



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la  
vie  
Département des sciences de la nature et de la vie  
Filière : Sciences biologiques

Référence ..... / 2020

# MÉMOIRE DE Master

Spécialité : Parasitologie

---

Présenté et soutenu par :

**ZAID Bouthayna**

**TIFOURGHI Hadjer**

Le : dimanche 27 septembre 2020

## *Contribution d'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de thym (*Thymus vulgaris*) contre *Aspergillus niger**

---

Jury :

Mme. Nadjet BEBBA	MCB	Université de Biskra	Président
Mme. Nassima BENAMEUR	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Amel CHOUIA	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2019 - 2020

# Remerciements

*Louange et Gloire à Dieu ,Grand et Miséricordieux, qui nous avons donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.*

*Nos remerciements vont en particulier et profondément, à notre encadreur de recherche, Docteur Benameur Nassima la qualité de son enseignement, ses conseils et son intérêt et pour sa précieuse aide à la relecture et à la correction de notre mémoire.*

*Nous adressons nos vifs remerciements aux membres de jury qu'ils trouvent ici toute ma gratitude et mes remerciements pour avoir accepté de faire partie du jury et pour avoir bien.*

*Nous adressons encore nos remerciements à: L'ensemble des membres du département de biologie L'ensemble des membres de laboratoire de biologie*

*Bouthayna, Hadjer*

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail*

*A ma mère pour son amour , ses encouragement et ses sacrifices*

*A la mémoire de mon chère père*

*A tous les membres de ma famille*

*A tous mes amis*

*Et tous ceux qui m'aiment*

*Bouthayna*

## Dédicace

*A la lumière de mes yeux et le bonheur de mon existence les plus chères et les plus idéaux*

*homme et femme dans ma vie mon père « NOUREDDINE » et ma mère « HAYAT » pour l'amour qu'ils m'ont porté et pour leur soutien et conseils, m'ont donné confiance, courage et sécurité. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma grande affection et amour*

*je le dédie ce travail à mes chers frères : Mohammed ,Abdarrahmen et Youcef et ma belle sœur : Meriem*

*je le dédie le travail à ma fiancé : zinou , je remerciez le Dieu pour votre présence dans ma vie*

*A mon oncle Hmayda et mes tante : Nacira et Feyrouz*

*A mes amis : Anfel ,Ahlem*

*Un spéciale dédicace à mon magnifique et merveilleux binôme qui compte énormément sur moi «Bouthayna».*

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Je vous dis merci.*

*HADJER*

# Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Liste des Tableaux .....	I
Liste des Figures .....	II
Liste des abréviations .....	III
Introduction générale.....	1
Plante médicinale et huiles essentielles.....	3
1. Les plantes médicinale : .....	3
1.1 Thym :.....	3
1.1.1 Description botanique du thym : .....	3
1.1.3 Biogéographie.....	4
1.1.4 Classification :.....	5
2. Huiles essentielles .....	6
2.1 Méthodes d'obtention des huiles essentielles :.....	6
2.1.1 Hydrodistillation : .....	6
2.2 Activité biologique des huiles essentielles.....	7
2.2.1 Activité antimicrobienne .....	7
2.2.2 Activité antifongique : .....	7
2.2.3 L'effet des huiles essentielles de thym sur la cellule d' <i>Aspergillus niger</i> .....	7
3.1 Huile essentielle de thym : .....	7
3.2. Principale composant des huiles essentielles de thym .....	8
3.2.1 Phénols.....	8
3.2.2 Les alcools.....	9
Généralité sur <i>Aspergillus niger</i> .....	10
2. <i>Aspergillus</i> .....	10
2.1 Caractères cultureux d' <i>Aspergillus Niger</i> : .....	11
2.2 Morphologie microscopique : .....	11
2.3 Caractère épidémiologique .....	11
Matériel et Méthode.....	13
3.1 Matériel végétale : .....	13
3.1.1 Lieu et période de récolte : .....	13
3.1.2 Classification :.....	14
3.1.3 Matériel fongique : .....	14
3.1.4 Classification :.....	15

3.2 Méthodes d'extraction des huiles essentiels .....	15
3.2.1 Séchage de la plante.....	15
3.2.2 Extraction par hydro distillation .....	15
3.2.2.1 Méthode de réalisation .....	16
3.3 Milieu de culture : .....	16
3.3.1 PDA (Potato Dextrose Agar) .....	17
3.5 Détermination de zone d'inhibition .....	17
Résultats et discussion .....	19
4.1 Paramètres organoleptique et rendement des HEs de la plante aromatique .....	19
4.2 Rendement des huiles essentielles : .....	19
4.3. Résultats de l'évaluation de l'activité antifongique de HEs du <i>Thymus vulgaris</i> : .....	19
Conclusion .....	22
Bibliographie.....	23
Annexes	
Résumés	

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> Localisation principale de thym en Algérie .....	5
<b>Tableau 2</b> Composition chimique des huiles essentielles de Thym . .....	8
<b>Tableau 3</b> Caractéristiques floristique de <i>Thymus vulgaris</i> .....	13
<b>Tableau 4</b> Classification de <i>thymus vulgaris</i> .....	14
<b>Tableau 5</b> Caractéristique organoleptiques des HEs testé.....	19

# Liste des Figures

<b>Figure 1</b> Partie utilisé de thym.....	4
<b>Figure 2</b> Schéma de montage de l'hydrodistillation.....	6
<b>Figure 3</b> Structure de thymol.....	9
<b>Figure 4</b> Structure de linalol.....	9
<b>Figure 5</b> <i>Aspergillus niger</i> .....	10
<b>Figure 6</b> <i>Aspergillus niger</i> .....	11
<b>Figure 7</b> Cycle infectieux des chamignon de genre <i>Aspergillus</i> .....	12
<b>Figure 8</b> <i>Thymus vulgaris</i> .....	14
<b>Figure 9</b> Extraction des huiles essentielles.....	16



## Liste des abréviations

**HEs** : Huiles essentielles

**AN** : *Aspergillus niger*

**ZI** : Zone d'inhibition

**CMI** : Concentration minimal inhibitrice

**CMF** : Concentration minimal fongique

**PDA** : Potato déxtrose agar

**mV** : Masse de matière végétale

**mHE** : Masse de huile essentielle

# Introduction générale

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. La valorisation de ces ressources naturelles végétales passe essentiellement par l'extraction de leurs huiles essentielles (HE). Ces dernières sont des produits à forte valeur ajoutée, utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires (amarati et *al.*,2011) .

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y poussent spontanément. A cette grande diversité floristique, s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. En effet, malgré les progrès réalisés en médecine, plusieurs populations, notamment celles des campagnes et des régions rurales, ont recours aux plantes pour se soigner, soit par inaccessibilité aux médicaments prescrits par la médecine moderne, soit parce que ces plantes ont donné des résultats thérapeutiques très encourageants lors de leur utilisation.

le problème actuel c'est que la flore Algérienne,avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée aussi bien sur le plan pharmacologique que phytochimique selon zeghib(2013).

Parmi ces espèce dont l'effet thérapeutique reste malconnue ; trouvons le genre thymus qui fait l'objectif de notre étude ; englobant de nombreuses espèces et variétés, dont la composition chimique desHE (Huiles essentielles) de certaines d'entre elles a été étudiée depuis longtemps. Aussi, les huiles de plusieurs espèces du thym sont investiguées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques selon amarati *et al.*, (2011) .

