

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

**KARA Mokhtaria**

*Thème*

**Etude comparative des activités antioxydante  
et antifongique des huiles essentielles de clou  
de girofle et de la cannelle**

Soutenu publiquement le 02/07/2023

**Jury :**

**Président : BOUMEZREG Assia**

**Encadrant : SELLES Sidi Mohammed Ammar**

**Co-encadreur : SMAIL Leila**

**Examineur : MAHOUZ Fatima**

**Grade**

**MCA**

**MCA**

**Ingénieur de laboratoire**

**MCA**

**Année universitaire 2022-2023**

## *Remerciements*

*Tout d'abord, je remercie Dieu le tout-puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour réaliser ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements, mon appréciation et mon respect au meilleur promoteur Monsieur SELLES Sidi Mohammed Ammar, pour son aide et ses précieux conseils tout au long de ce travail. Je vous remercie également pour le temps que vous avez consacré à mon travail ainsi que vos qualités relationnelles et humaines.*

*Je remercie également le co-promoteur Madame SMAIL Leila pour son soutien moral, ses conseils avisés et sa grande aide.*

*Je présente le plus grand intérêt, respect et remerciements sincères au comité de supervision à Madame la présidente de jury D' BOUMEZRAG Assia et à Madame l'examinatrice D' MAHOUZ Fatima pour avoir accepté d'examiner cet humble travail.*

*Je tiens également à remercier tous les cadres de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, le Doyen de la faculté de SNV Monsieur SASSI Mohamed, le chef de Département de la faculté de SNV Monsieur BENBEGARA Mourad et la chef de Spécialité infectiologie professeur DOUKANI Koula et tout le personnel Universitaire pour leur intérêt et leur grande coopération.*

*J'adresse mes sincères et chaleureux remerciements et mon respect à IMANE et YAMINA pour leur précieuse aide et leurs précieux conseils dans cette humble travail.*

*Quand j'ai voulu écrire un mot de remerciement à mes parents, j'ai cherché les mots et je suis restée impuissante à exprimer la grandeur de mon amour pour eux. S'il n'y avait pas eu leur grande ombre, je ne serais pas devenu ce que je suis aujourd'hui. Il n'y a personne au monde de plus précieux que vous. Acceptez mes sincères remerciements, mon appréciation et mon respect.*

*Enfin, je voudrais remercier toute ma famille et tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, publiquement ou en secret, même avec un mot ou un sourire.*

## *Dédicaces*

### *Je dédie ce travail :*

*Au nom de dieu le très miséricordieux et que la prière et la paix soient sur les messagers les plus honorables.*

*Je dédie le fruit de mes efforts et de mon travail aux honorables parents que dieu les protège et prenne soin d'eux et prolonge leur vie. Qui n'ont cessé de prier pour moi et de m'encourager, ainsi que pour les frères et sœurs, la belle famille, les amis et les proches.*

*Et à tous les étudiants de la deuxième année Master spécialisé en sciences de l'infectiologie.*

*Et à tous ceux qui m'ont accompagnée durant mon parcours académique et m'ont soutenu de près ou de loin, même d'un mot gentil.*

*Mokhtraia*

## Sommaire

Sommaire	
Liste des illustrations	
Liste des abréviations	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Introduction .....	2

### 1<sup>ère</sup> Partie : Partie bibliographique

#### Chapitre II : Les huiles essentielles

1-Historique .....	5
2- Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?.....	5
3- Localisation des huiles essentielles .....	6
4- Biosynthèse et composition chimique .....	6
5- Caractéristique et propriétés physiques .....	7
6- Activités biologiques des huiles essentielles .....	8
6-1 Activités antioxydante .....	8
6-2 Activités antimicrobienne .....	9
6-2-1 Activités antibactérienne .....	9
6-2-2 Activités antifongique .....	10
6-2-3 Activités antivirale .....	10
5-4 Activités antiparasitaire .....	10
6-3 Activités anti-inflammatoire .....	11
7- Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	11
7-1 Méthodes conventionnelles et classiques .....	11
7-1-1 Hydrodistillation .....	11
7-1-2 Hydro-distillation à la vapeur .....	12
7-1-3 Hydro-diffusion .....	13
7-1-4 Extraction par solvant organique .....	13
7-1-5 Extraction à froid .....	14

7-1-6 Enfleurage et extraction .....	14
8- Mode d'administration des huiles essentielles.....	14

## **Chapitre II : Matière végétale**

1- Le clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> ) .....	17
2- La cannelle ( <i>Cinnamomum aromaticum</i> ).....	18

## **Chapitre III : Les levures du genre *Candida***

1- Introduction .....	20
2- Les espèces du genre <i>Candida</i> .....	20
2-1 <i>Candida albicans</i> .....	20
2-2 <i>Candida non albicans</i> .....	20
3- Caractéristiques des levures du genre <i>Candida</i> .....	21

## **2<sup>ème</sup> Partie : Partie expérimentale**

### **Matériel & Méthodes**

#### **Première partie**

1- Matière végétale .....	27
2- Extraction des huiles essentielles.....	27
2-1 Mode opératoire .....	27
2-2 Traitement de l'extrait .....	27
2-3 Calcul du rendement d'extraction .....	28

#### **Deuxième partie**

1- Pouvoir réducteur .....	29
2- Activité anti-radicalaire à l'égard DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) .....	29

#### **Troisième partie**

1- Confirmation des souches de <i>Candida albicans</i> à testées .....	30
1-1 Examen à l'état frais .....	30
1-2 Examen à l'état fixe .....	30

2- Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles .....	30
2-1 Test de sensibilité .....	30
2-2 protocole expérimentale .....	30
2-3 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales fongicides (CMF) des HEs étudiées par la méthode de micro-dilution .....	31

## **Résultats & Discussion**

1- Rendement de l'huile essentielle .....	34
2- Activité antioxydante .....	35
2-1 Pouvoir réducteur .....	36
2-2 Activité anti-radicalaire (DPPH).....	36
3- Activité antifongique .....	37
3-1 Confirmation des souches référenciées de <i>Candida albicans</i> à testées .....	37
3-2 Détermination de la sensibilité .....	38
3-2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF) .....	40
<b>Conclusion</b> .....	43
<b>Références bibliographiques</b> .....	45

## Liste des illustrations

## Liste des figures

## Partie Bibliographique

<b>Figure 1.1</b> : Principe schématisé de l'hydro-distillation .....	12
<b>Figure 1.2</b> : Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur .....	13
<b>Figure 1.3</b> : Bouton floraux de clou de girofle .....	17
<b>Figure 1.4</b> : Diverses cannelles ( <i>C. aromaticum</i> à gauche).....	18
<b>Figure 1.5</b> : Culture de <i>Candida</i> sur milieu chromogénique mettant en évidence des espèces différentes de <i>Candida</i> .....	21
<b>Figure 1.6</b> : Colonies de <i>Candida albicans</i> .....	22
<b>Figure 1.7</b> : Tube germinatif chez <i>Candida albicans</i> .....	22
<b>Figure 1.8</b> : Chlamydo sporulation chez <i>Candida albicans</i> .....	23

## Partie Expérimentale

<b>Figure 2.1</b> : Dispositif d'hydro-distillation utilisé lors d'extraction des huiles essentielles ...	28
<b>Figure 2.2</b> : Rendement en huiles essentielles de clou de girofle et de la cannelle .....	34
<b>Figure 2.3</b> : Observation microscopique de <i>C. albicans</i> ATCC 10237 GX100.....	37
<b>Figure 2.4</b> : Observation microscopique de <i>C. albicans</i> ATCC 10237 coloré en bleu de méthylène GX100 .....	38
<b>Figure 2.5</b> : Test de sensibilité de <i>C. albicans</i> ATCC10237 vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	39
<b>Figure 2.6</b> : Test de sensibilité de <i>C. albicans</i> ATCC10231 vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	39
<b>Figure 2.7</b> : Test de sensibilité de <i>C. albicans</i> ATCC10237 vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum aromaticum</i> .....	40
<b>Figure 2.8</b> : Test de sensibilité de <i>C. albicans</i> ATCC10231 vis-à-vis de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum aromaticum</i> .....	40

## **Liste des tableaux**

### **Partie Expérimentale**

<b>Tableau 2.1:</b> Activité antioxydante des huiles essentielles de cannelle et de clou de girofle .	36
<b>Tableau 2.2:</b> Halos d'inhibition en (mm) (moyenne $\pm$ écart type) provoqués par les huiles essentielles testées .....	38
<b>Tableau 2.3:</b> CMI et CMF des deux huiles essentielles testées, nécessaires pour l'inhibition totale de la croissance fongique in vitro, exprimée en solution $\mu\text{l/ml}$ .....	40

**%** : Pourcentage

**ATTC**: American Type Culture Collection

**C**: *Candida*

**CLSI**: The Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMF** : Concentration minimale fongicide

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DPPH** : 2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyle

**EC50** : Concentration efficace pour l'inhibition de 50% des radicaux libres

**FRAP** : Capacités réductrices ferriques d'antioxydants (Ferric Reducing/Antioxidant Power)

**H** : Heure

**HD** : Hydrodistillation

**HE** : Huile essentielle

**HV** : Huile végétale

**IC50** : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres

**Mh** : Masse d'huile essentielle

**Mv** : Masse de matériel végétal

**NCCLS**: National Committee for Clinical Laboratory Standards

**RHE** : Rendement en Huile essentielle

L'intérêt de cette étude porte sur l'évaluation de l'activité biologique des plantes aromatiques qui constituent une richesse naturelle très importante depuis l'antiquité. Les propriétés thérapeutiques de ces plantes dépendent de la présence de divers facteurs biologiquement actifs, dont les huiles essentielles. Les objectifs du présent travail ont été l'étude du pouvoir antioxydant et du pouvoir antifongique des huiles essentielles extraites des clous de girofle et des bâtons de cannelle sur la croissance des souches de référence de levure *Candida albicans*. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation, l'activité antioxydante a été évaluée par le test du pouvoir réducteur et le test du piégeage du radical DPPH. Cependant le pouvoir antifongique a été déterminé par le test d'aromatogramme et la technique de microdilution dans le but de déterminer les CMI et les CMF. Le rendement en huile essentielle a été de 2.273% et 8.389% respectivement pour l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum aromaticum*, Une  $EC_{50}$  de 16.41 $\mu$ g/ml pour le clou de girofle et de 14.75mg/ml pour la cannelle ont été obtenues. Alors qu'une  $IC_{50}$  de 5.74 $\mu$ g/ml pour le clou de girofle et de 13.61mg/ml pour la cannelle ont été enregistrés. Les zones d'inhibition de l'aromatogramme ont varié de 29.33mm à 30.67mm pour l'huile essentielle de *S. aromaticum* vis-à-vis des deux souches de références, et de 72.67mm à 80mm pour celle de *C. aromaticum*. Les CMI des deux huiles essentielles vis-à-vis des deux souches de référence ont été de 0.625 $\mu$ l/ml et 0.125 $\mu$ l/ml respectivement pour l'huile essentielle de *S. aromaticum* et *C. aromaticum*. Alors que les CMF ont été de l'ordre de 2.5 $\mu$ l/ml jusqu'à 5 $\mu$ l/ml pour l'HE de *S. aromaticum* et de 0.125 $\mu$ l/ml pour celle de *C. aromaticum*.

