UNIVERSITE DE KISANGANI

B.P : 2012

KISANGANI

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUELQUES PLANTES A ACTIVITE ANTIFONGIQUE UTILISEES DANS LA REGION DE KISANGANI (R.D. Congo)

Cas d'*Ageratum conyzoides* et de *Cymbopogon citratus*

Par

Merveil MOLISHO KATEMBO

Travail de fin d'étude, présenté en vue de l'obtention de grade de licencié en Sciences

Option : CHIMIE

Orientation : CHIMIE ORGANIQUE

Directeur : P. O. Pius M'PIANA T.

Co-directeur : Dr. Jean-Trésor KWEMBE K.

Encadreur : Ass. Martin ASUMANI K.

ANNEE ACADEMIQUE : 2020-2021

DEDICACE

A mes parents ;

A toute ma famille (frères, sœurs, tante, oncle, grand parents) ;

A tous les collègues ;

A tous les chercheurs.

Je dédie ce travail.

REMERCIEMENT

L'ingratitude c'est l'attribut des égoïstes et des orgueilleux. Quant à nous, ces qualités ne nous caractérisent pas. C'est pourquoi, à l'issue de ce travail sanctionnant notre deuxième cycle en Chimie à l'Université de Kisangani (UNIKIS), nous faisons nu agréable devoir de remercier de tout cœur ceux qui ont contribué de quelle manière que ce soit à nos études.

Notre reconnaissance s'adresse en premier lieu au Dieu Tout Puissant qui, par sa miséricorde et sa bonté a permis que nous puissions arriver au terme de notre étude.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de mémoire, Professeur Pius MPIANA de l'Université de Kinshasa (UNIKIN) qui pour son dynamisme dans la recherche des produits naturels, a été pour moi une source de motivation.

Pour le Docteur Jean-Trésor KWEMBE, il m'a enseigné non seulement la méthode analytique de séparation mais il m'a inculqué l'amour de la recherche et la persévérance, qualités indispensables dans le monde de l'investigation scientifique. Il a su par son savoir-faire me donner une motivation supplémentaire à des moments difficiles de ce travail.

Pour l'Assistant Martin ASUMANI, sa disponibilité, sa sagesse, sa grandeur d'esprit, ses qualités intellectuelles, son sens du devoir bien accompli et la rigueur m'ont orienté dans ce travail.,

Je remercie également le chef de département des Sciences Biotechnologiques, le Professeur Didy ONAUTSHU, pour m'avoir accepté au sein du laboratoire de Microbiologie et Phytopathologie de la Faculté des Sciences pour réaliser une partie de ce mémoire.

Nous resterons obliger vis-à-vis de l'Université de Kisangani (UNIKIS) qui a fait usage de la législation réglementant l'enseignement supérieur et universitaire. A travers cette institution nous disons grand merci aux autorités académiques et administratives ainsi qu'à tous nos professeurs, chefs de travaux et assistants qui n'ont cessé guère de façonner notre caboche.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements, à nos professeurs chefs des travaux et assistants du département de chimie, Prof. BINANA LIMBELE, Prof BAMAWA, les chefs de travaux KOMANDA, ETUTU, TIKA, UTSHUDI, ANGONGOLO, CT MBULA, Assistant BAFENGO et Assistante. LISETTE et tous les professeurs visiteurs Prof. MBALA et Prof. MUYISA, d'avoir accepté de nous encadrer et de

nous avoir donné cours et laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour leurs rigueurs scientifiques, leurs conseils ainsi que leurs sympathies. Nous leurs remercions également de nous avoir responsabilisés tout au long de notre parcours académique. Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à Monsieur André TSHITENGE, technicien du laboratoire de Microbiologie et Phytopathologie pour son accueil. Nous remercions également le laboratoire provincial de santé publique pour leur collaboration pendant l'étape de ce travail, en mettant à notre disposition une souche zoopathogène.

Notre reconnaissance s'adresse également à toute notre famille, en particulier à notre chère et bien aimé mère Marie KAHINDO KATSHUVA, j'ai ici l'honneur d'exprimer ma profonde gratitude, pour avoir accepté de participer à ma formation et être toujours là comme guide première. Merci très cher Mère, puisse Jésus-Christ vous fortifier.

A nos frères et sœur François MUMBERE, Patience KAHINDO, Junior KAMBALE pour des actions samaritaines qu'ils ont fait pour nous, leurs conseils et surtout grâce à eux que nous avons arrivé à terminer notre parcours universitaire.

Nous remercions spécialement nos collègues de deuxième licence chimie organique et analytique avec qui nous formons cette promotion, BAHIZIRE, BANGATE, BONGINDA, ENESE, KASITU, LOLEKONDA, NDARALE, SHABANI, SIFAYAO, SUMAILI, TADIMANJA pour l'esprit de solidarité et de tolérance qu'ils ont toujours témoigné à notre endroit.

Nous n'allons pas clôturer cette page sans remercier le Promoteur du complexe scolaire francophone la Colombe, Monsieur Lazard KAMBALE et toute la direction générale de ladite école qui, malgré nos multiples occupations et caprices, ils ont été toujours tolérant envers nous. Ainsi que tous les corps enseignants pour votre collaboration et sympathie à notre égard.

Nous remercions également tous nos amis de Home SHANGHAI avec qui on a partagé six ans ensemble dans la lutte, ainsi que tous nos amis et connaissances avec qui nous passons certain moment de la vie.

Je vous dis grand merci.

Merveil MOLISHO KATEMBO

RESUME

Dans cette étude sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique de deux huiles essentielles extraites des feuilles séchées d'*Ageratum conyzoides* et de *Cimbopogon citratus* sur deux souches fongiques phytopatogènes (*Lasiodiplodia theobromae* et *Paracercospora fijiensis*) et sur une souche zoopathogène (*Candida albicans*).

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation des feuilles séchées des deux plantes citées ci-haut. Les rendements en huile essentielle des feuilles séchées d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* ont été respectivement de 0,42 % et 0,36 %.

La chromatographie sur couche mince a été la méthode utilisée pour séparer les différentes fractions des huiles essentielles en utilisant une série de cinq systèmes d'éluant. L'acétate d'éthyle et le mélange hexane/acétate d'éthyle (7 :3) se sont révélés meilleurs éluant pour la séparation des différentes fractions des huiles essentielles, car ces deux systèmes ont donné pour chacun quatre spots de valeur de rapport frontal pour l'huile essentielle d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* respectivement 0,850 ; 0,675 ; 0,363 ; 0,063 et 0,850, 0,675 ; 0,513 ; 0,250 pour l'acétate d'éthyle et 0,888 ; 0,613 ; 0,150 ; 0,050 et 0,900 ; 0,675 ; 0,325 ; 0,038 pour le mélange hexane/acétate d'éthyle (7 :3).

D'après les résultats obtenus *in vitro*, on peut conclure que les huiles essentielles des feuilles séchées d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* ont une forte activité inhibitrice la croissance de mycélium dont les diamètres mycéliens sont respectivement 0 mm, 0 mm, 3 mm et 0 mm, 0 mm, 0 mm, du côté de la souche *P. fijiensis* respectivement pour le premier, le deuxième et le troisième jour, et du côté de la souche *L. theobromae*, nous avons eu les diamètres des croissances mycéliennes pour nos deux huiles essentielles d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* 0 mm respectivement pour le premier et le deuxième jour. Tandis que pour la souche de *C. albicans*, nous avons obtenu les diamètres d'inhibitions de 0 mm et 3,8 mm respectivement pour les espèces d'*A.conyzoides* et de *C. citratus*. Ces dernières ont présenté une activité faible par rapport aux deux antibiotiques Ciproxin et Chloramphénicol, qui ont présenté respectivement les diamètres d'inhibition de 32 mm et 34,6 mm.

ABSTRACT

In this study, we evaluated *in vitro* the antigungal activity of two essential oils extracted from the dry leaves of *Ageratum conyzoides* and *Cimbopogon citratus* on two phytopagenic fungal strains, *L. theobromae* and *P. fijiensis* and on a zoopathogenic strain, *C. albicans*.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation of the dried leaves of two plants mentioned above. The essential oil yield was 0,42% and 0,36% respectively for the dry leaves of *A. conyzoides* and *C. citratus*.

Thin layer chromatography was the method used to separate the differnt fractions of essential oils using a series of five eluent systems. The ethyl acetate and the hexane/ethyl acetate mixture (7 :3) were chosen as eluent for the separation of different fractions of essential oils, because these two systems gave for each four spots front ratio value 0,85; 0,675; 0,3625; 0,0625 and 0,85 0,675; 0,5125; 0,25 for ethyl acetate and 0,8875; 0,6125; 0,15; 0,05 et 0,9; 0,675; 0,325; 0,0375 for the hexane/ethyl acetate mixture (7 :3) respectively for the essential oil of *A. conyzoides* and of *C. citratus*.

From the results obtained in vitro, it can be concluded that the essential oils of the dry leaves of *A. conizoides* and *C. citratus* have a strong activity to inhibi the growth of the mycelium, the diameters of the mycelial growth of which are respectively 0 mm, 0 mm, 3 mm and 0 mm, 0 mm, 0 mm, on the side of the *P. fijiensis* strain respectively for the fist, the second and the third day, and on sideof the strain *L. theobromae* , we had the diameters of the mycelial growths for our two essential oils of *A. conizoides* and *C. citratus* 0 mm for the fist and second day. While *C. albicans* strain, we obtained inhibition diameters of 0 mm and 3,8 mm respectively for *A. conyzoides* and of *C. citratus* species. The latter showed low activity compared to the two antibiotics Ciproxin and Chloramphenicol, which showed inhibition diameters of 32 mm and 34,6 m, respectively.

SIGLES ET ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française des Normes

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

C.C.M : Chromatographie sur couche mince

C.M.I : Concentration minimale inhibitrice

C.P.G : Chromatographie en phase gazeuse

DEET : N, N-diéthyl-3-méthylbenzamide

D.F : Diamètre fongique

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

H : Hauteur

h : Heure

MNR : Maladie de raie noire

MS : Maladie de Sigatoka

O.M.S : Organisation Mondiale de la Santé

PBP : Penicillin-Binding Protein

PDA : Poteto Dextrose Agar

pH : Potentiel hydrogène

R.D.C : République Démocratique du Congo

Rdt : Rendement

Rf : Rapport frontal

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

U.V : Ultra-violet

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'une hydrodistillation……11

Figure 2 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau……..12

Figure 3 : Feuilles *d'Ageratum conyzoïdes*……...….17

Figure 4 : Feuilles de *Cymbopogon citratus*…….....19

Figure 5 : Carte de la Ville de Kisangani. ……..23

Figure 6 : Dispositif d'hydrodistillation utilisé au laboratoire de Microbiologie et Phytopathologie de la faculté des Sciences…….....…29

Figure 7 : Souche de *L. theobromae* sur une boite Pétri, face supérieure (A) et face inférieure(B) ……..……...33

Figure 8 : Souche de *P. fijensis* sur une boite Pétri, face supérieure (A) et face inférieure (B)……...33

Figure 9 : Rendement en huile essentielle feuilles sèche des plantes utilisées……38

Figure 10 : Huiles essentielles d'*A. conyzoides* (A) et de *C. citratus* (B)…….39

Figure 11 : Valeurs de pH des huiles essentielles des feuilles séchées des plantées étudiées….....40

Figure 12 : Croissance mycélienne des souches de *P. fijiensis* sur l'huile essentielle d*'A. conyzoides* et *C.citratus*. Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (5 mm)……..43

Figure 13 : Croissance mycélienne des souches de *L. theobromae* sur l'huile essentielle d*'A. conyzoides* et *C.citratus*. Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (5 mm)……44

Figure 14 : Diamètres d'inhibition des huiles essentielles d*'A. conyzoides* et *C.citratus* sur la souche de *Candida albicans* . Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (7 mm) ……..44

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les souches fongiques utilisées …… 24

Tableau 2 : Test de détection des quelques groupes phytochimiques ...……..……. 36

Tableau 3 : Test de détection des quelques groupes phytochimiques …..……... 37

Tableau 4 : Qualités organoleptiques des huiles essentielles …..…….……..... 39

Tableau 5 : Valeurs de densité à 20°C …….…..... 39

Tableau 6 : Quelques propriétés de l'acétate d'éthyle synthétisé …….…..... 41

Tableau 7 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle ……..... 41

Tableau 8 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant éthanol ……... 41

Tableau 9 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane ……... 42

Tableau 10 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle et ……
hexane (1 :1)……... …… 42

Tableau 11 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane et acétate ……
d'éthyle (7 :3)…….. …… 42

TABLE DES MATIERES

DEDICACE i

REMERCIEMENT ii

RESUME iv

ABSTRACT v

SIGLES ET ABREVIATIONS vi

LISTE DES FIGURES vii

LISTE DES TABLEAUX viii

TABLE DES MATIERES ix

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE 5

I.1. PLANTES EN MEDECINE 5

I.1.1. Parties de plantes médicinales utilisées 6

I.1.2. Récolte des plantes 7

I.1.3. Séchage des plantes 7

I.2. PRINCIPES PHYTOCHIMIQUES 7

I.2.1. Définition d'un principe actif 7

I.2.2. Familles des principes actifs 8

I.3. PLANTES AROMATIQUES 10

I.4. HUILES ESSENTIELLES 10

I.4.1. Modes d'obtention des huiles essentielle 10

I.4.2. Aromathérapie 12

I.4.3. Composition chimique des huiles essentielles 12

I.4.4. Caractères physiques de huiles essentielles 15

I.4.5. Modes d'utilisation 15

I.4.6. Type des microorganismes cibles 16

1.4.7. Mode d'action des huiles essentielles 16

I.5. MONOGRAPHIE DES PLANTES UTILISEES 16

1.5.1. *Ageratum conyzoïdes* 16

1.5.2. *Cimbopogon citratus* 19

I.6. GERME ZOOPATHOGENE 20

1.6.1. *Candida albicans* 20

I.7. MICROORGANISMES PHYTOPATHOGENES 21

1.7.1. *Lasiodiplodia theobromae* 21

1.7.2. Cercosporiose noire 22

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES 23

II.1. MILIEU D'ETUDE 23

II.2. MATERIEL 23

II.2.1. Plantes 23

II.2.2. Souches fongiques 24

II.3. METHODES 24

II.3.1. Traitement du matériel végétal 24

II.3.2. Détection de grands groupes phytochimiques 25

II.3.3. Détection des substances toxiques 27

II. 3.4. Hydrodistillation 29

II.3.5. Chromatographie sur couche mince (CCM) 30

II.3.5. Obtention des souches phytopathogènes 32

II.3.5.1. Lasiodiplodia theobroma 33

II.3.6. Sensibilité des souches aux huiles essentielles 34

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS 36

III.1. SCREENING CHIMIQUE 36

III.2. DETECTION DES IONS TOXIQUES 37

III.3. RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE 37

III.4. CARACTERISATION DES HUILES ESSENTIELLES 38

III.4.1. Analyse organoleptiques 38

III.4.2. Analyse physico-chimique 39

III.4.3. Chromatographie sur couche mince 41

III.5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES 43

CONCLUSION ET SUGGESTIONS 48

BILIOGRAPHIES ET WEBOGRAPHIES 49

ANNEXES

INTRODUCTION

1. Problématique

Les plantes aromatiques et médicinales contiennent des substances naturelles, à l'instar des huiles essentielles. Ces dernières constituent une source des molécules organiques biologiquement actives. Ainsi, elles ont suscité beaucoup d'intérêts scientifiques dus au fait qu'elles présentent des propriétés microbiennes remarquables vis-à-vis de microorganismes zoopathogènes et phytopathogènes devenus un réel problème de santé. À l'heure actuelle où l'humanité fait face à une nouvelle tendance qui consiste à rechercher dans les plantes des nouveaux produits de substitution pour certaines maladies phytopathologiques, notamment les champignons qui attaquent les plantes. (Mwambali, 2020). Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires.

Ainsi, pour toutes ces raisons, les recherches s'orientent aujourd'hui vers de nouvelles alternatives thérapeutiques entraînant moins d'effets secondaires et présentant moins de danger pour la santé. Des produits d'origine naturelle, issus de plantes médicinales, tels que : les huiles essentielles, utilisées en médecine traditionnelle, peuvent être considérées comme une bonne alternative thérapeutique.

L'OMS a donc lancé une campagne de lutte contre la résistance aux antimicrobiens : pas d'action aujourd'hui, pas de guérison demain (O.M.S, 2002).

A Kisangani, une étude récente (Etobo, 2007) a montré une baisse très significative de la sensibilité des germes aux antibiotiques. En effet, trouver de nouvelles molécules efficaces pour traiter les infections bactériennes est devenu un enjeu majeur de la recherche microbiologique, car aucune nouvelle famille d'antibiotiques n'a été découverte depuis plus de vingt-cinq ans.

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques (Ouraini D et *al.*, 20007 in K. Elmansouri, R. Moutaj*, 2013).

Les principaux problèmes que connaissent les cultures de cacao sont des conditions climatiques défavorables et des maladies, qui sont souvent liées et peuvent limiter gravement la production (Vos et *al.*, 2003). Parmi les maladies les plus dommageables figurent le balai de sorcière (*Crinipellis perniciosa*), la pourriture brune (*Lasiodiplodia theobromae*.), la moniliose (*Moniliophthora roreri*), l'œdème des pousses (Bowers et *al.*, 2001).

La pourriture brune des cabosses est l'une des maladies la plus répandue chez les espèces *T. cacao*. Elle provoque des pertes des productions importantes estimées à 30 % à l'échelle mondiale (Lass, 1985). Il s'agit d'une lésion qui présente un aspect translucide et un revêtement sporifère blanc-crème (Blaha et Lotode, 1976).

Cependant la culture de bananiers plantains et autres bananiers (doux, textiles) est menacés par les attaques nombreuses des maladies causées par les virus, les bactéries, Nématodes et le charançon et champignons (Carlier et *al*., 2003).