Les huiles essentielles (HE) sont quelques-uns des composés exceptionnels trouvés dans le thymus qui peuvent exercer des activités antifongiques, phytotoxiques et insecticides, qui encouragent leur exploration et leur utilisation potentielle à des fins agricoles et alimentaires (Ghasemi *et al.*, 2020).

C'est dans ce contexte que s'inscrit nos travaux, dans lesquels nous avons testé le pouvoir thérapeutique du thym en plus de son activité antifongique contre le micro-organisme pathogène de genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger*) .

Les objectifs de notre étude, s'articule autour des trois points suivants :

- Tracé le profil chimique des HEs choisie pour cette étude.
- Evaluation par test de diffusion sur disque d'agar la propriété antifongique des HEs de thym contre *Aspergillus niger* .

Notre travail comporte deux parties :

la première partie est consacrée pour la synthèse bibliographique qui est composée de deux principaux chapitres. Le premier chapitre est dédié à l'étude des plantes médicinales notamment le *Thymus vulgaris* utilisé et les huiles essentiels (HEs). Le deuxième porte sur une étude mycologique de l'espèce fongique étudiée *Aspergillus niger* . Dans la deuxième partie, nous avons testés le pouvoir antifongique des HEs de la plante aromatique endémiques contre *l'Aspergillus Niger* .

**Première partie :**

**Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I :**

# **Plante médicinale et**

# **huiles essentielles**

# Plante médicinale et huiles essentielles

## 1. Les plantes médicinale :

La définition d'une plante médicinale est très simple, en fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux . Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Environ 35000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (Zeghad , 2009)

### 1.1 Thym :

Le thym est une plante condimentaire qui appartient à la famille des Labiées.

Le genre *Thymus* L. se compose d'environ 215 espèces de plantes vivaces herbacées et des sous-arbustes. Il pousse spontanément sur les coteaux arides de la méditerranée. Il est couramment utilisé dans le domaine thérapeutique, ceci est dû à ses propriétés pharmacologiques et aromatiques : antispasmodique, antiseptique, antitussif et expectorant C'est l'une des espèces les plus utilisées dans la médecine populaire, pour Stimuler l'action dans toutes les fonctions de l'organisme) et aussi pour l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (Touhami, 2017)

#### 1.1.1 Description botanique du thym :

Le thym est un sous-arbrisseau touffu à tige dressée, ligneuse, rameuse et tortueuse à la base, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Les rameaux blanchâtres, courtement velus, portent des feuilles persistantes, de petite taille (3 à 12 mm de long sur 0,5 à 3 mm de large), opposées, lancéolées ou linéaires, à limbe entier ; elles sont subsessiles et de couleur vert grisâtre ; beaucoup sont le point de départ de ramuscules très courts, formant des faisceaux de petites feuilles issues de celles des tiges ; leur face inférieure est feutrée et ponctuée de poils sécréteurs, alors que leur face supérieure est glabre et marquée par une nervure centrale déprimée ; les marges du limbe sont généralement enroulées sur la face ventrale, ce qui donne à la feuille une forme générale d'aiguille.

Les fleurs, regroupées par 2 ou 3 à l'aisselle de feuilles, sont rassemblées en glomérules ovoïdes ; elles sont de petite taille et zygomorphes ; le calice est velu de poils durs, en forme de tube ventru à la base et de 3 à 4 mm de long ; il est formé de 5 sépales soudés en 2 lèvres

inégales, celle du haut étant tridentée et celle du bas bilobée, ciliée et arquée ; la corolle est de taille variable, bilabée et de couleur mauve. Le fruit est un tétrakène qui renferme à maturité 4 minuscules graines (1 mm), brun clair à brun foncé. La floraison a lieu de juin à octobre (Goetz et Ghedira , 2012).



Figure 1 partie utilisé de thym (Iserin, 2001)

### 1.1.3 Biogéographie

Selon Heni (2016) , Le *Thymus* de la famille des Lamiacées ou Labiées, comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides . Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement. Sa répartition géographique est représentée dans le Tableau suivant .

**Tableau 1** Localisation principale de thym en Algérie (Heni, 2016)

<b>Espèces</b>	<b>Découverte</b>	<b>Localisation</b>
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman & Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss & Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans: Le sous secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans: le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Très rare dans le sous secteur de L'Atlas Saharien et constantinois
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Très rare dans le sous secteur des hauts plateaux algérois
<i>Thymus algériensis</i>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

**1.1.4 Classification :**

Règne : Plantes

Sous Règne : Plantes vasculaires

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous Classe : Dialypétales

Ordre : Labiales



Famille : Lamiacées

Genre : Thymus(Benourad, 2015)

## 2. Huiles essentielles

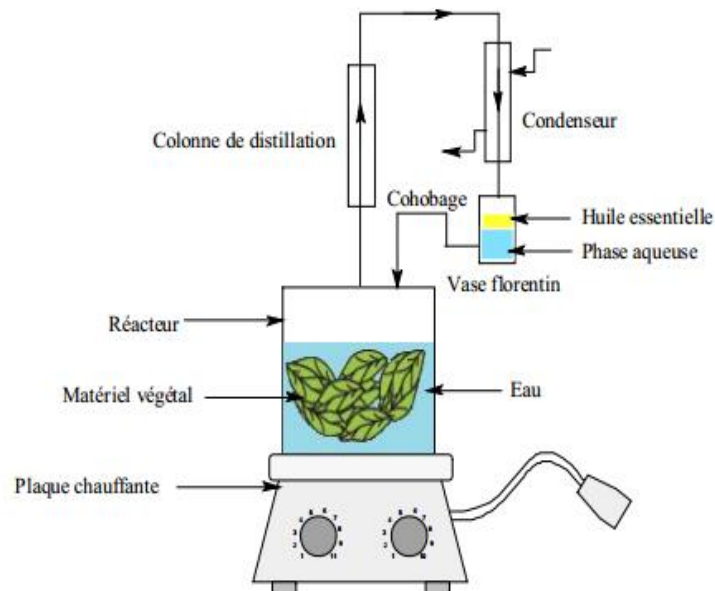
- Ce sont des substances caractérisées par un ensemble d'activités biologiques prouvées par la communauté scientifique, parmi lesquelles on peut citer brièvement l'activité antimicrobienne (Benbelaid, 2015)

### 2.1 Méthodes d'obtention des huiles essentielles :

Différentes méthodes d'extraction sont utilisées, le choix de la technique dépendra de la partie de la plante sélectionnée, du rendement souhaité, de la durée d'extraction, du coût... A titre d'exemple, la fleur de lavande contenant plus d'HE que la tige, la distillation de la fleur présentera un meilleur rendement que celle de la tige. Quel que soit la méthode utilisée, la composition moléculaire d'une HE doit rester identique au cours de l'extraction ( Muther, 2015)

#### 2.1.1 Hydrodistillation :

L'hydrodistillation est l'une des méthodes les plus préconisées pour l'extraction des HES à partir des épices sèches. Son principe consiste à immerger la matière végétale directement dans un réacteur rempli d'eau placé sur une souche de chaleur (Chenni, 2016 ;Bousbia, 2011)



**Figure 2** schéma de montage de l'hydrodistillation(Chenni,2016)

## **2.2 Activité biologique des huiles essentielles**

### **2.2.1 Activité antimicrobienne**

L'objectif principal de cette partie est la présentation de l'action antimicrobienne des huiles essentielles, des mécanismes d'action de ces composés sur les microorganismes et de certains facteurs déterminant cette activité.

