloche est formée de 5 pétales arrondis de couleur blanche ; les étamines au nombre de 5 ont des filets courts et portent une grosse anthère mucronée ou obtuse. L'ovaire, pubescent et supère, est surmonté d'un style court et conique, qui peut dépasser ou être de la même longueur que les étamines (M'herit, 1987).



Figure 6 : Les Fleurs de l'arganier (Kechebar 2016).

e) Les fruits

Les fruits de l'arganier, dont la morphologie a été étudiée dans de nombreux travaux (Embergi, 1938, 1960), sont des baies sessiles composées d'un péricarpe charnu ou pulpe et d'un pseudo endocarpe contenant les graines. Les graines sont généralement fusionnées et

leur nombre peut varier d'une à plusieurs par noyau. On distingue six types de fruits selon leur forme et leur taille : fusiforme, ovale, apiculé, goutte, arrondie et globuleuse. La production de fruits varie en fonction de l'âge de l'arbre, de la densité de peuplement, du milieu environnant et de la pluviométrie (Radi, 2003).



Figure 7 : Les fruits de l'arganier (El Monfaloutiaet al., 2013).

f) Les racines

Les racines de l'arganier se caractérisent par un système pivotant bien développé, capable de s'enfoncer jusqu'à 30 mètres de profondeur. Cette particularité lui permet d'accéder aux sources d'eau souterraines, un atout précieux dans les zones arides (Djemaa et Belkacem, 2016).



Figure 8 : Les racines de l'arganier (Montuuis, 2010).

1.4.2 Classification

Dans un premier temps, Linné (1737) dénomme l'arganier *Sideroxylon spinosum*. L ; puis Røemer et Schultes ont dénommé l'arganier

Arganiasideroxyton, d'après son nom arabe et berbère qui est Argan et le nom de sideroxyton se justifie par le bois de l'arbre qui est extrêmement dur (Benaouf, 2017).

L'arganier, également connu sous le nom scientifique d'*Arganiaspinosa*. Skeels, est la seule espèce du genre *Argania*, qui fait partie de la famille des Sapotacées, comprenant environ 600 espèces et 40 genres (M'Hiritet *al.*, 1998).

Sa classification botanique se présente comme suit (Tableau 1) :

Tableau 1: Classification botanique de l'arganier (Badreddine, 2016).

Embranchement	Phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Ebenales
Famille	Sapotacées
Genre	<i>Argania</i>
Espèce	<i>Arganiaspinosa</i>
Nom vernaculaire	Argan (en Berbère), L'olivier du Maroc, Arbre de fer.

1.5 Intérêt d'*Argania spinosa*

L'arganier est une plante polyvalente. Chaque partie de l'arbre peut être utilisée et offre à l'utilisateur une source de revenu ou de nourriture. Les autochtones le considèrent comme l'arbre à toutes les utilisations. Effectivement, il peut avoir différentes fonctions : écologique, économique et sociale (Charrouf et Guillaume, 2007).

1.5.1 Intérêts écologiques

L'arganier a un rôle essentiel dans la préservation de l'équilibre écologique. En raison de son système racinaire puissant, il joue un rôle essentiel dans la préservation du sol et aide à combattre l'érosion hydrique et éolienne qui représente une menace de désertification. En outre, grâce à son rôle d'ombrage et d'amélioration du sol, il peut favoriser une production agricole considérable dans les conditions climatiques actuelles. Enfin, sa présence est directement liée à de nombreux organismes vivants (faune, flore et microflore). L'arganier disparaîtrait inévitablement avec plusieurs espèces, ce qui entraînerait une réduction de la biodiversité dans la région, entraînant ainsi une diminution du patrimoine génétique, tant pour l'arbre que pour les autres espèces animales, végétales ou microbiennes (Radi, 2003).

1.5.2 Intérêts socio-économiques

L'arganier joue un rôle essentiel sur le plan socio-économique. Le cas du Maroc dans ce domaine est très instructif. Effectivement, l'environnement « arganier » semble étroitement lié à la vie quotidienne des habitants de la région grâce aux produits qu'il offre. Selon Charrouf (2002), son bois produit un charbon de qualité, mais son principal atout réside dans son fruit qui produit de l'huile d'argan, principale source d'alimentation des populations, ainsi que dans son feuillage qui sert à la nourriture des animaux pendant une grande partie de l'année. L'arganier permet ainsi de subvenir aux besoins d'environ trois millions de personnes (Charrouf et Dubé, 2000).

1.5.3 Intérêts médicales

1.5.3.1 Huile d'argan dans la prévention des maladies neurodégénératives

L'huile d'argan, riche en tocophérols et esthrocophérols, montre des effets protecteurs contre les maladies neurodégénératives. Les composants de l'huile, agissant en synergie, offrent des bénéfiques neuroprotecteurs significatifs, surpassant ceux obtenus par les composants isolés. Des études confirment que les stérols présents dans l'huile aident à prévenir la progression de maladies chroniques comme la maladie d'Alzheimer en réduisant le stress oxydatif. L'objectif de la recherche est d'identifier des molécules naturelles nutritionnelles pour prévenir cette toxicité (Badreddine, 2016).

1.5.3.2 Huile d'argan en prévention de la prolifération cancéreuse

Une étude a montré que les composés phénoliques de l'huile d'argan inhibent la prolifération de trois lignées de cellules épithéliales de prostate, comparativement à un témoin positif, le Permixon, reconnu pour ses effets anti-prolifératifs (Bennani, 2007). Les polyphénols de l'huile d'argan présentent des effets inhibiteurs variables sur la prolifération cellulaire. Grâce à sa composition unique en acides gras polyinsaturés et en composants insaponifiables (polyphénols, stérols, tocophérols), l'huile d'argan est une source précieuse d'antioxydants et possède des qualités diététiques exceptionnelles (Bennani, 2007).

1.5.3.3 Huile d'argan et diabète

Des études ont montré que l'extrait de l'huile de noyau d'*Argania spinosa* a des effets antihyperglycémiques sur des rats normaux et diabétiques soumis à une surcharge de glucose. Une étude spécifique a utilisé un mélange contenant 20% d'huile d'argan vierge marocaine et des herbes (1% ThAE, *Thymelaeahirsuta*, et 1% UDAE, *Urticadioica*) dans 78% d'eau potable commerciale. Ce mélange a été testé sur des rats normaux pour étudier l'effet de

l'huile d'argan sur la glycémie. Les résultats ont démontré que l'huile d'argan réduit efficacement l'hyperglycémie chez les rats diabétiques et normaux (Bsaitietal., 2016).

1.5.3.4 Huile d'argan et arthrose

Une étude menée chez 149 individus souffrant d'arthrose a montré qu'après 8 semaines de consommation d'huile d'argan, le groupe étudié a observé une diminution très importante de la douleur ainsi qu'une amélioration du score de la douleur et de la marche. Cette étude plus approfondie pourrait donc être utilisée comme un moyen curatif pour soulager la douleur liée à l'arthrose. Toutefois, l'utilisation de l'huile d'argan a démontré son efficacité pour améliorer les symptômes cliniques des patients atteints d'arthrose du genou, selon l'évaluation.

Il serait nécessaire d'effectuer d'autres recherches afin de vérifier un effet potentiel pour prévenir l'arthrose ou l'arthrose (Essouiriet al., 2015).

Chapitre 2 : Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

2.1 Généralités sur les huiles Essentielles

2.1.1 Définition

D'après la Commission de la Pharmacopée Européenne Huiles Essentielles: « Une huile essentielle est un produit parfumé, généralement de composition complexe, fabriqué à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par l'utilisation de la vapeur d'eau, soit par la distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage ». La plupart du temps, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par un procédé physique qui ne modifie pas significativement sa composition (Gaborieau, 2015).

L'huile essentielle est une substance extraite des plantes appelées plantes aromatiques, qui renferment dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces ou racines un grand nombre de molécules aromatiques, qui forment les principes essentiels des plantes. Les huiles essentielles sont des produits à base d'huile, généralement fluides, voire résineux, très parfumés, volatils et souvent colorés : du jaune pâle au rouge foncé voire brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles ont une légèreté supérieure à celle de l'eau (densité comprise entre 0,750 et 0,990). Ces essences peuvent être dissoutes dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et la plupart des solvants organiques, mais elles ne peuvent pas être dissoutes dans l'eau. (Bardeau, 2009).

2.1.2 Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles sont présentes dans différentes familles botaniques et se trouvent dans toutes les parties vivantes de la plante (Belkouet *al.*, 2005). Ces dernières sont produites par des glandes sécrétrices présentes sur pratiquement toutes les parties de la plante. Certaines cellules les sécrètent dans le cytoplasme ou se regroupent sous forme de petites gouttelettes, comme la plupart des substances lipophiles (Bouameretal., 2004).

2.1.3 Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont toujours un point d'ébullition supérieur à 100°C et dépendent de leur poids moléculaire. Par exemple, les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont respectivement de 260°, 230°, 228° et 156°C, tandis que d'après Valnet (1984), ce point varie de 160°C à 240°C. la majorité de ces sources de lumière se transforment en lumière polarisée (Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Desmares *et al.*, 2008). Parfois, elles ont un aspect gras ou huileux, mais ce ne sont pas des substances

grasses. Elles peuvent être évaporées pour revenir à l'état de vapeur sans laisser de traces, contrairement aux huiles fixes (olive, tournesol...) qui ne sont pas volatiles et laissent une trace grasse persistante sur le papier (Bernadet, 2000).

La majorité des huiles essentielles absorbent de l'oxygène lorsqu'elles sont exposées à l'air (Jacob, 1867).

Effet Antibactérienne : Les huiles essentielles les plus efficaces sont celles qui contiennent des molécules provenant des monoterpènes et du groupe de phénol (Catherine, 2015).

Effet Antiparasitaires : Les molécules aromatiques qui contiennent des phénols ont une efficacité élevée contre les parasites (Florence, 2012).

Effet Antifongique : Les huiles essentielles les plus performantes en matière d'antifongique sont celles qui contiennent des composés de la famille des alcools et des sesquiterpènes (Catherine, 2015).

Effet Antiseptiques : On retrouve fréquemment des propriétés antiseptiques et désinfectantes dans les huiles essentielles qui contiennent des aldéhydes ou des terpènes (Florence, 2012).

2.2 Extraction des huiles essentielles

Différentes techniques sont utilisées pour extraire les huiles essentielles. La méthode la plus appropriée est sélectionnée en tenant compte de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'utilisation de l'extrait et de l'arôme initial lors de l'extraction. Les principales méthodes d'extraction sont :

- ✓ La distillation à la vapeur saturée
- ✓ Entraînement à la vapeur d'eau
- ✓ L'hydrodiffusion
- ✓ L'extraction à froid
- ✓ Extraction par solvants
- ✓ Hydrodistillation
- ✓ Extraction par les corps gras
- ✓ Extraction par micro-ondes

Quel que soit le type d'extraction utilisé, les étapes d'extraction des huiles essentielles d'origine végétale demeurent les mêmes. La première étape consiste à extraire les molécules

aromatiques qui composent l'huile essentielle de la matière végétale, puis à les séparer du milieu par distillation (Lucchesi, 2005).

2.2.1 La distillation

Le principe de la distillation est utilisé dans trois procédés : l'hydro-distillation, l'hydro-diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau :

Hydro-distillation

À l'époque où le matériau végétal est plongé dans l'eau, le tout étant mis à feu. On condense les vapeurs dans un réfrigérant. Après refroidissement, il est possible de séparer les huiles essentielles en les décantant (Brunton, 1993 ; Paris *et al.*, 1976).

La prolongation et la puissance excessive du chauffage provoquent la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

2.2.1 Entraînement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode de distillation, on dispose du matériau végétal sur une grille perforée à travers laquelle la vapeur d'eau passe. Les cellules végétales sont endommagées par la vapeur qui libère les molécules volatiles qui sont ensuite dirigées vers le réfrigérant.

2.2.2 Hydro-diffusion

Cette méthode relativement récente implique de faire circuler la vapeur d'eau de haut en bas et à une pression réduite à travers une matrice végétale. Cette méthode présente des avantages en améliorant à la fois la quantité et la qualité de l'huile essentielle (Bassereau *et al.*, 2007).

2.2.3 Extraction à froid

On fait fréquemment appel à cette technique pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Il fonctionne en brisant automatiquement les poches à essences. On procède à la séparation de l'huile essentielle en décantant ou en centrifugeant. Il existe des machines qui détruisent les poches par dépression et collectent directement l'huile essentielle, ce qui permet d'éviter les dégradations causées par l'action de l'eau (Chaintreau *et al.*, 2003)

2.2.4 Extraction par micro-ondes

Au début des années 1990, une nouvelle méthode, connue sous le nom d'hydro-distillation par micro-ondes, est née. Dans cette méthode, on chauffe la matière végétale à

l'aide de micro-ondes dans une enceinte fermée où la pression est progressivement réduite. La vapeur d'eau produite à partir de l'eau propre à la plante attire les composés volatils. Par la suite, ils sont récupérés en utilisant les méthodes traditionnelles de condensation, de refroidissement et de décantation. Cette méthode permet d'économiser du temps (le temps d'extraction est réduit de 5 à 10min) et de l'énergie (la température est réduite). L'extraction par micro-ondes de deux kilos de Mentapiperita permet d'obtenir 1% d'huile essentielle en 15 minutes, tandis que l'hydro-distillation nécessite deux heures pour obtenir un rendement équivalent à partir de la même quantité de plante (Mengalet *al.*, 1993).

2.2.5 Extraction par les solvants et les graisses

Ces extraits sont obtenus à partir de solvants non aqueux. Il peut s'agir de solvants couramment employés en chimie organique tels que l'hexane, l'éther de pétrole, ainsi que des graisses et des huiles (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras).

Ces solvants ont une capacité d'extraction supérieure à celle de l'eau, ce qui signifie que les extraits ne renferment pas seulement des composés volatils, mais aussi de nombreux composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richarset *al.*, 1992). En ce qui concerne les extraits utilisant des corps gras, un lavage à l'éthanol permet de supprimer ces composés indésirables. On refroidit la solution alcoolique obtenue jusqu'à -10°C afin de séparer les cires végétales qui se solidifient (Proust, 2006).

L'utilisation de solvants organiques pour l'extraction soulève des problèmes de toxicité (Bruneton, 1999).

2.2.6 Extraction par du CO₂super-critique

Le bénéfice de cette méthode réside dans la combinaison des caractéristiques des gaz et des liquides pendant l'extraction, ce qui permet de minimiser les processus de dégradation potentiels tels que l'oxydation ou l'isolement, grâce à la réduction du temps d'extraction (Piochon, 2008).

2.3 Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont employées dans le domaine de la phytothérapie en raison de leurs multiples propriétés biologiques qui sont étroitement liées à la nature de leurs composants et aux catégories ou fonctions chimiques qu'elles renferment.