Dans le cas de champignons ces plantes sont affrontées à une affection parasitaire la plus dévastatrice, la cercosporiose noire ou la maladie des raies noires (MRN) qui est causée par le champignon ascomycète appelé *Pseudo-cercospora* (Ancienne appellation *Mycosphaerella) fijiensis* Morelet. Ce champignon haploïde et hétérotallique appartenant à l'ordre des dothideales dont ces ascospores jouent un rôle épidémiologique essentiel (Carlier et *al*., 2000).

Le *C. albicans* qui résident comme étant commensale dans les cavités muchocutanées de la peau, du vagin et de l'intestin des humains, peut provoquer des infections dans des conditions physiologiques et pathologiques modifiées telles que l'enfance, la grossesse, le diabète, l'administration antibiotique large et le prolongement, la chimiothérapie stéroïdienne ainsi que le SIDA (Vijaya et *al.*, 2001). Lors d'un déséquilibre immunitaire ou hormonal, il prolifère et devient pathogène en libérant des toxines. On parle alors de "candidose".

Vu l'importance des huiles essentielles dans le domaine pharmaceutique par exemple, à travers leurs propriétés chimiques ultra puissantes, les plantes aromatiques font l'objet de nombreuses recherches actuellement (Mpiana, 2015).

Alors, dans le but de concourir à la valorisation de la flore de la région de Kisangani, le présent travail contribue à l'évaluation de l'activité antifongique de deux plantes aromatiques sur deux souches phytopathogènes et une souche zoopathogène.

Ainsi, notre problématique se fonde sur trois (3) questions essentielles :

- Les propriétés physicochimiques caractéristiques de ces huiles essentielles seraient-elles identiques dans les différentes huiles essentielles ?
- Est-ce que ces huiles présenteraient l'activité antifongique ?
- Est-ce que cette efficacité dépendrait-elle d'une huile essentielle à une autre ?

2. Hypothèses

En se référant aux études citées ci-dessous et étant donné l'utilisation traditionnelle des espèces d'*A. conyzoides,* et de *C. Citratus* et d'autres espèces pour soulager les maladies infectieuses, et compte tenu de plusieurs études antérieures sur les plantes soignant les maladies infectieuses, nous pensons que :

- Leurs huiles essentielles auraient des propriétés physico-chimiques différentes ;
- Leurs huiles essentielles présenteraient l'activité antifongique ;
- Cette activité serait différente selon l'espèce de la plante utilisée.

3. Objectifs du travail

3.1. Objectif général

Le présent travail a pour objectif général, à contribuer à l'étude chimique des huiles essentielles des quelques plantes à activités antifongique, utilisées dans la région de Kisangani (R.D. Congo).

3.2. Objectifs spécifiques

Pour atteindre cet objectif, les objectifs spécifiques suivant ont été dégagés :

- Déterminer certains paramètres physico-chimiques des huiles essentielles extraites ;
- Evaluer *in vitro* l'activité antifongique ;
- Comparer cette activité antifongique selon les espèces de plantes étudiées.

4. Intérêt du travail

Cette étude trouve son intérêt dans plusieurs domaines. Sur le plan scientifique, approfondir les connaissances sur l'activité antifongique des huiles essentielles ; sur le plan environnemental, elle va servir dans la valorisation des ressources de la biodiversité de la

RDC et enfin sur le plan industriel ou cosmétique, l'utilisation des arômes naturelles à base des plantes dans la fabrication des supports antiseptiques pour pallier aux infections microbiennes.

5. Travaux antérieurs

- ARAMA, 2015 ; screening chimique, extraction d'huile essentielle de plantes aromatiques cas de *fagara macrophilla* ;
- TIKA, 2018 ; screening chimique, extraction d'huile essentielle et évaluation de l'activité anti-moustique de *cymbopogon giganteus* et *citratus* rencontrés à Kisangani ;
- KADILU, 2019 ; Screening phytochimique, Extraction d'huile essentiel, Activité antifalcémiante et anti radicalaire de quelques plantes aromatiques récoltées dans la région de Kisangani en République Démocratique du Congo. Cas de : *Newbouldia* et *Ageratum conyzoïdes* ;
- LUKA, 2000 ; sur l'extraction et la détermination de quelques paramètres physicochimiques et groupes phytochimiques de l'huile essentielle de *Cananga odorata* (Ylang-Ylang) ;
- MWAMBALI, 2020 ; Contribution à l'étude chimique et évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles sur la souche de *lasiodiplodia theobromae.* Cas d'*ageratum conyzoides et cymbopogon citratus* dans la ville de kisangani (RD Congo) ;
- SIBATU, 2020 ; Evaluation in vitro de l'activité antifongique des huiles essentielles sur les souches de *lasiodiplodia theobromae* dans la région de Kisangani (R.D. Congo).

6. Subdivision du travail

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera trois chapitres hormis l'introduction et la conclusion :

- Chapitre premier : Revue de la littérature ;
- Chapitre deuxième : Matériels et méthodes ;
- Chapitre troisième : Résultats et discussion ;

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. PLANTES EN MEDECINE

Les plantes ont de tout temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides. (Cowan 1999 in Touré, 2015).

Depuis la préhistoire, plus d'une centaine ou milliers de plantes ont été utilisées dans le monde entier sous forme de cataplasme ou d'infusion (Touré, 2015). En République Démocratiques du Congo (R.D.C), de nombreux travaux ont été réalisés sur les plantes médicinales. Ces données sur les plantes médicinales ont permis d'une part d'expliquer leur action thérapeutique et d'autre part de confirmer leurs utilisations en médicine traditionnelle.

La majorité de la population mondiale (75 %) représentant la tranche vivant sous le seuil de la pauvreté, utilise les plantes pour subvenir aux besoins de santé primaire, malgré l'existence des médicaments synthétiques (Duke, 1990 in Touré, 2015). Cette ruée vers la médecine par les plantes peut s'expliquer par le fait que les plantes sont accessibles et abondantes, rendant ainsi la médecine par le traitement des plantes, abordable surtout dans les pays en voie de développement (OMS, 2002). De plus, les effets secondaires causés par les plantes sont minimes voire absents, au contraire des médicaments semi-synthétiques ou synthétiques (Iwu, 1999 ; Cowan, 1999 in Touré, 2015).

Les nouveaux composés actifs peuvent être recherchés dans les plantes médicinales, car celles-ci constituent une source potentielle de composés antimicrobiens et/ou inhibiteurs des mécanismes de résistances aux antibiotiques. En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes ; ces composés agissent suivant plusieurs mécanismes :

- Formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides, inhibant ainsi leurs fonctions (polyphénols) ;
- Rupture de membranes microbiennes (flavonoïdes lipophiles, terpénoïdes, défensives)
- Inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (polypeptides) (Silva et *al*., 2008).

I.1.1. Parties de plantes médicinales utilisées

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée. Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par Gurib-Fakim, 2006 :

- Racine : Les racines peuvent être fibreuses, solide ou charnues ;
- Rhizome : Le rhizome est une tige ligneuse ou allongée charnue qui pousse généralement horizontalement en dessous du sol, formant des feuilles au-dessus du sol et des racines dans le sol ;
- Bulbe : Un bulbe est une pousse souterraine verticale disposant de feuilles modifiées utilisées comme organe de stockage de nourriture par une plante à dormance. Les bulbes les plus populaires en médecine traditionnelle sont l'oignon et l'ail ;
- Tubercule: Un tubercule est une structure charnue gonflée, généralement souterraine, qui assure la survie des plantes pendant la saison d'hiver ou en période de sécheresse. Ces organes peuvent être formés sur les racines ou se développent sur les parties aériennes de la plante. La pomme de terre africaine (*Hypoxis* sp. De la famille *Hypoxidaceae*) est un exemple bien connu ;
- Écorce : L'écorce est la couche protectrice externe d'un tronc d'arbre, elle est souvent riche en toxines (phénols) et principes amers (tanins) ce qui la rend plus protectrice,
- Bois : Le bois est la tige épaisse ou le bois lui-même.
- Feuilles : Les feuilles peuvent être utilisées seules ou mélangées avec leur pétiole.
- Gommes : les gommes sont des composés solides constituent d'un mélange de polysaccharides. Ils sont solubles dans l'eau et partiellement digérés par les êtres humains.
- Huiles essentielles
- Les parties aériennes : Toutes les parties de la plante qui se trouvent au-dessus du sol. Elles sont récoltées, très souvent, lors de la floraison.
- Fleurs : Les fleurs sont très utilisées dans la médecine traditionnelle ;
- Fruits
- Graines

I.1.2. Récolte des plantes

La récolte des plantes médicinales est une étape très importante, notamment en médecine traditionnelle. Elle doit être effectuée au moment le plus favorable afin de conserver l'efficacité des principes actifs. Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées (Larousse des plantes médicinales, 2001).

Les auteurs de cette référence (Larousse des plantes médicinales, 2001) ont proposé quelques conseils pour faire une meilleure récolte :

- Identifier les plantes, ne jamais cueillir une plante dont on n'est pas sûr ;
- Ne pas cueillir les plantes sauvages rares ou inhabituelles ;
- Ne pas ramasser de plantes au bord des routes, à proximité des usines ou dans les zones où sont vaporisés des insecticides sur les cultures ;
- Utiliser, si possible, un panier ouvert pour y déposer les plantes, ce qui évite de les abîmer ;
- Dans la nature, un sac à dos (évitez le Nylon) ou un sac en toile sera plus pratique ;
- Récolter uniquement des plantes saines ;
- Récolter les plantes pendant la matinée (Larousse des plantes médicinales, 2001).

I.1.3. Séchage des plantes

Le séchage des plantes médicinales est, normalement, effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes. Le séchage doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (Berton, 2001).

Il existe également d'autres procédés de séchage : les procédés mécaniques (presse, décantation ou centrifugation), les procédés physico-chimiques (adsorption, absorption, réfrigération et séchage par évaporation) (Boulemtafes, 2011).

I.2. PRINCIPES PHYTOCHIMIQUES

I.2.1. Définition d'un principe actif

Le ou les principes actifs d'une plante sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. De nombreux médicaments renferment des principes actifs extraits des plantes (Eutraco, 2009 in Bokota, 2012).

I.2.2. Familles des principes actifs

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les anthocyanes, les bases puriques, les colorants, les coumarines, les enzymes, les flavonoïdes, les hétérosides anthracéniques (anthracénosides), les hétérosides cardiotoniques, les huiles essentielles, les mucilages, les oligo éléments, les pectines, les pigments, les polysaccharides, les saponosides, les stéroïdes, les tannins, les vitamines, … (Eutraco, 2009 in Bokota, 2012).

1.2.2.1. Alcaloïdes

Ce sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale (il n'en existe que des rares représentants dans le règne animal), éventuellement reproductibles par synthèse, azotées, de réactions alcalines plus ou moins prononcées et douées à faible dose de propriétés pharmacodynamiques marquées. Leurs noms se terminent toujours par « ine » (Bruneton, 2009).

Les alcaloïdes sont généralement extraits de plantes et appartiennent à quatre familles botaniques (Bruneton, 2009) :

- Papavéracées
- Papilionacés
- Renonculacées
- Solanacées

*1.2.2.2.*Tanins

On désigne sous le nom des tanins, des composés polyphénoliques hydrosolubles qui présentent à côté des réactions classiques des phénols, les propriétés de précipiter les protéines et les alcaloïdes. On distingue les tanins condensés (proanthocyanidols) et les tanins hydrolysables (tanins galliques et tanins catéchiques).

Substances amorphes, extraites de plantes, utilisées principalement pour le tannage du cuir. Les tanins ont des couleurs qui vont du blanc jaunâtre au brun et foncent à la lumière. Ils possèdent une légère odeur caractéristique, un goût amer et sont astringents (Bruneton, 2009).

*1.2.2.3.*Terpènes

Ils constituent entre autres le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, 20 atomes de carbones. Extraites,

ces molécules sont employées comme condiment (girofle) ou comme parfum (rose, lavande). Nombre d'entre eux possèdent des propriétés antiseptiques, d'où divers emplois dont l'embaumement qui est resté dans le terme balsamique donné aux plantes et aux huiles qui en sont tirées (Bruneton, 2009 in Bokota, 2012).

1.2.2.4. **Stéroïdes**

Abondant dans les végétaux et les animaux, ils comportent généralement des méthyles en C-10 et C-13 et souvent une chaîne alkylée en C-17 dans leurs structures. Les Stérols comportent un hydroxyle en position C-3. Comme exemple on peut citer : Le cholestérol et les hormones stéroïdiques (testostérone, Progestérone, Estrone, Cortisone) (Bruneton, 2009 in Bokota, 2012).

1.2.2.5. **Saponines**

On entend par saponines ou saponosides (lat. sapon, savon -saponaire, l'herbe à savon ; le réglisse ; le bouillon blanc ; le modène-), des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion (Bruneton, 2009 in Bokota, 2012).

1.2.2.6. **Flavonoïdes**

Ils entrent dans la composition de nombreux pigments végétaux et en particulier les pigments jaunes et oranges (calendula) et aussi dans les pigments bleus (le bleuet, grand antispasmodique de la face et surtout des yeux). Les plantes qui contiennent des flavonoïdes sont souvent liées à la fonction antispasmodique (Bruneton, 2009).

1.2.2.7. **Quinones**

Ce sont des composés organiques insaturés possédant deux fonctions cétones (également appelées dicétones éthyléniques), telle que la parabenzoquinone (ou 1,4-benzoquinone), ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange. On trouve des quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries.

Les principales quinones sont : benzoquinone ou quinone ($C_6H_4O_2$), naphtoquinone ($C_{10}H_6O_2$), anthraquinone ($C_{14}H_8O_2$) (Bruneton, 2009 in Bokota, 2012).

I.3. PLANTES AROMATIQUES

Les plantes aromatiques comprennent les plantes utilisées comme épices, aromates ou condiments, parfois combinées en mélanges aromatiques. La distinction entre ces trois groupes est confuse et dépend surtout de l'utilisation que l'on voudrait faire de la plante.

Si on suit la terminologie anglophone, les plantes aromatiques peuvent se répartir entre spices dits « épices », plantes dont on utilise les parties dépourvues de chlorophylle, et herbes dits « herbes », celles dont on utilise les parties vertes (Pierron, 2014).

Le mot condimentaire, du latin condimentum, signifie assaisonnement. Les herbes aromatiques sont des plantes cultivées dans les jardins potagers ou en grandes cultures maraîchères pour leurs qualités aromatiques, condimentaires ou médicinales.

L'expression « fines herbes » peut s'appliquer à toutes les herbes aromatiques, mais en soi désigne plus particulièrement un mélange de quatre d'entre elles : ciboulette, cerfeuil, persil et estragon ou pimprenelle. On emploie généralement en condiment leurs feuilles fraîches, séchées ou déshydratées, pour assaisonner, relever ou parfumer diverses préparations culinaires crues ou cuites (Pierron, 2014).

D'autres plantes aromatiques sont des arbres comme le laurier ou des arbrisseaux ou aussi comme la lavande (Pierron, 2014).

I.4. HUILES ESSENTIELLES

Plusieurs définitions disponibles d’une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles sont des substances naturelles volatiles et odoriférantes extraites des organes des plantes aromatiques, tant au niveau des parties aériennes (fleurs, tiges et rameaux) que souterraines (racines, rhizome) (Pierron, 2014).

I.4.1. Modes d’obtention des huiles essentielle

1.4.1.1. Expression à froid

Ce procédé, le plus simple et celui qui conserve le mieux l’intégrité de l’essence, est également le plus limité. En effet, il ne peut s’appliquer qu’à une famille botanique, celle des Rutaceae, pour extraire l’essence du zeste de ses fruits. La méthode consiste à déchirer mécaniquement les poches à essence que l’on trouve en grande quantité sur l’épicarpe de ces fruits, puis à séparer le produit d’extraction de la matière végétale solide (Pierron, 2014).

Aujourd'hui, la méthode la plus couramment employée, permet une extraction simultanée du jus et de l'huile essentielle, par pressage vertical des fruits entiers à l'aide de coupelles métalliques, et ces deux éléments sont par la suite séparés par centrifugation. L'expression à froid permet d'obtenir de l'essence. Cette méthode permet d'obtenir strictement ce que la plante a produit, sans aucune modification : on peut encore parler de drogue (Pierron, 2014).

1.4.1.2. Hydrodistillation et la distillation à la vapeur d'eau

La matière végétale est immergée dans un bain d'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. Le chauffage de l'ensemble est effectué à la base de l'alambic, à l'aide d'un combustible : bois (alambic à feu nu) ou par la vapeur injectée dans la double enveloppe entourant l'alambic. La montée de la chaleur permet l'éclatement des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Le mélange est ensuite refroidi dans un vase florentin ou essencier. La différence de densité entre la phase aqueuse (eau florale) et la phase organique (huile essentielle) permet la séparation des deux entités. La présence de l'eau dans l'hydrodistillation peut entrainer des phénomènes d'hydrolyse, phénomènes limités par l'absence de contact entre le végétal et l'eau dans la distillation à la vapeur d'eau. Ceci explique la moindre utilisation de l'hydrodistillation (Pierron, 2014).