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes constituent les composants actifs les plus importants des huiles essentielles, dont les mono- et sesquiterpénoïdes forment la majeure partie. Les huiles essentielles peuvent comporter plus de soixante composants différentes dont le composant majeur peut constituer plus de 85% (Chouitah, 2012)

### **2.2.2 Activité antifongique :**

Les infections fongiques sont d'une actualité criante aujourd'hui. En effet, leur extension est largement favorisée par l'utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques. Ici les groupes moléculaires cités en priorité pour leur action antibactériennes se révèlent également actifs sur les champignons. Néanmoins, la durée d'un tel traitement sera plus longue que pour celle d'un traitement antibactérien (Pierron, 2014)

### **2.2.3 L'effet des huiles essentielles de thym sur la cellule d'*Aspergillus niger***

L'importance de la bioactivité est en relation avec sa forte teneur en thymol et en montrés que les H.Es riches en dérivés phénoliques (carvacrol est thymol) Les phénols terpéniques cause de plusieurs dégâts tels que des perturbations morphologiques des hyphes mycéliennes et par conséquent des ruptures de la membrane plasmique et altération de la structure des mitochondries (Amarti et al., 2010)

## **3.1 Huile essentielle de thym :**

D'après Daouda (2014) Les compositions chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés la période et la zone géographique de récolte.

**Tableau 2** Composition chimique des huiles essentielles de Thym (Touhami,2017).

<b>Espèces</b>	<b>Pays</b>	<b>Composition majoritaires</b>	<b>Références</b>
<i>Thymus pulegeoides</i>	Bulgarie	Nérol 18,7% Géravial 58,8%	Domokos <i>et al</i> 1995
<i>Thymus revolutus</i>	Turquie	Carvacrol 43,13% $\gamma$ -terpinène 20,86% p-cymène 13,94%	Karaman <i>et al</i> 2001
<i>Thymus bleicherianus</i>	Maroc	Carvacrol 70,92% p-cymène 6,34	El Ajjouri <i>et al</i> 2008
<i>Thymus capitatus</i>	Maroc	$\alpha$ -terpinène 42,23% Thymol 23,95	El Ajjouri <i>et al</i> 2008
<i>Thymus numidicus poiret</i>	Algérie (Constantine)	Thymol 23,92% Linalol 17,20% $\gamma$ -terpinène 10,84%	Zeghib <i>et al</i> 2013
<i>Thymus numidicus</i>	Algérie	Thymol 60,80% p-cymène 10,30% $\gamma$ -terpinène 7,60%	Giordani <i>et al</i> 2008
<i>Thymus algeriensis</i>	Algérie	Thymol 71,45% Linalool 7,89%	Chemat <i>et al</i> 2012
<i>Thymus algeriensis</i>	Maroc	Camphre 27,70% $\alpha$ -pinène 20,50%	Amarti <i>et al</i> 2008
<i>Thymus ciliatus</i>	Maroc	Thymol 44,2% E-ocimène 25,8% $\alpha$ -terpinène 12,3%	Amarti <i>et al</i> 2008

### 3.2. Principale composant des huiles essentielles de thym

#### 3.2.1 Phénols

Un phénol est une molécule aromatique, possédant un groupe hydroxyle (OH) fixé sur le carbone d'un cycle benzénique. Ils ont un suffixe en « -ol ». Ce sont les constituants majoritaires des HE après les terpènes. à propriété thérapeutique puissants anti-infectieux (virucides, fongicides et parasitocides) et plus de 92% des bactéries pathogènes y sont sensibles. Ils tuent directement les germes par destruction de leurs membranes cellulaires (bactéricides les plus efficaces) et agissent aussi sur le terrain en stimulant le système immunitaire. Ce sont également des anti-inflammatoires, des antalgiques et des toniques généraux (Laurent, 2017).

Il y a de nombreux composés phénoliques dans les huiles essentielles. Les principaux sont le thymol, le carvacrol et l'eugénol. Le thymol est présent dans l'huile essentielle de Thym CT thymol (*Thymus vulgaris* CT thymol) (Mayer, 2012)

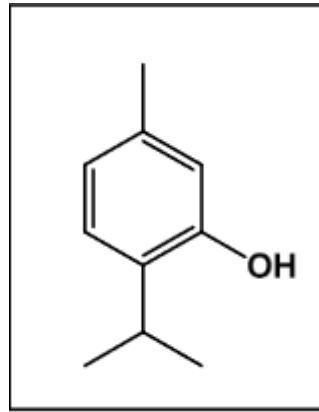


Figure 3 structure de thymol(Touhami, 2017)

### 3.2.2 Les alcools

Les alcools terpéniques ou monoterpénols sont utilisés dans de nombreuses pathologies infectieuses. Le linalol présent dans l'huile essentielle de Thym CT linalol (*Thymus vulgaris* CT linalol) possède une action stimulante immunitaire(Mayer, 2012)

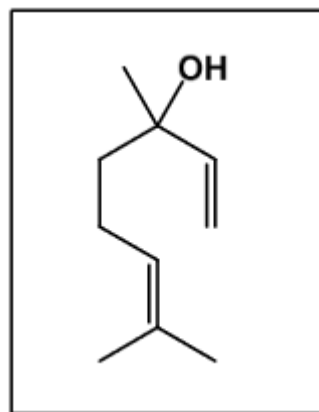


Figure 4 structure de linalol(Touhami, 2017)

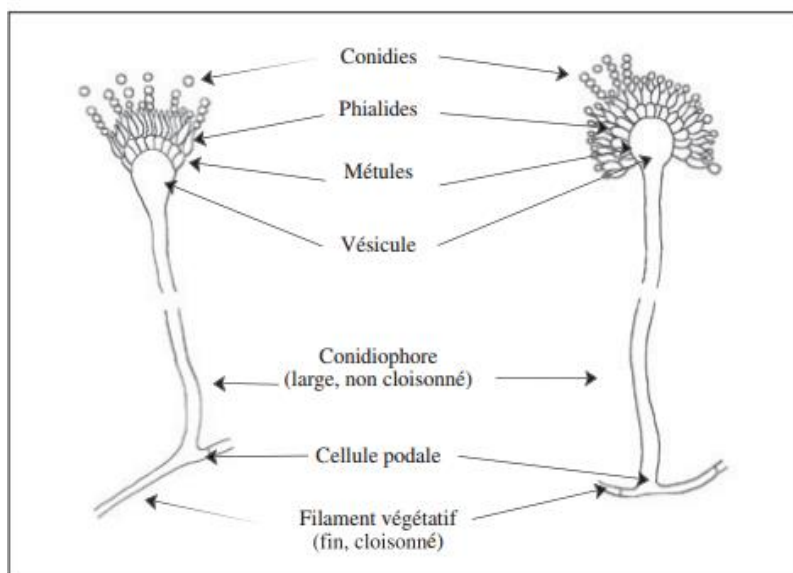
# **Chapitre II :**

## **Généralité sur *Aspergillus* *niger***

## Généralité sur *Aspergillus Niger*

### 2. *Aspergillus*

Généralement les champignons du genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729. Ce sont des champignons saprophytes, c'est-à-dire qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition. Ce sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils sont haploïdes. Ils font partie du groupe phylogénétique des Ascomycètes, à l'ordre des Eurotiales et à la famille des Trichocomacées ou Aspergillacées. Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui quelque 185 espèces, dont une vingtaine sont retrouvées en pathologie humaine. Les *Aspergillus* sont présents partout dans le monde, et en région tempérée plus particulièrement à la fin de l'été, en automne et en hiver. Ces champignons ont un métabolisme aérobie. De plus ils participent au recyclage du carbone et de l'azote de l'environnement. Ils sont thermophiles (certaines espèces peuvent survivre à des températures proches de 70°C) et ne requièrent pas de nutriments spécifiques et on peut trouver aussi bien en milieu rural (foin, paille, céréales ou fruits moisissés, silos à grains, matières organiques en décomposition...) qu'en milieu urbain, où on les rencontre aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur des habitations (poussières derrière les meubles, cadres, faux plafonds, conduits d'aération, plantes en pots...) (Quatresous, 2011)