**Mots clés :** Activité antioxydante, activité antifongique, hydrodistillation, huiles essentielles, *Candida albicans*, CMI, CMF, *Cinnamomum aromaticum*, *Syzygium aromaticum*.

## ملخص

كانت النباتات العطرية مورداً طبيعياً مهماً للغاية منذ العصور القديمة. تعتمد الخصائص العلاجية لهذه النباتات على وجود عوامل نشطة بيولوجياً مختلفة ، بما في ذلك الزيوت الأساسية. كانت أهداف هذا العمل دراسة القوة المضادة للأكسدة والقوة المضادة للفطريات للزيوت الأساسية المستخرجة من القرنفل وعيد القرفة على نمو السلالات المرجعية لخميرة المبيضات البيضاء. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي ، وتم تقييم نشاط مضادات الأكسدة من خلال اختبار القوة الإختزالية و طريقة DPPH. تم تحديد الفعالية المضادة للفطريات عن طريق اختبار التصوير العطري وتقنية التخفيف الدقيق من أجل تحديد MICs و CMFs. كان محصول الزيت العطري 2.273% و 8.389% على التوالي للزيت العطري من *Syzygium aromaticum* و *Cinnamomum aromaticum* ، وتم الحصول على EC50 من 16.41 ميكروجرام / مل للقرنفل و 14.75 مجم / مل للقرفة. بينما سجلت IC50 5.74 ميكروجرام / مل للقرنفل و 13.61 مجم / مل للقرفة. تراوحت مناطق تثبيط الرسم العطري للزيت العطري للقرنفل من 29.33 مم إلى 30.67 مم فيما يتعلق بالسلالتين المرجعيتين ، ومن 72.67 مم إلى 80 مم بالنسبة لزيوت القرفة. كانت التركيز الأدنى المثبط للزيوت الأساسية فيما يتعلق بالسلالتين المرجعيتين 0.625 ميكرو لتر / مل و 0.125 ميكرو لتر / مل على التوالي للزيت العطري من القرنفل و الزيت العطري للقرفة بينما كان التركيز الأدنى القاتل بترتيب 2.5 ميكرو لتر / ميليلتر حتى 5 ميكرو لتر / ميليلتر للزيت العطري للقرنفل و 0.125 ميكرو لتر / مل للزيت العطري للقرفة.

**الكلمات المفتاحية:** الفاعلية المضادة للأكسدة ، الفاعلية المضادة للفطريات ، التقطير المائي ، الزيوت

، الخميرة المبيضات البيضاء الأساسية ، التركيز الأدنى المثبط ، التركيز الأدنى ، القاتل ، القرنفل ، القرفة.

Aromatic plants have been a very important natural resource since antiquity. The therapeutic properties of these plants depend on the presence of various biologically active factors, including essential oils. The objectives of this work were the study of the antioxidant power and the antifungal power of essential oils extracted from cloves and cinnamon on the growth of reference strains of *Candida albicans* yeast. The essential oils were extracted by hydrodistillation, the antioxidant activity was evaluated by the reducing power test and the DPPH radical trapping test. However, the antifungal potency was determined by the aromatogram test and the microdilution technique in order to determine the MICs and CMFs. The essential oil yield was 2.273% and 8.389% respectively for the essential oil of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum aromaticum*, An EC50 of 16.41µg/ml for clove and 14.75mg/ml for cinnamon were obtained. While an IC50 of 5.74µg/ml for clove and 13.61mg/ml for cinnamon were recorded. The zones of inhibition of the aromatogram varied from 29.33mm to 30.67mm for the essential oil of *S. aromaticum* respectively against two reference strains, and from 72.67mm to 80mm for that of *C. aromaticum*. The MICs of the two essential oils with respect to the two reference strains were 0.625 µl/ml and 0.125 µl/ml respectively for the essential oil of *S. aromaticum* and *C. aromaticum*. While the CMF were of the order of 2.5µl/ml up to 5µl/ml for the EO of *S. aromaticum* and 0.125µl/ml for that of *C. aromaticum*.

**Keywords:** Antioxidant activity, antifungal activity, hydrodistillation, essential oils, *Candida albicans*, CMI, CMF, *Cinnamomum aromaticum*, *Syzygium aromaticum*.

# *Introduction*

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

Une HE est un produit odorant, de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage (**Bruneton, 2009**).

L'aromathérapie fait partie d'un patrimoine végétal qu'il faut préserver et protéger. Les huiles essentielles provenant des plantes aromatiques et médicinales possèdent un très large spectre d'action et sont utilisées dans plusieurs pathologies grâce à leurs effets pharmacologiques, notamment : antispasmodiques, carminatifs, hépato-protecteurs, antiviraux, anticancéreux, antioxydants et anti microbienne très importante dans diverses thérapies (**Attou, 2017**).

Ce travail de mémoire de fin d'étude est alors réalisé pour valoriser les extraits végétaux aromatiques (les huiles essentielles) de deux plantes aromatiques et médicinales : le clou de girofle et la cannelle. Il avait tracé les objectifs suivants :

- Extraire les huiles essentielles de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum aromaticum*) ;
- Evaluer *in-vitro* les activités antioxydantes par le test du pouvoir réducteur et le test de l'activité anti-radicalaire à l'égard DPPH de ces deux huiles essentielles ;
- Déterminer l'activité antifongique de ces deux huiles essentielles vis-à-vis de deux souches de références de *Candida albicans* par la méthode de diffusion des disques et la méthode des microdillutions.

*Partie*  
*Bibliographique*

*Chapitre I :*  
*Généralités sur les*  
*huiles essentielles*

**1- Historique**

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C (**Dupont et al., 2007**). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**FEKIH, 2014**).

Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation,...etc (**Besombes, 2008**).

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques (**El Jemli et al., 2016**).

Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles (**Besombes, 2008**) lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brûlure à sa main. Egalement, en 1964 le docteur français Jean Valunet a connu du succès en traitant des patients en médecine et en psychiatrie par les HEs (**Grünwald et al., 2004 ; Haleng et al., 2007**).

Aujourd'hui, nous reconnaissons que les huiles essentielles ont des effets pharmacologiques, n'a cessé de gagner du terrain face au « tout chimique » et devient une pratique secondaire par rapport à leur utilisation pour leurs propriétés organoleptiques (**Hassan et al., 2016**).

**2-Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?**

Une huile essentielle est définie par l'Organisation Internationale pour Standardisation (ISO) en tant que «produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, par distillation à la vapeur (qui comprend hydrodistillation), par des procédés mécaniques à partir du péricarpe (écorces) d'agrumes, soit par distillation sèche, après séparation des phases aqueuses, le cas échéant, par des procédés physiques (**de Groot et al., 2016**).

Les huiles essentielles sont un mélange de constituants volatiles lipophiles, elles sont obtenues à partir de diverses parties des plantes, telles que les graines, les bourgeons, les feuilles, les racines, les fruits, les rhizomes, les écorces et les fleurs (**Sadgrove et Jones, 2015**). Elles sont localisées dans le cytoplasme de certaines cellules végétales, à savoir les poils sécréteurs, les cellules épidermiques, les cellules sécrétrices internes et les poches sécrétrices (**Dhifi et al., 2016**).

Pour certains auteurs comme Carette (**2000**), il est important de distinguer l'huile essentielle et essence ; cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. En revanche, une huile essentielle est un extrait naturel de matières premières d'origine végétale, obtenu par distillation par la vapeur d'eau, c'est-à-dire que l'huile essentielle est l'essence distillée.

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique (**Bruneton, 1999 ; Degryse et al., 2008**).

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores à température ambiante (**Dhifi et al., 2016**). Elles sont largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique, la parfumerie, et aussi l'aromathérapie. Elles ont d'innombrables activités biologiques, y compris antivirales, antibactériennes, antiparasitaires, anti-inflammatoire, insecticides, antifongiques, anti-carcinogènes, antioxydants et antimutagènes (**Hassan et al., 2016**).

### **3-Localisation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles peuvent être trouvées dans différents organes végétaux, notamment les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les grains (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**). Ils sont produits dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent dans des cellules glandulaires spéciales situées à la surface de la cellule et recouvertes par une cuticule. Elles sont ensuite stockées dans des cellules à « huile essentielle », les poils sécréteurs, les poches sécrétrices ou les canaux sécréteurs (**Bruneton, 1999 ; Hazzit, 2002 ; Boz et al., 2009**).

### **4-Biosynthèse et composition chimique**

La cellule végétale est le siège de la biosynthèse des composés fondamentaux de la matière vivante. Elle est capable de coordonner les multiples réactions enzymatiques conduisant à la production d'huiles essentielles. Certaines cellules prennent en charge ces

biosynthèses et également le stockage des métabolites formés. Il s'agit là de tout un ensemble de réactions biochimiques participant à la vie des plantes : respiration, photosynthèse,...etc (**Garnéro, 1996**). Il en résulte que les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses (**Lahlou, 2004**). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

- Le groupe de terpénoïdes.
- Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (**Paris et Hurabielle, 1981**).

Comme toutes les substances, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable (**Larbi et al., 2014**). Parmi le nombre de molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle, on y trouve des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Pibiri, 2006**).

### **5- Caractéristique et propriétés physiques**

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (**Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Desmares et al., 2008**).

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les HEs forment un groupe très homogène (**Bruneton, 1993**). Les principales caractéristiques sont :

- Volatiles et très rarement colorées.
- Liquides à température ambiante.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Zabeirou et Hachimou, 2005**).

## 6- Activités biologiques des huiles essentielles

### 6-1 Activité antioxydante

Le progrès de l'oxydation a comme conséquence la détérioration complète des aliments. La dégradation oxydative des constituants de nature lipidique de nos aliments présente des inconvénients à la fois aux plans organoleptique, nutritionnel, fonctionnel, économique et hygiénique (Alais et al., 2008 ; Rolland, 2004 ; Jeantet et al., 2006 ; Sani, 2006 ; Nessrien & Mohamed, 2007 ; Rashid et al., 2010). La lutte contre l'oxydation des lipides représente donc un enjeu considérable pour les industriels alimentaires.

Lorsque l'on cite l'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1995). Caillet et Lacroix (2007) ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) ou l'utilisation des huiles essentielles par vaporisation en surface des aliments ou par incorporation dedans, préserve ces derniers du phénomène oxydatif.

L'huile essentielle est définie comme une substance qui, à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, prévient significativement ou retarde l'initiation du processus d'oxydation (Beirão & Bernardo-Gil, 2006).

L'anhydride sulfureux et ses combinaisons minérales ont été utilisés comme premiers antioxydants, mais ces composés possèdent un caractère fortement allergisant (Portes, 2008). On trouve aussi d'autres composés comme le gallate de propyle, le gallate d'octyle, le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT) et le tert-butylhydroquinone (TBHQ) (Bondet et al., 1997). Le plus grand avantage de ces derniers est lié à leur coût bas d'une part, leurs propriétés chimiques et technologiques bien étudiées, qui satisfont dans la plupart des cas la demande des producteurs (Petkov et al., 1984) d'autre part. Par conséquent, il y a grand intérêt mondial pour la recherche de nouvelles sources d'antioxydants, naturelles et sûres (Kulevanova & Panovska, 2001 ; Caldefie-Chezet et al., 2003 ; Bouhdid et al., 2006 ; Pamphile et al., 2009 ; Raza et al., 2009 ; Dongmo et al., 2010).