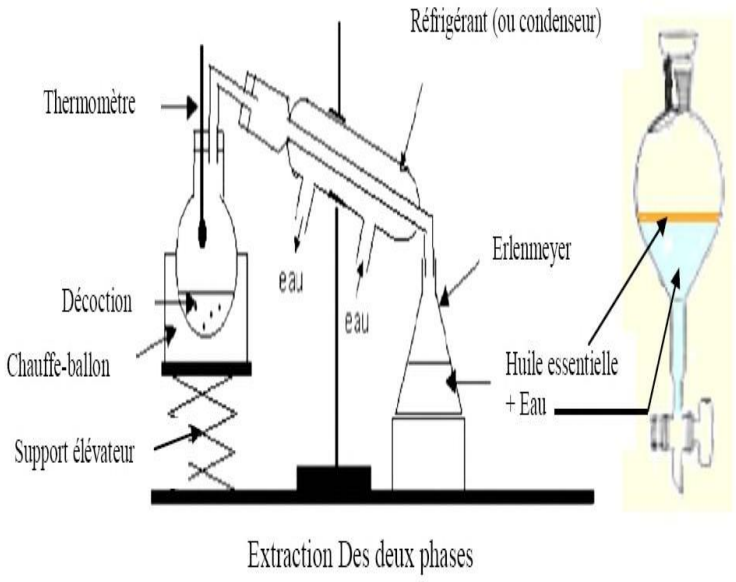


Figure 1 : Schéma d'une hydrodistillation

La distillation à la vapeur d'eau, ou entraînement à la vapeur d'eau, est la technique la plus courante pour l'obtention des huiles essentielles. C'est la seule technique, avec

l'expression à froid dans le cadre des huiles essentielles de zestes d'agrumes, qui est autorisée par la Pharmacopée européenne.

Dans la distillation par entrainement à la vapeur d'eau, la matière première est déposée sur une grille (à sec). Selon l'épaisseur des tissus du matériel végétal, cette technique peut prendre plus ou moins de temps selon la polarité des constituants.

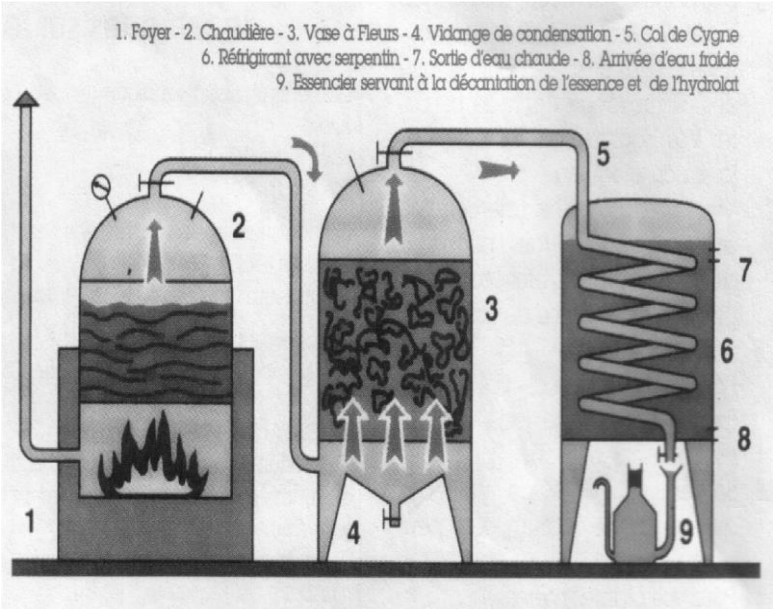


Figure 2 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

I.4.2. Aromathérapie

Du grec aroma, « odeur » et thérapie, « soins », l'aromathérapie (terme utilisé la première fois par René-Maurice Gattefossé en 1928) (I.Pacchioni, 2010) renvoie à l'utilisation des huiles essentielles, essences et hydrolats obtenus à partir des plantes aromatiques, pour un usage médical afin de soigner ou prévenir certaines pathologies. L'aromathérapie associe donc les actes de se soigner et de se faire plaisir grâce aux propriétés thérapeutiques et odorantes des huiles essentielles et des hydrolats (Vangelder, 2017).

I.4.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont dotées d'un très grand nombre de composant chimiques, qui leur confèrent leurs différentes propriétés et éventuelles toxicités.

On peut diviser ces composants chimiques en deux grands groupes : le groupe majeur des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques qui sont des dérivés du phénylpropane**.** (Bruneton, 2009 et Raynaud, 2016).

1.4.3.1. Partie de la plante utilisée

Les huiles essentielles peuvent être retrouvées dans tous les types d'organes végétaux par exemple des fleurs (huile essentielle de Ylang-Ylang) mais aussi des feuilles (huile essentielle de Cannelle de Chine, huile essentielle de Citronnelle , huile essentielle d'Eucalyptus radié) et bien que cela soit moins habituel, dans des écorces(huile essentielle de Cannelle de Ceylan) , des bois (huile essentielle de Bois de Hô), des racines (huile essentielle d'Angélique), des graines (huile essentielle de Coriandre, huile essentielle de Muscade) (Bruneton, 2009 et ANSM, 2017 in Vangelder, 2017).

Il est important de préciser sur l'étiquette l'organe végétal producteur ou partie de plante utilisée. En effet, les propriétés d'une même huile essentielle peuvent différer selon cet organe producteur. On peut citer en exemple le Citrus auranticum L : le zeste aura une action calmante (huile essentielle d'Orange amère), la fleur aura une action neurotonique (huile essentielle de Néroli), la feuille aura une action antispasmodique (huile essentielle de Petit grain bigarade) (Bruneton, 2009 et ANSM, 2017 in Vangelder, 2017).

1.4.3.2. Précision du chémotype

Pour une même espèce botanique, plusieurs chémotypes qui trouvent leur origine dans de légères différences des voies de biosynthèse peuvent exister, aboutissant à l'accumulation de métabolites secondaires différents. La variabilité chimique s'explique par l'environnement. Ainsi, en fonction du pays, du sol, de l'altitude, du climat ou encore du lieu de production, une même plante peut produire des huiles essentielles différentes aux propriétés bien spécifiques. Il est impératif de bien indiquer ce chémotype sur l'étiquette afin d'éviter toute confusion, et d'éviter au patient d'obtenir des effets inverses à ceux désirés.

Ce phénomène a été bien étudié pour le thym, Thymus vulgaris, pour lequel on distingue au moins 7 chémotypes différents en fonction du constituant principal de l'huile essentielle (alpha-terpinéol, carvacrol, cinéole, géraniol, hydrate de sabinène, linalol, thymol...). Sa variabilité chimique s'explique par son environnement (sol, altitude, climat, lieu de production)

Il est donc indispensable, pour certaines huiles essentielles de bien préciser le chémotype car il peut conditionner l'activité et/ou la toxicité (ANSM, 2017 in Vangelder, 2017).

1.4.3.3. Les moyens d'identification de la matière première végétale

Il est donc primordial de qualifier et d'identifier la matière première végétale utilisée dans une huile essentielle pour assurer sa traçabilité et garantir une utilisation optimale.

Cette identité peut être garantie soit par des certificats ou des engagements du fournisseur soit au moyen de l'une ou plusieurs des techniques décrites ci-après :

- Les caractères botaniques macroscopiques : l'examen organoleptique permet de repérer les éléments d'identification tels que la morphologie, la couleur, les éventuelles traces d'impuretés…
- Les caractères botaniques microscopiques : l'examen microscopique de la drogue végétale permet de rechercher et d'identifier les caractères spécifiques ou dominants.
- Les techniques chromatofigures avec la chromatographie sur couche mince (CCM) ou la chromatographie en phase gazeuse (CPG) : le chromatogramme de la solution à examiner obtenue par extraction est comparé à celui d'une solution témoin comportant de préférence deux substances de référence pour la CCM ou à un profil chromatofigure pour la CPG ; la caractérisation du chémotype se fera après identification du ou des constituants majoritaires dans les huiles essentielles analysées.

L'identification des caractères botaniques macroscopiques est indispensable et se fera dans un premier temps. L'identification des caractères botaniques microscopiques ainsi que les différents procédés de chromatographies viennent en appui de la première méthode si cette dernière s'avère insuffisante. (ANSM, 2017 in Vangelder, 2017).

a. Identification et analyses chromatofigures

Comme pour les matières premières végétales, il est important d'identifier les constituants des huiles essentielles pour éviter les éventuelles falsifications.

L'évaluation de la qualité d'une huile essentielle se fait par le biais de mesure d'indices et d'analyses chromatofigures tels que :

- Des indices physiques comme la densité relative, l'indice de réfraction, la solubilité dans l'alcool…
- Des indices chimiques comme l'indice d'acide, l'indice d'esters ou de peroxydes…
- Des analyses chromatofigures comme la chromatographie sur couche mince, la chromatographie en phase liquide à haute performance ou encore la chromatographie

en phase gazeuse. Les méthodes chromatofigures permettent de détecter les différents composants d'une huile essentielle, d'établir la carte d'identité de celle-ci et donc de garantir sa qualité ou non. C'est la chromatographie en phase gazeuse qui est celle dite de référence (ANSM, 2017 in Vangelder, 2017).

I.4.4. Caractères physiques de huiles essentielles

Parlons maintenant des différents caractères physiques des huiles essentielles.

- Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépend de la composition chimique. Une huile essentielle riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une huile essentielle riche en sesquiterpènes.
- Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention pour la majorité d'entre elles et foncent au cours de la conservation à l'air et à la lumière. Par exemple, l'huile essentielle de cannelle est brun rouge tout comme l'huile essentielle de girofle. L'huile essentielle de camomille matricaire, quant à elle, est de couleur bleu vert. Dans les cas extrêmes, l'huile essentielle vieillie et oxydée peut présenter des risques de toxicité.
- Les huiles essentielles présentent généralement une densité inférieure à 1. En revanche, celles de la cannelle de Ceylan et des clous de girofle sont légèrement supérieures à 1.
- Elles possèdent un indice de réfraction élevé.
- Elles sont en général solubles dans les solvants organiques courants et dans les matières grasses. Leur solubilité dans l'eau est quasiment nulle.
- Elles sont sensibles à l'oxydation, à la lumière et à la chaleur. (Kaloustian, Hadji-Minaglou, 2012 et Bonnabel-Blaize et Rozet, 2011).

I.4.5. Modes d'utilisation

Il existe différentes modes d'utilisation : la voie cutanée diluée, la voie cutanée pure, la diffusion atmosphérique, l'inhalation humide, l'inhalation sèche, la voie orale, la voie rectale et la voie vaginale.

Il faut bien faire attention de respecter le mode d'utilisation adéquate à chaque huile essentielle. En effet, certaines huiles ne se diffusent pas, d'autres ne s'avalent pas et d'autres ne peuvent être utilisées par voie cutanée. Cela est très souvent dû aux différents composants chimiques de l'huile essentielle (Millet, 2015).

I.4.6. Type des microorganismes cibles

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis à vis des huiles essentielles. Parmi les microorganismes, *Candida albicans* (Levures) est le champignon zoopathogène et enfin *Lasiodiplodia theobromae* et *Paracercospora fijiensis*, qui sont des champignons phytopathogènes, ont été les plus étudiés. Les champignons montrent généralement une sensibilité supérieure par rapport aux bactéries et parmi les bactéries, les Gram négatif apparaissent plus résistants que les Gram positif vis-à-vis des huiles essentielles (Cox et *al.*, 2000 ; Amaral et *al*., 1998). De même, certains champignons sont plus résistants vis-à-vis de l'huile de genévrier que les bactéries (Chao et al., 2000). Enfin, une sensibilité supérieure des bactéries anaérobies a été observée quel que soit les huiles essentielles par rapport à celles vivant en aérobiose (Amaral et al.,1998 ; Juven et *al*., 1994).

1.4.7. Mode d'action des huiles essentielles

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et *al.*, 2002). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson, 1997).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne.

I.5. MONOGRAPHIE DES PLANTES UTILISEES

1.5.1. *Ageratum conyzoïdes*

1.5.1.1. Classification botanique

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta

- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Asterales
- Famille : Asteraceae
- Genre : Ageratum
- Espèce : *A. conyzoïdes*

Nom vernaculaire : : Herbe à bouc (Français), Matungulusumu (Swahili).

*1.5.1.2.*Description de la plante

A. conyzoides est une herbacée appartenant à la famille des Asteraceae (Okunade, 2002), C'est une plante herbacée annuelle d'environ 1 m de hauteur. Les feuilles et les tiges sont couvertes de fins poils et blancs. Les feuilles opposées sont douces au toucher, de forme ovale elles peuvent atteindre 7,5 cm de long. Les fleurs se rassemblent en petits capitules mauves ou bleu pâles. Le fruit est un akène avec pappus. La plante froissée dégage une odeur caractéristique (Okunade, 2002 ; Brojendro, 2013).

Cette plante tropicale, est largement répandue en Afrique de l'ouest et quelques fois en Asie et en Amérique de l'ouest. Elle pousse dans les lieux humides comme les rizières en jachères après le retrait des eaux et également à proximité des habitations (Touré, 2015).

Cette plante tropicale est largement répandue en Afrique de l'ouest, en Asie et en Amérique de l'Ouest. Elle est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de nombreuses maladies (Figure 3)



(Source : cliché de l'auteur)

Figure 3 : Feuilles d'*A. conyzoïdes*

*1.5.1.3.*Utilisation thérapeutique de la plante en médecine traditionnelle

La plante est surtout connue pour ses vertus thérapeutiques. En Côte-d'Ivoire, chez les Abbey et Krobou, elle est employée, dans le traitement de la migraine, pour faciliter l'accouchement et comme antipaludique (N'Guessand, 2008 in Touré, 2015). Selon Ouattara en 2006 cité par Touré en 2015, les populations Dida de Divo, dans le Sud forestier de la Côte-d'Ivoire, l'utilisent contre l'épilepsie. Au Sénégal, la plante est utilisée comme antiallergique et antalgique. Dans certains pays d'Afrique, la plante est indiquée dans le traitement des maladies infectieuses et mentales aussi bien que les maux de tête et les dyspnées (Kerharo., 1974).

Au Cameroun et au Congo, la plante est utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement des fièvres, du rhumatisme, des maux de tête, du diabète et des coliques (Menut et *al,* 1993 ; Bioka et *al*.,1993 ; Soumyanath, 2006 in Touré, 2015). En Afrique centrale, la plante est tout particulièrement utilisée pour traiter les blessures causées par les brûlures (Durodola, 1977). Au Kenya, elle est utilisée en médecine traditionnelle, comme antiasthmatique, antispasmodique, et hémostatique (Kokwaro, 1976). En Inde, elle est utilisée pour traiter les cas de lèpre et comme lotion d'huile pour les affections oculaires purulentes (Katsuri, 1973). Au Brésil, le thé médicinal à base d'*A. conyzoïdes* est utilisé comme antiinflammatoire, analgésique et antidiarrhéique (Yamamoto, 1991). En République Démocratique du Congo, cette plante est utilisée pour traiter la malaria, les maux des dents et le poison.

*1.5.1.4.*Propriétés biologiques des huiles essentielles d'*A. conyzoïdes*

Les huiles essentielles d'*A. conyzoïdes* inhibent la croissance de *Aspergillus parasiticus* ainsi que la production de l'afltoxine (Patil et *al*., 2010). Par ailleurs, l'extrait aqueux de cette plante possède des propriétés hypotensives, antispasmodiques (Achola et *al*., 1994), antioxydant et insecticides (Amal et al., 2010). *A. conyzoïdes* possède également une activité larvicide sur *Anopheles stephensi* (Neetu et *al*., 2011). L'extrait hydro alcoolique possède des propriétés antalgique et antiinflammatoire (Jose et *al*., 1997).

L'extrait aqueux et éthanolique a montré une activité antibactérienne potentielle sur *Alcaligenes viscolactis*, *Klebsiella aerogenes*, *Bacillus cereus* et *Streptococcus pyogenes* (Moody et *al*., 2004), de même que sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) (Akinyemi et *al*., 2005).

1.5.2. *Cimbopogon citratus*

1.5.2.1. Classification botanique

- Règne : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Liliopsida
- Ordre : Cyperales
- Famille : Poaceae
- Genre : Cymbopogon
- Espèce : *C. citratus*

Nom vernaculaire : Citronnelle en Français, Majani tchai (Swahili)

1.5.2.2. Description de la plante

Le genre Cymbopogon appartient à l'un des plus importants producteurs d'huiles essentielles et monocotylédones de la famille des Poaceae (Gramineae) et comprend environ 180 espèces, sous-espèces, variétés et sous-variétés largement réparties dans les régions tempérées et tropical régions du monde (Bertea et Maffei, 2010). Bien que plusieurs espèces soient mal connues et étudiées, certaines espèces du genre auraient été utilisées dans les médicament, tandis que certains qui sont connus pour être riches en huiles volatiles ont des applications dans les industries des cosmétiques, des produits pharmaceutiques et de la parfumerie (Jeong et *al*., 2009 ; Avoseh et *al*., 2015).



(Source : cliché de l'auteur)

Figure 4 : Feuilles de *C. citratus*

*1.5.2.3.*Phytochimie et pharmacologie

L'utilisation des plantes médicinales fait partie d'un marché concurrentiel, qui comprend les marchés pharmaceutique, alimentaire, cosmétique et de la parfumerie (Rocha *at al*., 2011). La composition chimique de l'huile essentielle de *C. citratus* varie selon l'origine géographique, les composés comme les terpènes d'hydrocarbure, les alcools, les cétones, les esters et principalement les aldéhydes ont été constamment enregistrés. La citronnelle contient des ingrédients actifs comme le myrcène, un antibactérien et analgésique, du citronellal, du citronellol et du géraniol. L'huile essentielle se compose principalement de citral, une huile volatile au fort parfum de citron. Le citral est un mélange de deux aléhydes monoterpéniques stéréoisomères ; l'isomère trans géranial (40-62%) domine sur l'isomère cis (25-38%) et est utilisé dans la fabrication de parfum, de savons colorés et de synthèse de vitamine A (Shah et *al*., 2011 et www.ukessays.com).

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques des feuilles de citronnelle ont montré une propriété antibactérienne potentielle contre Staphylococcus aureus. Les flavonoïdes et les tanins présents dans l'extrait sont responsables de l'activité (Danlami et *al*., 2011).

L'activité antifongique, le *C. albicans* est un agent pathogène important des infections humaines ; de plus, d'autres espèces peuvent être associées à certaines infections. L'activité antifongique de la citronnelle et du citral contre les espèces de Candida a été étudiée et l'étude a montré que l'huile essentielle de citronnelle et le citral ont une puissante activité *in vitro* contre *Candida spp*. (Silva et *al*., 2008).