**Figure 5** *Aspergillus niger* (Chabase et al., 2002)

### 2.1 Caractères cultureux d'*Aspergillus Niger* :

Ce champignon pousse rapidement (2-3 jours) sur les milieux de culture classiques (géloses au malt et Sabouraud) . La température optimale de croissance varie généralement entre 25 et 30°C , mais *A. niger* peut se développer jusqu'à 42°C. Les colonies d'*A. niger* sont granuleuses, blanches au début, puis jaunes et à maturité , elles deviennent noires. Le revers des colonies est incolore ou jaune pâle. Sur le milieu Czapek, *A. niger* forme des colonies à mycélium blanc ou jaune, et revers souvent incolore (Figure 4) (Tabuc, 2007).

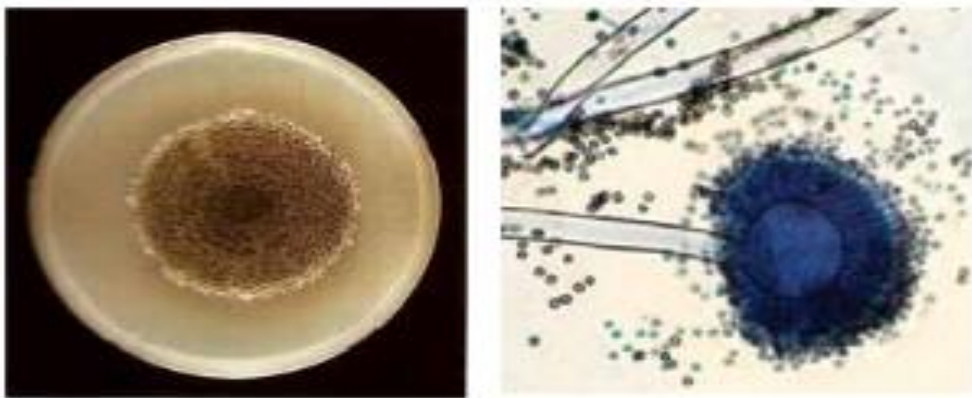


Figure 6 *Aspergillus niger*(Tabuc, 2007).

### 2.2 Morphologie microscopique :

Multiplication végétative

Conidiophore : lisse, hyalin au brunâtre dans sa moitié supérieure , très longue (1,5 à 3mm)

Vésicule : globuleuse ,30à 100 um ( en moyenne 45 à 75 um)

Phialides : insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposées sur tout le pourtour de la vésicule .

Conidies : globuleuses (3,5 à 5 um de diamètre) , brunes ,échunulées à très verruqueuses souvent disposé en chaîne

Tête aspergillaire : bisériée radiée , noire à maturité .

Pas de reproduction sexué connue .

Pas de Hulle cells (Chabase *et al.*, 2002).

### 2.3 Caractère épidémiologique

*Aspergillus niger* rarement rencontré chez l'immunodéprimé ; chez le sujet non immunodéprimé il peut provoquer des aspergilloses, des otites et des sinusites ; il est aussi à l'origine d'infections cutanées, pulmonaires et généralisées (Tabuc,2007)

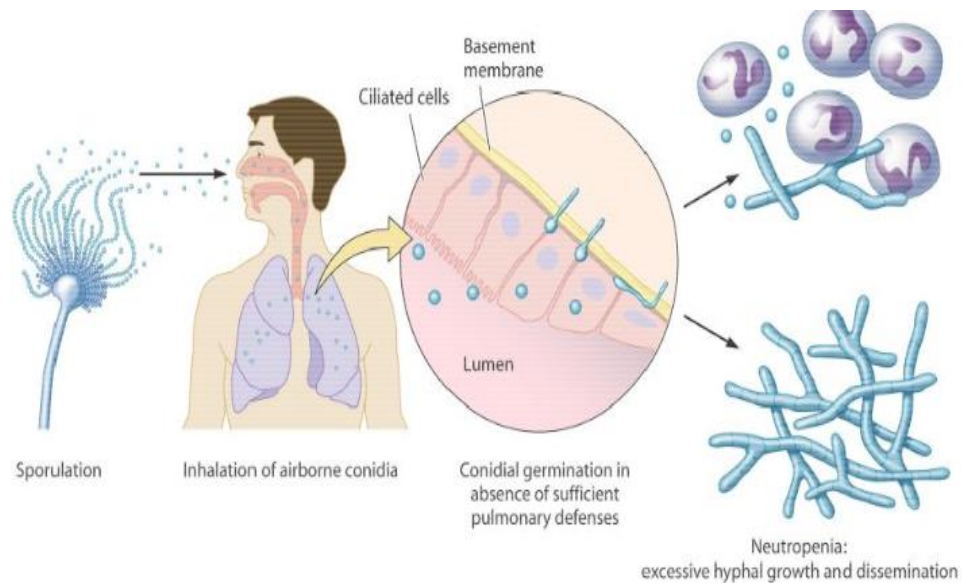


Figure 7 Cycle infectieux des champignon de genre *Aspergillus* (Desoubeaux, 2013)



**Deuxième partie :**

**Partie expérimentale**

# **Chapitre III :**

## **Matériel et méthodes**

## Matériel et Méthode

En raison de l'interruption des activités de la recherche scientifique due à la pandémie du corona virus (covid-19) dans le monde et dans l'Alger en particulier nous n'avons pas pu terminer tous les travaux pratiques tracés tels que : une bonne quantité de l'extrait de l'huile essentielle de thym ; ainsi que la culture du champignon de genre *Aspergillus Niger* pour mener les tests et aboutir à l'effet des H.E de thym sur le champignon mentionné.

Un suivi théorique comparatif des résultats de 15 articles scientifiques fait l'objectif de cette partie. dans le but de :

Déterminer l'effet antifongique des huiles essentielles de thym sur les champignons *Aspergillus niger* et sa capacité de résistance à certaines concentrations des H.E .

### 3.1 Matériel végétal :

#### 3.1.1 Lieu et période de récolte :

La partie aérienne de la plante étudiée, le thym (*Thymus vulgaris*) a été récoltée durant le 21 Mars 2020 de la région de Messalmoun wilaya de Tipaza, cette région a été caractérisée par un climat méditerranéen tempéré, avant la période de floraison .