2.3.1 Activité antivirale

Selon Moro-Buronzo(2008), les virus sont extrêmement vulnérables aux composés aromatiques présents dans les huiles essentielles. Les composés hydroxyliques (phénol et monoterpénol) sont les plus efficaces dans la lutte contre les virus. Des études ont été menées par différents laboratoires pour évaluer le pouvoir virulicide des huiles essentielles, y compris le laboratoire de virologie de Toulouse, qui a testé l'huile essentielle de *Melaleuca quinquenervia cinnamifera* (niaouli) sur le virus de l'Herpes. Une fois que le contact a duré 15 minutes *in vitro*, l'activité virulicide se manifeste par une diminution de plus de 40 000(Penntybio, consulté le 04 /05/2024).

2.3.2 Activité antibactérienne

Les bactéries sont présentes dans notre environnement dans un monde bactérien très vaste. Elles jouent de nombreuses fonctions à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux ; elles sont actives. Chapitre II Analyse de certaines huiles essentielles avantageuses (par exemple, les bactéries fertilisantes du sol), tandis que d'autres peuvent causer des infections chez les plantes, les animaux et même chez l'homme (Khiati, 1998).

Les HE influencent la prolifération des bactéries. Elles effectuent leur action en restreignant leur prolifération, leur sporulation et la production de leurs toxines. Actuellement, ces dernières suscitent une grande attention car elles ont démontré une activité contre les pathogènes résistants aux antibiotiques, comme les staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM), les β -Lactamases à spectre élargi (BLSE) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (Tohidpouret *al.*, 2010 ; Warnkeet *al.*, 2013).

Mode d'action contre les bactéries

Les huiles essentielles ont différentes façons d'agir sur les diverses souches de bactéries, mais en général, elles agissent en trois étapes :

- L'huile essentielle s'attaque à la paroi bactérienne, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité et la perte des composants cellulaires.
- La cellule est acidifiée à l'intérieur, ce qui entrave la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Altération du contenu génétique, entraînant la disparition de la bactérie(Caillet et Lacroix, 2009).

2.3.3 Activité antiseptique

La majorité de ces huiles sont utilisées en raison de leurs propriétés antiseptiques contre les maladies vis-à-vis des agents pathogènes microbiens (Roux-Sitruk *et al.*, 2008).

Plusieurs composés sont mentionnés comme étant responsables des propriétés antiseptiques des huiles essentielles : le thymol, le Carvacrol, le cinnamaldéhyde et l'eugénol (Richard, 2008). L'effet des composants Antimicrobiens contenus dans les HE dépendent du pH de l'aliment, le type et le nombre des Microorganismes contaminants ainsi que le type et la concentration du composant Antimicrobien (Negi, 2012).

2.3.4 Activité anti-oxydante

Nombreuses huiles essentielles, telles que les huiles de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, ont un effet antioxydant (Mantle *et al.*, 1998 ; Kariotiet *et al.*, 2006). Certains groupes fonctionnels, tels que les alcools, les éthers, les cétones et les aldéhydes monoterpéniques, sont responsables de cette activité, tels que le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol, le citronellal, ainsi que certains monoterpènes tels que le γ -terpinène et l' α -terpinolène (Edris, 2007). On utilise le pouvoir antioxydant des huiles essentielles comme alternative dans la préservation des aliments.

2.3.5 Activité antiparasitaire

Belhassan et ses collègues ont examiné l'activité antiparasitaire de l'huile essentielle d'argan dans leur article intitulé « L'activité antiparasitaire de l'huile essentielle d'argan contre les protozoaires parasites », publié dans le Journal des maladies parasitaires en 2018. Les chercheurs ont étudié l'impact de l'huile essentielle d'argan extraite des graines d'*Argania spinosa* sur des parasites protozoaires. Les résultats ont montré une activité antiparasitaire importante de l'huile essentielle envers les protozoaires examinés (Belhassan *et al.*, 2018).

2.3.6 Activité antifongique

Dans le secteur phytosanitaire et agro-alimentaire, il serait également possible d'utiliser les huiles essentielles ou leurs composés actifs comme agents de défense contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes qui envahissent les denrées alimentaires (Lis-Balchin, 2002).

Différentes recherches ont examiné l'effet des huiles essentielles sur les champignons. Selon Giordani et Kaloustian (2006), l'effet antifongique des huiles essentielles se manifeste

par une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, suivie d'une rupture de celle-ci, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort du champignon. Effectivement, les huiles essentielles contiennent des composés terpéniques, notamment leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes, qui interagissent avec les enzymes membranaires et altèrent la membrane plasmique des champignons.

Par ailleurs, Sharma et Tripathi (2006) ont examiné la manière dont l'huile essentielle de *Citrus cinensis* agit. Sa richesse en limonène (84,2%) a été observée chez *Aspergillus niger* et des altérations morphologiques au niveau du mycélium ont été observées sévèrement détruit, ceci est due à l'absence du cytoplasme.

La cause de ces modifications peut être liée à l'interaction des composants de l'huile essentielle avec les réactions enzymatiques de la proie, ce qui influence la structure du champignon et sa vitalité. La destruction du mycélium existant et l'inhibition de la formation du nouveau mycélium peuvent être causées par le mécanisme fongicide (Böhme *et al.*, 2014).

De plus, des études ont démontré que les huiles essentielles ont la capacité d'empêcher la germination des spores. Il a des effets génotoxiques sur les cellules fongiques et interdit le développement des spores (Sant'Anna *et al.*, 2014).

La perméabilité de la membrane plasmique augmente lors de l'action antifongique des huiles essentielles, ce qui entraîne une rupture de celle-ci, ce qui entraîne une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Mann *et al.*, 2000)

Selon Giordani et Kaloustian (2006), les composés terpéniques des HE, en particulier leurs groupements fonctionnels phénoliques et les aldéhydes, interagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Makhloufi, 2010).

Chapitre 3 : Mycologie d'*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*

3.1 Généralités sur les mycètes

Les champignons (fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, riche en 120000 espèces, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptés au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Senalet *al.*, 1993 ; Kirk *et al.*, 2001).

Ils représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystème (Mueller et Schmit, 2007).

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes, aérobies strictes et rarement anaérobies, Ayant un métabolisme hétérotrophe car ils tirent leur énergie de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles disponibles dans leur environnement ; Ils peuvent êtres uni-ou Pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques et d'autres microscopiques, d'aspect filamenteux ou lévuriforme(Mathew, 1995 ; Leveau et Bouix, 1993 ; Tortora *et al.*,2003 ; Tabuc, 2007).En effet, les champignons se développent dans des conditions légèrement acides, avec un pH compris entre 3 et 7, et à une température optimale entre 20°C et 30°C. Cependant, certaines espèces sont adaptées aux températures très basses, inférieures à 15°C, voire parfois en dessous de 0°C (Botton *et al.*, 1990 ; Guiraud, 1998 ; Tortora *et al.*, 2003). Ils appartiennent au groupe des thallophytes, caractérisés par l'absence de feuilles, de tiges et de racines (Bouchet *et al.*, 1999 ; Boiron, 1996). De plus, ils sont non chlorophylliens, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas produire leur propre matière organique à partir du dioxyde de carbone atmosphérique, contrairement aux plantes (Bouchet *et al.*, 2005).

3.1.1 Les Moisissures

Le mot « moisissure » fait référence à tous les champignons microscopiques, filamenteux et pluricellulaires du règne des mycètes, communément appelés les « vrais » champignons ou Eumycètes (Regnault, 1990 ; Chasseur et Nolard, 2003).

Ce sont des organismes sans chlorophylle qui dépendent des autres pour se nourrir et qui ne peuvent pas se déplacer. Certains vivent en partenariat avec les plantes, tandis que d'autres sont des parasites des plantes, provoquant diverses maladies telles que la pourriture grise de la vigne, l'ergot du seigle, la rouille du blé, etc. Certains se développent sur des déchets organiques ou des produits alimentaires en tant que saprophytes, tandis que d'autres peuvent causer des infections chez les humains, appelées mycoses (Leclerc *et al.*, 1995 ; Benkakouz, 2002 ; Chasseur et Nolard, 2003).

3.1.2 Généralité sur *Aspergillus*

Le genre *Aspergillus* désigne un groupe de champignons imparfaits (Deutéromycètes) comprenant environ 180 espèces, qui appartiennent à la branche des Ascomycota (Caillaud *et al.*, 2006). Ce genre appartient à la classe des Ascomycètes. Son thalle, peut être hyalin ou coloré, présente un réseau de mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Chermette et Bussiéras, 1993).

Aspergillus compte environ 185 espèces réparties en 18 groupes qui sont morphologiquement, génétiquement et physiologiquement similaires (Roquebert, 1998). Environ une vingtaine de ces espèces sont associées à des maladies chez les animaux et les humains. Les *Aspergillus* sont largement répandus géographiquement, mais sont plus fréquemment trouvés dans les régions à climat chaud (Pfohl-Leszkowicz, 1999).

3.1.2.1 Caractéristiques morphologiques

La description des *Aspergillus* repose sur leur morphologie, en mettant particulièrement l'accent sur la couleur des colonies, l'apparence des têtes *Aspergillaires*, la forme des conidies et des conidiophores (Rapper et Fennell, 1965 ; Samson *et al.*, 2006). Cette description est également étayée par l'analyse moléculaire de la séquence de certains gènes, notamment les ITS, la bêta-tubuline et la calmoduline (El Maghubiet *al.*, 2013 ;Adjoviet *al.*, 2014 ; Carvajal-Campos *et al.*, 2017).

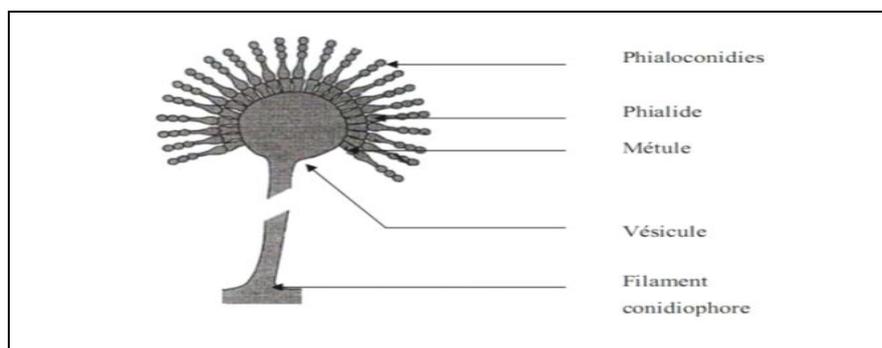


Figure 9: Schéma d'une tête aspergillaire (modifié d'après Chermette et Bussiéras, 1993).

a. Aspect macroscopique

Les *Aspergillus* sont des champignons filamenteux qui montrent une croissance rapide sur divers milieux de culture traditionnels tels que la gélose au malt, le CzapekYeast Agar, le YES agar et le Malt salé. Après 48 heures d'incubation, des colonies plates se forment, composées de courts filaments aériens blancs ; après 96 heures, ces colonies prennent leur couleur caractéristique, pouvant être brune, verte, jaune ou noire selon l'espèce (Tabuc, 2007).

Les colonies d'*Aspergillus* sont souvent poudreuses ou granuleuses. Bien que la couleur des colonies puisse parfois aider à l'identification, comme le blanc pour *Aspergillus candidus*, l'ocre pour *Aspergillus ochraceus*, le noir pour *Aspergillus niger* et des tons verts pour d'autres espèces telles que *Aspergillus glaucus* et *Aspergillus flavus*, une identification précise des espèces morphologiquement similaires nécessite un examen microscopique approfondi (Joya, 2019).

b. Aspect microscopique

Les *Aspergillus* se caractérisent par un thalle végétatif constitué de filaments mycéliens hyalins, fins et réguliers, septés et ramifiés. L'identification de ce genre repose sur l'observation microscopique des têtes Aspergillaires présentes sur les colonies. Sur le mycélium d'*Aspergillus*, des filaments dressés non cloisonnés, appelés conidiophores, émergent.

Ces conidiophores se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont attachées des cellules conidiogènes appelées phialides. Les phialides peuvent être portées par de petits articles appelés métules ou être directement insérées sur les vésicules. La conidiogenèse, qui correspond à une reproduction asexuée, se produit selon un mode blastique phialidique, par bourgeonnement à l'apex des phialides. Les conidies restent attachées les unes aux autres en chaîne ramifiée, la plus jeune étant à la base de la chaîne, à côté de la phialide (Chabasse *et al.*, 2002, 2008).

3.1.3 L'espèce d'*Aspergillus fumigatus*

Aspergillus fumigatus est l'un des filamenteux les plus répandue et l'une des espèces les plus fréquentes dans l'environnement. Il est généralement présent dans le sol, les déchets organiques et les débris végétaux (Latge, 1999).

3.1.3.1 Habitat

A. Fumigatus représentée le plus fréquemment chez les patients et responsable de 90 % des cas d'aspergillose invasive (AI), elle se rencontre aussi bien dans les régions chaudes que froides du monde. Son excellente résistance aux hautes températures explique sa présence fréquente dans les composts et autres matières organiques où des phénomènes de décomposition avec élévation thermique se produisent (silos à grains, foin en balles, bagasse) (Anderson *et al.*, 1996 ; Morin, 2003).

3.1.3.2 Aspects Morphologiques

Les colonies d'*Aspergillus fumigatus* se développent rapidement (environ 4 cm en 3 jours à une température de 25-37 °C). Elles ont une apparence de gazon blanc, puis de vert ou de gris, puis d'un brun sombre avec une apparence de fumée. Le revers est de couleur foncée (Schmidt et Wolff, 1997). *Aspergillus fumigatus* présente une tête conidienne unisériée, en colonne compacte, d'abord bleu-vert, puis vert-bronze. Le conidiophore a une longueur de 300 à 500 µm, lisse et vert, et il s'élargit sans aucun effet au sommet en une vésicule sub-hémisphérique. La vésicule a un diamètre de 20 à 30 µm, est verte et fertile dans sa partie supérieure. La forme des phialides est allongée, dense, verte, avec une longueur de 6 à 8 µm et un diamètre compris entre 2 et 3 µm. Les conidies présentent une forme globuleuse, mesurant de 2,5 à 3 µm de diamètre, et sont échinulées (Botton *et al.*, 1990).

3.1.3.3 Taxonomie

Aspergillus est un genre de la famille Trichocomaceae de l'ordre Eurotiales de la classe Plectinomycetes du phylum Ascomycota. Les espèces du genre *Aspergillus* sont actuellement classées selon leur taxonomie dans des sous-genres bien définis, tels que *Aspergillus fumigatus*, qui fait partie de la section Fumigati du sous-genre Fumigati (Gugnani, 2003). Dans la section Fumigati, la délimitation des espèces est basée sur une approche polyphasique. En se basant sur cette approche, (Yaguchi *et al.*, 2007) ont suggéré de diviser la section Fumigati en cinq classes, dont *Aspergillus fumigatus*. Depuis 2012, la nomenclature à nom unique est recommandée par les taxonomistes, qui conservent le nom d'*Aspergillus* pour toutes les espèces de ce genre (Lamoth, 2016). Le tableau ci-dessous représente la taxonomie du genre *Aspergillus fumigatus*.