I.6. GERME ZOOPATHOGENE

1.6.1. *Candida albicans*

*1.6.1.1.*Epidémiologie

Les candidoses sont les mycoses humaines les plus fréquentes. L'espèce la plus fréquente, *C. albicans,* est un saprophyte du tube digestif, alors qu'une dizaine d'autres espèces de Candida (*C. tropicalis, C. kefyr, C. guilliermondii, C. krusei*, etc.) peuvent se retrouver sur la peau ou dans le tube digestif. Devenant pathogènes sous l'influence de divers facteurs favorisants, leur dissémination est généralement d'origine endogène et se fait à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales, respiratoires, ou la peau, ou par voie hématogène vers les organes profonds (Datry, 1989 ; Plantin, 1997 in M. Ackah 2009).

Selon les statistiques et les études menées dans le monde entier, l'infection par Candida frappe entre 70 % à 80 % de la population mondiale (Develoux et *al.*, 2005 in M. Ackah, 2009). *C. albicans,* levure saprophyte normal du tube digestif devient pathogène dans des conditions de défaillance du système immunitaire et provoque des manifestations cutanées muqueuses, mais rarement des septicémies. Les candidoses sont favorisées par l'obésité, la macération, l'humidité, le contact de substances chimiques. Les facteurs généraux peuvent être physiologiques (grossesse) pathologiques (diabète) ou iatrogènes (corticoïdes, antibiotiques, immunosuppresseurs, traitements hormonaux, contraceptions orales). Les candidoses apparaissent à tout âge, les nouveau-nés (en particulier les prématurés) et les personnes âgées sont vulnérables (Callot et *al.*, 1970).

*1.6.1.2.*Aspects cliniques

Les Candida sont des levures filamenteuses responsables de mycoses cutanées, mais aussi des mycoses des muqueuses, des mycoses unguéales, des mycoses digestives (candidoses oropharyngées et œsophagiennes au cours du SIDA), des mycoses broncho-pulmonaires, des mycoses viscérales (abcès, cérébraux, rénaux, pleuraux, etc.). On observe depuis quelques années un accroissement des infections à Candida, notamment des infections candidosiques profondes d'origine nosocomiale (Schwab, 1995 ; Joffina, 2003).

I.7. MICROORGANISMES PHYTOPATHOGENES

1.7.1. *Lasiodiplodia theobromae*

La pourriture brune ou simplement la pourriture des cabosses de cacao est une maladie qui se déclare fréquemment dans les cacaoyers. Elle sévit dans les régions de grande production. En Afrique de l'ouest, le Ghana et la Côte d'Ivoire, respectivement second et premier producteurs mondiaux, sont les plus touchés. Outre le swollen shoot, cette pathologie causée par un champignon, s'avère la plus dévastatrice de la cacao-culture. Elle est capable de détruire plus de 30 % des récoltes escomptés.

*1.7.1.1.*Lucarne sur les agents pathogènes

Les agents pathogènes de la pourriture brune du cacao sont des champignons du genre Phytophtora. Ces parasites se propagent rapidement en période d'humidité, en temps de pluies et en l'absence d'un bon ensoleillement dans les plantations. Les experts expliquent que l'eau de pluie et le vent constituent les principaux vecteurs de la propagation de cette pathologie. On dénombre 7 agents responsables à travers le monde : les destructions occasionnées par 4

premiers sont les plus accentuées tandis que les attaques des trois autres sont jugées moins virulentes.

- *Phytophtora palmivora*
- *Phytophtora megakarya*
- *Phytophtora citrophthora*
- *Phytophtora capsici*
- *Phytophtora megasperma*
- *Phytophtora katsurae*

1.7.2. Cercosporiose noire

*1.7.2.1.*Distribution

En République Démocratique du Congo (RDC), (Sebasigari et Stover, 1988) avaient signalé la présence de la MRN dans la région montagneuse de l'Est du pays. Classiquement, dans les zones de basses altitudes où est déjà présente l'espèce *P. musicola*, la propagation de *P. fijiensis* conduit, dans un premier temps, à une période de coévolution de deux espèces sur le même hôte, suivie par un remplacement de *P. musicola* par P. fijiensis. Toutefois, l'activité parasitaire de *P. fijiensis* (durée d'évolution des symptômes, sporulation) diminue progressivement en altitude, la maladie de Sigatoka (MS) se maintient, ainsi, dans les seules régions d'altitude (Fouré et Lescot, 1988 ; Mourichon et Fullerton, 1990 ; Mouliom Pefoura et Mourichon, 1990).

*1.7.2.2.*Agent pathogène

Le champignon *P.* (*Mycosphaerella*) *fijiensis* est l'agent pathogène de la MRN. Ce champignon appartient au Phylum des Ascomycota, Classe des Dothideomycètes, Sous-classe des Dothideomycetidées, Ordre des Capnodiales, Famille des *Mycosphaerellaceae*, Genre Mycosphaerella (Churchill, 2011).

P. fijiensis est un champignon hétérothallique qui se reproduit de façon sexuée et asexuée (Fahleson et *al*, 2009). La forme asexuée (anamorphe) est appelée *P. fijiensis* (Crous et Mourichon, 2002 ; Crous et *al*. 2009). Le cycle sexuel joue un rôle épidémiologique important pour la survie et la dispersion des populations fongiques. Le gène Mat, déterminant le type de croisement de l'espèce, a été caractérisé récemment chez cette espèce (Conde-Ferráez et *al*, 2007).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. MILIEU D'ETUDE

Cette étude s'est effectuée dans la ville de Kisangani, chef-lieu de la province de la Tshopo (Figure 5). Elle est une ville, qui est située dans la cuvette centrale congolaise, à 0° 31′ 00″ Nord et 25° 11′ 00″ Est. Son altitude moyenne est de 396 m (Nyakabwa, 1982). Sur le plan administratif, Kisangani est constitué de 6 communes : Kisangani, Makiso, Mangobo, Kabondo, Tshopo et Lubunga, couvrant une superficie totale de 1.910 km^2 (Etobo, 2012).

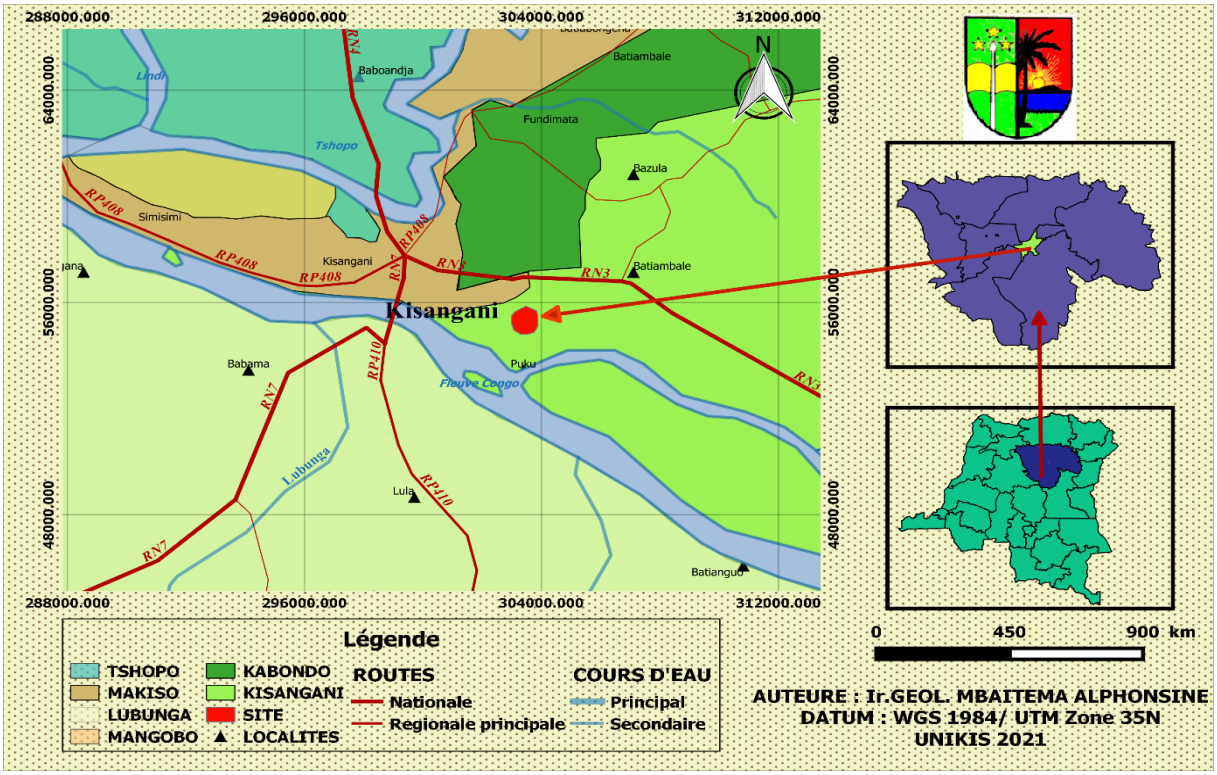


Figure 5 : Carte de la Ville de Kisangani.

II.2. MATERIEL

II.2.1. Plantes

Les échantillons de la partie aérienne (feuilles) d'*A. Conyzoides* (Figure 3) et C. *Citratus* (Figures 4) ont été récoltés au mois de septembre (2021), à Kisangani respectivement dans la réserve forestière de Masako, située à environ 500 mètres d'altitude, 0 ° 1 '36" Nord et 25 ° 1 '13" Est, cette réserve a une superficie de 2105 hectares. (Mwabali, 2020) et dans la commune Kabondo.

II.2.2. Souches fongiques

L'activité antifongique a été évaluée sur les souches de *L. theobromae, P. fijiensis et C. albicans* choisies pour leur capacité respective à contaminer une vaste gamme d'hôtes végétaux et animaux, à l'instar du *Theobromae cacao* sur lequel *L. theobromae* est agent causal de la pourriture brune de cabosse de cacao, *P. fijiensis* est un champignon ravageur de la culture de bananier et *C. albicans* est présent depuis toujours sur nos muqueuses, notre peau, ou bien encore dans notre intestin. Lors d'un déséquilibre immunitaire ou hormonal, il prolifère et devient pathogène en libérant des toxines. On parle alors de "candidose", dans la région de Kisangani dont nous les classons respectivement à deux souches phytopatogènes et une souche zoopathogène dans le Tableau 1.

Les deux souches *L. theobromae* et *P. fijiensis* ont été isolées et rendues disponibles par le Laboratoire de Microbiologie et de Phytopathologie du Département des Sciences Biotechnologiques de la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani. Tandis que la souche *C. albicans* a été isolée et rendue disponible par le Laboratoire provincial de santé publiques.

Tableau 1 : Les souches fongiques utilisées

Nature des souches	
Souches phytopatogènes	**Souche zoopatogène**
Lasiodiplodiae theobromae	*Candida albicans*
Paracercosporae fijiensis	

II.3. METHODES

II.3.1. Traitement du matériel végétal

Les feuilles qui ont constitué l'organe principal pour l'extraction des huiles essentielles et les analyses *in vitro* ont subi un séchage sur les paillasses du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles du Département de Chimie de la Faculté des Sciences, à la température ordinaire pendant au moins trois semaines.

Broyées au moyen d'un broyeur de marque VORWERK thermomix puis une quantité a été tamisées, les différents échantillons ont donné chacun une poudre que nous avons

conservée dans des fioles à l'abri de la lumière. Les pesées ont été faites sur une balance analytique de marque série SV-4200 (précision 1µg).

Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique et le broyat obtenu a été conservé dans des sachets en papier à température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.

II.3.2. Détection de grands groupes phytochimiques

Le screening chimique est une méthode d'analyse chimique qui a pour but de mettre en évidence les groupes phytochimiques contenus dans une plante donnée. La colorimétrie et la gravimétrie ont été les deux principales voies d'identification de ces groupes de substances en solution (Bokota, 2012). Il a été effectué dans le but d'obtenir un certain nombre d'informations sur les métabolites secondaires présents dans le matériel végétal étudié.

Nous avons effectué le screening chimique des alcaloïdes, des tanins, des quinones, des saponines, flavonoïdes, des stérols et terpènes.

II.3.2.1. Alcaloïdes

a. Réactifs

HCl 1%, Réactif de Meyer

b. Matériel

Becher, Tubes à essais, Seringues, Entonnoir et Papier filtre

c. Mode opératoire

Ils sont identifiés par la mise en évidence de l'azote que favorise l'interaction du complexe alcaloïde -réactif.

Différents réactifs sont utilisés pour la détection des alcaloïdes, nous avons utilisé les réactifs de Drangendorff et de Mayer.

Le réactif de Drangendorff, à base d'iodobismuthate, donne en présence d'un alcaloïde un précipité rouge ; le réactif de Mayer, par contre, donne un précipité blanc.

Le réactif de Drangendorff est un mélange de deux solutions A et B préparé comme suit :

Solution A :

Nitrate de Bismuth $Bi(NO_3)_3$:1,70 g

Acide acétique glacial CH_3COOH : 20ml

Eau distillée : 80 ml.

Solution B :

Iodure de potassium KI : 10g

Eau distillée : 40 ml (Bokota, 2012).

II.3.2.2. Flavonoïdes

a. Réactifs

Eau distillée, Alcool chlorhydrique, HCl concentré, Copeaux de magnésium, Alcool iso amylique.

b. Matériel

Tube à essai, Pipettes graduées, Seringue, Becher, Entonnoir, Papier filtre.

c. Mode Opératoire

5g du matériel en morceau ou grossièrement broyé sont infusés pendant 30minutes dans 50 ml d'eau bouillante. Apres filtration, à 5ml de filtrat, on ajoute 5ml d'éthanol 95%, 1ml d'eau distillée, 1ml d'acide chlorhydrique ; 0,5g de copeaux de magnésium et 5gouttes d'alcool iso amylique. L'apparition d'une coloration rose, orange ou rouge violacé dans la couche surnageant d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde (Bokota, 2012).

II.3.2.3. Tanins

a. Réactifs

$FeCl_3$ 1% (Chlorure Ferrique).

b. Matériel

Tube à essai et Seringue.

c. Mode Opératoire

A 5ml l'infusé obtenu dans le test de la détection des flavonoïdes, on ajoute 5gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 1%. L'apparition d'un précipité montre que le test est positif (Bokota, 2012).

II.3.2.4. Quinones

5 g de matière végétale grossièrement broyée, imbibée de quelques gouttes de HCl au 1/5, sont mis en macération dans 30 ml du mélange chloroforme-éther (1/1) dans une fiole

bouchée pendant 24 heures. Après filtration 2 ml filtrat sont agités avec 2 ml de la solution de soude au 1/10. La présence de quinone est traduite par le virement de la coloration du rouge au violet de la phase aqueuse (Bokota, 2012).

Principe : la colorimétrie

II.3.2.5. **Saponines**

a. Matériel

Tube à essai, Becher, Entonnoir, Papier filtre.

b. Mode Opératoire

A 5 g de matière végétale grossièrement broyée, on fait une décoction dans 50ml d'eau pendant 15 minutes, on prélève dans un autre tube à essai 10ml de filtrat qu'on agite vigoureusement, on laisse reposer le tube pendant 10 minutes, la persistance de mousse après 10 minutes indique, la présence de saponines dans l'échantillon (Bokota, 2012).

II.3.2.6. **Stérols et terpènes**

a. Réactifs

Ether diéthylique , anhydride acétique, acide sulfurique concentré ;

b. Matériels

Verre à montre

c. Méthodes

1g de plante broyée est mise à macération dans 20ml d'éther diéthylique dans une fiole bouchée pendant 24h. Quelques gouttes du filtrat sont évaporées sur un verre de montre. Le résidu est repris par 2 gouttes d'anhydride acétique. L'addition d'une goutte d'acide sulfurique concentré donne en présence de composés stéroliques ou terpéniques, une coloration verte ou bleu virant au mauve. (Muyisa 2019).

II.3.3. Détection des substances toxiques

5 g de poudre végétale sont mis en macération dans 100 ml de Na_2CO_3 10% pendant 24 heures. Procéder au filtrage. Le filtrat obtenu constitue la liqueur des anions et est utilisé dans la détection des substances toxiques (Bokota, 2012).

1.3.3.1. Nitrates (NO^{3-})

a. Réactifs : Diphénylamine et H_2SO_4 concentré

b. Mode opératoire

Sur un verre de montre, dissoudre quelques cristaux de diphénylamine dans 10 gouttes de H_2SO_4 concentré, Ajouter quelques gouttes de liqueur des anions et agiter à l'aide d'une baguette de verre. En présence des nitrates (NO^{3-}), le milieu se colore en bleu (Bokota, 2012).

1.3.3.2. Nitrites (NO^{2-})

a. Réactifs : (1) 0,5g de α-naphtylamine/30ml d'acide acétique glacial. Porter à 100ml avec l'eau distillée.

(2) 0,8g d'acide sulfanilique dans 100ml d'eau chaude

b. Mode opératoire

Ajouter à 50ml de solution, 1ml de (1), puis 2ml de (2), Agiter, la solution se colore en brune en présence des nitrites (NO^{2-}).

1.3.3.3. Cyanures (CN^-)

a. Réactifs : (1) NaOH 50%

(2) $FeSO_4$ 10%

(3) $FeCl_3$ 5%

(4) HCl concentré

b. Mode opératoire

A 5ml de l'extrait de Na_2CO_3, ajouter 1mll de NaOH 50%, 3 gouttes de $FeSO_4$ 10%, 3 gouttes de $FeCl_3$ 5%, chauffer à ébullition, et refroidir immédiatement. Ajouter le HCl concentré goutte-à-goutte jusqu'à dissolution de Fe(OH)3. L'apparition d'une coloration ou d'un précipité bleu de $Fe_4[Fe(CN)_6]$ indique la présence des cyanures (CN^-)

1.3.3.4. Oxalates ($C_2O_4^{2-}$)

a. Réactif : Diphénylamine

b. Mode opératoire

Prendre un peu de poudre à analyser qu'on dépose dans un tube à essai, ajouter la diphénylamine, chauffer jusqu'à fondre la diphénylamine en présence de l'échantillon. La coloration bleue indique la présence des oxalates (C_2O4^{2-}).