**Tableau 3** caractéristiques floristiques de *Thymus vulgaris*

Plante	Famille botanique	Partie de la plante utilisée	Stade de développement	Matière extraite
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiacées	Feuilles et tiges	Avant la floraison	Huile essentielle



**Figure 8** *Thymus vulgaris* (photo originale 2020)

### 3.1.2 Classification :

Tableau 4 Classification de *thymus vulgaris* ( Yakhlef , 2010 ; Goetz et Ghedira , 2012)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Labiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Thymus</i>
Espèce	<i>Thymus vulgaris</i> L.

### 3.1.3 Matériel fongique :

Afin de déterminer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* dans le test de diffusion sur disque d'agar, nous avons utilisé le micro-organisme de genre *Aspergillus* (*Aspergillus niger*)

### 3.1.4 Classification :

D'après Abdellaoui (2007), la classification de l'*Aspergillus niger* est résumée comme suit :

Règne :	Mycètes
Embranchement :	<i>Amastigomicota</i>
Sous-embranchement :	<i>Deutiromycotina</i>
Classe :	<i>Deutéromycéta</i>
Ordre :	<i>Moniliales</i>
Famille :	<i>Moniliacea (mucedinaceae)</i>
Genre :	<i>Aspergillus</i>
Espèce :	<i>Aspergillus Niger</i>

## 3.2 Méthodes d'extraction des huiles essentiels

### 3.2.1 Séchage de la plante

La partie aérienne de la plante collectée à été nettoyées, séchées à température ambiante et à l'ombre pendant 2-3 semaines, puis stockées à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation, ce réfère à ( Kada, 2018 ; Giweli *et al.*, 2013 ; Okou *et al.*, 2018 ; Chouitah, 2012 )

### 3.2.2 Extraction par hydro distillation

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction

des huiles essentielles est le Clevenger , ce réfère à ( Elhaib , 2011 ; Boukhatem et *al.*, 2019 ; Lakhder,2015 ).

### 3.2.2.1 Méthode de réalisation

L'extraction de l'HE a été réalisée par hydrodistillation dans un Appareil Clevenger où 100 g de feuilles sèches immergées dans un Flacon de 1000 ml d'eau pendant 3 h, cette technique a été adopté par ( Goudjil *et al.*,2016 ;Lamamra , 2018 ; Bousbia,2011 ; Goudjil et *al.*.,2015 ;Goudjil et *al.*,2020)



**Figure 9** Extraction des huiles essentielles(photo originale 2020)

### 3.2.3 Conservation des Huiles essentielles

Récupérer et conserver les huiles essentielles dans des fioles de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais (4°C) à l'abri de la lumière (Bousbia , 2011 ;Haddouchi *et al.*.,2009 ; Giweli *et al.*,2013)

### 3.2.4 Détermination de rendement :

D'après Chikhoune ( 2007) et Chouitah (2012) le rendement est définie comme étant le rapport entre la masse des HE récupéré ( mHE) et la masse de la matière végétal ( mHE) sèche exprimé avec la même unité de la masse .

Le rendement en huile essentiel exprimé en pourcentage par relation suivant :

$$R\% = \frac{mHE}{mV} \times 100$$

### 3.3 Milieu de culture :

**3.3.1 PDA (Potato Dextrose Agar) :** Il a été préparé à base de la pomme de terre suivant les étapes suivantes:

lavage des pommes de terre suivi du découpage et d'un pesage (100g ont été nécessaire) à la balance de marque OHAUS (d'une précision de 0,001g). Elles ont été cuites dans un bécher gradué de 1 L jusqu'au ramollissement, puis pressées à l'aide d'une cuillère de cuisine, filtrées dans un erlenmeyer gradué de 1 L et mélangées avec 10 g d'agar-agar et 10 g de dextrose. L'homogénéisation de la solution a été faite à partir d'un agitateur magnétique. L'erlenmeyer a été bouché par de l'ouate puis stérilisé à l'autoclave référant à (Mondo *et al.*,2016 ;Emanfo *et al.*.,2013 ; Hassain *et al.*.,2018 ).

les isolats fongique à été cultivé sur PDA  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  et maintenu en  $4^\circ\text{C}$  après 5 jours les spores en été recoltés à partir de de culture inclinée en ajoutant 10 ml d'eau distillée et 0,1% de Tween 80 stérile. ture a été vortexée pendant 5 min, suivie d'un filtrage à travers un disque filtrant à membrane stérilisé de  $8 \mu\text{m}$ . La spore résultante suspension a été ajustée en fonction des concentrations ( $2,01 \times 10^6$  à  $2,25 \times 10^6$  spores / ml) pour obtenir une suspension avec > 98% viabilité (Kumar *et al.*, 2017).

#### **3.4 Test de diffusion sur disque d'agar :**

Un test a été évalué sur des boîtes de Pétri PDA (diamètre 9 cm).Les isolats fongiques ( $2,01-2,25 \times 10^6$  spores / ml) ont été inoculé uniformément à la surface du milieu PDA à l'aide d'un stérile épandeur de verre. Les huiles essentielles ont été diluées avec de l'acétone pour préparer différentes concentrations (1–13 ppm) et appliquer (10  $\mu\text{l}$ ) sur un disque de papier stérile (diamètre 0,6 cm) placé dans le centre du milieu gélosé , Le papier disque de plaques de contrôle a été appliqué avec 10 pi d'acétone.Les dosages ont été effectués en triple. Les plaques de Pétri étaient incubé à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 10 jours, après l'activité l'antifongique des huiles essentielles a été calculée en fonction de la zone de inhibition (Kumar *et al.*,2017; Bouddine *et al.*.,2012 )

#### **3.5 Détermination de zone d'inhibition**

Le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance par rapport au témoin permet d'évaluer l'effet des concentrations d'huile sur croissance fongique.

La technique consiste à mesurer les diamètres des différentes colonies fongiques après l'incubation requise temps (Goudjil et *al.*,2016)

Diamètre d'inhibition de croissance dans la plaque d'essai (dt)

Zone d'inhibition= \_\_\_\_\_

Diamètre d'inhibition de croissance dans la plaque témoin (dc)



# **Chapitre IV :**

## **Résultats et discussion**

## Résultats et discussion

Une série des articles (voir annexe) a été analysés pour faire un synthèse numérique à propos de notre thématique de recherche portant sur l'effet antifongique de l'extrait aqueux de l'espèce *Thymus vulgaris* sur l'espèce fongique ; *Aspergillus Niger*

**4.1 Paramètres organoleptique et rendement des HEs de la plante aromatique** Les paramètres organoleptiques de nos HEs obtenues par l'hydrodistillation de la plante aromatique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5 Caractéristique organoleptiques des HEs testé:

HEs	Couleur	Odeur	Aspect	Rendement
<i>Thymus vulgaris</i>	Jeune foncée	Forte odeur	Liquide limpide	Elevé

### 4.2 Rendement des huiles essentielles :

Nos échantillons de *Thymus vulgaris*, fourni à l'extraction par l'appareil de Clevenger, un taux de rendement moyen pour 100g de matière végétale sèche est exprimé par une valeur de 1,3g/kg, Cette valeur est un peu faible par rapport à celui obtenus par Djerrari et crouzet(1990) à partir de cette même plante prélevée du sud de la France avec une valeur de rendement moyen de 9,77 g/kg . Par ailleurs, sur des échantillons de la même espèce réalisé par Nezhadali (2014) a relevé un rendement moyen très faible par rapport de ce qui a été enregistré dans la présente étude avec un taux de 0,83%.