## 6-2 Activité antimicrobienne

Vue l'augmentation de la gravité des infections bactériennes et cela même après la découverte de nombreux antibiotiques, due principalement à l'émergence d'antibiorésistants, l'augmentation de la population à immunité réduite, l'incidence accrue d'infection à biofilms résistants aux médicaments et les maladies infectieuses induites par des bactéries demeurent l'une des principales causes de décès d'une part (**Ahmad et al., 2001**). D'autre part, la toxicité due aux effets secondaires des antibiotiques disponibles limite l'utilisation prolongée de fortes concentrations de ces derniers. Il est primordial d'explorer de nouvelles molécules et approches alternatives contre les bactéries pathogènes (**Galvão et al., 2012**).

### 6-2-1 Activité antibactérienne

Les huiles essentielles sont connues pour leur pouvoir antimicrobien contre les bactéries pathogènes Gram positives et Gram négatives (**Edris et al., 2007 ; Lang et al., 2012 ; Teixeira et al., 2013**), et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (**Gachkar et al., 2007 ; Rasooli et al., 2008**).

L'efficacité antibactérienne peut varier selon l'huile utilisée ainsi que la nature de la paroi de la bactérie. Par exemple, le santal (*Santalum album*), l'huile de manuka (*Leptospermum scoparium*) et le vétiver (*C. zizanioides*) sont très actifs contre les bactéries à Gram positif, mais n'ont pas d'activité contre les bactéries à Gram négatif (**Hammer et al., 2011**).

Par rapport à d'autres bactéries, *Pseudomonas aeruginosa* présente une tolérance à l'inhibition par les HEs. En général, l'HE du thym, d'origan, d'arbre à thé, cannelle, citronnelle, laurier, citron myrte, clou de girofle sont des puissants antibactériens. Ils sont actifs à des concentrations <1% (v/v), c-à-d qu'ils présentent des CMI <1% pour le clou de girofle, la citronnelle, l'origan et le thym inhibent la croissance d'*Escherichia coli* à des concentrations de 0.02, 0.04, 0.06, et 0.05% respectivement (**Hammer et al., 2011**) (**Oussalah et al., 2006**). Cependant, le thym, le romarin, la menthe poivrée, la citronnelle, et les clous de girofle inhibent la croissance de *Staphylococcus aureus* à des concentrations ≤0,05%, alors que l'HE de basilic et d'eucalyptus l'inhibent à une concentration de 1% (**Smith et al., 1998 ; Hammer et al., 2011**). L'ail, le citron, et le thé sont actifs contre *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) (**Tsao et al., 2001 ; Hayes et al., 2003**).

Dans certains cas, il a été observé que le constituant majeur possède une activité meilleure que celle de l'HE. Par exemple, le carvacrol et l'eugénol provenant de l'huile essentielle de *S. aromaticum* (clou de girofle) ou terpinen-4-ol du *M. alternifolia* (arbre à thé)

présentent une plus grande efficacité qu'une huile particulière. En règle générale, Les HES contenant des composés phénoliques et des aldéhydes présentent une meilleure activité antibactérienne (Carson *et al.*, 2006 ; Ultee *et al.*, 2002).

### **6-2-2 Activité antifongique**

Les infections fongiques sont très fréquentes dans notre société. Cette extension est largement favorisée par la prescription abusive des antifongiques conventionnels. Les HES utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont nombreux, cependant la durée du traitement sera plus longue.

Par exemple :

➤ *Candida albicans* est sensible aux HES d'Origan, de Cannelle de Ceylan, de Thym à thymol, de Clou de girofle ou de Niaouli (Zahalka, 2010).

### **6-2-3 Activité antivirale**

De très nombreuses familles chimiques ont montré des activités antivirales *in-vitro*. C'est le cas des phénols monoterpéniques ou aromatiques (difficiles à utiliser, car dermo- et hépatotoxiques), des alcools monoterpéniques ainsi que des aldéhydes monoterpéniques et aromatiques (Guezzen, 2019).

L'activité antivirale découle de la liposolubilité des HES, ce qui leur permet de pénétrer dans l'enveloppe virale riche en lipides. Les HES sont plus actives sur les virus enveloppés car ils sont plus fragiles que les virus nus. Ils sont donc particulièrement efficaces envers les virus : *Herpès simplex*, VHS-1 (herpès labial) et VHS-2 (herpès génital) (Guezzen, 2019).

Il existe une synergie d'action entre cinéol et monoterpénol, cette association est fréquemment rencontrée dans les HES issues de la famille des Myrtacées (ex. : Arbre à thé, Niaouli et Cajeput). Cette association est très utile dans le traitement des pathologies virales touchant la sphère respiratoire. Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HES, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Plus d'une dizaine d'HES possèdent des propriétés antivirales. Par exemple, l'HE de Ravintsara (Zahalka, 2010).

Les aldéhydes, en usage interne ou en diffusion atmosphériques, sont de bons compléments dans le traitement des infections virales (Laurent *et al.*, 2017).

### **6-2-4 Activité antiparasitaire**

Ce sont les phénols qui possèdent l'action la plus puissante contre les parasites, suivis par les alcools monoterpéniques. Certains oxydes comme l'ascaridol sont très spécifiques de la lutte antiparasitaire. Ainsi pour les cétones et les lactones ont une activité antiparasitaire bien établie, comme exemple on cite la cannelle, le clou de girofle, le niaouli et la ravensara

(Girard, 2010), mais leur utilisation doit se faire avec précautions à cause de leurs neurotoxicité. Cette action est renforcée par l'association cétones/lactones dans l'HE (Laurent *et al.*, 2017).

### **6-3 Activité anti-inflammatoire**

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'HEs ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires (Zahalka, 2010).

Les HEs ont une place particulièrement intéressante dans le traitement de l'inflammation. Elles constituent une alternative aux traitements allopathiques classiques de type anti-inflammatoires non stéroïdiens qui sont connus pour leur effet secondaire digestif au long cours. Bien utilisées, ces HEs n'induisent pas d'effets nocifs. Seul un risque d'irritation cutanée peut être observé si l'on ne dilue pas suffisamment l'HE dans une huile végétale (Zahalka, 2010).

Les molécules concernées sont notamment les aldéhydes monoterpéniques : citrals (néral et géraniol), citronellal, curminal. Les aldéhydes sont utiles par voie externe. Ils interviennent par une action hyperémiante en favorisant les mécanismes physiologiques de défense anti-inflammatoire naturelle impliquant les leucocytes. Cette activité hyperhémiant est concomitante de la levée des spasmes artériolaires favorisant l'état inflammatoire (Zahalka, 2010).

## **7-Les techniques d'extraction des huiles essentielles**

### **7-1 Méthodes conventionnelles et classiques**

Il s'agit de méthodes conventionnelles basées sur la distillation de l'eau par chauffage pour extraire les composants aromatiques à partir des plantes, plusieurs méthodes d'extraction sont mises au point.

#### **7-1-1 Hydro-distillation**

Pour extraire les huiles essentielles il y a une méthode uniforme de sorte qu'il est considéré comme le plus sensible dans une large mesure, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique (Fasty, 2007). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Par la suite il y aura une condensation de la vapeur hétérogène suite à un contact avec un

refroidisseur, ensuite l'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité (Bruneton, 1999). Il y a des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation (Farhat, 2010).

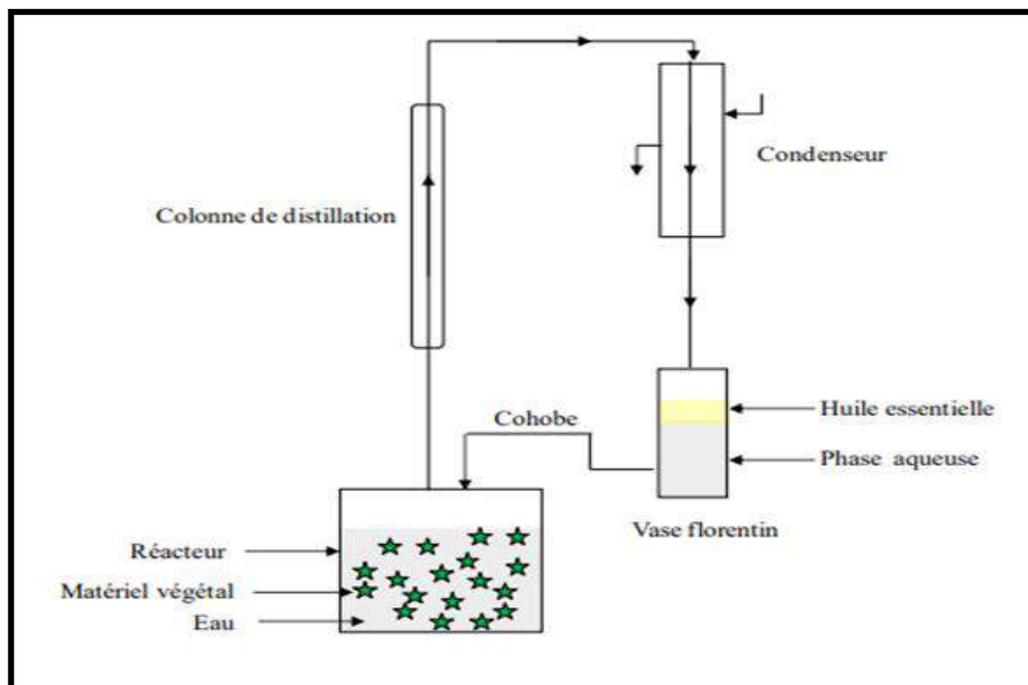
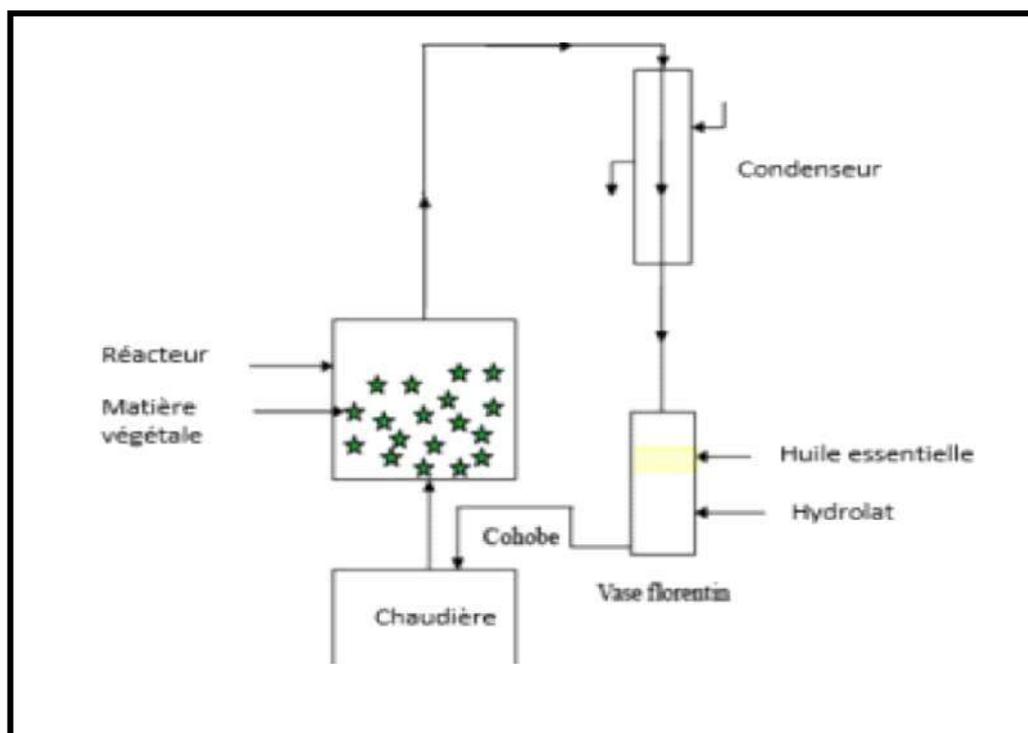


Figure 1.1: Principe schématisé de l'hydro-distillation (Farhat, 2010).