II. 3.4. Hydrodistillation

Dans ce travail, les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation. En effet, 500g des matières végétales ont été mélangés avec sept litres d'eau. Ce mélange a été porté à l'ébullition dans le dispositif ci-dessous illustré. L'opération était arrêtée lorsqu'un litre de distillat était recueilli et après certitude d'avoir épuisé toute l'huile essentielle dans l'échantillon. A l'aide d'une seringue, l'huile essentielle a été soutirée de la surface superficielle de l'eau (distillat). Le volume d'huile a été déterminé (pour le calcul du rendement). Cette huile était ensuite conservée dans un flacon en verre au réfrigérateur (20°C).

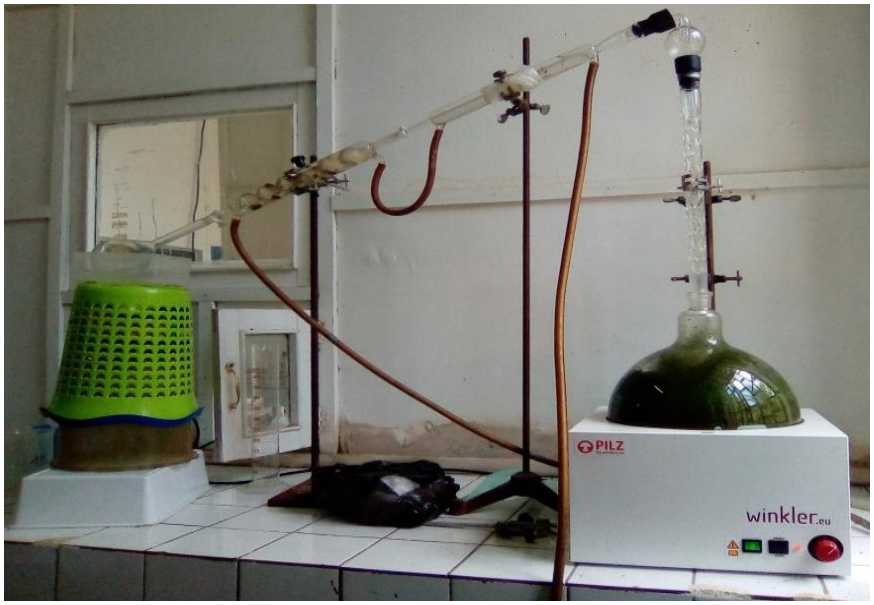


Figure 6 : Dispositif d'hydrodistillation utilisé au laboratoire de Microbiologie et Phytopathologie de la Faculté des Sciences.

II.3.4.1. Rendement de l'extraction

Le calcul de rendement d'extraction a été effectué par la formule suivante :

$$\text{Rdt HE} = \frac{\text{M. HE}}{\text{M. PP}} \text{ X } 100$$

Où HE : Huile essentielle

Rdt HE : Rendement en huile essentielle (%)

M. HE : Masse d'huile essentielle (g)

M. PP : Masse de poudre de plante (g)

II.3.4.2. Quelques caractéristiques des huiles essentielles

a. Qualités organoleptiques

Les différentes caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles ont été appréciées en termes d'aspect, couleur et odeur.

b. Qualité physico-chimiques

❖ **Densité à 20°C**

La densité des huiles a été déterminée selon le principe de pycnométrie.

$$\text{Densité à } 25°\text{C} = \frac{\text{P3} - \text{P1}}{\text{P2} - \text{P1}}$$

P1 : Poids du récipient vide ; P2 : Poids du récipient avec eau et

P3 : Poids du récipient avec huile essentielle

❖ **pH**

Les valeurs de pH des huiles essentielles des plantes étudiées ont été à l'aide d'un pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le flacon contenant les essentielles.

II.3.5. Chromatographie sur couche mince (CCM)

II.3.5.1. Principe

La chromatographie sur couche mince est une méthode physico-chimique rapide de contrôle dont l'absorbant ou phase stationnaire est constituée d'une couche mince et uniforme de 0,25 mm d'épaisseur, d'une substance séchée et finement pulvérisée, appliquée sur un support approprié (dans notre cas, nous avons utilisé une feuille d'aluminium). La phase mobile ou éluant migre à la surface de la plaque par capillarité.

II.3.5.2. Matériels

- Une cuve avec couvercle,
- Un solvant de migration,
- Une lampe à Ultra-Violet,
- Un crayon de papier,
- Des éprouvettes graduées,

- Pipettes,
- Plaque de silicagel 60F254,
- Une règle graduée,

II.3.5.3. Révélation

L'observation a été faite à l'UV. Nous avons déterminé le facteur de rétention (Rf) pour chaque extrait.

II.3.5.4. Mode opératoire

a. Préparation de la cuve

La cuve a été bien fermée pendant l'expérience pour maintenir son atmosphère saturée en vapeur d'éluant.

b. Les Plaques de CCM

Repérer à l'avance l'emplacement où seront effectués les dépôts. Pour cela, tracer une ligne parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 1Cm. Déposer une goutte d'échantillon d'huile sur cette ligne. Une autre ligne aussi a été tracée à l'extrémité supérieure de la plaque, pour servir de limite de séparation (correspond à la distance parcourue par l'éluant) et de signe pour arrêter l'élution.

c. Elution

- Disposer la plaque dans la cuve, le dépôt doit être au-dessus du niveau de l'éluant.
- Éviter de déplacer la cuve ou de la faire vibrer pendant l'élution.
- Quand le front de l'éluant arrive à ligne supérieure, retirer doucement la plaque.
- Sécher la plaque à l'air ou éventuellement au sèche-cheveux pour évaporer entièrement l'éluant.

d. Présentation du matériel et éluant

Les matériels suivants ont été utilisés :

-Cuve et couvercle,
- Plaque de CCM,
- Eluants:

Premier type d'éluant : 100% en volume de l'acétate d'éthyle.

Deuxième type d'éluant : 100% en volume d'hexane.

Troisième type d'éluant : Mélange d'hexane et acétate d'éthyle (1 :1).

Quatrième type d'éluant : Mélange d'hexane et acétate d'éthyle (3 :7).

Cinquième type d'éluant : 100% en volume de l'éthanol.

e. Rapport frontal (RF)

Mesurer les hauteurs (h) de migration des différents spots ainsi que la celle parcourue par l'éluant (H). Le calcul de RF est effectué par la formule ci-après :

$$Rf = \frac{h}{H}$$

f. Synthèse de l'acétate d'éthyle ou préparation de l'éthanoate d'éthyle

➢ **Mode opératoire :**

- Dans un ballon de 250 mL verser successivement
  - 50 cm^3 d'éthanol
  - 60 cm^3 d'acide acétique pur
  - 5cm3 d'acide sulfurique
  - Adapter un réfrigérant à flux, et chauffer ainsi pendant au moins 30 minutes.
- Enlever le reflux et mettre le matériel nécessaire à une distillation fractionnée.
  - Distiller et recueillir les fractions dont le point d'ébullition est inférieur à 100°C.
- Transvaser le distillat dans une ampoule à décanter. Ajouter 50 cm^3 d'une solution saturée de chlorure de sodium, agiter, décanter. Eliminer la phase aqueuse.
- Laver la phase organique avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium à 50 $g.l^{-1}$ jusqu'à neutralisation. Eliminer la phase aqueuse.
- Recueillir la phase organique dans un erlenmeyer de 100 cm3 contenant du sulfate de sodium anhydre. Bien agiter, laisser reposer environ 20 minutes.
- Filtrer, peser ou mesurer le volume.

II.3.5. Obtention des souches phytopathogènes

II.3.5.1. Lasiodiplodia theobromae

L'isolement de souche a été fait à partir des fragments prélevés sur le cacao malade en provenance de Bengamisa, préalablement taillés avec une scarpelle et ensuite désinfectés à l'eau de javel pendant deux minutes puis rincer dans l'eau distillé stériles. A l'aide d'une pince, les morceaux ont été ensemencés sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA, 39g/lL) déjà solidifiés dans les boites de Pétri. Ces boites ont été scotchés par la paraffine puis incubés à 25 °C sous l'obscurité.

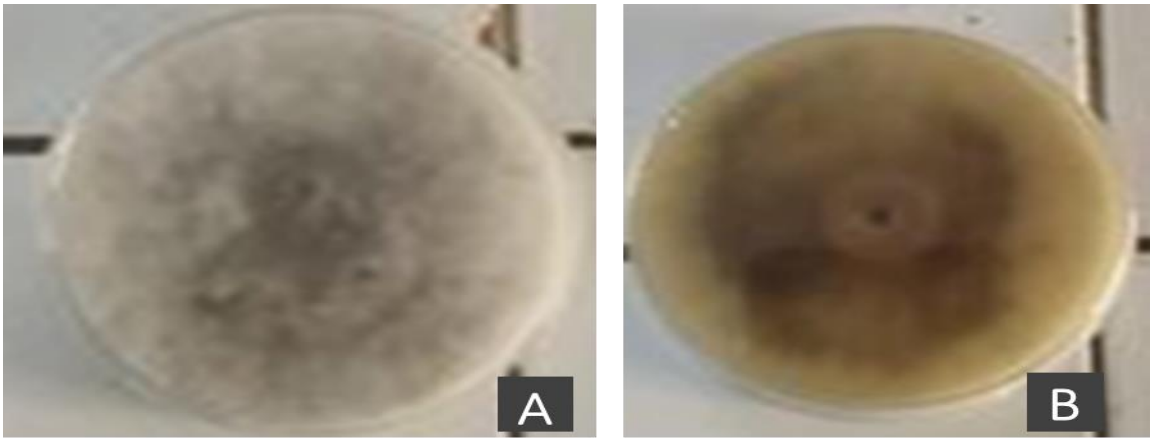


Figure 7 : Souche de *L. theobromae* sur une boite Pétri, face supérieure (A) et face inférieure(B).

II.3.5.2. Paracercospora fijiensis

Les souches de *P. fijensis* (Figure 7) utilisées ont été obtenues à partir de bananier récoltées à la Faculté des Sciences de l'Université de Kisangani en RD. Congo ; l'isolement a été réalisé par la technique de décharge des ascospores sur le milieu gélosé (H_2O), puis mise en culture déchargée sur le milieu PDA (Carlier et *al*., 2003).

Pour la mise en décharge, les morceaux des feuilles nécrosés ont été d'abord découpés, ensuite trempés dans l'eau distillée stérile pendant 20 minutes, puis déposés sur les couvercles de boites de Pétri inversés contenant un gel d'agar à 3 %, la face inférieure de la feuille dirigée vers le milieu de culture. Les boites ont été incubées à 25 °C et les ascospores étaient déchargées pendant la nuit, puis repiquées sur le milieu PDA (39g/1L).

Le repiquage mono ascospore s'est fait par observation au microscope inversé, marque Motic AE21. Les souches mono ascospores ont été conservées à 25 °C sous la lumière blanche permanente (Onautshu, 2013)

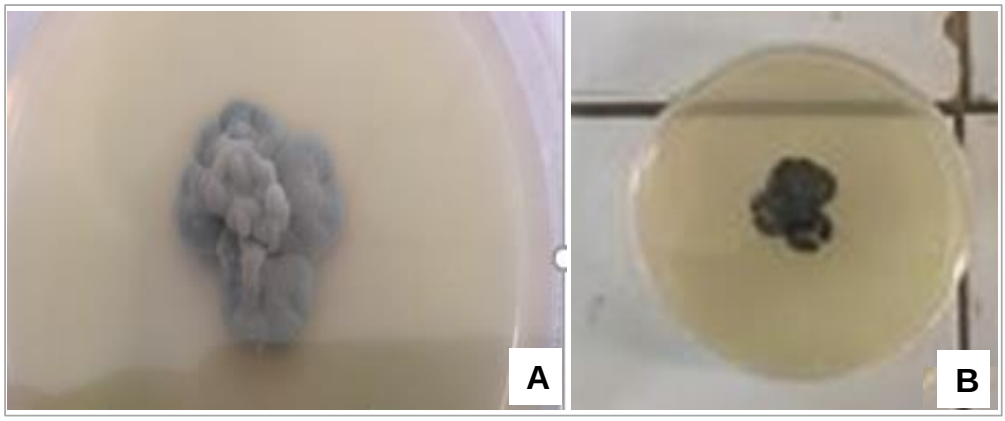


Figure 8 : Souche de *P. fijensis* sur une boite Pétri, face supérieure (A) et face inférieure (B).

II.3.6. Sensibilité des souches aux huiles essentielles

II.3.6.1. Lasiodiplodia theobromae et *Paracercospora fijiensis*

L'évaluation de l'activité antifongique *in vitro* des huiles essentielles a été réalisée en six répétitions. La croissance mycélienne des souches est exprimée sur base de pourcentage d'inhibition (PI). En effet, 420 µL (0.42 ml) du mélange constitué d'huile essentielle et de la solution à 5 % de Tween 80 (de proportion 1 :1), ajouté 41580 µL (41.58 ml) de PDA refroidi à 45 °C après stérilisation.

Ainsi 7000 µL (7 ml) de ce mélange homogénéisé ont été coulés dans chaque boite de Pétri de 50 mm de diamètre. Un explantant mycélien de 5 mm de diamètre obtenu après perforation à l'aide d'un emporte-pièce a été posé sur le milieu de culture dans chaque boite de Pétri. Le diamètre mycélien (DM) été mesuré après 24, 48 et 72 heures. Le témoin a été réalisé dans les mêmes conditions, mais sans huile essentielle et Tween 80 (Burt, 2004).

La formule suivante a servi pour le calcul de PI :

$$\mathrm{PI} = \frac{(\mathrm{DM\ Témoin} - \mathrm{DM\ Huile\ essentielle})\mathrm{X}\ 100}{\mathrm{DM\ Témoin}}$$

Le Tween 80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$) ou monolaurate de polyoxyéthylène (80) sorbitan est un tensioactif qui permet de solubiliser les huiles essentielles dans l'eau.

Nous avions ensemencé au total 24 boîtes de pétri avec la souche de *L. theobromae* dont 6 boites avec *A. conizoides ;* 6 boites avec *C. citratus* ; 6 boites avec Tween 80 et 6 boites pour témoin négatif. L'incubation a été faite à 25 °C. Cette même procédure a été répétée pour la souche de *P. fijensis*.

II.3.6.2. Candida albicans **(**Mbula, 2017, modifier)

Il existe plusieurs protocoles pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne mais nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disque parce qu'elle est relativement rapide, peu coûteuse et n'exige pas l'équipement de laboratoire sophistiqué.

a. Principe

La méthode d'aromatogramme repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles dont on imprègne les disques de papier, sur un milieu solide, inoculé de la souche

microbienne, à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Elle permet de mettre en évidence l'effet antibactérien de l'huile.

b. Protocole

La souche *Candida albicans* à tester est ensemencée dans des tubes à essai contenant la gélose molle, puis dans l'eau peptonnée et incubées pendant 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune de la levure. Les disques sont fabriqués à partir du Wattman N°40, avec un diamètre de 7 mm par un perforateur. Après stérilisation, les disques sont placés dans un tube à essai contant 0,5 ml d'huile essentielle (le tube à essai est hermétiquement fermé).

Dans des conditions aseptiques, quinze millilitres de l'agar de Muller Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de pétri. Après solidification du milieu de culture, 100 µl de la suspension à tester sont étalés en surface à l'aide d'un écouvillon. A l'aide d'une pince stérile, des disques de papier imbibés des huiles sont déposés sur l'agar, précédemment inoculé avec le microorganisme choisi.

Les boites sont maintenues à 4 °C pendant 1 heure pour que l'huile essentielle puisse diffuser ensuite elles sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

c. Expressions des résultats

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'une latte graduée en mm.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. SCREENING CHIMIQUE

Le tableau ci-dessous présente le résultat de test d'identification des groupes phytochimiques :

Tableau 2 : Groupes phytochimiques identifiés

Groupes phytochimiques	*A. conyzoïdes*	*C. citratus*
Alcaloïdes	-	-
Stérols et terpènes	+	+
Quinones	+	+
Saponines	+	+
Tanins	+	+
Flavonoïdes	+	-

Légende : - : Absence + : Présence

Il ressort de ce tableau que certains principes phytochimiques sont présents dans nos deux plantes étudiées. Une absence des alcaloïdes dans *A. conyzoides* et C. citratus. Mais aussi l'absence des flavonoïdes remarquée dans l'espèce *C. citratus*.

En faisant une analogie de ces resultats avec ceux trouvés respectivement par Kadilu (2019) pour *A. conyzoides* et Tika, 2018 pour *C. citratus*, le résultat d'analyse qualitative d'*A. conyzoides* qu'a trouvé Kadilu (2019) est identique avec le résultat obtenu (Tableau 2). Cela peut être justifier par le fait que c'est une même espèce de la plante étudiée et dans une même région. La divergence peut apparaitre au niveau de l'analyse quantitative et dans le cas de l'identification des différentes molécules qui constituent chacun de ces principes actifs.

En comparant nos résultats avec ceux de Tika (2018), il a été remarqué que les résultats sont presque similaires, sauf quelques irrégularités ou divergences où il a été constaté la présence des flavonoïdes dans le cas de ce dernier. Mais à cela il a été remarqué aussi l'absence des alcaloïdes dans les deux camps. Il peut être justifier cette divergence par le fait que ces espèces étant biologiquement les mêmes, les facteurs environnementaux peuvent intervenir tels que le climat, la période de l'échationnage…

Selon Koffi N'GUESSAN (2009), les feuilles d'*A. conyzoides,* contiennent stérols, polyterpènes, polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes. L'effet ocytocique des feuilles de la plante serait le fait des flavonoïdes de type flavanones ainsi que des alcaloïdes indoliques.