### 4. 3. Résultats du l'évaluation de l'activité antifongique de HEs du *Thymus vulgaris* :

Après avoir évalué l'activité antifongiques des HEs de *Thymus vulgaris* sur le champignon filamenteux *Aspergillus niger* par la méthode de diffusion sur disque d'agar nous avons constaté que l'HE de *Thymus vulgaris* à une propriété antifongique significative. selon martos et al.(2007) l'HE de *Thymus vulgaris* diminué la croissance fongique lorsqu'il est utilisé à 2 µL / 18 mL de milieu de culture ( $15.73 \pm 0.36$ ), bien que l'inhibition n'était attachée que lorsqu'une quantité de 8µL étaient utilisés( $9.00 \pm 0.00$ ) . L'inhibition totale a également été obtenue avec les cultures de 8 et 6 µL / 18 mL .Et de la même manière pour savoir l'activité

antifongique on remarque une très forte inhibition de la croissance fongique des isolats cliniques d'*Aspergillus niger*, Bahbahani et al.(2013) avec 5µl donne un diamètre d'inhibition mesuré de 45.7 mm à l'aide d'un pied à coulisse ; meilleur résultat a été observé avec *Aspergillus niger* Et d'après Kumar et al.( 2017) HE de *Thymus vulgaris* a un pouvoir antifongique plus efficace par rapport à d'autres huiles, le test a été réalisé sur trois souches différentes de *Aspergillus niger* ( AN1 , AN2 , AN3 ) les résultats sont affichés respectivement Sachant que : la zone d'inhibition (ZI) : 23.9–40.6% 23.3– 61.1% 27.2–52.8%

La concentration minimale inhibitrice (CMI) :  $7.63 \times 10^{-5}$  ,  $1.52 \times 10^{-4}$  ,  $1.53 \times 10^{-4}$

La concentration minimale fongique ( MFC ) :  $6.10 \times 10^{-4}$  ,  $1.53 \times 10^{-4}$  ,  $1.53 \times 10^{-4}$

Et dans le même résultat nous trouvons que (Khan et Ahmed ,2011 ; Ewais *et al.*,2014) ont montré que la sensibilité de l'huile essentielle (diamètre de la zone d'inhibition en mm ) mesuré ZI = [20±0.015, 26±1.41]mm

L'étude de Khan et Ahmed (2011) montre que : CMI = 288µg/ml

Et la CMF= 576µg/ml , alors que Ewais *et al.* (2014) indique que CMI=50µg/ml

Dans cette recherche, nous avons également trouvé l'étude de Bouddine *et al.*(2012) qui a utilisé l'HE de *Thymus vulgaris* à 62% Thymol (composé phénolique) donne des résultats élevés avec une zone d'inhibition de diamètre 56 mm cette inhibition due à la richesse de l'HE au thymol . De plus , une autre valeur d'inhibition qui a été enregistrée dans l'étude de Al-aubadi *et al.*(2011) , qui a utilisé un essai de puits de diffusion ; une similitude de résultats de diffusion sur disque d'agar est donnée par la diminution des diamètres de croissance des moisissures ce qui a été observé avec l'augmentation de la concentration des extraits HEs de *Thymus vulgaris* où la valeur de la zone d'inhibition mesurant 4 mm . ces derniers enregistrent des valeurs relativement inférieures de ce qui a été enregistré dans l'étude de Tadele *et al.* ( 2008 ) ces auteurs utilisent aussi la méthode de essai de puits de diffusion zone d'inhibition en (mm) y compris les diamètres des puits mesurés de 25.5mm .

Et dans l'étude de Hassain *et al.* (2018) l'activité de l'HE de *Thymus vulgaris* a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques respectifs dans les concentrations à donner une concentration finale efficace sachant que le diamètre de zone d'inhibition mesurant ZI= 15 mm à 500mg/ml effet inhibitrice modérée sur la croissance d'*Aspergillus Niger* et ZI =17mm à la concentration de 250mg/ml et considéré comme fort inhibiteur sur la croissance sur la moisissure mentionnée .mais dans l'étude de Pawar et Thaker (2006) portée sur l'HE de cette même plante montre que l'activité antifongique de l'HE de

*thymus vulgaris* l'activité a été évaluée quantitativement en mesurant diamètre de la zone d'inhibition (hyphes et spores) autour du disque, qui était finalement exprimée en millimètres donnant ZI (hyphes) = 12mm et ZI (spores) = 17 (144.5×10<sup>4</sup>) mm .

En général, selon les valeurs obtenues avec la méthode de diffusion sur disque d'agar , on peut évaluer le pouvoir antifongique de HEs utilisée. aucune croissance fongique n'a été observée pour les différentes doses d'HE de *Thymus vulgaris* .

# **Conclusion**

## Conclusion

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substance bioactives tels que les HEs, ces substances naturelles ont un grand intérêt dans la recherche pharmacologiques pour trouver des alternatives aux antibiotiques .

L'objectif de notre travail consiste à faire une évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Thymus vulgaris* contre l'*Aspergillus niger* .

La valeur du rendement moyen en HE de la partie aérienne des plantes étudiées de la famille de *Lamiacée* était importante notamment pour *Thymus vulgaris*.

Les résultats obtenus par la technique de diffusion sur disque d'agar pour l'évaluation de l'activité antifongique d'une substance antifongique (HE), ont montrés que les HEs de *Thymus vulgaris* ,ont exercées une importante activité inhibitrice vis-à-vis des isolats cliniques d'une moisissure pathogène (*Aspergillus niger*).

nos résultats indiquent que les HEs étudiées, peuvent constituer des véritables alternatives des produits fongicides conventionnels surtout contre *Aspergillus niger*, mais Ces résultats expérimentaux justifieraient non seulement l'usage traditionnel de cette plante comme antimycosique , mais aussi l'importance des plantes dans la recherche de nouvelles molécules actives.

On peut conclure que le *Thymus vulgaris* présente un intérêt antifongique et thérapeutique important, de l'utiliser comme source de remèdes pour ses merveilleuses propriétés médicinales.

# **Bibliographie**

## Bibliographie

- Abdelaoui R.2007. obtention et caractérisation d'un enzyme coagulant le lait d'Aspergillus niger isole su sol de la région de boumerdes .thèse de magistère ,université de M'hamed bougara de boumerdes ,Algerie ,96p.
- Alaubadi I.M.Kh.,Moussa M.A.,Abbas A.J.2011.Chemical composition of thyme seeds *Thymus vulgaris* and its antimicrobial activity . Anbar des sciences agricoles 9-2.
- Amarti F.,Satrani B.,Ghanmi M.,Farah A.,Aafi A.,Aarab L., El-Ajjouri M.,Chaouch A. 2010. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnol. Agron. Sec.Environ 14(1) : 141-148
- Amarti F., El-Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Farah A.,Khia A.,Guedira A.,RahoutiM., Chaouch A.2011.Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. Phytothérapie. 9:149–157.
- Bahbahani M.H., Ghasemi Y.,khoshnoud M.J.,faridi P.,Moradli G.,Najafabadi N.M. 2013.Volatile oil composition and antimicrobial activity of two *Thymus* species .pharmacognosy 5 :77-79.
- Benbelaid F. 2015. Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire ,thèse de doctorat ,université Abou bakr belkaide de tlemcen, Algérie ,169p.
- Benourad F. 2015 . Etude des pouvoirs antimicrobiens et pharmacologiquesdes extraits de *Thymus vulgaris* L et l'induction de ladéfense chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*,*Botrytis cinerea*, et*Phytophthora parasitica* , thèse de doctorat , Universite Abd Elhamid Ibn Badis mostaghanem , algérie , 151 P.
- Bouddine L.,Louaste B.,Achahbar S.,Chami N.,Chami F.,Remmal A.2012.Comparative study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against *Aspergillus niger* using three different methods . Biotechnology 11(76).