Tableau 2: Taxonomie du genre *Aspergillus fumigatus* (Lamoth, 2016)

Règne	Fungi
Phylum	Ascomycota
Classe	Eurotiomycetes
Ordre	Eurotiales
Famille	Trichocomaceae
Genre	<i>Aspergillus</i>
Espèce	<i>Aspergillus fumigatus</i>

3.1.3.4 Toxicité et pouvoir pathogène

Aspergillus, un champignon filamenteux qui se rencontre partout dans la nature. Contribue de manière significative à la détérioration de la matière organique. De 10 à 20 % des espèces sont perçues comme pathogènes ou ayant d'autres conséquences néfastes. *Aspergillus fumigatus* est la plus grande espèce des *Aspergillus* pathogènes. (Jones *et al.*, 2000) L'inhalation de conidies est la principale voie d'infection par *A. fumigatus* (Thywißenet *al.*, 2016). L'infection fongique invasive (IFI) est responsable de 90 % des aspergilloses invasives (IA) (Abadet *al.*, 2010), ce qui peut entraîner des problèmes de santé et de mortalité chez les patients immunodéprimés (Rambach *et al.*, 2015).

A.fumigatus est reconnu comme un agent de l'aspergillose pulmonaire chez l'homme et comme un agent d'avortement chez les animaux. Il est essentiel de développer davantage de connaissances sur la réaction immunitaire antifongique afin de trouver de nouvelles approches thérapeutiques pour l'aspergillose invasive (IA) (Rambach *et al.*, 2015).

Les toxines produites par *Aspergillus fumigatus* comprennent des mycotoxines comme l'aflatoxine, la gliotoxine et l'ochratoxine sont encore en cours de développement de leur rôle précis dans la pathogénicité de différentes espèces (Beauvais et Latgé, 2001).

3.2 Généralités sur les levures

Les levures sont unicellulaires, ce qui signifie qu'elles ont une structure cellulaire eucaryote. Malgré l'absence de mobilité des cellules des levures, l'état unicellulaire permet leur dispersion dans les liquides qui sont leur milieu de prédilection, surtout lorsqu'ils sont sucrés. Cependant, il existe aussi des levures présentes à la surface ou à l'intérieur d'autres organismes vivants, dans les sols, les eaux et l'atmosphère.

L'état unicellulaire, la rapidité de multiplication et la rusticité des besoins nutritionnels donnent à ces eucaryotes des caractéristiques qui permettent de les cultiver, de les étudier et de les utiliser aussi aisément que des microorganismes procaryotes (Bounicourt, 1995).

3.2.1 Généralité sur *Candida*

Le genre *Candida* compte environ 200 espèces, dont les plus fréquemment observées dans les maladies humaines sont : *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* et *C. dubliniensis* (Fitzpatrick *et al.*, 2006).

Candida sp est un genre de levures vraies qui fait partie du phylum des ascomycètes (Ascomycota) et du sous-phylum Saccharomycotina (James *et al.*, 2006).

La majorité d'entre elles ne peuvent pas croître à 37°C et seulement une minorité d'espèces (environ 10%) sont responsables de maladies humaines. Le genre *Candida sp* est composé de plusieurs espèces. La majorité des espèces de *Candida sp* impliquées dans les maladies humaines font partie d'un clade commun, le clade CTG, qui se distingue par un code génétique différent : le codon CUG est traduit en sérine plutôt qu'en leucine. On peut subdiviser ce clade *Candida* en deux sous-clades : l'un renfermant des espèces diploïdes courantes dans les maladies humaines telles que *Candida albicans*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis*, tandis que l'autre renferme des espèces haploïdes plus rares telles que *C. lusitaniae*. *C. glabrata* est une espèce de la famille des Saccharomycetaceae, plus précisément du clade WGD (whole-genome duplication) ; cette levure haploïde présente une proximité génétique avec *Saccharomyces cerevisiae* par rapport aux autres espèces du genre *Candida sp* (Bennet *et al.*, 2010, 2013).

3.2.2 L'espèce *Candida albicans*

Candida albicans, fréquemment liée à un champignon microscopique, est une levure diploïde (huit chromosomes) de 3 à 15 µm, non enveloppée, non pigmentée et aérobie (Chuet *et al.*, 1993). Par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore) (Graser *et al.*, 1996), elle se reproduit de manière asexuée et forme des colonies blanches crémeuses. La levure *C. albicans* présente deux formes distinctes : la forme normale connue sous le nom de "levure" et la forme infectieuse appelée "mycélium". Certains facteurs tels que le pH, la température et la richesse du milieu de culture ont un impact sur la forme que peut adopter *Candida albicans* (Sudbery, 2001).

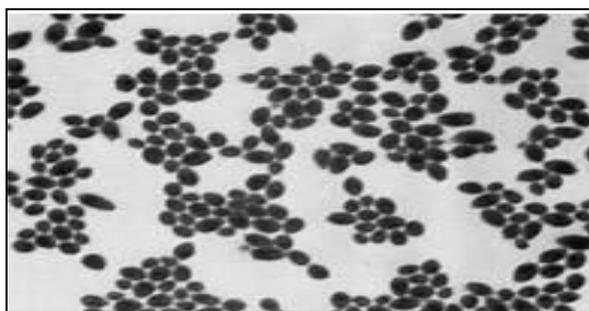


Figure 10: *Candida albicans* (Sudbery *et al.*, 2004).

3.2.1.1 Habitat

C. albicans se développe en tant que saprophyte dans le tube digestif de l'être humain, d'autres mammifères et d'oiseaux. Elle se trouve dans l'environnement extérieur après avoir été contaminée par l'homme ou l'animal. Il se manifeste dès le début de la vie, par le biais du contact maternel. Il se transforme en pathogène en raison de différents éléments tels que l'immunodépression causée par une chimiothérapie intensive, par exemple, et l'âge avancé. Elle se propage généralement par voie endogène à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales, respiratoires, la peau ou par voie hématogène vers tous les organes. Il présente un caractère spécifique pour les reins et l'œil. Il est également possible de se contaminer par voie sexuelle (Masson, 2015).

3.2.1.2 Aspects Morphologiques

Candida est un genre de levures dont les blastospores (blastoconidies) se manifestent. Il s'agit de cellules microscopiques de 2 à 5 μm par 3 à 7 μm , typiquement globulaires, ovoïdes ou cylindriques. Macroscopiquement, ils se manifestent sous la forme de colonies blanches à crémeuses de 1 à 3 mm de taille. Ils peuvent avoir une texture pâteuse, lisse et brillante, avec un bord régulièrement ondulé (Graser *et al.*, 1996).

Le génome de *C. albicans* comprend 16 Mb de gènes (dont 200 contiennent des introns ; taille moyenne des ORF : ~1,5kb) répartis sur 8 paires de chromosomes homologues. Dans certaines conditions de culture de *C. albicans*, on observe l'apparition de spores massives, rondes ou ovales, avec une paroi épaisse, mesurant de 6 à 12 μm de diamètre sur les filaments mycéliens : ce sont des chlamydospores (Odds, 1979).

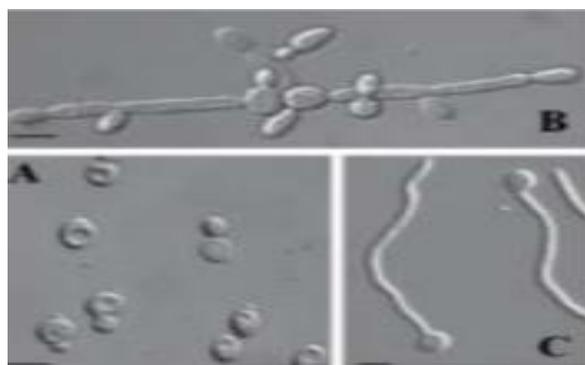


Figure 11: Morphologie de *C.albicans* sous forme levure(A), pseudofilament(B)

3.2.1.3 Taxonomie

Candida est un genre de champignons imparfaits, appelés micromycètes. C'est un champignon eucaryote du règne des champignons, du phylum des Ascomycètes, du sousphylum des Saccharomycotina, de la classe des Saccharomycètes, de l'ordre des Saccharomycétales. (Buffo et Herman., 1984).

Tableau 3: Classification actuelle de *C.albicans* (Fitzpatrick et al., 2006).

Règne	Fungi
Division	Ascomycètes
Sous-division	Saccharomycotina
Classe	Saccharomycètes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Saccharomycetaceae
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

3.2.1.4 Toxicité et pouvoir pathogène

Les *Candida* sont des micro-organismes endogènes ou exogènes qui ne sont pathogènes qu'en présence de facteurs favorables locaux ou généraux. Il est possible que les candidoses soient des infections opportunistes dont les origines sont très diverses. Le domaine clinique couvre des formes localisées (cutanées et/ou muqueuses), fréquentes en médecine générale, aux atteintes invasives rencontrées chez les patients hospitalisés, qui sont souvent associées à de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est souvent peu favorable. Il n'y a pas de maladie si ces levures sont présentes, car l'isolat responsable de l'infection est le plus souvent celui que le malade accueille spontanément. Les atteintes invasives constituent un exemple d'infections nosocomiales (Anofel, 2014). Elle est saprophyte et devient pathogène si elle est présente en grande quantité. Elle entraîne un érythème cuisant, parfois couvert de dépôts blanchâtres crémeux.

Matériel et méthodes

Dans le but de mettre en évidence l'activité de l'huile essentielle d'argan sur la croissance d'*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* une étude est effectuée durant la période de 17 janvier à 30 avril. Il est à noter que l'étude a été menée au sein de laboratoires de Mycologie Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (Université des Frères Mentouri- Constantine1, Algérie).

1. Matériel

1.1 Matériel végétal

L'huile d'argan utilisée dans cette étude, a été fournie par Mme Ghorri Sana (chef département de biologie végétal UFMC). Elle est extraite à partir des amandes de fruit d'arganier. L'extraction de l'huile d'argan cosmétique s'effectue d'une manière artisanale traditionnelle à partir des amandes non torréfiés (El manfaloutiet *al.*, 2010 ; Charrouf et Guillaum, 2007).



Figure 12: Extrait d'huile d'argan

1.1.1 Préparation de l'huile d'argan

1.1.1.1 Récolte des fruits d'argan :

Les fruits matures d'*Argania spinosa*, sont récoltés par les femmes et les hommes berbères. Les fruits sont ensuite séchés au soleil pour faciliter la prochaine étape de production traditionnelle.

1.1.1.2 Extraction traditionnelle :

L'extraction de l'huile d'argan est réalisée par les femmes d'une manière très artisanale suivant les étapes:

- Dépulpage des fruits: les fruits mûrs sont soigneusement débarrassés de leur pulpe.
- Concassage des noix: les noyaux sont écrasés manuellement par les femmes à l'aide des pierres tout en les tenant entre le pouce et l'index.

-Séchage des amandes.

-Trituration: Les amandes sont moulues à l'aide d'une meule manuelle en pierre, donnant une pâte.

-pressage manuel: La pâte est pressée avec les mains jusqu'à ce qu'elle devienne dure et libère de l'huile sous forme de gouttelettes, par la suite l'huile est séparée par décantation (Badreddine, 2016).



Figure 13:Etapes d'extraction traditionnelle de l'huile d'argan (badreddine, 2016)

A: Dépulpage des fruits, **B:** Concassage des noix, **D:** Trituration; **F:** Pressage manuel

2. Microorganismes utilisés

Deux souches de champignons à intérêt médicale ont été utilisées, il s'agit d'*Aspergillus fumigatus* (KF815581.1) fournie par Mme Zaamouchi et *Candida albicans*(ATCC10231) qui a été aimablement fournie par Mme Benserradj.

2.1 Réactivation de la souche

Les souches conservées dans des cryobilles sont repiquées sur milieu PDA pour *Aspergillus fumigatus* et incubées sept jours à 30°C et sur milieu Sabouraud pendant deux jours à 35°C pour *Candida albicans* afin de vérifier leurs puretés.

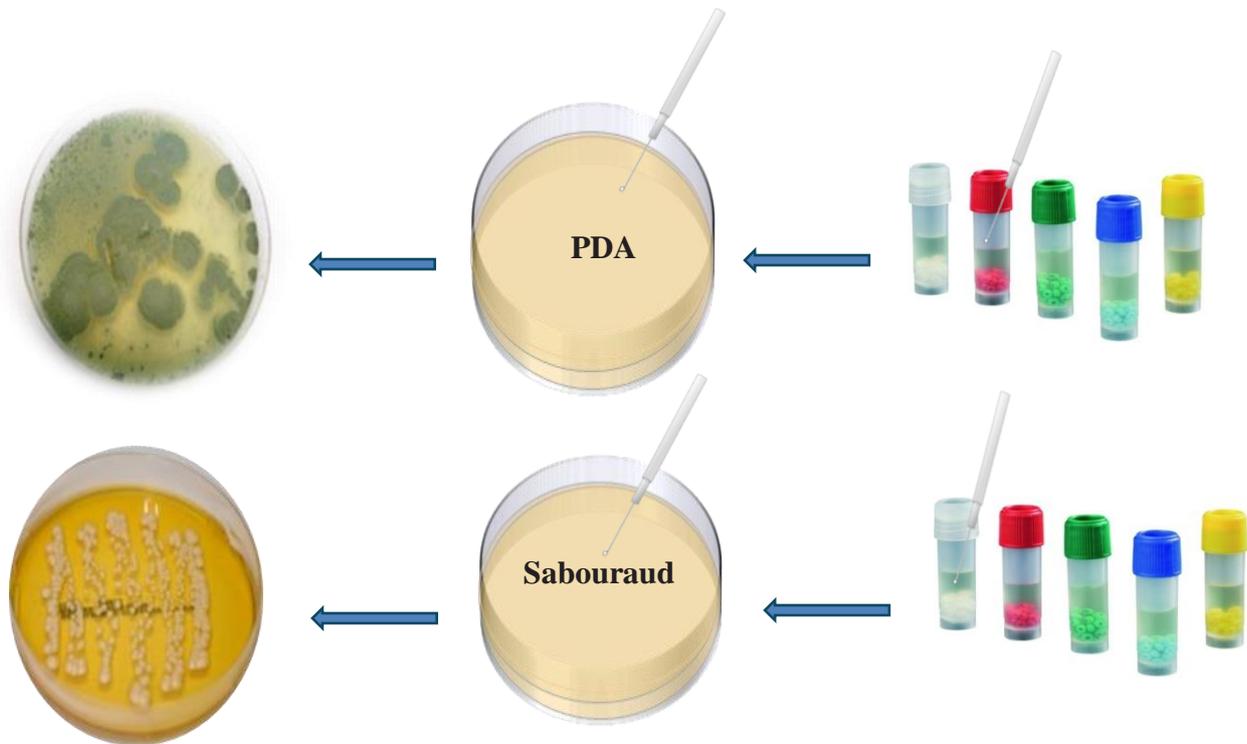


Figure 14:réactivation des souches fongiques

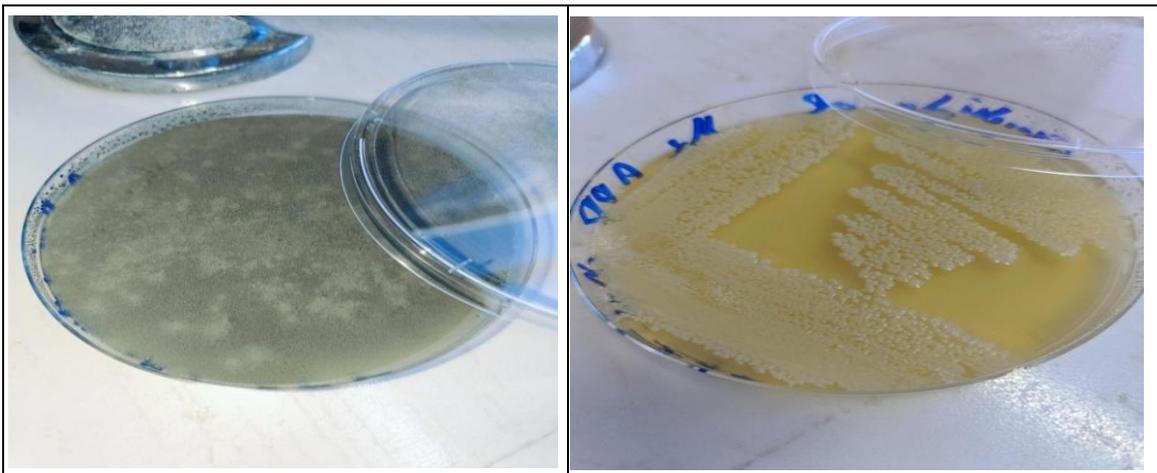


Figure 15:Les souches fongiques après réactivation

3. Mise en évidence de la pureté des souches fongiques

Afin de vérifier l'identité de nos deux souches, qui sont déjà référencées, une observation macroscopique des colonies sur milieux de culture et microscopique à l'objectif $\times 40$ ont été effectuées.