L'effet contre la migraine serait le fait des alcaloïdes, probablement de type ergotamine. Les flavonoïdes réduiraient les hémorragies, ce qui explique l'emploi de la plante, contre les métrorragies. L'action antipaludique de la plante serait le fait des alcaloïdes. Les stérols, les polyterpènes, les polyphénols, et les saponosides exercent divers effets thérapeutiques que nos enquêtes ne révèlent pas mais qui sont signalés dans d'autres travaux (Frantisek et *al*., 1973).

Nacoulma (1996) indique l'effet cicatrisant des feuilles, par le fait des saponosides. Selon Bouquet et Debray (1974), les feuilles sont utilisées pour calmer les saignements utérins, du fait des polyphénols de types coumarines qui agissent contre les hémorragies viscérales. Cette même drogue est employée comme anthelminthique, par le fait des polyterpènes (Kamanzi, 2002).

III.2. DETECTION DES IONS TOXIQUES

Le tableau ci-dessous présente le résultat de test d'identification des groupes phytochimiques :

Tableau 3 : Ions toxiques identifiés

Plantes étudiées	NO_3^-	CN^-	$C_2O_4^{2-}$
A. conyzoïdes	-	-	+
C. citratus	-	-	-

Légende : - : Absence + : Présence

Il ressort de ce tableau l'absence total des substances toxiques recherchées dans *C. citratus* et la présence seulement l'oxalate dans le cas de l'espèce *A. conizoïdes*. Kadilu (2019) avait trouvé l'absence d'oxalate dans cette dernière. Cette similarité pourrait être due par le fait que qu'il s'agit d'une même espèce

III.3. RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE

Le figure ci-dessous, montre en pourcentage les valeurs de rendement en extraction d'huile essentielle :

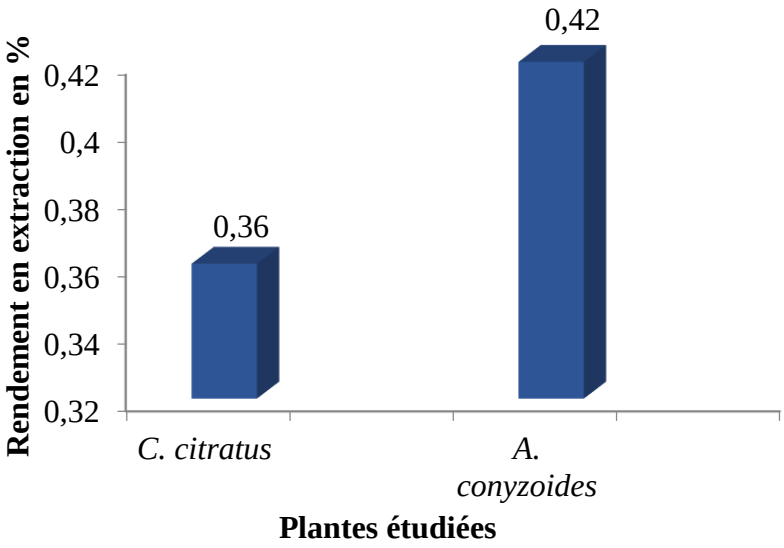


Figure 9 : Rendement en huile essentielle feuilles séchées des plantes utilisées

Il ressort de cette figure que le rendement en huile essentielle est plus élevé pour les feuilles séchées d'*A. conyzoides*, soit 0,42 % et le plus faible est celui de *C. citratus*, soit un rendement de 0,36 %.

Les résultats des Ndong et *al* en 2016 ont montré que les feuilles d'*A. conyzoïdes* de Cameroun ont présenté le rendement en huiles essentielles de l'ordre de 0,21 %. Cette distinction avec notre cas peut être due par plusieurs facteurs : situation géographique, méthode d'extraction, de la période de récolte, préparation de l'échantillon, mais aussi de l'organe de la plante (feuilles). (Ndong A, 2016)

III.4. CARACTERISATION DES HUILES ESSENTIELLES

III.4.1. Analyse organoleptiques

L'application « Color Grab » nous a permis de déterminer les couleurs respectives de nos huiles essentielles (Figure 10).

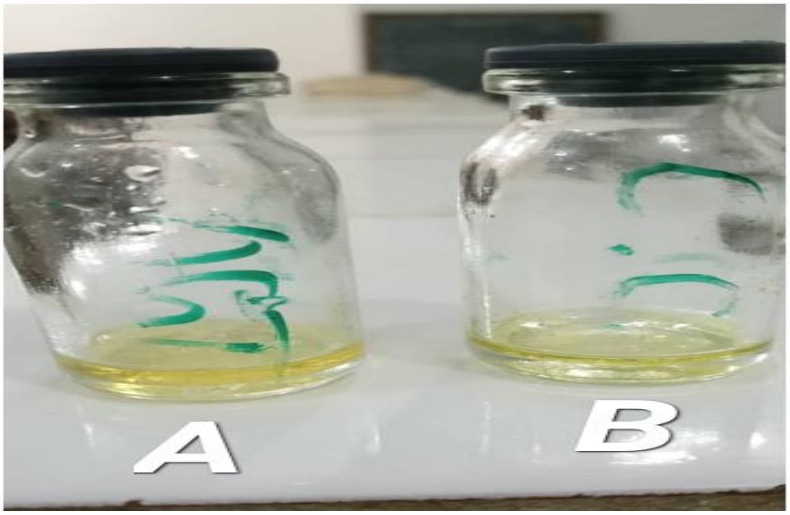


Figure 10 : Huiles essentielles d'*A. conyzoides* (A) et de *C. citratus* (B)

Les Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles sont données par le tableau 4 ci-dessous :

Tableau 4 : Qualités organoleptiques des huiles essentielles

Plante	Aspect	Couleur	odeur
A. *conyzoides*	Liquide	Jaune orangé	Caractéristique
C. citratus	Liquide	Jaune	Caractéristique

III.4.2. Analyse physico-chimique

II.4.2.1. Densité à 20 °C

Après les calculs, les valeurs de densité des huiles essentielles des plantes étudiées sont reportées dans le tableau 5 suivant :

Tableau 5 : Valeurs de densité à 20°C

Plantes	Densité
A. conyzoides	0,966
C. citratus	0,684

Généralement la densité d'une huile essentielle est inférieure à 1. Mais il existe des cas où la densité des quelques huiles essentielles présentent une valeur de la densité supérieure à 1. C'est le cas de d'huile essentielle des feuilles fraîches d'*A. conyzoides* trouvé par Mwambali (2020), pour lequel la densité est supérieure à 1 soit 1,06. Mêmement pour *Syzygium*

aromaticum (Clou de girofle), la densité à 20°C de l'huile essentielle est supérieur à 1, soit 1,06 selon Banouh Radia et Azzouz Amel (2019).

Il a été remarqué une légère différence des valeurs par rapport à celles trouvées par Mwambali (2020), d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* soient respectivement 0,978 et 0,6598.

II.4.2.2. pH

Les valeurs de pH des huiles essentielles des plantes étudiées sont reportées dans le figure suivant :

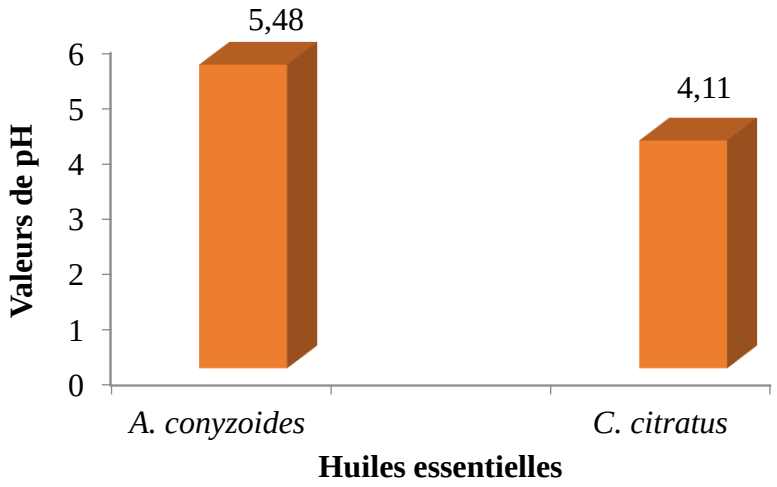


Figure 11 : Valeurs de pH des huiles essentielles des feuilles séchées des plantées étudiées

Le figure montre une valeur de pH élevée de 5,48 à 30 °C pour *A. conyzoides* par rapport à celle de C. *citratus*, 4,11 à 30 °C.

En comparant ces valeurs avec celles trouvées par Mwambali (2020), il a été remarqué les valeurs assez proches surtout pour l'espèce *A. conyzoides.* Dans toutes les deux espèces étudiées, les huiles essentielles ont présenté respectivement des valeurs légèrement inférieures de 5,48 et 4,11 contre 5,5 et 4,8. L'acquisition de ces légères différences peut être dû à la température, étant donné que le pH est fonction aussi de la température.

II.4.2.3. Caractérisation de l'acétate d'éthyle synthétisé pour la CCM

L'acétate d'éthyle synthétisé a révélé des quelques caractéristiques repris par le Tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6 : Quelques propriétés de l'acétate d'éthyle synthétisé

Résultat	Densité	T° ébullition (°C)	pH
Acétate d'éthyle synthétisé	0,936	77,0	5,74
Acétate d'éthyle standard	0,925	77,1	-

Comparativement au standard qui est d'aspect liquide incolore, de densité de 0,925 (à 20°C) et de température d'ébullition 77,1 °C, l'acétate d'éthyle synthétisé au laboratoire de chimie a présenté les valeurs de densité et température d'ébullition beaucoup plus proches que celles du standard, soit 0,936 et à 77,0 °C. Cela a confirmé que la synthèse a abouti à un résultat favorable.

III.4.3. Chromatographie sur couche mince

III.4.3.1. Les Rf des CCM des huiles essentielles

Les différentes valeurs de RF obtenues sont présentées dans les tableaux 7, 8, 9, 10 et 11 suivants :

a. Eluant : acétate d'éthyle

Tableau 7 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle

A. conyzoides					*C. citratus*				
Spot	**I**	**II**	**III**	**IV**	**Spot**	**I**	**II**	**III**	**IV**
Rf	0,850	0,675	0,363	0,063	**Rf**	0,850	0,675	0,513	0,250

b. Eluant : éthanol

Tableau 8 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant éthanol

A. conyzoides		*C. citratus*	
Spot	**I**	**Spot**	**I**
Rf	0,763	**Rf**	0,875

c. Eluant : hexane

Tableau 9 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane

A. conyzoides				*C. citratus*		
Spot	**I**	**II**	**III**	**Spot**	**I**	**II**
Rf	0,925	0,475	0,088	**Rf**	0,450	0,163

d. Eluant : mélange hexane/ acétate d'éthyle (1 :1)

Tableau 10 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle et hexane (1 :1)

A. conyzoides			*C. citratus*			
Spot	**I**	**II**	**Spot**	**I**	**II**	**III**
Rf	0,413	0,238	**Rf**	0,950	0,3 75	0,038

e. Eluant : mélange hexane/ acétate d'éthyle (7 :3)

Tableau 11 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane et acétate d'éthyle (7 :3)

A. conyzoides					*C. citratus*				
Spot	**I**	**II**	**III**	**IV**	**Spot**	**I**	**II**	**III**	**IV**
Rf	0,888	0,613	0,150	0,050	**Rf**	0,900	0,675	0,325	0,038

En comparant les résultats des Rf dans les tableaux ci-haut, on peut déduire que :

L'acétate d'éthyle et le mélange d'éluant hexane et acétate d'éthyle (7 :3) sont des éluants appropriés pour l'huile essentielle des feuilles séchées d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* en raison de plusieurs spots qui apparaissent, soit quatre spots pour les deux éluants dans les deux huiles essentielles ayant respectivement des Rf : 0,850 ; 0,975 ; 0,363 ; 0,063 et 0,850 ; 0,975 ; 0,513 ; 0,250 et Rf : 0,888 ; 0,613 ; 0.150 ; 0,050 et 0,900 ; 0,675 ; 0,325 ; 0,038.

Environ 10,00 g d'huile essentielle de *C. odorata* ont été élués par un gradient hexane/acétate d'éthyle selon les proportions suivantes : 100/0 ; 95/5 ; 5/95 et 0/100. Ces mélanges ont été choisis suite aux résultats obtenus pour les CCM effectuées préalablement sur l'huile brute. Quatre fractions ont ainsi été obtenues, et analysées à la fois par CCM, afin d'affiner leur regroupement (Touré,2015). Ces résultats sont conformes avec les nôtre qui ont donnés quatre spots avec le mélange héxane/acétate d'éthyle (7 :3).

III.5. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

Les résultats de notre recherche portant sur la sensibilité des souches de *P. fijiensis*, *L. theobromae* et *C. albicans* aux huiles essentielles de deux plantes médicinales (*A. conyzoides* et *C. citratus*) sont illustrés respectivement par les figures 12, 13 et 14.

La figure ci-dessous, montre les diamètres de croissance des souches de *P. fijiensis* sur le milieu Potato Dextrose Agar imprégné d'huile essentielle :

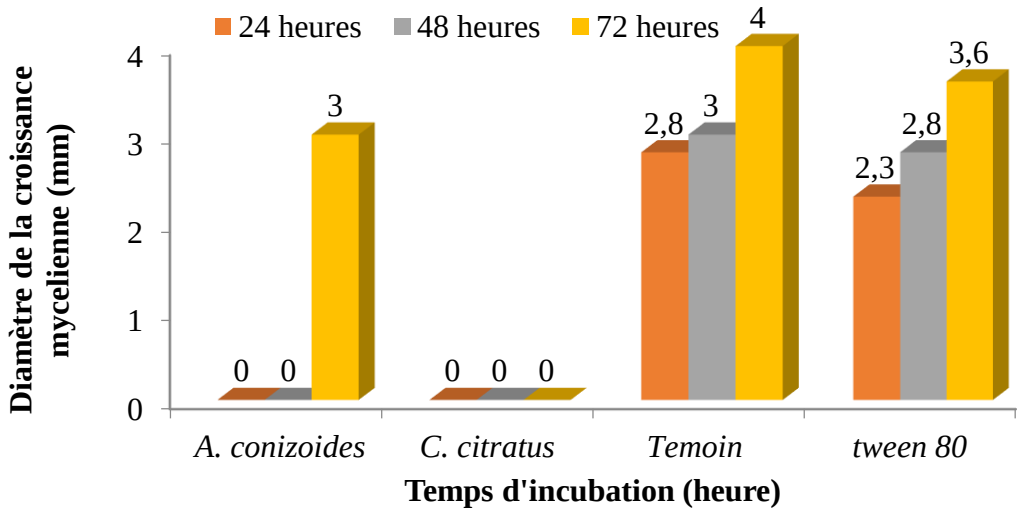


Figure 12 : Croissance mycélienne des souches de *P. fijiensis* sur l'huile essentielle d'*A. conyzoides* et *C. citratus*. Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (5 mm).

La figure ci-dessous, montre les diamètres de croissance de souche de *L. theobromae* sur milieu Potato Dextrose Agar imprégné d'huile essentielle :

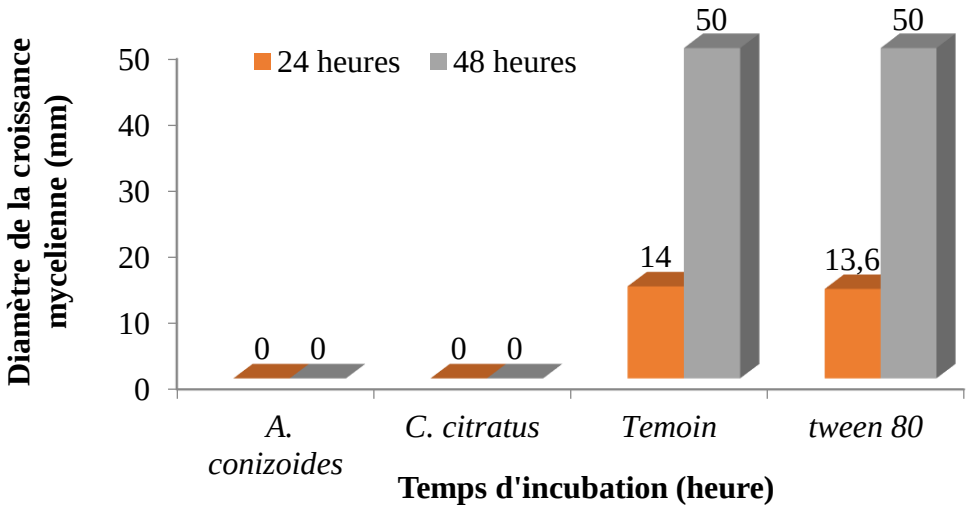


Figure 13 : Croissance mycélienne de souche de *L. theobromae* sur l'huile essentielle d'*A. conyzoides* et *C. citratus*. Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (5 cm).