- Bousbia N.,2011.Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires.thèse de doctorat ,L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,France ,176p.
- Boukhatem M.N., Ferhat A., Kameli A.2019.Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles :revue de latérature . revue agrobiologia 9(2): 1653-1659.
- Chabasse D ., bouchara J.P ., gentile L ., brun S ., cimon B ., pascal P. 2002 . cahier de formation , vol .25, les moisissures d'intérêt médical . bioforma , paris .p.49.
- Chenni M. 2016. Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuills de basilic «*Ocimum basilicum L* »extraite par hydro-distillation et par micro-ondes ,thèse de doctorat ,université d'oran 1Ahmed Benbella ,algerie ,185p.
- Chikhoune M.2007. huile essentielle de thym et d'origan etude de la composition chimique de l'activité antioxydant et antimicrobienne , thèse de doctorat , institut national agronomique elharach , algerie ,151p.
- Chouitah O .2012 . composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *glycyrrhiza glabra* , thèse de doctorat , université d'oran , algérie , 143p.
- Daouda T .2014 . Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de cote d'ivoire , thèse de doctorat , université Félix HOUPHOUËT ,BOIGNY ,153p.
- Desoubeaux G. 2013.Apport de la protéomique dans l'amélioration de l'exploration de l'Aspergillose pulmonaire invasive à partir d'une modèle murin ,thèse de doctoret , université francois, 162p.
- Djerrari A., Crouzet J.1990. Influence du mode d'extraction sur le rendement et la composition des huiles essentielles cas du thym (*Thymus vulgaris L*). 1er Séminaire Maghrébin sur les huiles essentielle, université de montpellier 15-16 juin 1990, Tlemcen , Maroc.

- Elhaib A.2011.Valorisation de terpenes naturels issus de plante marocaine par transformations catalytiques. Thèse de doctorat ,L'université Toulouse III, France ,195p.
- Ewais E.A., Aly M.L.,Ismail M.A.,Abdel alshakour E.H.,Hassanin M.F.2014.Antibacterial antifungal antitumor and toxicity of essential oils of salvia officinalis thymus vulgaris eugenia caryophyllata and artemisia . Scientific J Flowers et Ornamental Plants 1(3) :265-274.
- Emanfo A.S.A.,Sekou D.,Fantoudji A.2013. Contamination fongique des fourrages consommés par les aulacodes (thryonomys swinderianus ) d'élevage en zone périurbaine d'abidjan (cote d'ivoire) .Agronomie africaine 25 (1) : 53 – 60.
- Lamamra M.2018.Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'Ammiopsis aristidis Coss (Syn. Daucus aristidis Coss.) et d'Achillea santolinoides Lag.thèse de doctorat ,université ferhat abbas sétif1 ,Algérie,146p.
- Lakhder L .2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* :étude in vitro .thèse de doctorat .faculte de médecine dentaire de Rabat ,Maroc 183p.
- Laurent J.2017.Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, thèse de doctorat , université de Paul sabatier toulouse III , France ,225p.
- GhasemiG., AlirezaluG .,GhosaY., JarrahiA ., Safavi S.A.,Mohammadi M.A., BarbaF.J.,MunekataP.S.,DomínguezR.,LorenzoJ.2020.Composition, Antifungal, Phytotoxic,and Insecticidal Activities of Thymus kotschyanus essential oil.Molecules.25, 1152.
- Giweli A.A ., Dzamic A .M ., Sokovic M . D ., Ristic M.S .,Marin P.D . 2013.Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Thymus algeriensis wild-growing in Libya .biology 8(5) : 504-511.
- Goetz P et Ghedira K .2012 .Collection Phytothérapie pratique ,vol . 4 ,phytothérapie anti-infectieuse . springer , paris , 357-365p.

- Goudjili M.B., Ladjel S., Bencheikh S.E ., Zighmi S.,Hamada D.2015.Study of the chemical composition,antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis* Lauraceae.Chemical and pharmaceutical research 7(1):379-385.
- Goudjili M.B., Ladjel S., Zighmi S.,Hammoya F.,bensaci M.B .,Mehani M ., Bencheikh S.2016. Bioactivity of *LaurusNobilis* and *MenthaPiperita* essential oils on some phytopathogenic fungi in vitroassay. JMESCN 7(12) :4525-4533
- Goudjili M.B.,Zighmi S.,Hamada D.,Mahcen Z .,Bencheikh S.E.,Ladjel S.2020. Biological activities of essential oils extracted from *Thymus capitatus* (Lamiaceae).Botany 128 :274-282.
- Haddouchi F., Lazouni H.A.,Meziane A., Benmansour A .2009.Etude physicochimique et microbiologique de l’huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut .Science 05(2) : 246 – 259.
- Hassain A.S., Ali K.H.,Abbood H.N.2018.Evaluation of Antifungal Activity of Plant Extracts of (*Thymus vulgaris*) (*Cinnamomum*) against fungal.Advances in Life Science and TechnologyVol.67.
- HeniS .2016 . Sélection d’extraits bioactifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels , thèse de doctorat ,Universitebadjimokhtarannaba , algérie , 210 P .
- Iserin P .2001 . encyclopédie des plantes médicinales . 2<sup>ème</sup>édition ,larousse , londres ,P .143.
- Kada S. 2018. Recherche d’extraits de plantes médicinales doués d’activités biologiques .thèse de doctorat ,université ferhat abbas sétif1 ,algérie ,172p.
- Khan M.S.A.,Ahmed I.2011.Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drugresistant strains of *Aspergillusfumigatus* and *Trichophytonrubrum* .Appl microbial biotechnol 90:1083–1094.
- Kumar P.,MishraS.,Kumar A., Kumar S.,Prasad C.S.2017.In vivo and in vitro control activity of plant essential oils against three strains of *Aspergillusniger* .Environ SciPollutRes 24:21948–21959 .
- Lamamra M.2018.Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d’*Ammiopsis aristidis* Coss (Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et

- d'Achillea santolinoides Lag.thèse de doctorat ,université ferhat abbas sétif1 ,Algérie,146p.
- Lakhder L .2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur aggrégatibacter activomycetemcomitantes :étude in vitro .thèse de doctorat .faculte de medcine dentaire de Rabat ,Maroc 183p.
  - Laurent J.2017.Consseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine, thèse de doctorat , université de Paul sabatier toulouse III , France ,225p.
  - Martos V.M.,Navajas R.Y.,Lopez F.J.,Alvarez P.JA.2006. Antifungal activities of thym clove and oregano essential oils . Food Safety 27 : 91–101.
  - Mondo J.,Balezi A.,Mugomoka V.,Zigashane L.,Bagula E.,Kashosi T.,Mputo J.N.,Mushagalusa G.2016. Effets des milieux de culture (PDA, SDA, SPDA, blé et maïs) sur la productivité in vitro de la souche P969 du Pleurotus ostreatus (Jacq.) P. Kumm.Afrique science 12(4):374 - 381
  - Muther L. 2015. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles :étude de cas en maison de retraite , thèse de doctorat , université de lorraine ,France ,107p.
  - Nezhadali A.,Nabaoui M.,Rajabian M.,Akbarpour M.,Pourali P.,Amini F.2014. Chemical variation of leaf essential oil at different stages of plant growth and in vitro antibacterial activity of Thymus vulgaris Lamiaceae from Iran ,Basic and applied sciences 3 :87-92.
  - Okou O.C.,Yapo S.E.,Kporou K.E.,Baibo G.L.,Monthaut S.,Djaman A.J.2018.Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de Solanum torvum Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries ,Applied biosciences 122: 12287-12295.
  - Pawar V.C .,Thaker V.S.2006. In vitro efficacy of 75 essential oils against Aspergillus niger . Mycoses 49, 316–323.