4. Préparation de l'inoculum

Afin de préparer les suspensions fongiques, tout d'abord, les souches fongiques d'*Aspergillus fumigatus* et de *Candida albicans* sont ensemencées sur leurs milieux de cultures, à savoir le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour *Aspergillus fumigatus* et le milieu Sabouraud pour *Candida albicans* et incubées respectivement 7 jours à 30°C et 24 heures à 35°C afin d'optimiser la croissance des champignons.

Une fois la période d'incubation terminée, on procède au prélèvement des colonies, A l'aide d'une anse de platine stérile, on racle délicatement quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches fongiques à tester.

L'anse contenant les colonies est ensuite déchargée dans 9 ml d'eau physiologique à 0.9% de Na Cl stérile. Le tube contenant les colonies d'*Aspergillus fumigatus* est additionné de 2 à 3 gouttes de Tween20 pour disperser les spores.

Les suspensions sont alors bien homogénéisées à l'aide d'un vortex pour obtenir une répartition uniforme des cellules fongiques dans le milieu liquide, Les suspensions ainsi préparées sont prêtes à être utilisées pour les tests ultérieurs.



Figure 16: La préparation de la suspension fongique

4.1 Détermination de la concentration de l'inoculum par turbidimétrie

Le nombre de cellules présent dans une suspension est proportionnel au trouble d'une suspension microbienne (bactéries, levures, spores). La mesure turbidité est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'absorbance est mesurée Entre 500 et 650 nm (El-Kirat-Chatel, 2010).

Selon la norme de National Committee for Clinical Standard (NCCLS). L'inoculum de *Candida albicans* doit correspondre à une concentration de 1 à 5×10^6 UFC/ml. Une suspensions de levure a été préparée à partir d'une culture jeune de (24h).

La densité cellulaire de chaque suspension a été ajustée par dilution dans l'eau physiologique stérile à 8,5‰ (Michael *et al.*, 2002) et en calibrons à 0,08 à 0,1 à une densité optique de 625nm qui Correspond à 10^6 UFC/ml (Michael *et al.*, 2002).

La suspension sporale d'*Aspergillus fumigatus* été préparée à partir d'une culture âgées de sept jours dans de l'eau physiologique stérile à 9‰, puis a été calibrée à 0.09 à 0.1 à une densité optique de 530 nm qui Correspond à 10^4 UFC/ml (Espinel-Ingroff *et al.*, 2009).

4.2 Préparation de concentration des huiles essentielles

La gamme de concentration de l'huile d'argan a été préparé dans des tubes par la méthode des dilutions de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32...).

À partir de l'huile d'argan, On a préparé 2 dilutions (1/2,1/4), la première contient 500µl d'huile d'argan et 500 µl de diluant (DMSO) c'est la dilution (1/2).

À partir de cette dernière 500µl a été prélevé et additionné à 500 µl de DMSO afin d'obtenir la dilution (1/4).



Figure 17: Préparations des concentrations d'huile d'argan

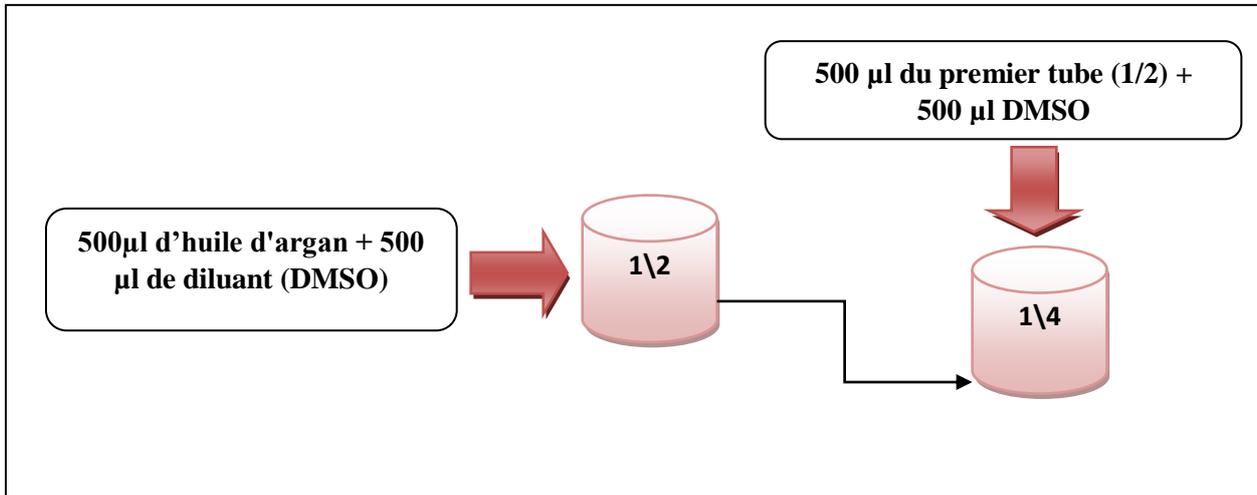


Figure 18: Préparation des dilutions d'huile d'argan

5. Evaluation de l'activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique implique généralement des tests *in vitro* pour déterminer l'efficacité d'un agent antifongique contre un champignon spécifique. Ces tests peuvent inclure des méthodes de diffusion en gélose, des tests de dilution en série, ou des tests de microdilution en plaque.

Les résultats sont souvent interprétés en fonction de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ou de la concentration minimale fongicide (CMF), qui indiquent respectivement la plus faible concentration d'agent antifongique nécessaire pour inhiber ou tuer la croissance fongique. Ces évaluations sont cruciales pour le développement et l'utilisation clinique des agents antifongiques.

5.1 Evaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan sur *A.*

Fumigatus et *C. albicans*

Dans notre étude, l'évaluation de l'activité antifongique de l'HE d'argan vis à vis les souches fongiques (*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*), a été réalisé par les méthodes de diffusion par disques et par puits. Ces derniers sont rapportées par plusieurs auteurs notamment : (Benkeblia, 2004 ; Hanif *et al.*, 2011 ; Mnayer, 2014 ; Kermiche et Chougui., 2014).

5.1.1 Méthode de diffusion par disque

La méthode de diffusion par disque réalisée pour évaluer l'activité antifongique est similaire à celui utilisé pour évaluer l'activité antibactérienne (l'antibiogramme). Cette méthode se base sur le principe de préparer des disques stériles de 5mm de diamètre, imbibés avec 15 μ l d'huile essentielle d'argan et ou sa dilution (1/2 ou 1/4), deux disques supplémentaires sont réservés pour le témoin négatif (DMSO) chargés par le même volume. Puis de déposer 3 à 4 disques sur la surface de gélose en boîte de Pétri préalablement ensemencée avec le microorganisme-test (*Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*).

Pour chaque traitement, trois répétition sont été effectués, Les boîtes sont fermées avec le para-film et ensuite incubées sept jours à 30°C pour *Aspergillus fumigatus* et 48h à 72h à 35°C pour *Candida albicans*.

Les agents antifongiques se diffusent dans la gélose environnante, créant une concentration décroissante avec la distance par rapport au disque.

Si l'agent antifongique est efficace contre le micro-organisme fongique, une zone d'inhibition de la croissance fongique se forme autour du disque, indiquant son activité antifongique selon Clinical and Laboratory Standards Institute en 2017.

La zone d'inhibition qui se forme autour du disque (halo clair autour du disque) signifie que les microbes n'ont pas pu se développer.

Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en mm il est proportionnelle à la sensibilité de nos souches à l'HI d'argan (Benkeblia, 2004 ;Hanif *et al.*, 2011).

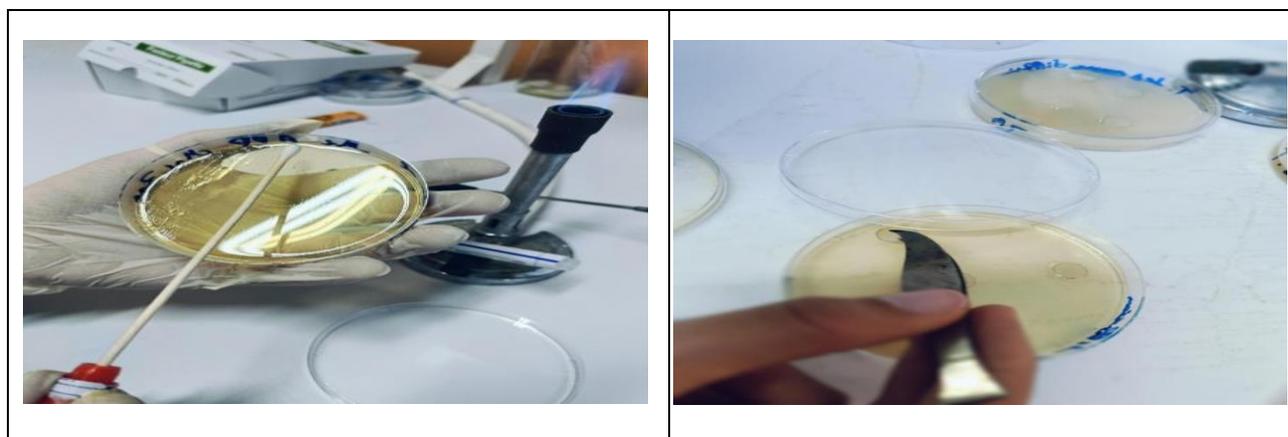


Figure 19: Méthode de diffusion par disque.

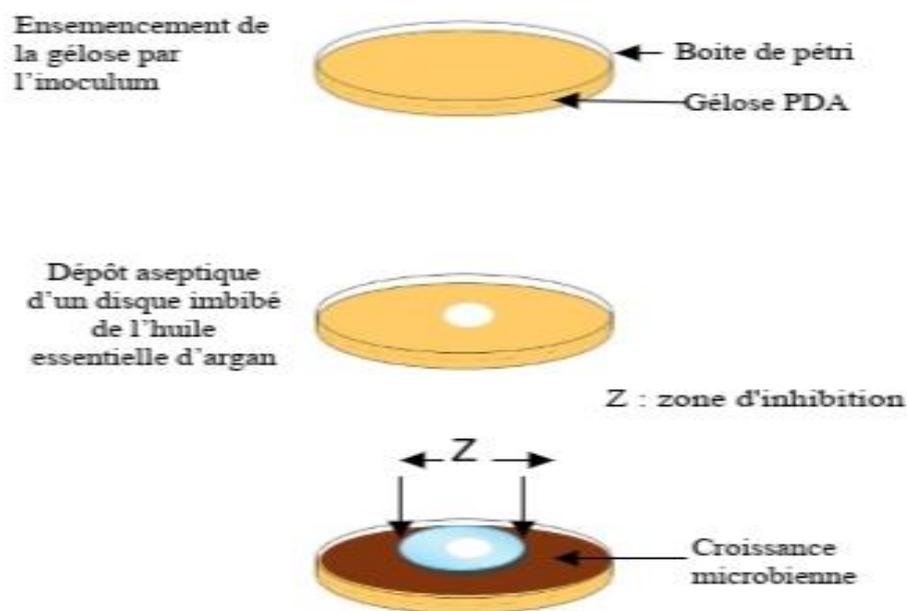


Figure 20: Schéma représente les étapes de la méthode de diffusion par disque.

5.1.2 Méthode de diffusion par puits

Cette technique est semblable à la méthode de diffusion par disque, mais ce dernier est remplacé par un puits creusé stérilement sur le milieu ensemencé.

L'incubation des boîtes de pétri à la température optimale de croissance du micro-organisme permet le développement des colonies. La formation d'un halo clair autour du puits indique l'absence de la croissance microbienne dont le diamètre dépend de la sensibilité à l'HE (Mnayer, 2014).

Le développement des cultures est en fonction de la concentration en HE maintenue (Kermiche et Chougui., 2014).

La technique consiste à creuser à l'aide des pipettes pasteur stériles quatre puits à la surface de gélose (PDA et Sabouraud additionnées d'antibiotique) préalablement ensemencée par la suspension microbienne par la technique d'écouvillonnage. Ensuite, dans chaque puits 100 μ L d'huile essentielle d'argan est introduit à l'aide d'une micropipette.

Pour chaque traitement, trois répétitions sont été effectués. Les boîtes sont fermées et ensuite incubées sept jours à 30°C pour *Aspergillus fumigatus* et 48h à 72h à 35°C pour *Candida albicans*.

L'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du puits, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition.