La figure ci-dessous, montre les diamètres de croissance de souche de *L. theobromae* sur milieu Potato Dextrose Agar imprégné d'huile essentielle après 24 heures d'incubation :

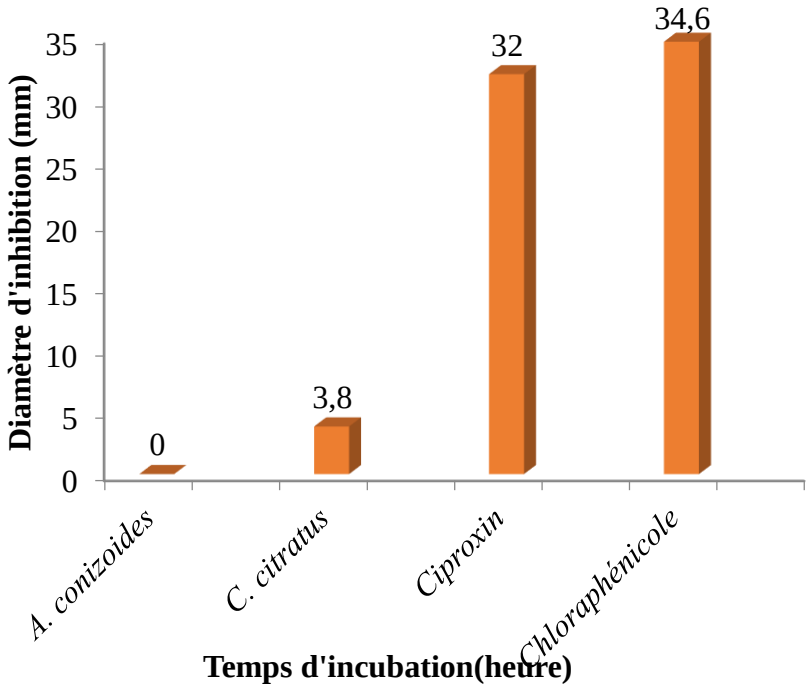


Figure 14 : Diamètres d'inhibition des huiles essentielles d'*A. conyzoides* et *C. citratus* sur la souche de *C. albicans*. Les valeurs contenues dans le figure ne tiennent pas compte du diamètre initial de l'explantant mycélien (7 mm).

Il ressort de la figure 11 qu'avec 5 mm de l'explantant mycélien ensemencé, le résultat montre qu'après 24 h d'incubation, la croissance mycélienne des souches de *P. fijiensis* sur les huiles essentielles n'a pas été remarquable (0 mm). Par ailleurs, au deuxième jour il a été constanté toujours aucune croissance mycélienne sur les deux huiles essentielles. Tandis qu'après 72 heures, il y a eu croissance mycélienne de 3 mm de diamètre sur l'espèce *A. conyzoides,* alors que la croissance des souches *P. fijiensis* reste toujours nulle, soit 0 mm jusqu'au troisième jour. En terme de pourcentage d'inhibition (PI) pour la souche *P. fijiensis*, pour *A. conyzoides* soient 100 %, 100 % et 25 % respectivement pour le premier, deuxième et troisième jour. Et pour *C.citratus* soit 100 % en terme de PI respectivement pour le premier, deuxième et troisième jour.

De même pour la souche *L. theobromae*, a montré une croissance mycélienne nulle (0 mm) après 48 heures comme le montre la figure 6 sur nos deux espèces. En terme PI pour la souche *P. fijiensis*, nous avons eu 100 %, respectivement pour le premier et deuxième jour pour *A. conyzoides*. Et 100 % de PI respectivement pour le premier et deuxième jour pour *C.citratus*.

Mais le *C. albicans,* montre une résistance sur nos deux extraits des plantes où l'huile essentielle d'*A. Conyzoïdes* n'a pas pu inhiber la croissance tandis que l'huile essentielle de *C. citratus* a montré un diamètre d'inhibition de 3,8 mm sur la souche *C. albicans.*

Il faut signaler que l'efficacité que montrent les huiles essentielles varie selon la composition chimique de ces dernières (Kouamé Raphaël Oussou at *al*., 2004)**.** Mais pour les espèces étudiées cette éfficacité est de loin inférieure que la force qu'a présenté les antibiotiques à inhiber la croissance de la cible, Ciproxin et Chloramphénicol utilisés comme des témoins positifs respectivement 32 mm et 34.6 mm de diamètre d'inhibition. L'activité des huiles essentielles qui sont des mélanges complexes de plusieurs molécules, sont généralement inférieures à celle exercée par les antibiotiques (Touré, 2015). Aussi selon la classification de Duraffourd (1990), cité par Touré (2015), l'huile essentielle est considérée comme inactive si elle produit des diamètres d'inhibition inférieurs ou égaux à 8 mm, intermédiaire pour des diamètres compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyennement efficace pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm l'huile est très efficace. Cela signifie que nos deux huiles essentielles ont été inactives face à la souche *C. albicans*.

Le résultat de ce présent travail, renforce le résultat de Touré (2015), en Côte d'ivoire qui a testé la sensibilité de 14 souches bactériennes sur l'huile essentielle de plante dont *A. Conyzoides*. Cet auteur a mesuré le diamètre d'inhibition de manière générale sur

l'action des fleurs et des tiges d'*A. conyzoïdes* sur l'ensemble des souches bactériennes testées a permis d'avoir des diamètres des zones d'inhibition allant respectivement de 7,33 à 12,67 mm et de 6,67 à 12,00 mm. Cependant, cette différence serait due aux souches utilisées et à l'organe de la planté utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle.

D'après la même étude menée par Sibatu en 2020 a montré aucune croissance mycélienne des souches de *L. theobromae* sur l'huile essentielle de *C. citratus* pendant les deux jours d'incubation n'a été observée tandis qu'il y a eu croissance mycélienne des mêmes souches sur l'huile essentielle d'*A. Conyzoides* soit 11,5 mm de diamètre de croissance pendant les deux jours d'incubation. Ces résultats sont identiques surtout pour le cas de la croissance de la souche *L. theobromae* sur l'huile essentielle de *C. citratus* pendant les deux jours d'incubation, où il a été observé aucune croissance mycélienne de cette souche sur la même espèce, 0 mm de diamètre mycélien. Mais cette différence de diamètre de croissance mycélienne de la souche *L. theobromae* observée sur l'huile essentielle d'*A. Conyzoides* soit 0 mm de diamètre qu'a montré l'expérience *in vitro* par rapport à Sibatu (2020) soit 11,5 mm de diamètre mycélien peut être due à plusieurs facteurs environnementaux (climat), dont il a été supposé la période de la récolte des échantillons.

Selon Kavira Vasombolwa (2020) les staphylocoques ont montré que l'huile essentielle de *C. citratus* a présenté une activité antibactérienne de diamètre d'inhibition de 3 et 13 mm et pour l'huile essentielle d'*A. conyzoides* de 2 et 3 mm respectivement sur la première souche et la deuxième souche. Et parailleurs pour Awoya Kitambala (2020), les souches des staphylocoques ont été peu sensibles face aux huiles essentielles soit 4 et 6 mm de diamètre d'inhibition respectivement pour la première et pour la deuxième souche sur *A. conyzoides* et 1 et 2 mm de diamètre d'inhibition pour la première et la deuxième souche sur *C. citratus*. Tandis que pour le présent travail, la souche C. *albicans* qui a montré une résistance aux huiles essentielles d'*A. conyzoides* et de *C. citratus* soit respectivement 0 mm et 3,8 mm de diamètre d'inhibition. Cette distinction de diamètre d'inhibition pourrait être due au type de microorganisme cible.

Khalid EL MANSOURI (2013) a évalué *in vitro* l'activité antifongigique de vingt-trois huiles essentielles sur la souche *C. albicans* dont l'huile essentielle de *Cimbopogon flexuosus* fait partie. Et en terme de taux d'inhibition les valeurs trouvées pour l'huile essentielle seule et l'huile essentielle en présence du DMSO 10 % ont été de 100 % de taux d'inhibition. Cette différence par rapport à la présente étude où l'espèce utilisée (*C. citratus*) a présenté un faible pouvoir d'inhibition à la même souche soit 3,8 mm de diamètre d'inhibition, serait due à l'espèce de la plante utilisée.

CONCLUSION ET SUGGESTIONS

La présente étude s'est focalisée sur l'évaluation *in vitro* de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*A. conizoides* et de *C. citratus* sur les souches fongiques phytopatogènes (*L. theobromae* et *P. fijienis*) et zoopathogène (*C. albicans*).

Ainsi nous avons constaté la présence des groupes phytochimiques, à l'occurrence les terpènes et stérols.

L'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation a été réalisée pour les deux plantes étudiées. Le rendement en huile essentielle est de 0,42 et 0,36 % respectivement pour *A. conizoïdes* et *C. citratus*. Ces huiles essentielles ont présenté des propriétés physicochimiques différentes. Cela nous a permis de confirmer notre première hypothèse.

L'activité antifongique des huiles essentielles a été évaluée par la méthode d'aromatogramme pour le *C. abicans*. Les deux huiles essentielles d'*A. conizoïdes*et *C. citratus* ont été inactives à inhiber la croissance de microorganisme cible de diamètre d'inhibition respectivement 0 mm et 3,8 mm a été constatée. L'activité antifongique des huiles essentielles sur les souches *L. theobromae* et *P. fijienis* a été évaluée aussi. La capacité des deux huiles essentielles à inhiber la croissance mycélienne est maximale après 48 h, soit 100% en terme de PI. Et ces propriétés antifongiques convaincantes sont liées aux différentes fractions (quatre) séparées par le mélange d'hexane et d'acétate d'éthyle (7 :3) et de l'acétate d'éthyle seul lors de la chromatographie faite sur couche mince. Ainsi la deuxième et la troisième hypothèse a été confirmée.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il serait intéressant de :

- Déterminer d'autres propriétés physicochimiques de ces huiles essentielles telles l'indice de réfraction, température de fusion et d'ébullition, viscosité, le pouvoir rotatoire et les différentes spectroscopies ;
- Déterminer la composition chimique de ces huiles essentielles et la structure des molécules responsables de leur activité antifongique ;
- Déterminer la concentration minimale inhibitrice des huiles sur les souches fongiques ;
- Etablir des synergies de différents composés de plante en plus d'étudier d'autres propriétés biologiques de ces huiles essentielles des plantes étudiées, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et antiparasitaires.

BILIOGRAPHIES ET WEBOGRAPHIES

Achola KJ., Munenge R.W. & Mwaura A.M., 1994. - Pharmacological properties of root and aerial parts extracts of *Ageratum conyzoïdes* on isolated ileum and Heart. Fitoterapia, 56 :103-109.

Ackah M., Jacques A. et Alfred B., 2009. Evaluation et essai d'optimisation de l'activité antifongique de terminalia catappa linne une combretaceae de la pharmacopée Ivoirienne sur la croissance in vitro de aspergillus fumigatus, candida albicans et trichophyton mentagrophytes.

Akinyemi K.O., Oladapo O., Okwara C.E., Ibe C.C. & Fasure K.A., 2005. - Screening of crude extracts of six medicinal plants used in South West Nigerian unorthodox medicine for antimethicillin resistant Staphylococcus aureus activity. BMC Complementary and Alternative Medicine. 5: 68.

Amal M.M.N, Sami A.K., Marcel K., Reto B., Wai E.A. & Thomas J.S., 2010. - The antiprotozoal activity methylated flavonoids from Ageratum conyzoides L. Journal of Ethnopharmacology, 129: 127–130.

Amaral J.A., Ekins A., Richards S.R. & Knowles R., 1998. - Effect of Selected Monoterpenes on Methane Oxidation, Denitrification, and Aerobic Metabolism by Bacteria in Pure Culture. Applied and Environmental Microbiology, 64 : 520-525.

ANSM, 2017 : Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles ».

Avoseh, O., Oyedeji, O., Rungqu, P., Nkeh-Chungag, B., Oyedeji, A., 2015. *Cymbopogon* species: ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. Molecules 20, 7438–7453.

Awoya K., 2020, activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques médicinales sur les souches résistantes au gel désinfectant dans la région de Kisangani (RD Congo), travail de fin d'étude, Université de Kisangani, faculté des Sciences, département de sciences biotechnologiques, pp 28.

Bertea, C.M., Maffei, M.E., 2010. The genus *Cymbopogon*: botany including anatomy, physiology, biochemistry, and molecular biology. Akhila, A. (Ed.), Essential Oil Bearing Grasses : The Genus Cymbopogon- CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 1–24.

Berton H.,2001 Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. *Editions De Borée (Clermont-Ferrand),* France: 288

Bioka, D., Banyikwa F.F. & Choudhuri, M.A., 1993. - Anagestic affects of a crude extract of Ageratum conyzoides in the rat. Acta Horticulturae, 332: 171-176.

Blaha, G. and Lotode, R., 1976: A selection criterion of main importance for the cocoa tree in Cameroon: The resistance to black pod disease (Phytophtora palmivora). Café-cacao-Thé (Paris), vol. 20 (2), pp. 97-116.

Bokota, 2012 : Etude de l'activité antifalcémiante et le la Stabilité physicochimique des Anthocyanes de quelques espèces des genres *justicia, ficus* et *annona* récoltées dans les districts de la Tshopo et de l'Ituri en RD Congo, pp 151

Bonnabel-Blaize M. et A. Rozet F., 2011. Santé et bien-être par les huiles essentielles : Conseils et recettes d'une pharmacienne herboriste, EDISUD.

Boulemtafes., Fouret A., 2001, Recherches chimiques préliminaires sur les plantes médicinales du Congo-Brazzaville. *FITOTERAPIA.* 46(4)

Bouquet A. & Debray M., 1974, Plantes médicinales de Côte-d'Ivoire, Imprimerie Louis Jean, Paris (France), 232 pp.

Bowers, J., Bailley, B., Hebbar, P., Sanogo, B. and Lumsden, R., 2001: The impact of plant disease on world chocolate production. 218p.

Brojendro S.S., Radhapiyari W.D., Marina A., Indira W.D., Swapana N., Chingakham B. Singh., 2013.- Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology ofAgeratum conyzoides Linn (Asteraceae). Journal of Medicinal Plants Research. 7(8) : 371-385.

Bruneton J., 2009. Pharmacognosie : Phytochimie des Plantes Médicinales, 4ème Ed. Lavoisier, Paris. pp.423-440

Burt S., 2004: Essential oil their antibacterial proprieties and potential applications in foods-a review. International journal of foods and Microbiology. 94 : 223-253.

Callot J. et Helluy J. ‘’Parasistologies médicales’’, Ed Med. Flam., 4 (1970) 557-600.

Carlier, J. ; De Waele, D. et Escalant, J.V., 2003. Evaluation globale de la résistance des bananiers à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella*

spp. Et aux nématodes. Evaluation de la performance (A. Vézina et C. Picq, eds). Guides techniques INBAP 7. Réseau international pour l'amélioration de la banane plantain, Montpellier, France, 62p.

Carson C.F., Mee B.J. & Riley T.V., 2002.- Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 1914–1920.

Chao S.C., Young D.G. & Oberg C.J., 2000. - Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. Journal of Essential Oil Research 12: 639-649.

Churchill, A.C.L, 2011. *Mycosphaerellafijiensis*, the black leaf streak pathogen of banana: progress towards understanding pathogen biology and detection, disease development, and the challenges of control. Molecular Plant Pathology. 307-328

Conde-Ferraez L., Waalwijk C., Canto-Canché B.B., Kema G.H.J., Crous P.W., James A.C. and Abeln E.C.A. 2007. Isolation and characterization of the mating type locus of *Mycosphaerellafijiensis*, the causal agent of black leaf streak disease of banana. Molecular Plant Pathology 8(1): 111-120.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J. E., Warmington J. R., & Wyllie S.G., 2000.- The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology 88: 170-175.

Cowan M.M., 1999- Plants products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews,* 12 :564-582.

Crous, P.W. and Mourichon, X., 2002. Mycosphaerellaeumusaeand its anamorphPseudocercosporaeumusaespp. Nov.: causal agent of eumusae leaf spot disease of banana. Sydowia, 54, 35–43

Crous, P.W., Schoch, C.L., Hyde, K.D., Wood, A.R., Gueidan, C., de Hoog, G.S. and D.L. Pavida. G.M. Lampman. G.S. Kriz, 2009, *Introduction to Organic Laboratory Techniques*

Danlami U, Rebecca A, Machan DB, Asuquo TS, 2011 ; Comparative study on the Antimicrobial activities of the Ethanolic extracts of Lemon grass and *Polyalthia longifolia*. Journal of Applied Pharmaceutical Science 01(09):174-176.

Datry A., 1989. Etude comparative entre le fluconazole et les kétoconazoles dans la candidose oropharyngée des patients VIH. Communication faite au symposium pfizer international : Montréal, Canada.4 p.

Davidson P.M., 1997.- Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ASM, Washington.Food Microbiology. 520-556 p.

Develoux M. et Bretagne S., 2005. Candidoses et levuroses diverses. Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses, 8-062-A-10. 318-327.

Durodola J.I, 1997.- Antibacterial property of crude extracts from a herbal wound healing remedy *Ageratum conyzoides* L Planta Medica. 32 : 388-390.

Etobo K. 2007 : Etude de l'activité antibactérienne de quelques plantes médicinales sur les souches isolées de sang transfusé à Kisangani (RDC). DEA, Unikis, Fac. Sciences, 93p.

Etobo K. ; 2012 : Etude de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales sur des souches bactérienne résistantes aux antibiotiques courants à Kisangani. Thèse, Inédit, Faculté des Sciences, Université de Kisangani, 141p.

Eutraco, 2009 : Principes actifs. http:// www.eutraco.com/ sante/lesplantes /princactifs.htm 16/12/2009.

Fahleson, J., Nakyanzi, M., Okori, P., Seal, S., Kenyon, L. and Dixelius, C., 2009. Genetic analysis of *Mycosphaerellafijiensis* in the Uganda Lake Victoria region. Plant Pathology. 58p.

Fouré, E. et Lescot, T., 1998. Variabilité génétique des Mycosphaerella inféodé au genre *Musa*. Mise en évidence de la présence au Cameroun sur Bananier et plantain d'une *cercosporiose* (*Mycosphaerellamusicola*) au comportement pathogène atypique. Fruits 43: 407p

Frantisek S., Stary F. & Jirasek V., 1976. Plantes médicinales. Edition Lidis, 247 pp.

Gurib-Fakim A., 2006: Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow.*Molecular Aspects of Medicine*. 27 **:** 1-93.