### 7-1-2 Hydro-distillation à la vapeur

L'hydro-distillation à la vapeur ou l'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles (Masango, 2005) à la différence de l'hydro-distillation, L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Raaman, 2006).

Dans ce type d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique (huile essentielle). Cette technique évite certains artefacts par rapport à l'hydro-distillation (Guezen, 2019).



**Figure 1.2 :** Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (Farhat, 2010).

### 7-1-3 Hydro-diffusion

Il se produit dans le processus le flux de vapeur vers le bas. Il est également appelé la propagation de l'eau pour la gravité ou la propagation de l'eau au fond (Elasbahani et al., 2015) de sorte qu'il est un cas particulier de distillation.

### 7-1-4 Extraction par solvants organiques

Cette méthode d'extraction est basée sur les propriétés physiques des essences aromatiques qui sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. Le solvant choisi devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène avec une température d'ébullition basse afin de faciliter son élimination. Il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, L'extraction par les solvants et leur manque de sélectivité peuvent entraîner de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer par conséquent une purification ultérieure (Shellie et al., 2004).

**7-1-5 Pression à froid**

La pression froide est la façon traditionnelle d'extraire l'HE de la saveur d'agrumes. Pendant l'extraction, les sacs d'huile se brisent et libèrent les huiles volatiles. La partie externe du mésocarpe (huile de kyste ou d'huile de glande). Cette huile est enlevée par pression à froid et l'émulsion eau-essence est ensuite séparée par décantation ou centrifugation (**Ferhat et al., 2007**). L'intérêt de cette technique obtient l'essence de légumes de la peau utilisés comme additifs dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (industrie alimentaire, cosmétiques et certains produits de soins à domicile).

**7-1-6 Enfleurage**

Pour l'extraction de plantes aromatiques principalement dédiées à l'industrie du parfum, il y a une vieille façon et viennent gonfler. La matière végétale est en contact avec la graisse, et cette dernière a une forte affinité utilise les composés d'odeur, cette méthode peut être effectuée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (**Lardry et al., 2003**).

**7-1-6-1 Enfleurage à froid**

Ce procédé n'est plus fréquemment utilisé dans l'extraction, dédié aux très grandes qualités d'huiles florales. Les odeurs particulièrement sensibles peuvent également être capturées par Gonflement dans la graisse froide. Gonflement est en quelque sorte la partie royale du domaine Parfums, car ils aident également à maintenir les odeurs particulièrement sensibles dans sa qualité et sa pureté. Avaler de l'alcool est beaucoup plus simple et moins coûteux ; cependant, cette méthode n'est en aucune façon comparable à l'extraction gonflement olfactif au niveau de la qualité (**Möller, 2008**).

**7-1-6-2 Enfleurage à chaud**

C'est une extraction par gonflement à chaud dans la graisse. Pour ce faire, il est nécessaire de chauffer la graisse animale explicite (sinon Gel de pétrole ou de paraffine, matériaux plus modernes) dans une chaudière en lait à 60°C. Il faut presser les plantes et remplir la bouilloire. Deux fois plus souvent que nécessaire pour assurer un passage maximal d'odeurs dans la graisse. Ensuite, le processus de filtration est nécessaire pour séparer la graisse des fleurs.

**8. Mode d'administration des huiles essentielles :**

Il existe différentes méthodes d'utilisation des HEs. Nous pouvons les avaler, les respirer ou les utiliser en application directes sur la peau, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels :

- **La voie orale** : Cette voie ne peut être utilisée que sur conseils d'un médecin aromathérapeute (**Scimeca, 2006**). Nous conseillons de ne jamais prendre une huile pure dans

la bouche sous peine de désagréments qui peuvent aller jusqu'à la brûlure. Aussi, il ne faut jamais prendre plus de trois gouttes (**Scimeca, 2006 ; Garreta, 2007**). Dans cette voie l'huile essentielle peut être incorporée avec du miel, un morceau de sucre, de la mie de pain ou directement sur la langue.

- **La voie cutanée** c'est la voie idéale car efficace et sans danger. Généralement, les huiles sont utilisées à des concentrations très diluées (trois gouttes dans une cuillerée à café). Généralement les huiles essentielles sont utilisées de façon diluée en massage ou mélangée avec une huile végétale ou simplement en application selon la zone et/ou l'affection à traiter. D'autres formes sont aussi possibles : pommades, bain, etc... (**Scimeca et al., 2005 ; Zahalika, 2010**).

- **La voie olfactive** à diffuser ou à respirer. Les HEs s'absorbent vite par toutes les petites cellules ciliaires (**Athamnia et al, 2018**).

Dans tous les cas, les HEs pénètrent dans notre corps pour atteindre la circulation sanguine afin d'être acheminées jusqu'au site d'action (**Festy, 2011**).

*Chapitre II :*  
*Matière végétale*

### Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

*Syzygium aromaticum* (*Eugenia aromaticum* ou *Eugenia caryophyllata*), sont les bourgeons de fleurs séchées d'un arbre aromatique (Singh et al., 2015). Il appartient au genre *Eugenia*, l'un des 75 genres (~ 3000 espèces), famille des *Myrtaceae*. Il est communément connu sous le nom de clou de girofle. Il est utilisé comme épice dans les cuisines dans de nombreuses régions du monde (Singh et al., 2012). Originaire de l'île des Moluques (Indonésie). Il a été introduit au début du XVIII<sup>e</sup> siècle dans différentes parties du monde : le Zanzibar, l'Inde, le Madagascar (Gaylor et al., 2014), le Sri Lanka, la Chine, l'Indonésie, la Malaisie, le Brésil, la République Malgache, la Jamaïque et la Guinée (Singh et al., 2012).

Il est bien connu dans la préparation des aliments, comme agent anticancéreux et comme remède traditionnel pour l'asthme, le trouble du système digestif, les troubles dentaires, les troubles respiratoires, les maux de tête et les maux de gorge dans les pays asiatiques (Lee et al., 2009). En médecine traditionnels, il est largement utilisé pour le traitement de la dyspepsie, la gastrite, la diarrhée. Ainsi que comme antipyrétique, aphrodisiaque, apéritif, expectorant, antiémétique, anxiolytique, myorelaxant, analgésique, décongestionnant, anti-inflammatoire et hypnotique (Singh et al., 2012). Outre les propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antivirales, l'huile essentielle de *S. aromaticum* présente des activités anti-inflammatoires, cytotoxiques et anesthésiques (Lee et al., 2009).

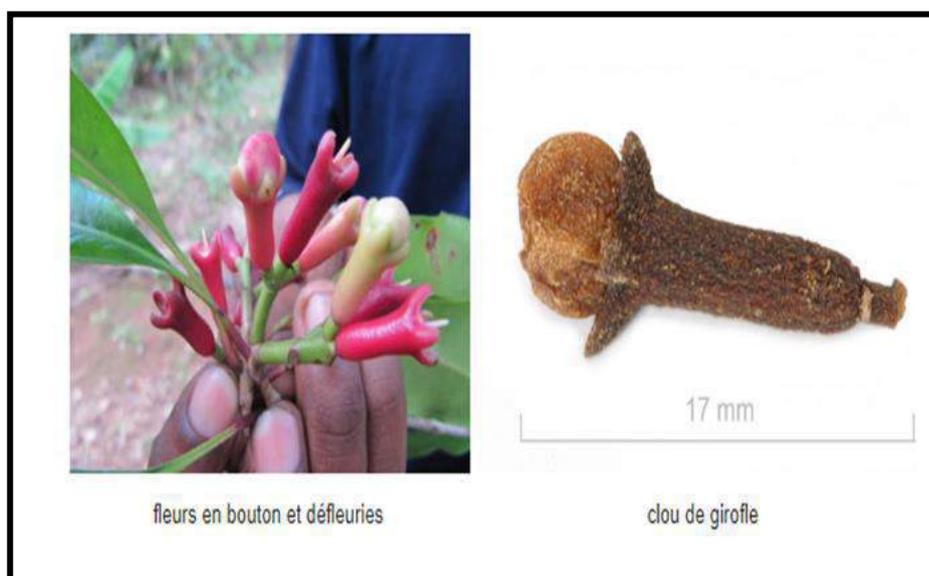


Figure 1.3: Bouton floraux de clou de girofle

(<https://uses.plantnet-project.org>)

### La cannelle (*Cinnamomum aromaticum*)

La cannelle appartient au genre *Cinnamomum*, famille des *Lauraceae*. Elle contient plus de 300 arbres et arbustes aromatiques à feuilles persistantes. Quatre espèces ont une grande importance économique pour leurs utilisations culinaires multiples comme les épices communes, y compris la cannelle *zeylanicum* Blume (un synonyme de cannelle verum J. Presl, connu comme la cannelle du Sri Lanka), Cinnamon loureiroi Nees (connu comme la cannelle vietnamienne), *Cinnamon burmanni* (Nees & T. Nees) Blume (cannelle indonésienne) et Cannelle *aromaticum* Nees (synonyme de *Cinnamon cassia* (L.) J. Presl, connue sous le nom de cannelle chinoise) (Nabavi et al., 2015). La cannelle a été longtemps utilisée dans les pays de l'Est comme un conservateur et à usage médicinal (Yang et al., 2012). Elle a une réputation comme un remède efficace pour les rhumes (Sharaf et al., 2011). En médecine ayurvédique, elle a été utilisée comme agent antiémétique, anti-diarrhémique, anti-flatulente et stimulant (Nabavi et al., 2015).



Figure 1.4 : Diverses cannelles (*C. aromaticum* à gauche)

(<https://uses.plantnet-project.org>)

*Chapitre III :*  
*Les levures*  
*du genre Candida*

## 1- Introduction

Les levures du genre *Candida* sont des champignons très pathogènes qui se trouvent dans l'organisme à l'état commensal, exclusivement dans les muqueuses respiratoires, digestives et vaginales. Cependant, les espèces du genre *Candida*, particulièrement *Candida albicans*, sont capables de passer de l'état commensal à l'état pathogène en causant des infections nommées candidoses (Odds, 1988).