- Pierron C. 2014. Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gériatologie et soins palliatifs ,thèse de doctorat, 257p.
- Quatresous N .2011 . Aspergillose humaine épidémiologie diagnostic biologique contrôle ,thèse de doctorat,université de limogis , 136p.
- Tabuc C .2007. Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines, thèse de doctorat ,Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ,190p.
- Tadel A., Urga K., Gemedan.,Lemma H.,Melaku D., Mudie K .2008.Antimicrobial Activity of Topical Formulations Containing Thymus vulgaris Essential Oil on Major Pathogens Causing Skin Diseases .EthiopPharm J 26, 103-110.
- Touhami A.2017. 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 , Thèse de doctorat , Université badjimokhtarannaba , algérie , 173p.
- Yakhlef G.2010.etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de Thymus vulgaris L et Laurus nobilis L. thèse de magistère ,université el hadj lakhdar batna , Algérie, 110p.
- ZeghadN .2009 . Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne , Thèse de magistère, Ecole doctorale ,130p.

# **Annexes**

## Annexes

Annexe1 :les articles utilisés dans la partie pratique

Le titre d'article	Référence
Chemical composition of thyme seeds Thymus vulgaris and its antimicrobial activity	Al-aubadi <i>et al.</i> (2011)
Evaluation of antifungal activity of plante extracts of (thymus vulgaris) and (cinamomum) against fungal	(Hassain <i>et al.</i> , 2018)
Antimicrobial activity of tropical formulations containig Thymus vulgaris essential oil on major pathogens causing skin diseases	(Tadele <i>et al.</i> , 2008 )
Comparative Study of the antifungal activity of some essential oils and their major phenolic components against Aspergillus niger using three different methods	(Bouddine <i>et al.</i> ,2012)
Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of Aspergillus fumigatus and Trichophyton rubrum	(Khan et Ahmed, 2011 )
In vivo and in vitro control activity of plant essential oils against three strains of Aspergillus niger	(Kumar <i>et al.</i> ,2017)
In vitro efficacy of 75 essential oils against Aspergillus niger	(Pawar et Thaker ,2006)

Volatil oil composition and antimicrobial activity of two Thymus species	(Bahbahani <i>et al.</i> ,2013)
Antibactériel , antifungal ,antitumor,and toxicity of essential oils of salvia officinalis , thymus vulgaris , eugenia caryophyllataand artemisia absinthium	(Ewais et al.,2014)
Antifungal activities of thyme ,clove and oregano essential oils	( martos <i>et al .</i> , 2007)
Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Thymus algeriensis wild-growing in Libya	(Giweli <i>et al.</i> ,2013)
Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de Solanum torvum Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries	(Okou <i>et al .</i> ,2018)
Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles :revue de latérature.	(Boukhatem <i>et al .</i> ,2019)
Study of the chemical composition antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian Laurus nobilis Lauraceae	(Goudjil <i>et al.</i> ,2015)
Bioactivity of LaurusNobilis and MenthaPiperita essential oils on some phytopathogenic fungi in vitroassay	(Goudjil <i>et al.</i> ,2016)



Biological activities of essential oils extracted from <i>Thymus capitatus</i> (Lamiaceae)	(Goudjil <i>et al.</i> ,2020)
Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de <i>Thymus fontanesii</i> Boiss & Reut	(Haddouchi <i>et al.</i> ,2009)
Effets des milieux de culture (PDA, SDA, SPDA, blé et maïs) sur la productivité in vitro de la souche P969 du <i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm	(Mondo <i>et al.</i> ,2016)
Contamination fongique des fourrages consommés par les aulacodes ( <i>thryonomys swinderianus</i> ) d'élevage en zone périurbaine d'Abidjan (Côte d'Ivoire)	(Emanfo <i>et al.</i> ,2013)

## Résumés

### الملخص

الزعرتر نبات طبي ينتمي إلى فصيلة Lamiacées، ينتشر في المناطق الداخلية وحتى المناطق القاحلة ، ويهدف العمل الحالي إلى اختبار الفعالية المضادة للفطريات عن طريق طريقة الانتشار على القرص ضد *Aspergillus niger*. معالجات الزيوت الأساسية المحضرة من الجزء العلوي من الزعرتر بطريقة التقطير المائي ، أظهرت نتائج الاستخلاص أن مردود الزيت الأساسي المستخلص هو (1.3%) ، النشاط المضاد للفطريات يظهر أن زيوت الزعرتر تمارس نشاط مثبط لنوع *Aspergillus niger* الذي تم اختباره ، لوحظ وجود نشاط مثبط كبير ، قطر منطقة التثبيط في جميع الدراسات كان بين (56 مم و 4 مم)

الكلمات المفتاحية : الزعرتر , النشاط المضاد للفطريات , *Aspergillus niger* , الزيوت الأساسية

### Résumé

*Thymus vulgaris*L. Est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiacées*, rependue dans les régions internes jusqu'aux zones arides.le présent travail a pour but de tester l'activité antifongique par la méthode de diffusion sur disque contre *l'Aspergillus niger* . le rendement de l'extrait des huiles essentielles préparé à partir de la partie aérienne de *Thymus vulgaris* L par la méthode de l'hydrodistillation,est de l'ordre de 1,3%.l'activité antifongique montre que l'HEs de *Thymus vulgaris* exerce une activité inhibitrice pour la souche de *l'Aspergillus niger* testé , une activité inhibitrice important a été constaté avec un diamètre de zone d'inhibition chez tout les études investiguéesenregistrant une valeur intercale entre (56 mm et 4mm).

**Mots clés :** *Thymus vulgaris*, activité antifongique,*Aspergillus niger*,huiles essentielles

### Abstract

*Thymus vulgaris* L. Is a medicinal plant belonging to the *Lamiaceae*family, spread in internal regions to arid zones. The present work aims to test the antifungal activity by the method of diffusion on disk against *Aspergillus niger*. essential oils prepared from the aerial part of *Thymus vulgaris* L by the hydrodistillation method, the extraction results show that the yield of HEs is (1.3%). the antifungal activity shows that the HEs of *Thymus vulgaris* exerts an inhibitory activity for the strain of *Aspergillus niger* tested, it is observed that a significant inhibitory activity, the diameter of the zone of inhibition in all the studies to be between (56 mm and 4mm)

Keywords :*Thymus vulgaris*, antifungal activity, *Aspergillus niger*, essential