Iwu M.M., Duncan A.R. & Okunji C.O., 1999.- New antimicrobials of Plant Origin. In : Perspectives on new crops and new uses. Ed.: Janick, J., ASHS Press, Alexandria, VA,. 457-462.

Jeong, M., Park, P.B., Kim, D., Jang, Y., Jeong, H.S., Choi, S., 2009. Essential oil prepared from *Cymbopogon citrates* exerted an antimicrobial activity against plant pathogenic and medical microorganisms. Mycobiology 37, 48–52.

Joffina J.N. 2003. Les cours de mycoses. 109 P

Jose F.G, Magalhaes, Cyntia F.G, Viana, Antonio Gilson M, Aragão Junior, Vanessa G. Moraes, Ronaldo A, Ribeiro, Marcus R, Vale., 1997.- Analgesic and antiinflammatory activities of *Ageratum conyzoides* in rats. Phototherapy. Research. 11(3) :183-188.

Juven B.J., Kanner J., Schved F., & Weisslowicz H., 1994.- Factors That Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents. Journal of Applied Bacteriology, 76 : 626-631.

Kadilu, 2019. Screening phytochimique, Extraction d'huile essentiel, Activité antifalcémiante et anti radicalaire de quelques plantes aromatiques récoltées dans la région de Kisangani en République Démocratique du Congo. Cas de **:** *Newbouldia et Ageratum conyzoïdes*, mémoire de licence, Université de Kisangani, faculté des Sciences, département de chimie, pp 66

Kaloustian J. et Hadji-Minaglou F., 2012, La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer.

Kamanzi A., 2002. Plantes médicinales de Côte d'Ivoire : investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Cocody Abidjan, UFR Biosciences, N° d'ordre : 363/ 2002, 176 pp.

Kasturi TR, Thomas M & Abraham EM., 1973.- Essential oil of Ageratum conyzoides, Isolation and structure of 2 new constituents. Indian Journal of Chemistry, 11 : 91-95.

Kavira V., 2020, Evaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des plantes aromatiques médicinales sur les souches résistantes aux gels désinfectants dans

la région de Kisangani, travail de fin d'étude, Université de Kisangani, faculté des Sciences, département de sciences biotechnologiques, pp 32.

Kerharo J. & Adam J.G., 1974.- La pharmacopee senegalaise traditionelle: plantes. Medicinales et toxiques, vol. 1. Paris : Vigot. p. 101.

Khalid EL MANSOURI, 2013 : Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales, thèse de doctorat n° 98, Université Cadi Ayyad, 107 pp.

Koffi N'GUESSAN at al, 2009, Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire), Sciences & Nature Vol. 6 N°1, pp15

Kokwaro J.O., 1976.- Medicinal plants of East Africa. Nairobi : East African Literature Bureau.58.

Kouamé Raphaël Oussou at al, 2004. Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire, C. R. Chimie 7, p 1081–1086

Larousse des plantes médicinales Encyclopedia of Médicinal Plants (2nd Edition)., 2001 : Dorling Kindersiey Limited, Londres. Traduction française, par *Pierre Vican. Larousse / VUEF*.

Lass, J., 1985: Phytophthora pod rot often called black pod in: Cocoa GRAR Wood, R A lass, Eds. Longman, londes royaume uni, pp.267-282

Mbula, 2017, Ethnobotanical survey of aromatical plants of masako forest reserve (Kisangani, DR CONGO), these de DES, faculty of Sciences, University of Kisangani.

Menut C., Lamaty G., Amvan P.H., 1993.- Aromatic plants of tropical central Africa part x: Chemical composition of essential oil of Ageratum conyzoides. Flavour and Fragrance Journal, 1: 1-4

Millet D. F., Le grand guide des huiles essentielles, Marabout. 2015.

Moody J.O, Adebiyi O.A. & Adeniyi B.A, 2004.- Do Aloe vera and Ageratum conyzoides enhance the anti-microbial activity of traditional medicinal soft soaps (Osedudu) J. Ethnopharmacol, 92 :57-60.

Mouliom Pefoura A. et Mourichon X., 1990**.** Développement de *Mycosphaerella musicola* (maladie de Sigatoka) et M. *fijiensis* (maladie des raies noires) sur bananiers et plantains. Etude du cas particulier des productions d'altitude. Fruits 45 : 17-24pp.

Mourichon, X. et Fullerton R. A., 1990. Geographical distribution of the two species.

Mourichon X., 2003. Analyse du risque phytosanitaire. BAN-c2: Mycosphaerella fijiensis. CIRAD.

Mpiana. P.T, 2014 - 2015 : *Cours chimie industriel*, Inédit, Faculté des Sciences, UNIKIS.

Muyisa S., 2019, The phytochemistry of selected *Ancistrocladus* and *Monsonia* species and their Anti-Pancreatic Cancer and Nrf2 activator proprieties. Thèse de doctotat, Université de Pretoria, pp243.

Mwambali, 2020 : Contribution à l'étude chimique et évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles sur la souche de *Lasiodiplodia theobromae.* Cas de *Ageratum conyzoides et Cymbopogon citratus* dans la ville de Kisangani (RD Congo), travail de fin d'étude, faculté des science, UNIKIS, pp33.

N'guessan K., 2008. Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Département d'Agboville (Côte-d'Ivoire). Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Université de Cocody-Abidjan, Côte d'Ivoire, 235 p.

Nacoulma-Ouédraogo O., 1996, Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du Plateau central, Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles, Université de Ouagadougou, (Burkina-Faso), 605 pp.

Neetu A., Sangeeta C., Anita S., Matadeen B. & Neera S., 2011.- Efficacy of *Ageratum conyzoides* against the control of mosquitoes. International Journal of pharmaceutical Sciences and Review. 12 : 3235-3237.

Nyakabwa, M. ; 1982 : Phytocénose de l'écosystème urbain de Kisangani. Thèse de doctorat, Unikis, Fac. Sciences, Tome 1, 481 p.

O.M.S, 2002, Organisation Mondiale de la santé (OMS) Rapport sur la médecine traditionnelle : Besoins et potentiel. N° 4. 6 p.

Okunad'A.L., 2002.- *Ageratum conyzoides* L.(Asteraceae). Fitoterapia 73 :1-6.

Onautshu, 2013. Caractérisation des populations de *Mycosphaerella fijiensis* et épidémiologie de la cercosporiose noire du bananier (*Musa* spp.) dans la région de Kisangani (RDC). Thèse de doctorat, UCL, 249p.

Ouattara D., 2006.- Contribution à l'inventaire des plantes médicinales significatives utilisées dans la région de Divo (Sud forestier de la Côte-d'Ivoire) et à la diagnose du poivrier de Guinée : Xylopia aethiopica (Dunal) A. Rich. (Annonaceae). Université de CocodyAbidjan, Côte-d'Ivoire, 184 p.

Pacchioni, 2010. Aromathérapie : 150 vrai/faux sur les huiles essentielles, Editions du Rocher…

Patil R.P., Nimbalkar M.S., Jadhav U.U., Dawkar V.V. & Govindwar S.P., 2010.- Antiaflatoxigenic and antioxidant activity of an essential oil from *Ageratum conyzoides* L. Journal of the Sciences of Food and Agriculture., 4 : 608-614.

Pierron, 2014 ; Les huiles essentielles et leurs experimentations dans les services hospitaliers de France : exemples applications en gériatriegérontologie et soins palliatifs. Thèse de doctorat, faculté de pharmacie, Université de Lorraine, p256.

Ploetz, R.C. et K.G. Pegg. 2000**.** *Fusarium* wilt. 143-159pp, *in* Diseases of Banana, Abaca and Ensete (D.R. Jones, éd.). *CABI Publishing*. Wallingford, UK.

Raynaud J., 2016, Prescription et conseil en aromathérapie, Tec & Doc Lavoisier.

Rocha RP, Evandro DCM, Demuner AJ, Radunz LL, Corbin JJB. 2011 ; Influence of drying air velocity on the chemicalcomposition of essential oil from lemon grass. African Journal of Food Science and Technology 2(6) :132-139.

Schwab D., 1995. Candidiasis: Candidose et HIV. Project Infom Facts sheet, San Francisco. 8P. http://www.projinf.org/fs/ candida.html. Consulté le 09. 11. 2005.

Sebasigari, K. et Stover, R.H., 1988. Banana Diseases and Pests in East Africa.

Shah G, Shri R, Panchal V, Sharma N, Singh B, Mann AS., 2011 ; Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, staff (Lemongrass). Journal of advanced pharmaceutical technology and research 2(1) :3-8.

Silva CdeB, Guterres SS, Weisheimer V, Schapoval EE, 2008 ; Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida* spp. Braz J Infect Dis 12(1).

Soumyanath A., 2006.- Traditional medicines for modern times antidiabetic plants ,C NC press Boca, FL, PP 197-199.

Tika A. 2018. Screening chimique, extraction d'huile essentielle et évaluation de l'activité anti moustique de *Cymbopogon giagantus et citratus* rencontrés à Kisangani, Travail de fin de cycle, Uniskis, faculté de sciences : 40p.

Touré Daouda, 2015, Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'ivoire, Thèse de doctorat, en Biologie Humaine Tropicale, Université Felix Houphouët-Boigny, p153.

Victoria VANGELDER, 2017 l'aromatherapie dans la prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine, thèse de doctorat, Université de Lille 2.

Vijaya M., Cass I., Judy G., Nadeem A., Bobby W., Debasis B. and Harry G., 2001: Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans,* Molecular and Cellular Biochemistry 228: 111-1117pp.

Vos, J., Ritchie, B. et Flood, J., 2003 : A la découverte du cacao. Un guide pour la formation des facilitateurs. Cabi Biosciences.

Yamamoto LA, Soldera JC, Emim JAS, Godinho RO, Souccar C, Lapa AJ, Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janaeiro., 1991.- Suppl II : 145.

1. https://www.konsultasyon.net Consulté le 27 aout 2021 à 23h57'
2. www.ukessays.com Consulté le 20 décembre 2021 à 15h50'

ANNEXES

Annexe 1 : Rendement en huile essentielle

Plantes	Poids des feuilles séchées en g	Volume d'eau en mL	Volume de huile essentielle mL	Rendement en %	Masse de l'huile essentielle en g
A. conyzoides	500	7000	2,1	**0,42**	2,0286
C. citratus	500	7000	1,8	**0,36**	1,1664

Annexe 2 : Densité à 20°C des huiles essentielles

	A. conyzoides	*C. citratus*
P1	6,33	20,59
P2	7,78	22,21
P3	7,73	21,64
Densité	**0,966**	**0,684**

P1 : Poids du récipient vide

P2 : Poids du récipient avec eau

P3 : Poids du récipient avec huile essentielle

Annexe 3 : Densité de l'acétate d'éthyle synthétisé

P1	14,79g
P2	22,8g
P3	22,29g
Densité	**0,936**

P1 : Poids du récipient vide

P2 : Poids du récipient avec acétate d'éthyle

P3 : Poids du récipient avec eau

Annexe 4 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle en mm

A. conyzoides					*C. citratus*				
Spot	I	II	III	IV	Spot	I	II	III	IV
H du spot	68	54	29	5	H du spot	68	54	41	20
H du solvant	80	80	80	80	H du solvant	80	80	80	80
Rf	**0,850**	**0,675**	**0,363**	**0,063**	Rf	**0,850**	**0,675**	**0,513**	**0,250**

Annexe 5 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant éthanol en mm

A. conyzoides		*C. citratus*	
Spot	I	Spot	I
H du spot	61	H du spot	70
H du solvant	80	H du solvant	80
Rf	**0,763**	Rf	**0,875**

Annexe 6 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane en mm

A. conyzoides				*C. citratus*		
Spot	I	II	III	Spot	I	II
H du spot	74	38	7	H du spot	36	13
H du solvant	80	80	80	H du solvant	80	80
Rf	**0,925**	**0,475**	**0,088**	Rf	**0,450**	**0,163**

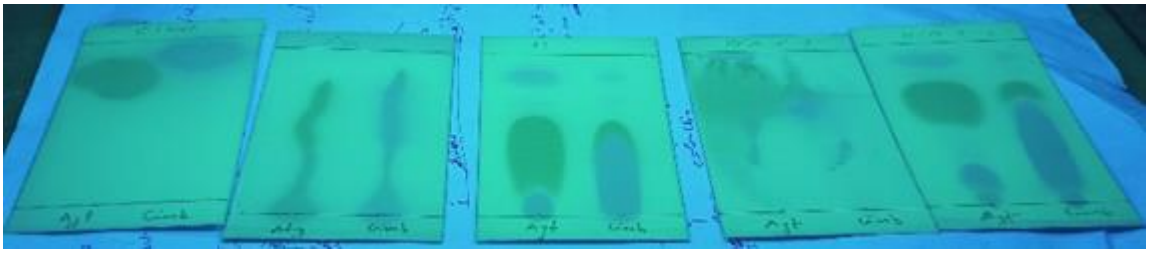
Annexe 7 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant acétate d'éthyle et hexane (1 :1) en mm

A. conyzoides			*C. citratus*			
Spot	I	II	Spot	I	II	III
H du spot	33	19	H du spot	76	30	4
H du solvant	80	80	H du solvant	80	80	80
Rf	**0,413**	**0,238**	Rf	**0,950**	**0,375**	**0,038**

Annexe 8 : Valeurs Rf obtenues de la CCM avec l'éluant hexane et acétate d'éthyle (7 :3)

A. conyzoides					*C. citratus*				
Spot	I	II	III	IV	Spot	I	II	III	IV
H du spot	71	49	12	4	H du spot	72	54	26	3
H du solvant	80	80	80	80	H du solvant	80	80	80	80
Rf	**0,888**	**0,613**	**0,150**	**0,050**	Rf	**0,900**	**0,675**	**0,325**	**0,038**

Annexe 9 : Révélation des spots par la lampe UV



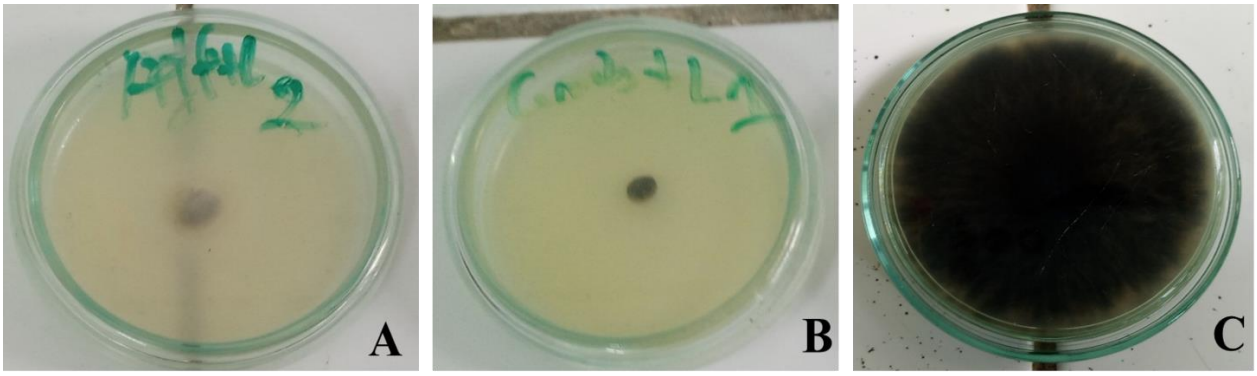
Annexe 10 : Comportement de souche de *L. theobromae* après 24 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Témoin négatif	Témoin avec Tween 80
1	0	0	15	12
2	0	0	13	15
3	0	0	15	15
4	0	0	15	15
5	0	0	12	11
6	0	0	14	14
Moyenne	**0**	**0**	**14**	**13,6**

Annexe 11 : Comportement de souche de *L. theobromae* après 48 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Témoin négatif	Témoin avec Tween 80
1	0	0	50	50
2	0	0	50	50
3	0	0	50	50
4	0	0	50	50
5	0	0	50	50
6	0	0	50	50
Moyenne	**0**	**0**	**50**	**50**

Annexe 12 : Comportement de souche de *L. theobromae* après neuf jours d'incubation sur *A. conizoides* (A), *C. citratus* (B) et Témoin (C) après 48 heures



Annexes 13 : Comportement de souche de *P. fijensis* après 24 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Témoin négatif	Témoin avec Tween 80
1	0	0	3	3
2	0	0	3	2
3	0	0	3	2
4	0	0	3	2
5	0	0	3	3
6	0	0	2	2
Moyenne	**0**	**0**	**2,8**	**2,3**

Annexe 14 : Comportement de souche de *P. fijensis* après 48 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Témoin négatif	Témoin avec Tween 80
1	0	0	3	3
2	0	0	3	3
3	0	0	3	3
4	0	0	3	3
5	0	0	4	3
6	0	0	2	2
Moyenne	**0**	**0**	**3**	**2,8**

Annexe 15 : Comportement de souche de *P. fijensis* après 72 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Témoin négatif	Témoin avec Tween 80
1	3	0	4	4
2	2	0	4	4
3	2	0	4	4
4	3	0	4	3
5	3	0	4	3
6	5	0	4	4
Moyenne	**3**	**0**	**4**	**3,6**

Annexe 16 : Comportement de souche de *P. fijensis* après cinq jours d'incubation sur *A. conizoides* (A), *C. citratus* (B) après 216 heures et témoin (C) après 120 heures



Annexe 17 : Comportement de souche de *C. albicans* après 24 heures d'incubation

Nombre de répétition	*A. conizoides*	*C. citratus*	Ciproxin	Chloramphénicol
1	0	0	32	38
2	0	6	25	34
3	0	6	33	36
4	0	7	34	34
5	0	0	36	33
6	0	-	32	33
Moyenne	**0**	**3,8**	**32**	**34,66**

Annexe 18 : Comportement de souche de *C. albicans* après 24 heures d'incubation sur *A. conizoides* (A) et *C. citratus* et (B)