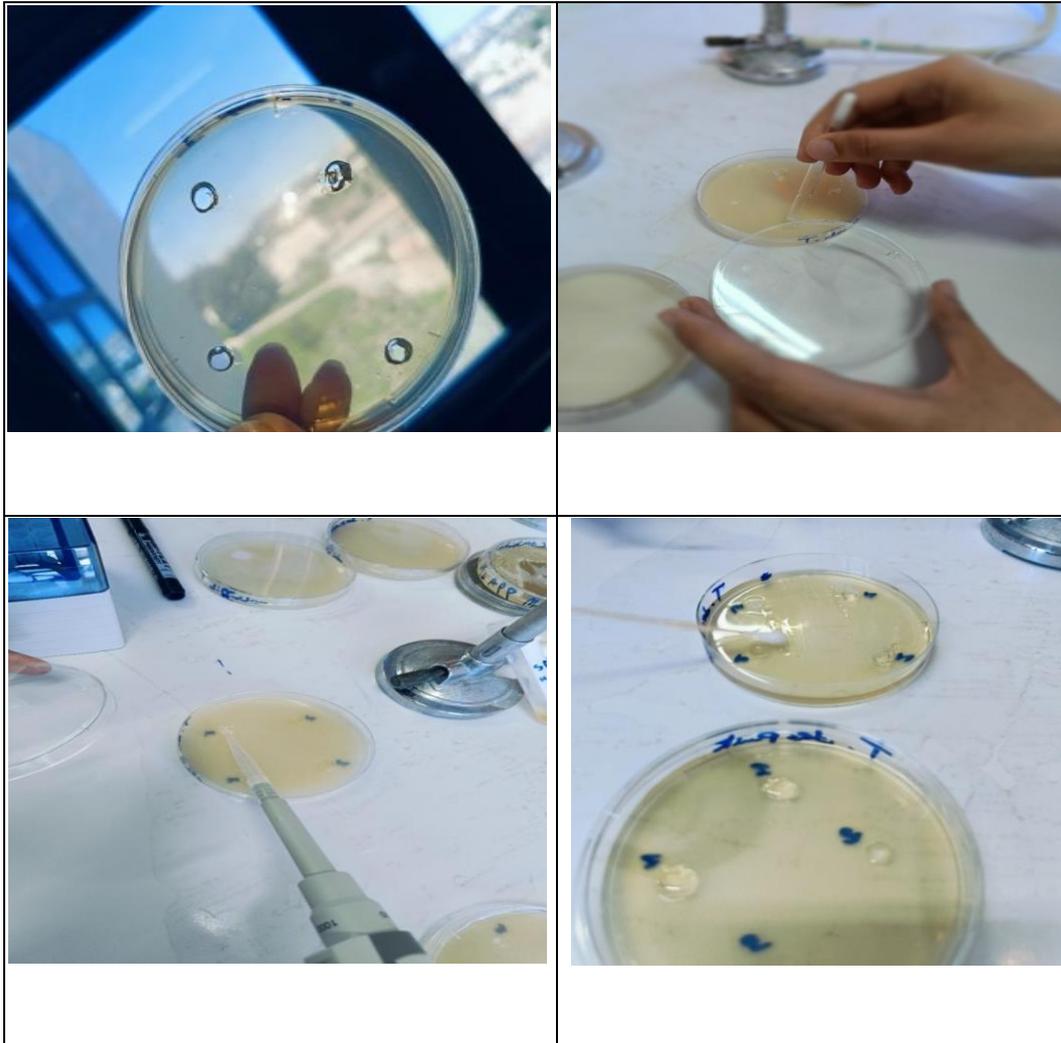


Figure 21: Les étapes de la méthode de diffusion par puits.

Résultats et discussion

1. Mise en évidence de la pureté des souches fongiques

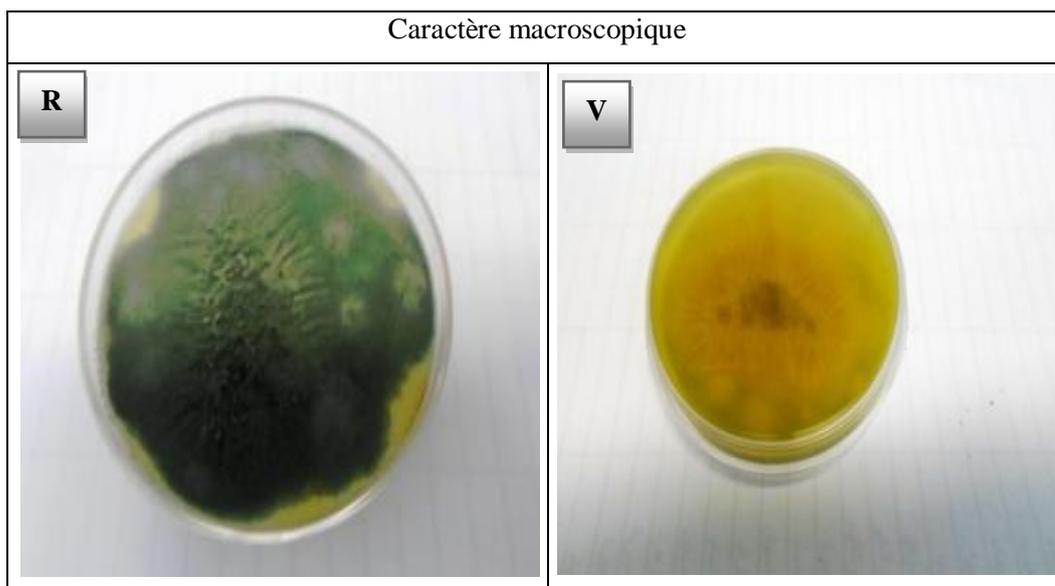
La vérification de la pureté d'une souche fongique passe par plusieurs analyses complémentaires. L'observation microscopique des structures fongiques, comme les hyphes et les conidiospores, doit révéler une morphologie uniforme, sans élément étranger.

1.1 *Aspergillus fumigatus*

1.1.1 Etude macroscopique

Un examen macroscopique des colonies permet d'évaluer l'homogénéité de leurs caractéristiques telles que la couleur, la texture et la morphologie.

Tableau 4: Identification macroscopique de la souche *A.fumigatus*.



Sur gélose PDA :

- la culture : apparition rapide en 3 à 5 jours de colonies vert-foncé, puis devenant gris vert-foncé d'aspect poudreux, Granuleux à velouté rarement floconneux.
- La croissance d'*Aspergillus fumigatus* est rapide 3 à 5 jours à 30 °C. Son revers est de couleur très variable (incolore à rouge-foncé, vert ou brun).
- Le centre des colonies peut présenter un aspect légèrement bombé ou même cratériforme.

1.1.2 Etude microscopique



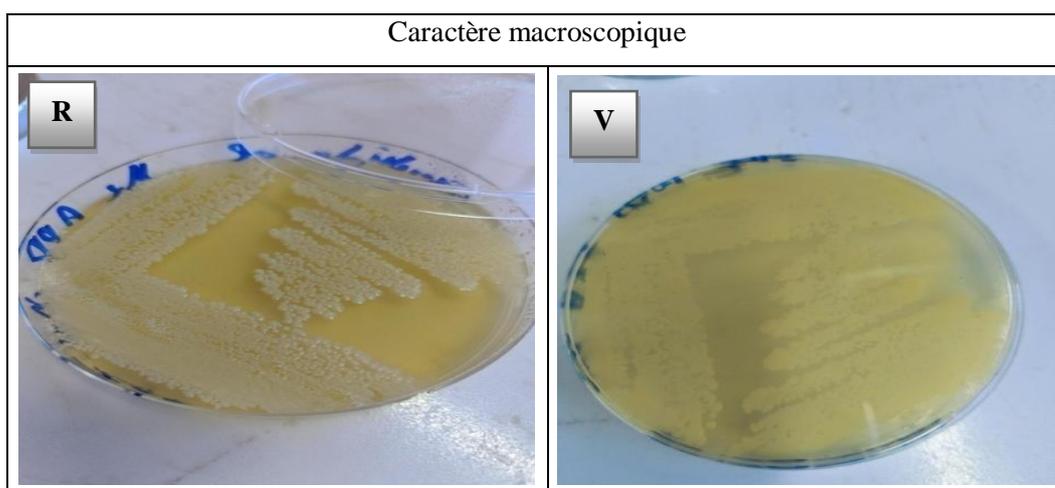
Figure 22: Identification microscopique de la souche *A.fumigatus*.

Au microscope, on observe un mycélium cloisonné composé d'hyphes septées de couleur hyaline. Cet examen permet de préciser par des caractéristiques la tête Aspergillaire qui est en colonne longue. Le conidiophore est long, lisse, incolore et coloré dans les tons de vert surtout à la partie terminale. La vésicule hémisphérique est aplatie au sommet et les conidies sont globuleuses, rugueuses à échinulées.

1.2 *Candida albicans*

1.2.1 Etude macroscopique

Tableau 5: Identification macroscopique de la souche *C.albicans*.



Sur gélose Sabouraud :

- Les colonies de *Candida albicans* apparaissent généralement de couleur blanche à crème.
- Elles ont un aspect lisse, luisant et légèrement bombé en leur centre.
- La texture des colonies peut varier de lisse à granuleuse ou ridée selon les conditions de culture.
- Le diamètre des colonies peut atteindre plusieurs millimètres après 48-72 heures d'incubation.
- Certaines souches peuvent produire un léger pigment jaunâtre ou rosé sur ce milieu.

1.2.2 Etude microscopique

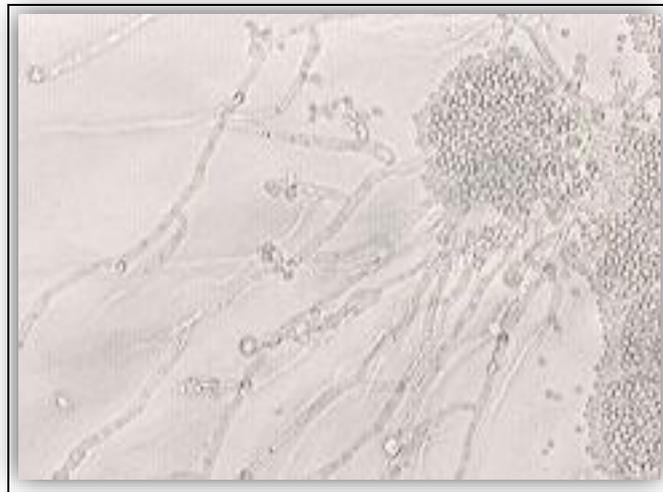


Figure 23: Identification microscopique de la souche *C.albicans*.

- Les levures de *Candida albicans* sont de forme ovoïde mesurant 4 à 6 µm de diamètre à bourgeonnement multilatéral.
- Les cellules peuvent se présenter de manière isolée, en couples ou en petits amas.
- La reproduction se fait essentiellement par bourgeonnement, avec formation de cellules filles attachées à la cellule mère.
- En plus des levures, on peut observer la formation d'hyphes et de pseudo hyphes, structures filamenteuses caractéristiques de *C. albicans*.
- La production de chlamydospores, structures de résistance sphériques et volumineuses, peut également être mise en évidence.

2. Détermination de l'activité antifongique

Nous avons pu démontrer le pouvoir antifongique de l'HE d'argan obtenue par rapport aux deux champignons étudiés grâce à la méthode de diffusion des puits et des disques.

Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 6: Zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan et les espèces *A.fumigatus* et *C.albicans*.

Concentration Souches	M D0 (non diluée)	M D1	M D2	Témoin (DMSO)	ECT
<i>A.fumigatus</i> méthode de diffusion par disques (mm)	28	0	0	0	±0,81649658
<i>A.fumigatus</i> méthode de diffusion par puits (mm)	23	0	0	0	±0,81649658
<i>C.albicans</i> méthode de diffusion par disques (mm)	22	0	0	0	±0,81649658
<i>C.albicans</i> méthode de diffusion par puits (mm)	18	0	0	0	±0,81649658

2.1 Activités antifongique estimées par la méthode des disques

Concernant l'activité antifongique de l'huile essentielle estimée par la méthode des disques, les diamètres d'inhibition obtenus après 5 jours d'incubation montrent une variabilité aussi bien au niveau des 2 champignons qu'au niveau des différentes concentrations. D'après le tableau 4.

2.1.1 Activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus*



Figure 24: Résultats de l'activité antifongique des de l'HE sur *Aspergillus fumigatus* /5j

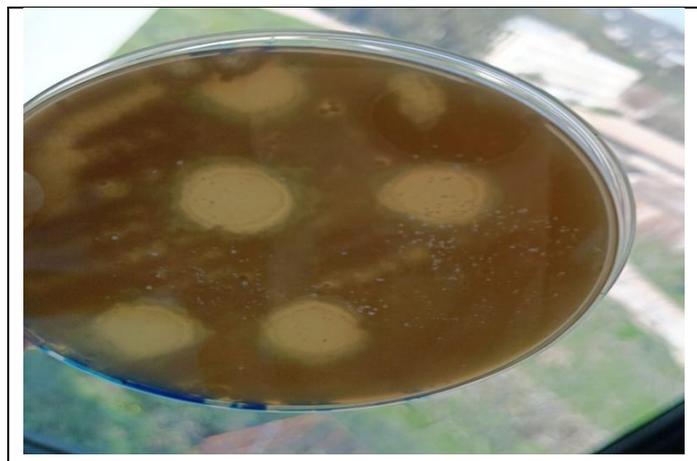


Figure 25: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations

- La moyenne des zones d'inhibition mesuré = 28 mm $(28 + 27 + 29 / 3)$

Le tableau présent les résultats d'une étude sur l'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'argan contre le champignon *Aspergillus fumigatus*. La moyenne des zones d'inhibition sont indiquées en millimètres (mm) pour les trois répétitions (R1, R2, R3).

Les données montrent que l'huile essentielle d'argan brute (non diluée) (D0) produit des zones d'inhibition significatives d'une moyenne de 28 mm.

Cela indique que l'huile essentielle d'argan non diluée a des propriétés antifongiques puissantes contre *Aspergillus fumigatus*.

En revanche, les deux concentrations diluées testées (D1 et D2) n'ont montré aucune activité inhibitrice (zone d'inhibition=0).

Ainsi que le témoin (T) n'ont présenté aucune activité inhibitrice, toutes les mesures étant de 0 mm pour chaque répétition, avec une moyenne de 0 mm.

Ceci indique que des concentrations réduites (les dilutions) d'HE d'argan ne sont pas efficaces pour inhiber la croissance d'*Aspergillus fumigatus*.

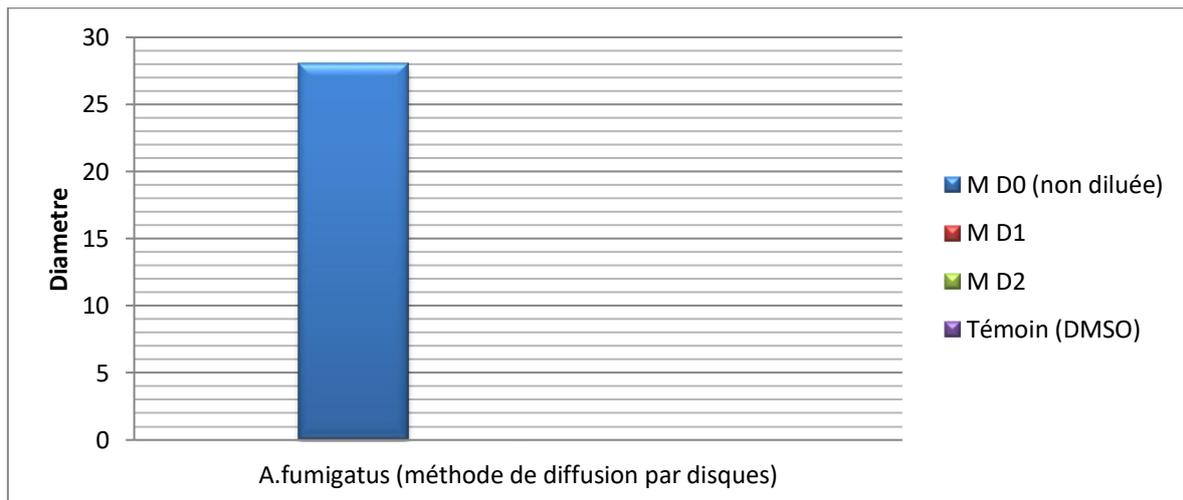


Figure 26: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce *A.fumigatus* (Méthode de diffusion par disques).