*Candida albicans*, par sa fréquence et sa gravité, se situe au premier rang des infections fongiques (Bodey et al., 2002 ; Samaranayake et al., 2002).

Depuis quelques années, il y a eu une émergence des espèces de *C. non albicans*, essentiellement *C. glabrata*, isolée avec une prévalence de 5 à 15 % (Sobel, 1998).

## 2-Les espèces du genre *Candida*

### 2-1 *Candida albicans*

*Candida albicans* est en augmentation en tant que pathogène opportuniste causant la candidémie et la candidose dans le monde entier. En outre, d'autres espèces de *Candida non albicans* sont maintenant associées à des infections pertinentes. Il s'agit notamment du *C. dubliniensis*, qui partage de nombreuses similitudes phénotypiques avec le *C. albicans*. Ces similitudes posent des problèmes dans l'identification des isolats et ont déjà mené à une mauvaise identification de ces espèces. Les infections liées aux implants en particulier sont un problème important dans ce contexte. Ces infections sont associées à des dispositifs médicaux à demeure, comme des cathéters, des stimulateurs cardiaques et des articulations prothétiques, qui fournissent des surfaces pour la formation de biofilms (Donlan, 2001; Douglas, 2002; 2003; Kojic et Darouiche, 2004). Les cellules de *C. albicans* peuvent atteindre un dispositif à demeure par une brèche occasionnelle de la barrière du tube digestif (Saiman et al., 2000) ou, peut-être, par une contamination externe.

### 2-2 *Candida Non albicans*

Les espèces de *Candida non albicans* (NAC) ont été impliquées comme agents pathogènes majeurs chez les patients atteints de candidémie nosocomiale. Peu d'études ont étudié l'impact de la fongémie NAC chez les patients pédiatriques en dehors du groupe d'âge néonatal (Dutta et Palazzi, 2011).

La candidémie causée par les *Candida non-albicans* spp. est particulièrement préoccupante en raison de sa forte résistance aux médicaments et de l'augmentation de sa prévalence (Chi et al., 2011). Dans la pratique clinique, l'identification précoce de candidémie non-albicans est cruciale. Les espèces NAC les plus courantes sont *C. parapsilosis* (20 à 40 % de toutes les espèces de *Candida*), *C. tropicalis* (10 à 30 %), *C. krusei* (10 à 35 %) et *C. glabrata* (5 à 40%). Bien que ces quatre espèces soient les plus courantes,

au moins deux autres espèces émergent : *C. lusitaniae* responsable de 2 à 8 % des infections, et *C. guilliermondii* causant 1 à 5% (Kremery et Barnes, 2002).

### 3- Caractéristiques des levures du genre *Candida*

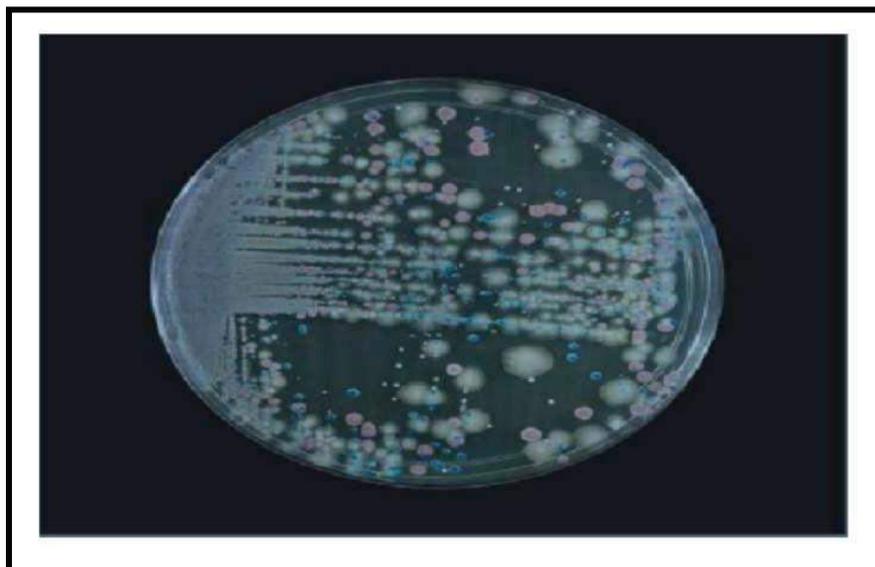
Les *Candida* sont des levures asexuées classées dans le groupe des *Fungi perfecti*, elles font partie du phylum des Ascomycètes de la classe des Saccharomycètes, dont la majorité est dimorphe, formant des cellules arrondies ou ovales non encapsulées avec un bourgeonnement typique, produisant des hyphes septés ou pseudohyphes (Dufresne, 2021).

#### - Culture sur milieu

Le milieu le plus adapté pour la culture des levures est le milieu Sabouraud additionné à un antibiotique afin d'empêcher la croissance des bactéries qui croissent plus rapidement. L'antibiotique le plus utilisé est le chloramphénicol et/ou gentamicine (Kayser, Bottger, 2008).

Dans le but d'avoir des colonies bien visibles et bien isolées, on utilise les boîtes de Pétri qui assurent une bonne surface au développement. L'ensemencement doit se faire en abondance et d'une manière stérile. L'écouvillon porteur de prélèvement, doit être frotté, tout en le roulant, sur toute la surface de la gélose. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48H (Dieng et al., 2012).

Des milieux chromogéniques peuvent être utilisés afin d'isoler différentes colonies avec différentes couleurs (figure 1.5), cela permet l'identification présomptive des espèces. La couleur de la colonie permet de mettre en évidence une activité enzymatique de type hexosaminidase. La couleur spécifique et définitive de la colonie de levure n'est obtenue qu'après 48h d'incubation (Sayada et al., 2010).



**Figure 1.5:** Culture de *Candida* sur milieu chromogénique mettant en évidence des espèces différentes de *Candida* (Pihet et al., 2013).

**- Aspect macroscopique des colonies**

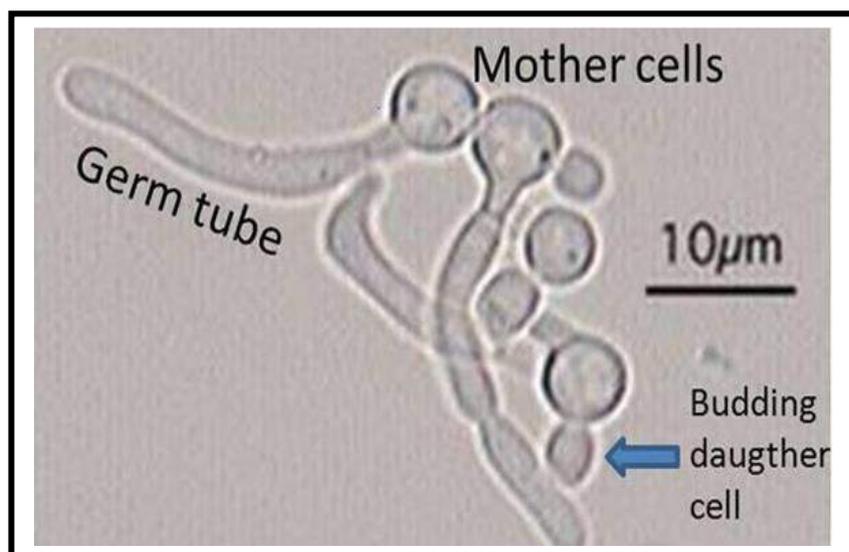
Les colonies de *Candida albicans* sont blanchâtres, crémeuses, lisses, qui poussent après 24 à 48h (**figure 1.6**) (**Benlaribi, 2018**).



**Figure 1.6 :** Colonies de *Candida albicans*  
(<http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com>)

**- Formation de tube germinatif**

*Candida albicans* ainsi que *Candida dubliniensis* ont la capacité de former des tubes germinatifs à partir des blastoconidies en présence du sérum sanguin bovin ou humain. Ce phénomène représente chez ces deux espèces un facteur de virulence potentiel dans leur pathogénèse. Les espèces incapables de former le tube germinatif semblent moins virulentes (**Benson et al., 2002 ; Saville et al., 2003**).



**Figure 1.7:** Tube germinatif chez *Candida albicans*  
(<https://onlinesciencenotes.com/>)

**- Formation de chlamydospores**

La formation de chlamydospore a longtemps servi à l'identification du *Candida albicans* pathogène humain, mais la fonction biologique de ces structures reste un secret. Ils ont été proposés pour permettre la survie dans des conditions environnementales difficiles, mais cette hypothèse reste à prouver. Les chlamydospores ne sont produites que par les deux espèces étroitement apparentées *C. albicans* et *Candida dubliniensis*, dont les habitats naturels sont les humains et les animaux à sang chaud, mais pas par d'autres espèces de *Candida* que l'on trouve également à l'extérieur des hôtes animaux (*Staib et Morschhäuser, 2007*).

Cependant, aucun rôle dans la pathogenèse des infections due à *Candida* n'a été attribué à ces cellules inhabituelles et seul un nombre limité d'études ont été menées dans le passé pour démêler leur fonction (*Staib et Morschhäuser, 2007*).



**Figure 1.8:** Chlamydosporulation chez *Candida albicans*  
(<https://www.researchgate.net>)

*Partie*  
*Expérimentale*

*Matériel*  
*&*  
*Méthodes*

Notre étude expérimentale a été scindée sur trois parties ; et avait tracé les objectifs suivants ;

- Extraire des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Syzygium aromaticum* et *Cinnamomun aromaticum*) ;
- Evaluer l'activité antioxydante de ces deux huiles essentielles par le test du pouvoir réducteur et le test de l'activité anti-radicalaire à l'égard DPPH ;
- Evaluer l'activité antifongique de ces deux huiles essentielles vis-à-vis de deux souches référenciées de *Candida albicans* (ATCC 10231, ATCC 10237).

## **Première Partie**

Cette première partie a été réalisée au laboratoire de pharmacologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires ; Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

### **1- Matériel végétal**

Deux plantes médicinales ont été utilisées au cours de cette étude à savoir le clou de girofle et la cannelle.

Les échantillons du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) originaire d'Indonésie ; et de la cannelle (*Cinnamomum aromaticum*) originaire de chine ont été achetés au près d'un magasin spécialisé dans la vente des épices dans la wilaya de Tiaret.

### **2- Extraction des huiles essentielles**

#### **2-1 Mode opératoire**

Les clous de girofle et les tuyaux de la cannelle ont été concassé à l'aide d'un mortier et d'un pilon afin d'éclater les cellules et de permettre la libération des molécules volatiles.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydro-distillation (figure 2-1) ; où nous avons introduit la matière première végétale (cannelle : 30g et clou de girofle : 20g) dans un ballon d'un litre imprégné de 500ml d'eau distillée. Le tout est ensuite porté à l'ébullition à pression atmosphérique pendant 2 heures et demi pour le clou de girofle, et jusqu' à 3 heure pour la cannelle ; la chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

#### **2-2 Traitement de l'extrait**

Après décantation, l'eau est rejetée et la phase huileuse est récupérée par une micropipette, puis séchée par le sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (Eyob et al., 2008).

L'huile essentielle extraite (*Cinnamomum aromaticum* : 2.28%; *Syzygium aromaticum* : 8.78%) a été conservée à 4 °C dans des fioles scellées hermétiquement et couvertes de papier aluminium jusqu'à leurs utilisation ultérieure.



**Figure 2-1** : Dispositif d'hydro-distillation lors d'extraction des huiles essentielles

### 2-3 Calcul du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage, il est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = (M_{HE} / M_s) \times 100$$

Où :  $R_{HE}$  : Rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage.

$M_{HE}$  : Masse de l'huile essentielle en gramme.

$M_s$  : Masse de la matière végétale sèche en gramme.

## Deuxième partie

Cette deuxième partie a été réalisée au laboratoire de pharmacologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires ; Université Ibn Khaldoun de Tiaret, dans le but d'évaluer l'activité antioxydante des deux huiles essentielles :

### 1- Pouvoir réducteur

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite par **Zubia et al. (2007)** légèrement modifié. Un mélange de volume égaux d'huile essentielle, solution tampon et de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1% a été préparée et incubé dans pendant 20 min à 50°C. Après incubation, 0.5ml d'acide trichloracétique (TCA) à 10% a été ajouté à ce mélange. Le tout a subi une centrifugation à 3000tr pendant 10min. Par la suite, 1ml du surnageant est mélangée avec 1ml d'eau distillée et 0.5ml chlorure ferrique ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) à 0.1%. L'absorbance du ce mélange mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante.

La valeur de la concentration efficace médiane ( $EC_{50}$ ) pour la capacité réductrice est obtenue à partir des courbes à régression linéaire (**Chang et al., 2007**).

L'acide ascorbique a été utilisé comme molécule standard. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes  $\pm$  écart type (SD) en mg/ml.

### 2- Activité anti-radicalaire à l'égard DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Le test de piégeage des radicaux DPPH a été évalué selon la méthode décrite par **Lim et al. (2007)**. Deux ml de concentrations finales de chaque huile essentielle ont été ajoutés à 0,4 ml d'une solution éthanolique à 0,5 mM de DPPH. Après 30 min à température ambiante, l'absorbance a été enregistrée à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH en pourcentage (DPPH I%) a été calculée comme suit :

$$\text{DPPH I\%} = \left[ \frac{(A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}})}{A_{\text{Témoin}}} \right] \times 100$$

Des antioxydants synthétiques (quercétine, acide gallique et acide ascorbique) ont été utilisés comme contrôle positif. L'activité antiradicalaire a été exprimée en concentration inhibitrice médiane ( $IC_{50}$ ) et a été révélée en mg/ml. La  $IC_{50}$  a été calculée à partir du graphique tracé de l'activité de piégeage par rapport à l'échantillon et à la concentration standard. Tous les tests ont été effectués en triplicata et les résultats ont été exprimés en valeurs moyennes  $\pm$  écart type (SD).

**Troisième Partie**

Cette troisième partie a été réalisée au laboratoire pédagogique de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

**1- Confirmation des souches de *Candida albicans* à testées****1-1 Examen à l'état frais****- Technique**

Un frottis frais a été préparé à partir des cultures de 2 souches de *Candida albicans* référenciées (ATCC10237 et ATCC10231) afin d'observer les cellules bourgeonnantes. Une colonie pure a été étalée sur une goutte d'eau distillée stérile, puis le frottis a été couvert avec une lamelle et observé sous microscope optique (OPTIKA) au grossissement 40X et au grossissement 100X.

**- Lecture**

Les levures de *Candida albicans* sont des cellules de grandes tailles de 4 à 6µm de long, bourgeonnantes, avec une forme ronde ou ovale (Chabasse *et al.*, 2006).

**1-2 Examen à l'état fixé (coloration simple au bleu de méthylène)****- Technique**

Un frottis fixé a été préparé à partir des cultures des deux souches de *Candida albicans*, puis a été coloré par le bleu de méthylène (laisser agir le colorant une minute puis rincer à l'eau distillée). Ensuite, on l'observe sous microscope optique (OPTIKA) au grossissement 40X et au grossissement 100X.

**- Lecture**

Les cellules de *Candida albicans* apparaissent en forme ovoïde, colorées en bleu.

**2- Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles****2-1 Tests de sensibilité**

Le test de sensibilité a été réalisé sur des souches fongiques référenciées de *Candida albicans* (ATCC10237 et ATCC10231) afin d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles étudiées, par la méthode de diffusion sur gélose, appelée aromatogramme. Son principe repose sur la diffusion des composants majeurs de l'huile essentielle mis en contact avec les germes cibles, tout en formant des zones d'inhibition. L'effet antimicrobien est alors évalué en mesurant le diamètre de cette zone d'inhibition (Ponce *et al.*, 2003).

**2-2 Protocole expérimental**

Tout d'abord, des inocula standards ont été préparés à partir des cultures des deux souches de *Candida albicans*, en mettant quelques colonies (cultures de 18h) en suspension

dans 9ml d'eau distillée stérile, puis en agitant pendant quelques secondes au vortex. Une lecture de densité optique a été faite sur spectrophotomètre UV-visible (JENWAY 7205), selon la loi de Mc Farland 2 ( $6 \cdot 10^8$  UFC/ml).

Ces inocula ont étéensemencées à l'aide des écouvillons sur gélose Sabouraud coulée préalablement en boîte de Pétri de 90mm de Ø, à raison de 20ml par boîte. Ensuite, des disques de cellulose stériles (papier Wattman N° 40 d'un diamètre de 6mm) préalablement imbibés avec 10 µl d'huile essentielle de *S. aromaticum* et d'autres avec 10µl d'huile essentielle de *C. aromaticum* ont été déposés sur la surface de la gélose Sabouraud préalablementensemencée à l'aide une pince métallique stérile. Des témoins négatifs ont été utilisés (disques imprégnés de 10µl d'eau physiologique stérile). L'expérience a été effectuée en triplicata pour chaque HE vis-à-vis des deux souches de *Candida albicans*. Enfin, les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24h.

Après incubation, la lecture a été fait en mesurant le diamètre des zones d'inhibition obtenues autour des différents disques à l'aide d'une règle graduée.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition selon la technique de **Belaich et al. (1979)** comme suit :

- Diamètre = 0 mm : Souche résistante
- Diamètre = 5 mm : Souche peu sensible
- Diamètre = 10 mm : Souche sensible
- Diamètre = 20-30 mm : Souche assez sensible
- Diamètre > 30 mm : Souche très sensible

### **2-3 Détermination des concentrations minimales (CMI) et des concentrations minimales fongicides (CMF) des HEs étudiées par la méthode de micro-dilution**

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des deux huiles essentielles (*Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum aromaticum*) à l'égard des souches fongiques de *Candida albicans* a été réalisée par la méthode de dilution en série sur des microplaques en matière plastique comportant 96 puits à fond « U » (8 rangées de 12 puits numérotés de 1 à 12) en bouillon Sabouraud selon les recommandations du CLSI (**CLSI, 2006 ; NCCLS, 1999**).

Des inocula standards ont été préparé comme précédemment décrite. Les concentrations de départ des solutions des huiles essentielles étaient de 10µl/ml pour chaque huile essentielle. Des dilutions de demi en demi en série des huiles essentielles ont été réalisées. L'inoculum a été ajouté à tous les puits et les plaques ont été incubées à 37 ° C pendant 24h. Pour chaque expérience, un contrôle positif (milieu inoculé) et un contrôle négatif (milieu seul) ont été utilisés. La croissance fongique a été visualisée en ajoutant de la

solution aqueuse à 0.5% de chlorure de 2, 3, 5- triphényl- tétrazolium (TTC) (**Radulovic et al., 2011**). La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la concentration la plus faible des huiles essentielles qui inhibe la croissance visible (la formation de pastille de couleur rouge au fond du puits après l'addition de TTC), tandis que la concentration minimale fongicide (CMF) a été définie comme la plus faible concentration des huiles essentielles qui tue 99.9% des cellules fongiques.

Pour déterminer la CMF, 10 $\mu$ L de bouillon a été prise de chaque puits sans croissance visible et inoculée sur la gélose Sabouraud et incubée pendant 24h à 37° C.

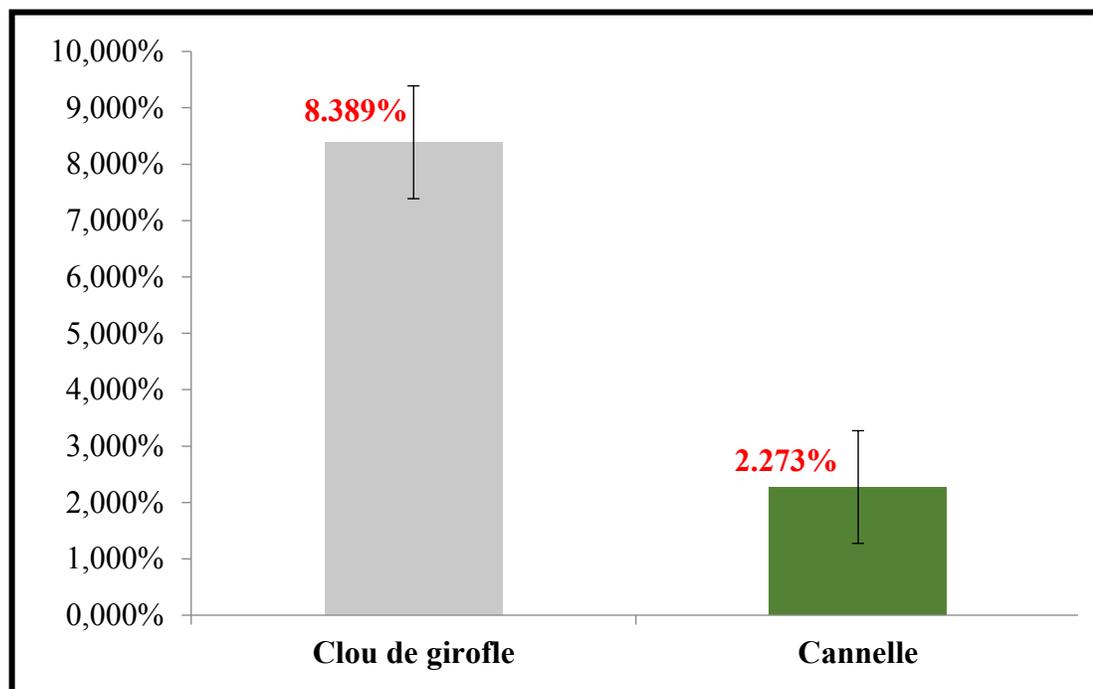
Lorsqu'il y a une reprise de croissance, la concentration est dite fongistatique (CMF) (**Bajpai et al., 2010**), en revanche, s'il n'y en a plus, elle est appelée fongicide (CMF) (**Manohar et al., 2001 ; Zarrin et al., 2010 Džamić et al., 2010**). Les CMI et les CMF ont été exprimées en  $\mu$ l/ml (**Bajpai et al., 2010**). Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

L'huile essentielle était considérée comme fongicide si le rapport du CMF au CMI ne dépassait pas la valeur 4. Avec un ratio supérieur à 4 et inférieur à 32, l'huile essentielle était considérée comme fongistatique. La souche fongique est considérée tolérante à l'huile essentielle si le rapport CMF / CMI est supérieur ou égal à 32 (**Cutler et al., 1994**).