2.1.2 Activité antifongique contre *Candida albicans*



Figure 27: Résultats de l'activité antifongique de l'HE sur *Candida albicans* /5j



Figure 28: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations

- La moyenne des zones d'inhibition mesuré = 22 mm $(21 + 22 + 23 / 3)$.

Selon le tableau 04, l'évaluation de cette activité a été également estimée par la mesure du diamètre des halos d'inhibition trouver autour de la souche de levure utilisées.

L'analyse des résultats montre une activité de l'huile d'argan à D0 vis-à-vis *Candida albicans*, l'huile d'argans brute est statistiquement plus active que les dilutions.

En effet, les diamètres de la zone d'inhibition de la première (D0) atteignent 22 mm. Par ailleurs, les deux dilutions (D1 et D2) ne présentent pas d'activités antifongiques contre *Candida albicans* et les diamètres des zones d'inhibition enregistrées sont égaux à 0 mm.

En revanche, le témoin (T) n'a présenté aucune activité inhibitrice. Ces résultats mettent en évidence l'efficacité significative de l'HE d'argan non diluée contre *Candida albicans*.

Tandis que les dilutions d'HE d'argan ainsi que le témoin ne présentent aucun effet inhibiteur. Ainsi, maintenir une concentration adéquate d'HE d'argan est essentiel pour observer son efficacité contre cette levure.

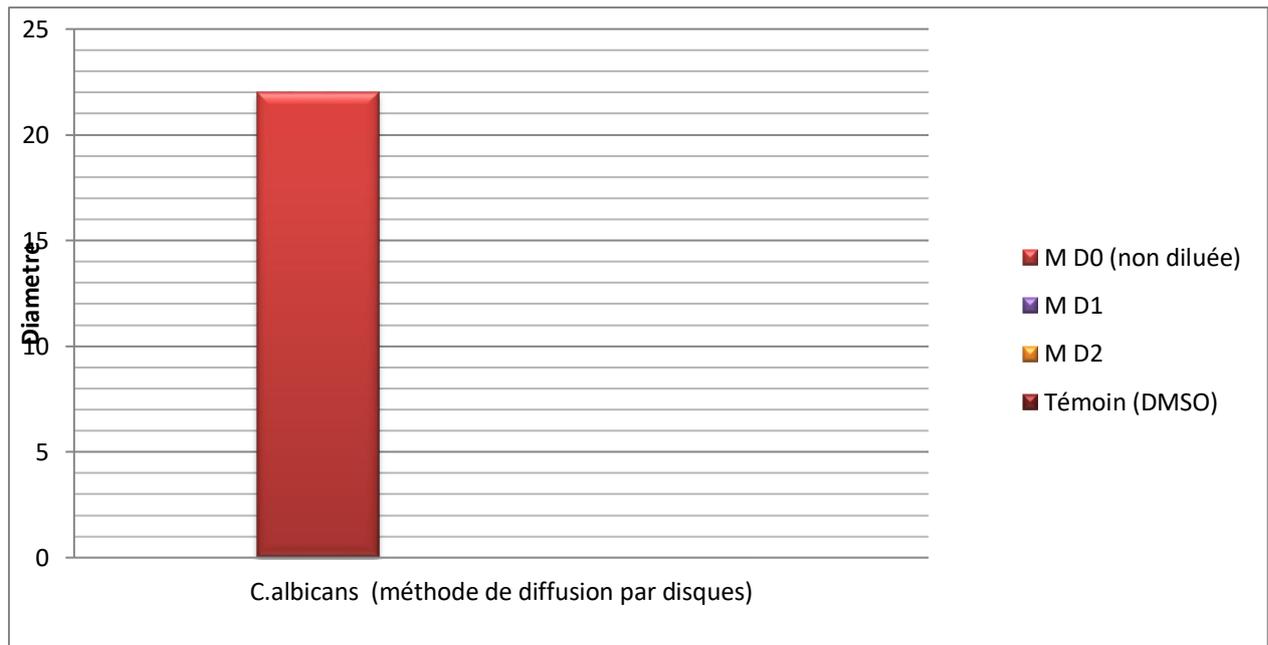


Figure 29: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce *C.albicans* (Méthode de diffusion par disques).

2.2 Activités antifongique estimées par la méthode des puits

L'activité antifongique de l'huile essentielle, évaluée par la méthode des puits, a révélé une variabilité des diamètres d'inhibition après cinq jours d'incubation.

Cette variabilité est observée tant au niveau des deux champignons testés qu'au niveau des différentes concentrations de l'huile essentielle (Le tableau 4 illustre ces différences).

2.2.1 Activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus*



Figure 30: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations de l'HE sur *Aspergillus fumigatus*



Figure 31: Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations

- La moyenne des zones d'inhibition mesuré = 23 mm (23 + 24 + 22 / 3).

Le tableau 04 indique les activités les plus importantes qui sont obtenues avec l'huile d'argan brute (non diluée). Cette dernière a montré la plus importante activité sur la souche d'*Aspargillusfumigatus* testé, elle est active contre cette dernière, la moyenne du diamètre de la zone d'inhibition est égale à 23 mm. Cependant, le diamètre de la zone d'inhibition des trois répétitions n'a pas dépassé 0 mm.

En outre, les effets des deux dilutions (D1 et D2) de l'huile d'argan dans le DMSO contre d'*Aspargillus fumigatus* s'exprimant par une activité inhibitrice nulle (zone d'inhibition=0).

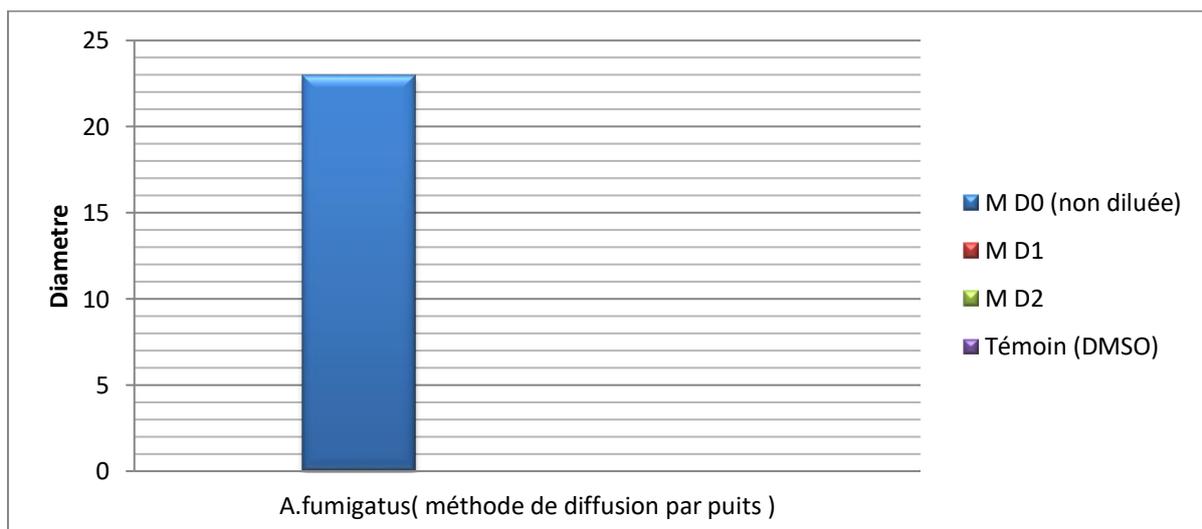


Figure 32: les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce *A.fumigatus* (Méthode de diffusion par puits).

2.2.2 Activité antifongique contre *Candida albicans*



Figure 33: Résultats de l'activité antifongique de l'HE

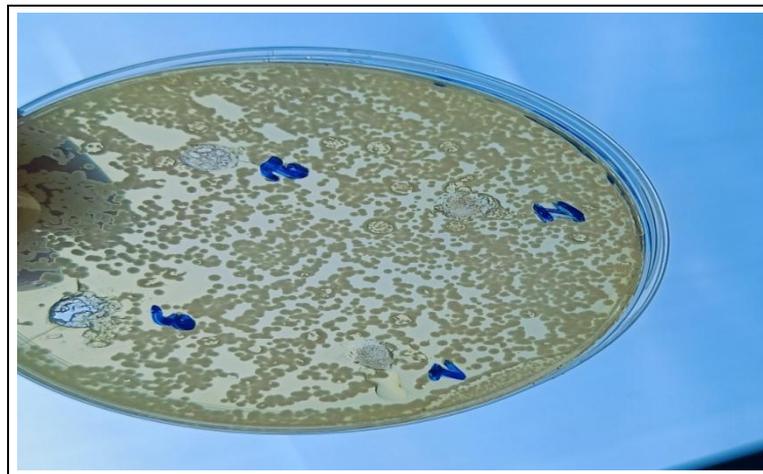


Figure 34 : Résultats de l'activité antifongique des différentes concentrations

- La moyenne des zones d'inhibition mesuré = 18 mm (17 +19+ 18 / 3)

Le Tableau 04 montre que l'HE d'argan non diluée (D0) a généré des zones d'inhibition avec une moyenne de 18 mm, indiquant une inhibition significative de la croissance de *Candida albicans*. En revanche, les dilutions d'HE d'argan (D1 et D2) ainsi que le témoin (T) n'ont montré aucune activité inhibitrice, avec des mesures de 0 mm pour chaque répétition. Ces résultats indiquent que les concentrations réduites d'HE d'argan ne sont pas efficaces pour inhiber la croissance de *Candida albicans*.

Bien que l'HE d'argan non diluée présente une certaine activité inhibitrice contre *Candida albicans*, les dilutions d'HE d'argan et le témoin n'ont montré aucun effet inhibiteur. Il est

donc crucial de maintenir une concentration adéquate d'HE d'argan pour observer une efficacité antifongique contre cette levure.

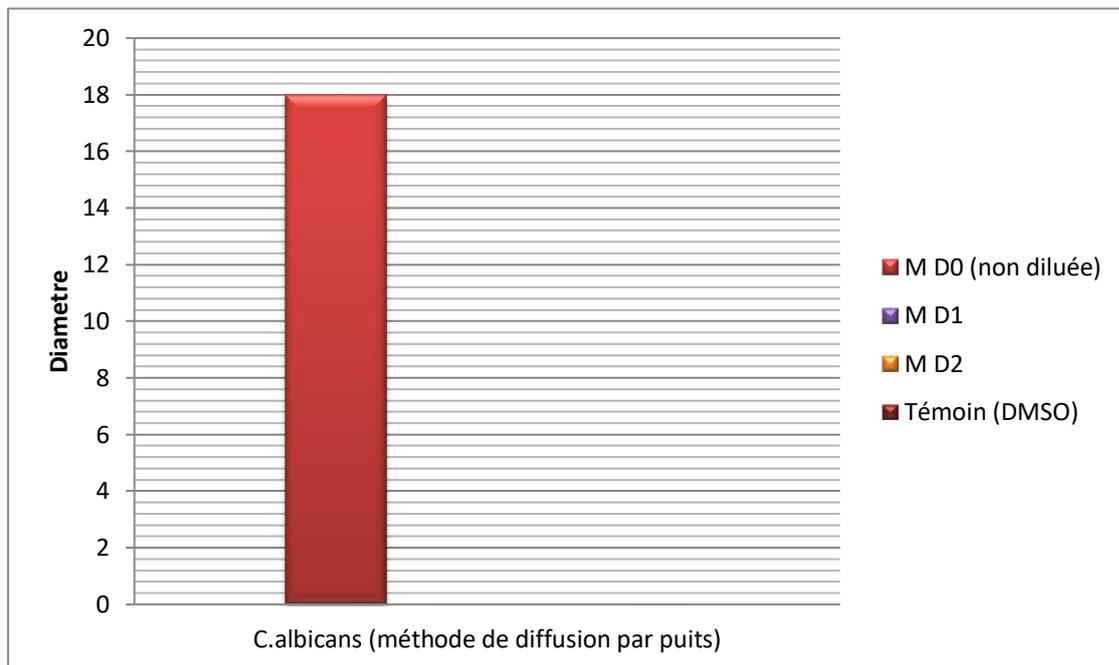


Figure 35: Les diamètres des zones d'inhibition (mm), en présence de différentes concentrations d'HE d'argan, de l'espèce *C.albicans* (Méthode de diffusion par puits).

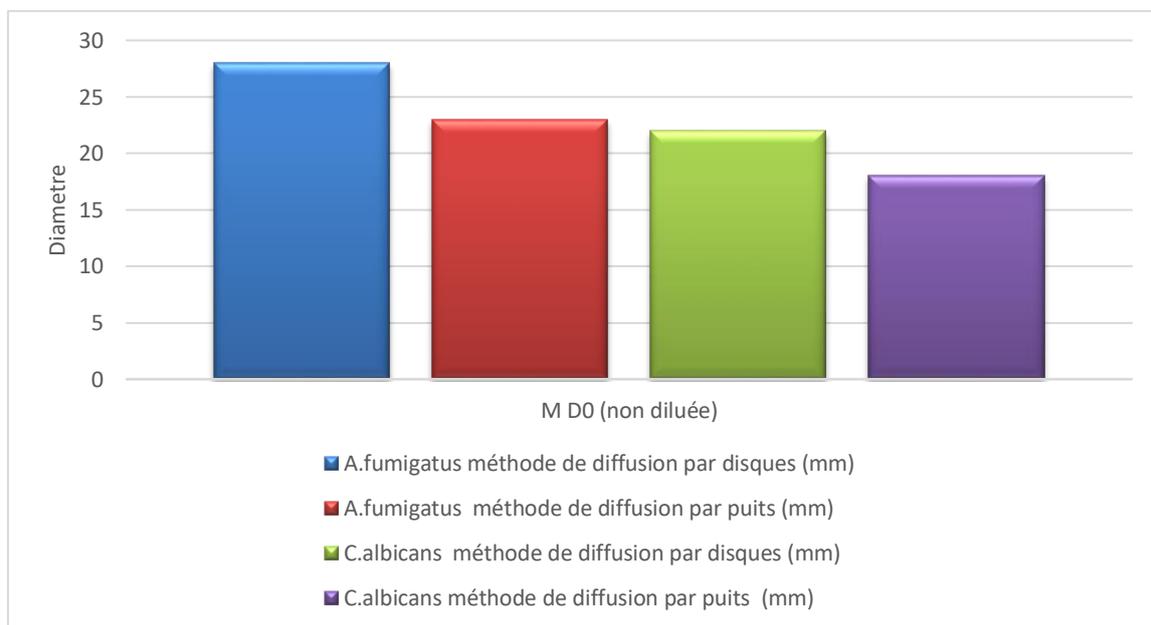


Figure 36 :Étude comparative des diamètres des zones d'inhibition, en présence de différentes concentrations d'HE d'argan sur *A. Fumigatus* et *C. Albicans* (les deux méthodes de diffusion).