*Résultats*  
*&*  
*Discussion*

### 1. Rendement en huile essentielle

Les huiles essentielles ont été extraites des matériaux végétaux secs de deux plantes largement commercialisées en Algérie à savoir *Cinnamomum aromaticum* et *Syzygium aromaticum*. Le rendement en huile essentielle a été exprimé en pourcentage % (p/p).



**Figure 2.2:** Rendement en huiles essentielle de clou de girofle et de la cannelle

La figure 2.2 montre que les rendements moyens en huiles essentielles de *Cinnamomum aromaticum* et *Syzygium aromaticum* ont fourni un taux d'environ 2.273 % (p/p) et 8.389 % (p/p), respectivement.

#### ▪ *Syzygium aromaticum*

Le rendement en huile essentielle de *Syzygium aromaticum* obtenu lors de la présente étude a été de 8.389 % (p/p). Notre résultat est conforme aux normes de AFNOR (1992) qui rapporte que le rendement en huile essentielle de *Syzygium aromaticum* varie entre 5% et 8%. Des résultats proches ont été cités par Ayoola et al. (2008) et Sokomate et al. (2016) obtenus par la méthode d'hydrodistillation avec des taux de 7% et 7.6%, respectivement. Toutefois, des taux supérieurs ont été rapportés par Guan et al. (2007) avec des taux de 11.5%, 19.6% et 10.1% obtenus par la méthode d'hydrodistillation, d'extraction par fluide supercritique et de distillation par entrainement à la vapeur d'eau, respectivement. De même, Selles et al. (2020) et Nana et al.

(2015) ont enregistré respectivement des rendements de 11.6% et 10.54% pour la même méthode d'extraction. Cependant, des taux plus inférieurs ont été mentionnés par **Alitonou et al. (2012)**, **Rodríguez et al. (2014)** et **Saeed et Shahwar (2015)** avec des pourcentages de 0.18%, 2.2% et 2.1%, respectivement.

Cette différence dans le rendement peut être expliquée par la saison de récolte et l'origine géographique (**Nana et al., 2015**), la technique d'extraction (température et pression exercées sur les particules) (**Guan et al., 2007**), les conditions de séchage (**Naili, 2013**). Toutefois, **Guan et al. (2007)** montrent que le rendement d'extraction augmente en diminuant la taille des particules des boutons de clou de girofle broyés. Néanmoins, **Nana et al. (2015)** montrent qu'il n'y a pas de différence significative dans le rendement en huile essentielle de clou de girofle attribuée à la différence de taille des particules.

### ▪ *Cinnamomum aromaticum*

Dans la présente étude, le rendement moyen en huile essentielle de la cannelle a été de 2.273% (p/p). Des taux similaires ont été obtenus par **Li et al. (2013)**, **Huang et al. (2014)** et **Jeyaratnam et al. (2016)** avec des rendements moyens variant de 2.38% à 2.76%. Cependant, un taux inférieur à 1.82% a été signalé par **Kasim et al. (2014)**. Egalement, **Deng et al. (2014)** ont enregistré un taux de 1.69% pour *Cinnamomum cassia*, provenant de la province du Guangdong (Chine du Sud).

Cette différence dans le rendement peut être attribuée à la situation géographique, la culture, la variété de la cannelle, le temps de récolte et la méthode d'extraction affecte le rendement et la composition de l'huile essentielle (**Adinew, 2014 et Bernard et al., 1989**).

## 2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir réducteur et la capacité de piégeage du radical libre DPPH.

Le pouvoir réducteur est basé sur la capacité des antioxydants à réduire les ions ferriques Fe<sup>+3</sup> de complexe ferricyanure en ion ferreux (Fe<sup>+2</sup>) par la donation d'un électron de l'antioxydant alors que le dosage du DPPH est basé sur le piégeage du DPPH• stable par un antioxydant (Le test de DPPH mesure la capacité de l'huile essentielle à donner de l'hydrogène au radical DPPH, aboutissant au blanchiment de la solution de DPPH). Les différents tests ont été menés avec des standards et les huiles essentielles à différentes concentrations. Les EC<sub>50</sub> et les IC<sub>50</sub> calculées sont rapportées dans le tableau 2.1.

**Tableau 2.1:** Activité antioxydante des huiles essentielles de cannelle et de clou de girofle

Extraits /Standard	FRAP (EC <sub>50</sub> ) mg/ml	DPPH (IC <sub>50</sub> ) mg/ml
Vit C	0.02516 ± 0.00227	0.00594 ± 0.00186
Huile essentielle de la cannelle	14.75 ± 0.3	13.61 ± 0.19
Huile essentielle de clou de girofle	0.01641 ± 0.00022	0.00574 ± 0.0003

## 2.1 Pouvoir réducteur

### *S. aromaticum*

Un EC<sub>50</sub> de 16.41µg/ml a été noté au cours de la présente étude. Ce résultat est inférieur à celui cité par **Zhang (2015)** avec une valeur de 683.4µg/ml. Des études antérieures ont montré la plus forte capacité de l'huile essentielle de clou de girofle, à différentes concentrations analysées, à réduire le fer (**Viuda-Martos et al., 2009** et **Saeed and Shahwar, 2015**). Ces résultats ont suggéré que l'huile essentielle des boutons de clou de girofle à une puissance remarquable pour donner l'électron aux radicaux libres et le convertir en espèces non-réactives plus stables.

#### ▪ *Cinnamomum aromaticum*

La valeur de l'EC<sub>50</sub> de l'huile essentielle a été de 14.75mg/ml. Une valeur inférieure a été enregistrée par **Selles (2019)** avec une valeur de 7.85µg/ml. Cette différence peut être expliquée par les traitements de radiation utilisés pour la conservation de ces produits.

## 2.2 Activité anti-radicalaire (DPPH)

### ▪ *Syzygium aromaticum*

Un IC<sub>50</sub> de 5.74µg/ml a été noté au cours de la présente étude. Des résultats supérieurs à celui affiché par notre étude ont été mentionnés par (**Sokamte et al., 2016**) (23,17µg/ml), **Mahboubi et Mahboubi (2015)** (26µg/ml), **Singh et al. (2015)** (80µg/ml), **Zhang et al. (2015)** (396,3µg/ml) et **Viuda-Martos et al., (2010)** (380µg/ml). Cependant, des valeurs inférieures ont été enregistrées par **Saeed and Shahwar (2015)** et **Chaieb et al. (2007)** avec des IC<sub>50</sub> de 4.5µg/ml et 0.2 µg/ml, respectivement. La présente étude a été caractérisée par un IC<sub>50</sub> de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* inférieur à celui de la molécule standard utilisée. Le même constat a été signalé par **Singh et al. (2015)** ; **Viuda-Martos et al., (2010)** et **Chaieb et al. (2007)**.

La puissante activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle peut être attribuée à sa richesse en Eugénol et l'Acétate d'Eugényle (**Kennouche et al., 2015**).

### ▪ *C. aromaticum*

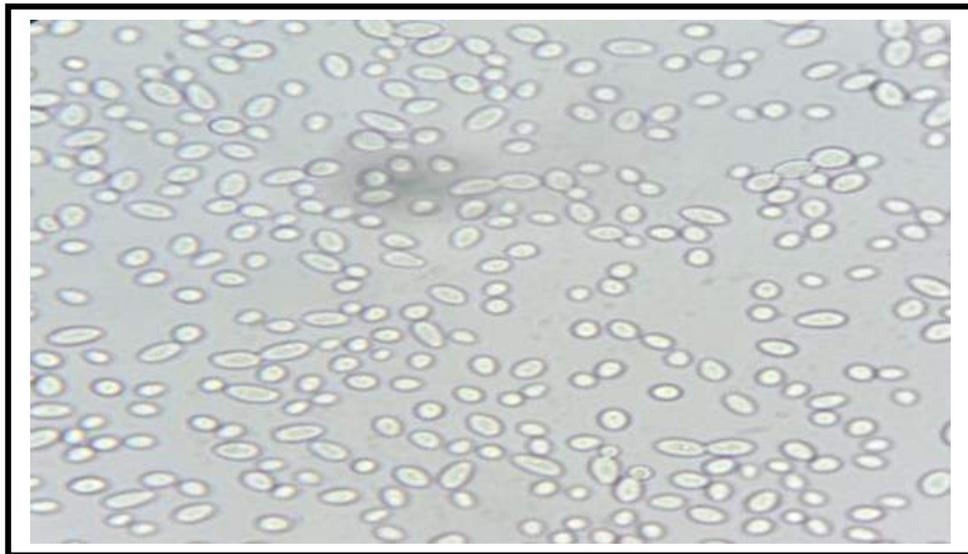
La valeur de IC<sub>50</sub> obtenu au cours de cette étude a été de 13.61 mg/ml. Des IC<sub>50</sub> faibles ont été rapportés par **Yang et al. (2012)** pour les différentes parties du cannellier variant de 72µg/ml à 208µg/ml. Cependant, **Brodowska et al. (2016)** ont montré des concentrations plus faibles à celle mentionnée dans la présente étude avec une valeur de 0,147µg/ml pour *Cinnamomum verum*.

### 3- Activité antifongique

#### 3-1-Confirmation des souches référenciées de *Candida albicans* à testées

##### 3-1-1 Examen microscopique du frottis de *Candida albicans* à l'état frais

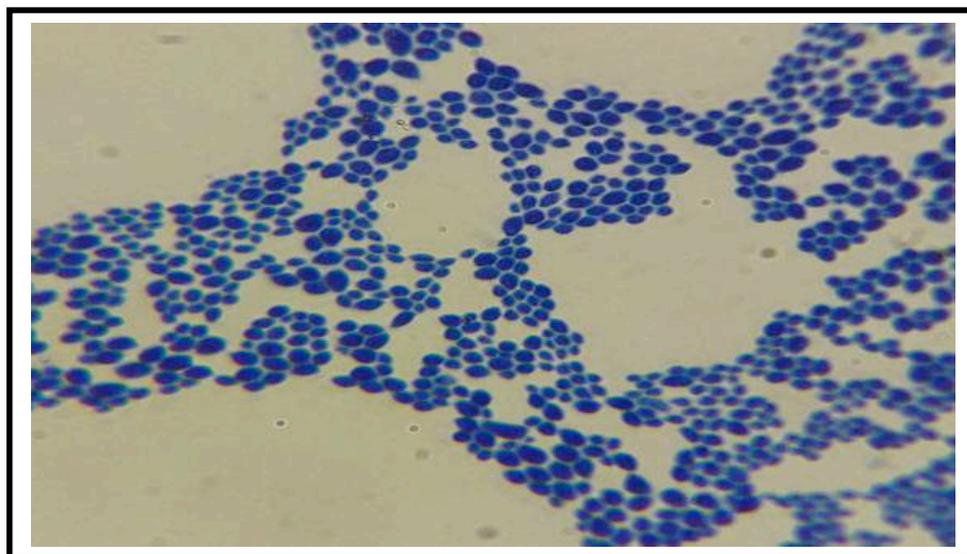
Sous microscope et au grossissement X40 puis au grossissement X100, les cellules de *Candida* apparaissaient transparentes, d'une grande taille et bourgeonnantes (figure 2.3).