Discussion

L'HE d'argan semble avoir un effet antifongique plus important sur *A. fumigatus* que sur *C. albicans*, avec des zones d'inhibition plus grandes pour *A. fumigatus* à la concentration de référence (D0).

Après avoir comparé les résultats obtenus par les deux méthodes utilisées dans la figure 36, il est possible de déterminer que la méthode de diffusion par disques semble être la plus appropriée pour évaluer l'activité antifongique de l'HE d'argan.

En effet, cette approche présente plusieurs avantages par rapport à la méthode de diffusion par puits :

- La méthode des disques s'est montrée légèrement plus sensible, avec des zones d'inhibition plus importantes pour les deux espèces fongiques testées à la concentration de référence (D0).
- Les résultats obtenus avec cette méthode ont démontré une meilleure répétabilité, avec des écarts-types plus faibles.

Bien que les deux méthodes se soient permis d'obtenir des résultats cohérents et complémentaires, la diffusion par disques semble donc être la plus appropriée pour évaluer l'activité antifongique de l'HE d'argan contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*.

Les huiles essentielles d'origine végétale ont prouvé leur valeur en tant que source de molécules aux effets antimicrobiens (Elhidaret *al.*, 2019).

De nombreuses études ont démontré leurs effets antifongiques (Ait Sidi Brahim *et al.*, 2015 ; Abudunia *et al.*, 2017).

L'utilisation des huiles essentielles suscite un intérêt croissant en raison de leurs diverses propriétés thérapeutiques et de leurs applications potentielles dans le domaine de la santé. Les huiles essentielles ont démontré des propriétés antimicrobiennes puissantes contre un large éventail de micro-organismes, y compris les bactéries, les champignons et les virus (Nedorostova *et al.*, 2009).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent l'activité antifongique de l'HI d'argan contre *A. fumigatus* ce qui est en accord avec ceux rapportés par (Aziza Lfitat *et al.*, 2023 qui ont révélé la présence d'activité antifongique d'huile d'argan contre *Aspergillus fumigatus*.

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que la concentration de l'HE d'argan est un facteur clé pour son efficacité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans*. Une concentration élevée de l'HE est nécessaire pour observer un effet inhibiteur significatif.

On note que la concentration des huiles essentielle influence l'activité inhibitrice, plus la concentration de l'extrait augmente plus les diamètres d'inhibitions sont importants, et cela a été constaté par (Karagozet *al.*, 2010).

La variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et l'huile essentielle utilisée, cela été, également reportée par (Pattnaik *et al.*, 1996) et confirmé par Suhr et Nielsen (2003), qui ont mentionné que l'effet antifongique des huiles essentielles dépend de la méthode d'application.

Selon les travaux de (Tijiet *al.*, 2021), la quantité d'HE diffusée à partir d'un disque est plus facile à standardiser que celle diffusée à partir d'un puits, où des variations dans la profondeur et le diamètre des puits peuvent affecter la diffusion. Le mécanisme d'action des huiles essentielles est difficile à expliquer en raison de sa complexité. Il est possible que chaque composant ait son propre mécanisme d'action, L'efficacité des huiles essentielles dépend du composé le plus abondant décrit. Ceci est également le cas dans notre étude où l'activité antifongique par la méthode de diffusion par disques, nous a donnée des diamètres d'inhibition Plus approprié que la méthode de diffusion par puits.

Selon Rossi *et al.*(2007), les HE sont considérées comme actifs si elles produisent des diamètres d'inhibition de croissance microbienne supérieurs ou égale à 15 mm, Ce fait a également été le cas de notre étude.

En comparant les deux espèces, *Aspergillus fumigatus* montre des zones d'inhibition plus larges (23 mm et 28 mm) par rapport à *Candida albicans* (22 mm et 18 mm), indiquant une sensibilité accrue d'*A. Fumigatus* à l'HE d'argan. Ces résultats montrent que l'HE d'argan possède une activité antifongique significative contre les deux espèces testées, avec une efficacité légèrement supérieure contre *A. fumigatus*. Ceci confirme que l'inhibition des germes par les huiles essentielles dépend de leurs profils chimiques et de la structure de la membrane cellulaire décrite dans les travaux de (Boukssaimet *al.*, 2013).

L'identification de la souche d'*Aspergillus fumigatus* comme étant la plus sensible à l'huile d'argan non diluée est également un résultat intéressant. Cela suggère que certaines

espèces fongiques pourraient être plus susceptibles que d'autres aux effets inhibiteurs de cette huile essentielle.

Cette spécificité d'action pourrait être liée à des différences dans la composition et la structure des parois cellulaires des champignons, ou encore à des mécanismes de résistance et de tolérance variables selon les espèces.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Ponce (2003) qui a prouvé qu'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* sont des souches sensibles à l'huile essentielle d'argan tandis qu'*Aspergillus fumigatus* et *penicillium sp* sont des souches extrêmement sensibles à cette dernière.

Il en ressort, également, à travers cette étude la présence d'une activité antifongique de l'huile d'argan vis à vis *Candida albicans*, Cependant, d'autres auteurs ont révélé l'absence d'activité antifongique d'huile d'argan contre *Candida albicans* (Charrouf et Guillaum, 1999). Ce résultat contradictoire obtenu dans notre travail, pourrait confirmer les études de (Halmi, 2015) ou il a montré que l'activité antimicrobienne ne dépend pas seulement à la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires.

Cela pourrait expliquer aussi que nombreux facteurs écologiques tels que la température, l'humidité relative, l'insolation et la nature du sol peuvent influencer la composition chimique des huiles essentielles ce qui est en accord avec les études de (Oliveira *et al.*, 2005).

selon Hussain *et al.* (2009), l'activité antimicrobienne peut être influencée également par les familles des plantes.

Dans l'étude approfondie de (Bounatirouet *al.*, 2007) sur l'effet inhibiteur des huiles essentielles, la période de la récolte des plantes peut aussi avoir un effet sur l'activité antimicrobienne.

Conclusion

Conclusion

Aujourd'hui, de nombreuses plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques significatives qui sont une source inépuisable de substances bioactives, trouvant des applications variées dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie en cosmétologie...etc.

Au terme de cette étude, nous avons essayé d'évaluer l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan vis-à-vis de deux espèces d'intérêt médicale, *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* qui sont des champignons mal connus et relativement peu étudiés surtout dans le milieu médical. Néanmoins ces champignons sont responsables de diverses pathologie végétale, animale et humaine. Cette recherche a révélée des résultats prometteurs.

L'huile essentielle d'argan a démontré une activité antifongique significative contre ces deux souches, suggérant la présence de composés actifs capables d'inhiber la croissance de ces pathogènes fongiques. Ces résultats indiquent que l'huile essentielle d'argan pourrait être développée comme une alternative ou un complément aux traitements antifongiques conventionnels, en particulier pour les infections causées par *A. fumigatus* et *C. albicans*.

Les résultats obtenus dans notre étude montrent un effet très intéressant de l'huile brute sur les deux souches. Néanmoins, nos résultats varient en fonction des variétés de concentration de l'huile testée.

L'évaluation du pouvoir antifongique d'extrait d'argan par la méthode de diffusion sur gélose contre *A. fumigatus* et *C. albicans*, a révélé que l'extrait de la plante d'*Arganiaspinosa* étudiée possède une activité antifongique par des zones d'inhibition important.

En général, nous pouvons conclure que cette plante est riche en métabolites Secondaires qui donnent une valeur thérapeutique et médicinale importante, mais cette étude Reste préliminaire et pas indicative sur le mécanisme réel par lequel agit cette plante, et elle ne Constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement actives.

En perspective, ce travail est une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies incluant :

- Une analyse approfondie de la composition chimique de l'huile essentielle d'argan pourrait permettre d'identifier les composés spécifiques responsables de l'activité en utilisant l'HPLC.
- Mener des études pour comprendre les mécanismes d'action de l'huile essentielle d'argan sur les cellules fongiques. Cela inclut l'exploration de l'impact sur les membranes cellulaires, les processus métaboliques et les voies de signalisation des champignons.
- Evaluation d'autres effets biologiques in vitro comme in vivo de l'huile essentielle de l'argan et de ces composés actifs en utilisant différentes techniques.
- une étude plus poussée de l'activité antifongique non seulement sur le HE utilisée seule, ou leurs composants majoritaires, mais également en mélange avec d'autres huiles, permettant ainsi une nouvelle synergie. Il serait intéressant de continuer ces travaux sur d'autres champignons pathogènes, afin de confirmer ou non l'efficacité des HE.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abad, A., Victoria Fernández-Molina, J., Bikandi, J., Ramírez, A., Margareto, J., Sendino, J., Rementeria, A. (2010). What makes *Aspergillus fumigatus* a successful pathogen? Genes and molecules involved in invasive aspergillosis. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(4), 155–182.
- Abdullah, F. and E. Mohammed (2012). « Modélisation de la répartition du transfert Des métaux lourds et des oligoéléments dans les sols forestiers, l’huile d’argan et dans Les différentes parties d’arganier. »
- Abudunia, A.M (2017) Evaluation of Essential Oils for Antimicrobial Activity from Some Moroccan Aromatic Plants Medicinal. *Journal of Materials and Environmental Science*, 8, 4240-4245.
- Adjovi, Y., Bailly, S., Gnonlonfin, B.J.G., Tadriss, S., Querin, A., Sanni, A., Oswald, I.P., Puel, O. & Bailly, J.D. (2014). Contrast between natural occurrence of toxigenic *Aspergilli* of the Flavi section and Aflatoxin B1 in cassava: possible explanation. *Food Microbiol.* 38:151-159
- Ait Sidi Brahim, (2015) *Chenopodium ambrosioides* var. *Ambrosioides* Used in Moroccan Traditional Medicine Can Enhance the Antimicrobial Activity of Conventional Antibiotics. *Industrial Crops and Products*, 71, 37-43.
- Anderson, M.J., Gull, K., & Denning, D.W. (1996). Molecular typing by random amplification of polymorphic DNA and M13 southern hybridization of related paired isolates of *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol.* 34: 87-93.
- Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) (2014), *Candidose*
- Badreddine A. (2016). Préparation et Caractérisation d’Extraits d’*Argania spinosa* et D’Huile d’Argan Et Evaluation de leurs Effets Neuroprotecteurs In Vivo et In Vitro.
- Beauvais, A., & Latgé, J. P. (2001). *Aspergillus* biofilms: mycological aspects. *Medical Mycology*, 39(supplement_1), 37-44. DOI: 10.1080/mmy.39.s1.37.44
- Belaiche P. (1979) - *Traité de phytothérapie et d’aromathérapie*. Tome 1 : l’aromatogramme .éd. Maloine. Paris
- Belkou H, Beyoud F., Talebbahmed Z. (2005). Approche de la composition biochimique de la menthe vert (menthe *spicata* L) dans la région de Ouargla, *Mémoire DES, Univ Ouargla*, pp 2,61.

- Benaouf Z., (2017).- Etude Phénologique Et Apport De La Mycorhization Sur La Croissance De L'arganier (*Argania Spinosa* (L.) Skeels) Dans l'Ouest Algérien.Mémoire de doctorat. Université Des Sciences Et De La Technologie«HouariBoumediene».p : 6.
- Benkakouz, m. 2002. production de la protéase neutre par *Aspergillus oryzae* sur déchets d'orange. Optimisation du milieu de culture, purification partielle et étude des propriétés physico-chimique de l'enzyme. Thème de magistère.
- Benkheira A., (2009). L'arganeraie algérienne. N° 9 Juin 2009, Numéro spécial
- Bennett RJ, (2010) Coming of age--sexual reproduction in *Candida* species. PLoS Pathog.e1001155
- benzyane m., 1995 – le rôle socio- économique et environnemental de l'arganier in berrerd et bouguedoura n .2000.Essai de germination de L'oliveir de laperrine (*olealaperriniBatt*) et :rédécouvrir et réinventer une Sylviculture en zone aride .séminaire international , djanat 27-29 octobre 2000.100-105
- Berdy, J. (1995). Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? In Proceedings of the 9th International Symposium on the Biology of Actinomycetes, part I.
- Bernadet M. (2000)- Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed. Dangles. In Benzeggouta N., 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, 110p.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- Bouamer A., Bellaghit M., Mollay A. (2004). Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla ; Mémoire DES .Unive. Ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.
- BOUDY P., 1952 – guide forestière de l'Africaine des Tom II : monographie et Traitement des essences forestières, Ed, paris ,383-415.
- Boukssaim, H., et al. (2013) Caractérisation chimique et microbiologique des huiles essentielles des rameaux, des cones et du bois de *Cupressus atlantica*, arbre forestier endémique du Maroc. *Phytothérapie*, 11, 294-300. <https://doi.org/10.1007/s10298-013-0803-9>
- Bounicourt M. 1995. Dictionnaire de Microbiologie Générale, Ellipses, pp. 458-463.

- Bruneton J. (1993)-Pharmacognosie Phytochimies Plantes médicinales.Tec& Doc, Lavoisier, Paris, p 915.
- Buffo et Herman, 1984, *candida albicans* VAC8 is required for vacuolar inheritance and normal hyphal branching.Eukaryot cell 2006,5 :359- 367.
- Carvajal-Campos,A.,Manizan,A.L.,Tadrist,S.,Koffi-Akaki,D.,Koffi-Nevry,R.,Moore,G.G.,Fapohunda,S.O., Bailly, S., Montet, D., Oswald, I.P., Lorber, S., Brabet, C. &Puel, O. (2017). *Aspergillus korhogoensis*, a novel aflatoxin producing species from the Côte d'Ivoire. Toxins 9,353,doi:10.3390/toxins9110353.
- Castegnaro M., Pfohl-Leszkowicz A. (2002). Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.
- Catherine Silvant, L'Aromathérapie : La nature au service de l'humanité, Éditeur PIBLIBOOK : 5 janv. 2015, page 25, 36.
- Chabasse D, et al. (2008). Moisissures, dermatophytes, levures : du prélèvement au diagnostic: Biomérieux Education.
- Chabasse D., Bouchara J-P ; De gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P.(2002). Cahier de formation les moisissures d'intérêt médicale.
- Charrouf Z, Guillaume D. Secondary metabolites. PhytochemReviews 2002 ; 1 : 345-54.
- Charrouf Z., (2002). L'huile d'argan, une prodigieuse vitalité née au bord du désert... Paru dans Espérance Médicale. Octobre 2002. Tome 9, N° 87.
- Charrouf Z., (2002). Valorisation de l'arganier : Résultats et perspectives. Actes du 5ème Colloque Produits naturels d'origine végétale (Québec 07-09 Aout 2001), p. 261-270.
- Charrouf Z., Guillaume D., (2007). Huile d'argan une production devenue adulte. Article de thèse : Les technologies de laboratoire, N° 6 Septembre – Octobre 2007.
- Charrouf, Z., & Guillaume, D. (2008). Argan Oil : Occurrence, Composition and Impact on Human Health. European Journal of Lipid Science and Technology, 110(7), 632-636.
- Chasseur, C ; Nolard, N. 2003. Les champignons de l'habitat 1ère partie : introduction a la mycologie, risques pour la sante, expertises.p:3.4.7.8.
- Chermette R., Bussieras J. (1993). Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Chiriti A., Belboukhri N., Boulenouari N., Marouf A. et Hocini S. 2011. Potentiel ethnopharmacologique et phytochimique de quelques asteraceae du sahara algérien ,6 : 114- 122.

- Csek, J.; Kaufman, P. B. How and why these compounds are synthesized by plants. Natural products from plants. CRC Press, Boca Raton FL. 1999, p, 37-90
- Desmares C., Laurent A., Delerme C. (2008) Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.
- Djemaa, M. B., Belkacem, M. (2016). Étude ethnobotanique de l'arganier (*Argania spinosa*) dans la région de Tindouf (Sud-Ouest Algérien). *Phytothérapie*, 14(6), 376-384.
- Djerrou Z. (2011). Etude des effets pharmaco-toxicologique de plante médicinales d'Algérie : l'activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, 156 p.
- Edris, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *A review-Phytother. Res.* 2007, 21, 308-323.
- El Mahgubi A., Puel O., Bailly S., Tadriss S., Querin A., Ouadia A., Oswald I.P., Bailly J.D. (2013). Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in species marketed in Morocco. *Food Contr.* 32:143–148
- El Mousadik A, Petit RJ. Chloroplast DNA phylogeography of the argan tree of Morocco. *Mol Ecol.* 1996 ; 5, 547-555.
- Elhidar, N., *et al.* (2019) Chemical Composition, Antimicrobial Activities and Synergistic Effects of Essential Oil from *Senecioanteuphorbium*, a Moroccan Endemic Plant. *Industrial Crops and Products*, 130, 310-315.
- EMBERGER L. Les végétaux vasculaires. Masson, Paris, 1960, Tome II, 1540 p.
- Emberger, L., "A propos de distribution géographique de l'Arganier", *Bull. Sté. Sciences nat. Et phys.*, V.4, (1924), 151-153
- Femenia, F., D. Huet, S. Lair-Fullerger, M. C. Wagner, J. Sarfati, L. Shingarova, J. Guillot, P. Boireau, R. Chermette, and N. Berkova. 2009. Effects of conidia of various *Aspergillus* species on apoptosis of human pneumocytes and bronchial epithelial cells. *Mycopathologia* 167:249-62.
- Florence Mayer, utilisation thérapeutique des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, thèse du doctorat, université de Lorraine publié le 30 Mars 2012, page 25
- Gaborieau Benoit, Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de la Vienne, thèse de doctorat, Université de POITIERS, 10 juin 2015, page 13
- Gaborieau Benoit, Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de la Vienne, thèse de doctorat, Université de POITIERS, 10 juin 2015, page 13

- Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M. (2001) - Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.
- Giordani R. et Kaloustian J., 2006. Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytotherapie* (2006) Numéro 3:121-124.
- Giordani R., Hadeff Y. et Kaloustian J., 2008- Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79 (2008) 199–203.
- Gugnani, H. C. (2003). Ecology and taxonomy of pathogenic aspergillai. *Frontiers in Bioscience*, 8(6), s346–357.
- Guillaume D and Charrouf Z. Argan oil and other argan products ; use in dermocosmetology. *Eur J LipidSciTechnol*. 2011 ; 113, 403-408.
- Halmi S. (2015). Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'Opuntia ficus-indica. Thèse de Doctorat en sciences. Université des frères Mentouri, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Constantine, 183 p.
- Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C. and Pegler D.N. (1994). *Ainsworth and Bysby's dictionary of the fungi*, 8th ed. International Mycological Institute, Egham. Unitted. Kingdom.
- Heinekamp, T., Thywißen, A., Macheleidt, J., Keller, S., Valiante, V., Brakhage, A. A. (2013). *Aspergillus fumigatus melanins: interference with the host endocytosis pathway and impact on virulence*. *Frontiers in Microbiology*, 3
- Jaccard, P., “L'Arganier Sapotaceae oléagineuse du Maroc”, *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, (1926), 203-209.
- James TY, Kauff F, Schoch CL, Matheny PB, Hofstetter V, Cox CJ, et al, 2006 Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* ;443(7113):818–22
- Jones, M. P., and S. E. Orosz. 2000. Presented at the Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine.
- Joya Makhoulf.(2019).Caractérisation de la biodiversité des souches d'Aspergillus de la section Flavi isolées d'aliments commercialisés au Liban: approche moléculaire, métabolique et morphologique. doctorat de l'université de toulouse.
- Khiati M. (1998)- Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
- Kiffer, E. Morelet, M. (1997) Les deutéromycètes. Institut National
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C. &Stalpers, J.A. (2001). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*, 9th Edition. CABI Publishing.

- Kunkle, R. A. 2003. Fungal diseases. In Y. M. Saif (ed.), Diseases of poultry 11th Edition.
- Kurkin, V. A. Phenylpropanoids from medicinal plants. Distribution, classification, structural analysis and biological activity. Chem. Nat. Compd. 2003, 39, 123-153
- Lamoth, F. (2016). *Aspergillus fumigatus*-Related Species in Clinical Practice. Frontiers in Microbiology, 7
- Latge, J. P. (1999). *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. Clinical Microbiology Reviews, 12(2), 310-350.
- LCLERC, H; MEYER, A & DEIANU, J. 1955. Cours de microbiologie générale (nouveau programme). Ed Doin. P: 77.
- Lepage, O. M., M. F. Perron, and J. L. Cadore. 2004. The mystery of fungal infection in the guttural pouches. Vet J 168:60-4.
- Leveau J.Y. and Bouix M. (1993). Les moisissures. In Florent J Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industrielle. (edn) Tec et Doc- Lavoisier.
- Lis-Balchin M. et Deans S.G., 1997- Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*., Journal of Applied Microbiology, 82, 759–762.
- Lotfi N., Chahboun N., El Hartiti H., Kabouche Z., El M'Rabet M., Berrabeh M., Touzani R., Ouhssine M. Et Oudda H. (2015). Study of the antibacterial effect of Argan oil from Bechar region of Algeria on hospital resistant strains. Journal of Materials Environmental Science., 6 (9) : 2476-2482
- Lucchesi, M.-E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat, Université de la Réunion
- M'Hirit O. (1987). L'arganier, une espèce fruitière, forestière à usages multiples des Zones arides méditerranéens. Inst. Agr. Médit, 20 p., Saragoss.
- M'hirit O. (1989) L'arganier une espèce fruitière forestière à usage multiple. In Formation Forestière Continue, thème « l'Arganier », Station de Recherches Forestière, Agadir, 13-17 mars : 31-57
- Madjour S (2014), Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*, Université Med Khider Biskra.
- Mahilrajan S, Nandakumar J., Kailayalingam R., Manoharan N.A. et SriVijeindran S., 2014- Screening the antifungal activity of essential oils against decay fungi from palmyrah leaf handicrafts., Biological Research, 47:35
- Mathew R. (1995). Biologie Campbell, (edn) ISBN Canada

- Morin, O. (2003). *Aspergillus et aspergillose : biologie*. EncyclMédChir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses. 8-600-A-10: 1-7.
- Moro Buronzo A. (2008). *Grand guide des huiles essentielles*. Edition Hachette pratique. 14-21, 22, 23-26.
- Morocco Guide. “Archive for the Français Maroc Catégorie, L’Arganier une richesse Sous estimé du Maroc”, (2006).
- Msanda FAEA and Peltier JP. Biodiversité et biogéographie de l’arganeraie marocaine. Cahiers Agricultures. 2005 ; 14.
- Mueller G.M., Schmit J.P. 2007. Fungal biodiversity: what do we know? What Can we predict? Biodiversity and Conservation. 16: 1-5
- Nahida., Ansari S. H. et Siddiki A. Pistacialentiscus : a review on phytochemistry and pharmacological properties. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4 : 16-20.
- Negi P.S., 2012- Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application., International Journal of Food Microbiology 156: 7–17
- Paris M & Hurabielle. (1981) – *Abrégé de matière médicale*. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris. France
- Penntybio. [En ligne]. <http://www.penntybio.com/content/40-les-huiles-essentielles-contre-les-virus> [consulté le 04/05/2024].
- Perry, J. J., Staley J. T., and S. Lory. (2004). *Microbiologie*. Dunod. France.
- Populations”, Nature Science Progrès, V. 85, (1962), 390-393.
- Radi N, 2003. L’Arganier arbre du sud ouest marocain, en péril, à protéger. Thèse pour le diplôme D’Etat de Docteur en pharmacie, Université de Nantes, Nantes, 59.
- Radi. N, L’arganier: arbre du sud-ouest marocain, en péril, à protéger, thèse Univ.Grenoble 3 novembre 2003.
- Rahmani M. In : L’huile d’argan, un produit Alimentaire et diététique de qualité.
- Rambach, G., Blum, G., Latgé, J.-P., Fontaine, T., Heinekamp, T., Hagleitner, M., Speth, C. (2015). Identification of *Aspergillus fumigatus* Surface Components That Mediate Interaction of Conidia and Hyphae With Human Platelets. *Journal of Infectious Diseases*, 212(7), 1140–1149.
- Raper K.B. & Fennell . (1965). The genus *Aspergillus*. *Food Microbiol* 5: 163-176.
- REGNAULT, J.P. 1990. *Microbiologie générale*, (edn) Decarie. Paris.
- Rhayour K. (2002)- Etude du mécanisme de l’action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et

- Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- Robert, H.; Waterman, K.M.; Peter, G. Longman Scientific and Technical, U.K. 1993.
 - Roquebert M.F. (1998). Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification", in "Moisissures des aliments peu hydratés", Ed. Tec & Doc
 - Rouhi R., (1991). Anatomie de l'arganier (*Argania spinosa* (L.) Skeels). Actes du Colloque international sur l'arganier. Agadir. p : 100 – 103.
 - Samson R.A., Hong S.B. et Frisvad J.C. (2006). Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology*. 44:133–148.
 - Samson, R. A., Hong, S., Peterson, S. W., Frisvad, J. C. & Varga, J. (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. *Stud Mycol* 59, 147-203
 - Schmidt, A., and M. H. Wolff. 1997. Morphological characteristics of *Aspergillus fumigatus* strains isolated from patient samples. *Mycoses* 40:347-51.
 - Séminaire sur l'arganier. Rabat : Division de Recherche et d'exploitation forestière, 1989.
 - Senal J., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre Ph., Meulmans M., Seilleur P., Vandevéken J., et Viseur J. (1993). *Traité de pathologie végétale*. Gembloux. Belgique.
 - Sharma N., & Tripathi A., 2006 - Fungitoxicity of the essential oil of *Citrus sinensis* on post-harvest pathogens. Vol 22: 587-593.
 - Strohl, W. R. (1997). Industrial antibiotics: today and the future. In WR (ed). *Bio/technology of antibiotics*, 2nd edn. Marcel Dekker. New York. 1-47.
 - Sudbery P. E. (2001). The germ tubes of *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae show different patterns of septin ring localization. *Mol. Microbiol*, 41 : 19-31.
 - TABUC, C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Toulouse : Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest
 - TABUC, C. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Toulouse : Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest, 2007.
 - Tatsadjieu N.L., Jazetdongmo P.M., Ngassoum M.B., Mbofung C.M.F., 2009 - Investigations on the essential oil of *Lippia rugosa* from Cameroon for its potential use as antifungal agent against *Aspergillus flavus* Link ex. Fries. *Food Control* 20, 161–166 pp.

- Tell, L. A. 2005. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. *Med Mycol* 43 Suppl 1:S71-3.
- Tiji, S., Rokni, Y., Benayad, O., Laaraj, N., Asehraou, A. and Mimouni, M. (2021) Chemical Composition Related to Antimicrobial Activity of Moroccan *Nigella sativa* L. Extracts and Isolated Fractions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article ID: 8308050.
- Tonelli, N. et Gallouin, F., “Des fruits et des graines comestibles du monde entier”,(2013)
- Tortora J., Funk B.F. et Case Ch.I. (2003). *Introduction à la microbiologie*, (edn) ISBN.Canada.
- TOUHAMI Aicha 2017 THESE Présentée en vue de l’obtention du diplôme de DOCTORAT en Science Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l’Est Algérien pendant les deux périodes de développement.
- Valne T. J. (1984) - *Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes*. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- Venegas C, Cabrera-Vique C, Garcia-Corzo L, Escames G, Acuna-Castroviejo D, Lopez LC. Determination of coenzyme Q10, coenzyme Q9, and melatonin contents in virgin argan oils: comparison with other edible vegetable oils. *J Agric Food Chem*. 2011 ; 59, 12102-12108.
- Wagret, P., “L’Arganeraie de la Sud Marocaine relique du tertiaire et providence des
- Yaguchi, T., Horie, Y., Tanaka, R., Matsuzawa, T., Ito, J., Nishimura, K., ...& Miyaji, M. (2007). *Aspergillus udagawae*, a new species of *Aspergillus* section *Fumigati* isolated from Japanese soil. *Medical mycology*, 45(5), 369-380.

Annexes

Annexes 01

Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) :

- Laver et râper 200g de pomme de terre.
- Les mettre dans 500ml d'eau distillée et porter à ébullition
- Filtrer et compléter à 1L :

Glucose.....20g.
Agar20g.
Eau distillée.....1000ml.



Figure 01: Les étapes de la préparation de milieu PDA

Annexe 02

Composition et préparation de l'eau physiologique à 0,9%

NaCl..... 9 g

Eau distillée..... 1000 ml

Dissoudre complètement le NaCl de l'eau distillée. Stériliser dans l'autoclave

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par :

Yaiche Hadil Lina

YninebYousra

Zair Aya

**Etude de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan vis-à-vis deux espèces d'intérêt médicale
Aspergillus fumigatus et *Candida albicans***

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie appliquée

Argania spinosa une espèce rare présente dans le sud du Maroc et le sud-ouest de l'Algérie, C'est est un arbre d'une grande importance écologique et économique. Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique d'huile essentielle de cette plante aromatique et médicinale vis-à-vis de deux champignons à intérêt médicale. L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'argan contre *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* est une étude pertinente dans le domaine de la recherche médicale, compte tenu de l'importance de ces souches dans les infections fongiques. En utilisant des méthodes de diffusion par puits et par disque. Les résultats relatifs aux différents diamètres d'inhibition montrent une activité inhibitrice significative observée suite aux traitements avec l'huile essentielle d'argan brut contre les deux souches. Cependant, à faibles doses (D1, D2, témoins) l'huile essentielle utilisée n'affecte pas la croissance des souches. Les résultats positifs obtenus suggérant que l'huile d'argan pourrait être utilisée comme une option thérapeutique alternative ou complémentaire dans le traitement des infections fongiques. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives dans la recherche de traitements antifongiques, mettant en lumière le potentiel des produits naturels dans la lutte contre les maladies infectieuses.

Mots-clefs : *Argania spinosa*, Activité antifongique, Huile essentielle d'argan, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Mycologie Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Benserradj Wafa (MCA - UFM Constantine1).

Encadrant : Zaamouchi Ahlem (MAB -UFM Constantine 1).

Examineur(s) : Boufercha Oumeima (MCB - UFM Constantine 1).