**Figure 2.3:** Observation microscopique de *C. albicans* ATCC 10237  
GX100

##### 3-1-2 Examen microscopique du frottis de *Candida albicans* à l'état fixé

Sous microscope et au grossissement X100, les cellules de *C. albicans* apparaissaient fixées, d'une forme ovoïde de grande taille, colorées en bleu et bourgeonnantes (figure 2.4).



**Figure 2.4:** Observation microscopique de *C. albicans* ATCC 10237 coloré en bleu de méthylène GX100.

### 3-2 Détermination de la sensibilité

Les résultats de l'aromatogramme des HEs de *Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum aromaticum* sur la croissance des deux souches de référence de *Candida albicans* testées (ATCC 10231 et ATCC 10237) sont représentés dans le tableau 2.2 et les figures 2.5, 2.6, 2.7 et 2.8.

**Tableau 2.2 :** Halos d'inhibition en (mm) (moyenne  $\pm$  écart type) provoqués par les huiles essentielles testées.

Souches	HE de <i>Syzygium aromaticum</i>	HE de <i>Cinnamomum aromaticum</i>
<i>C. albicans</i> ATCC10237	30.67 $\pm$ 1.15	80 $\pm$ 5.29
<i>C. albicans</i> ATCC10231	29.33 $\pm$ 1.15	72.67 $\pm$ 8.33
<b>Appréciation</b>	<b>Assez sensible à très sensible</b>	<b>Très sensible</b>

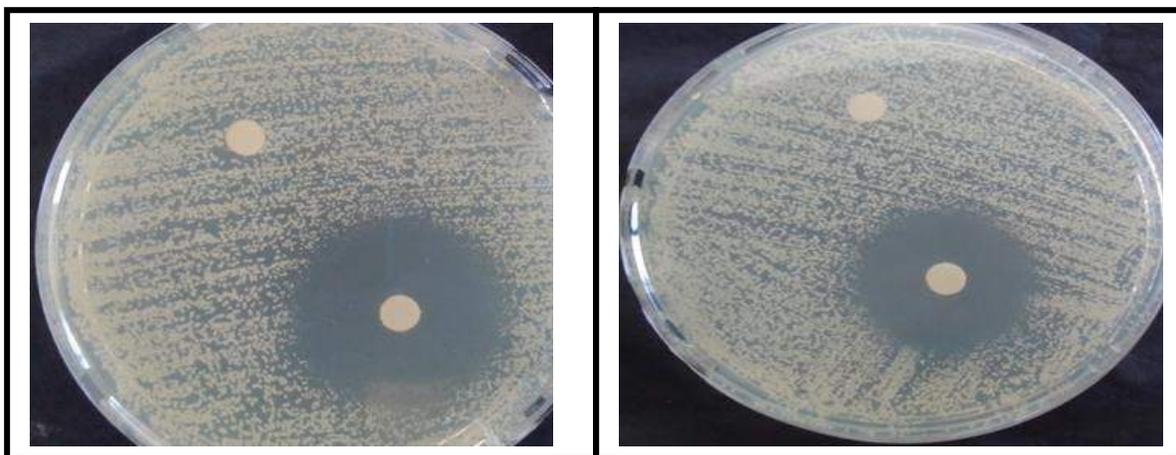
\*Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.

Les deux huiles essentielles testées ont montré leur efficacité vis-à-vis des deux souches de références de *Candida albicans*. Ces deux souches ont été très sensible à ces deux huiles essentielles selon l'interprétation de **Belaich et al. (1979)** excepté la souche *C. albicans* ATCC10231 qui a été classé assez sensible à l'égard de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*. L'HE de *Cinnamomum aromaticum* a possédé l'activité antifongique la plus élevée, avec un diamètre d'inhibition allant de 72  $\pm$  8.33 à 80  $\pm$  5.29mm. Tandis que, l'HE de *Syzygium*

*aromaticum* a présenté une activité antifongique moindre par rapport à celle L'HE de *Cinnamomum aromaticum* avec des diamètres de la zone d'inhibition allant de  $29.33 \pm 1.15$  à  $30.67 \pm 1.15$  mm.

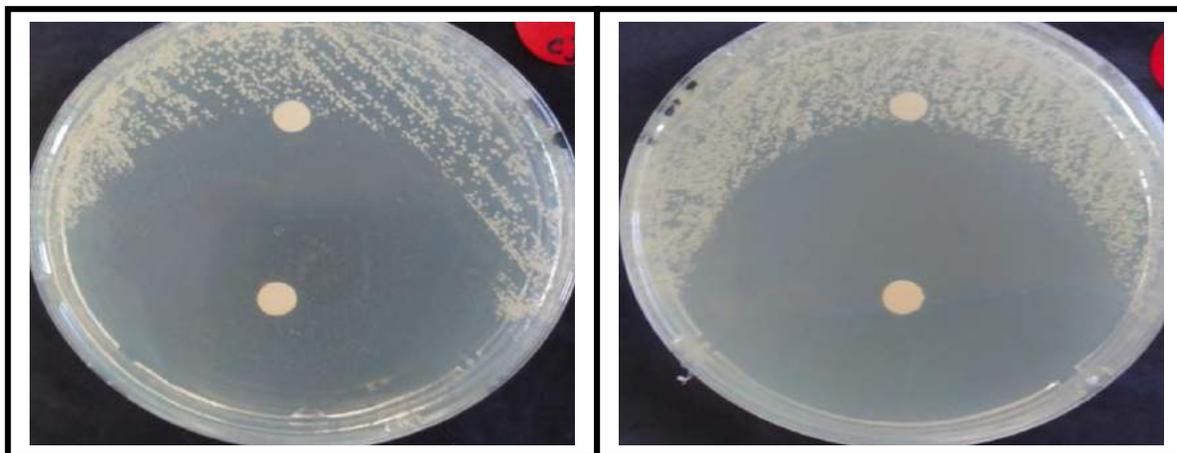
**Smail (2022)** et **Sameer et Badri (2017)** ont enregistré des zones d'inhibitions proches à celles observés dans la présente étude pour l'huile essentielle avec des diamètres de  $29.67 \pm 0.58$  à  $32.33 \pm 2.52$  mm et 32 mm, respectivement. Une zone d'inhibition plus élevée a été mentionnée par **Simiat et al. (2017)** avec un diamètre de 44 mm.

Les souches de référence de *Candida albicans* sont montrées très sensible vis-à-vis de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* avec un diamètre d'inhibition allant de  $72 \pm 8.33$  à  $80 \pm 5.29$  mm. Une zone d'inhibition plus faible a été observée pour la même huile essentielle à l'égard d'une souche de référence de *Candida albicans* avec un diamètre de  $48 \pm 2.64$  mm (**Laaradj et al., 2018**).



**Figure 2.5:** Test de sensibilité de *C. albicans* ATCC10237 vis-à-vis de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

**Figure 2.6:** Test de sensibilité de *C. albicans* ATCC10231 vis-à-vis de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*



**Figure 2.7:** Test de sensibilité de *C. albicans* ATCC10237 vis-à-vis de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum*

**Figure 2.8:** Test de sensibilité de *C. albicans* ATCC10231 vis-à-vis de l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum*

### 3-2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF)

Les deux huiles essentielles ont été testées par la méthode de dilution en milieu liquide (micro-dilution) sur les deux souches de référence de *Candida albicans*. Les CMI et les CMF des deux huiles essentielles étudiées sont présentées dans le tableau 2.3.

**Tableau 2.3:** CMI et CMF des deux huiles essentielles testées, nécessaires pour l'inhibition totale de la croissance fongique in vitro, exprimée en solution  $\mu\text{l/ml}$  ( $n = 3$ )

	HE de <i>Syzygium aromaticum</i>			HE de <i>Cinnamomum aromaticum</i>		
	CMI	CMF	CMI/CMF	CMI	CMF	CMI/CMF
<i>C. albicans</i> ATCC10237	0.625	2.5	4	0.156	0.156	1
<i>C. albicans</i> ATCC10231	0.625	5	8	0.156	0.156	1

#### ▪ *S. aromaticum*

L'huile essentielle de *S. aromaticum* a exercé des CMI de  $0.625\mu\text{l/ml}$  vis à vis des deux souches de référence. Cependant, la concentration minimale fongicide de cette huile essentielle a été de  $2.5\mu\text{l/ml}$  à l'égard de la souche *C. albicans* ATCC10237 et  $5\mu\text{l/ml}$  vis-à-vis de la souche *C. albicans* ATCC10231.

**Smail (2022)** a noté une CMI de 1.25µl/ml et une CMF de 10µl/ml à l'égard de *C. albicans* ATCC10237. Des CMI similaires ont été rapportés par **Pinto et al. (2009)** avec une dose de 0.64µl/ml. Toutefois, ces mêmes auteurs ont noté des CMF variant de 0.64 à 1.25µl/ml.

D'après nos résultats, le rapport CMF/CMI a été de 4 pour la souche *C. albicans* ATCC10237 et 8 pour la souche *C. albicans* ATCC10231. En se référant à **Cutler et al. (1994)**, l'HE de *S. aromaticum* a un pouvoir fongicide vis-à-vis la souche *C. albicans* ATCC10237 et un pouvoir fongistatique à l'égard de la souche *C. albicans* ATCC10231.

**Pinto et al. (2009)**, ont expliqué cette activité antifongique de l'HE du clou de girofle par la présence des phénols, principalement l'eugénol.

### ▪ *C. aromaticum*

La présente étude a enregistré une CMI et une CMF égales de l'ordre de 0.156µl/ml. **Laaradj et al. (2018)** ont noté une CMI de 0.0025% (v/v) et une CMF de 0.005% (v/v) vis-à-vis d'une souche de référence de *C. albicans*. **Merghache et al. (2010)** ont rapporté une CMI respective de 0.1014 µg/ml et 2.435 µg/ml vis-à-vis des souches *C. albicans* ATCC 10231 et *C. albicans* IP 444. Cependant, **Raharivelomanana et al. (1989)** ont montré que l'écorce de la même plante possède une CMI de 500µg/ml vis-à-vis de *C. albicans*. Alors que **Ferhout et al. (1999)** ont mentionné une CMI de 150 µg/ml pour l'huile essentielle de la cannelle de Ceylan.

D'après **Cutler et al. (1994)** notre huile essentielle a exercé un effet fongicide puisque le rapport CMF/CMI égal à 1. Un résultat similaire a été annoncé par **Laaradj et al. (2018)**.

*Conclusion*

La présente étude nous a permis de conclure que ;

Le rendement en huile essentielle du clou de girofle a été de 8.389 % (p/p), alors que celui de la cannelle a été de 2.273 % (p/p).

L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* a exercé une forte activité antioxydante avec une EC<sub>50</sub> et IC<sub>50</sub> respective de 16.41 µg/ml et 5.74 µg/ml comparativement à l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* qui a enregistré une EC<sub>50</sub> et IC<sub>50</sub> de 14.75 mg/ml et 13.61 mg/ml, respectivement.

Les résultats de l'activité antifongique évaluée par la méthode d'aromatogramme ont montré une bonne sensibilité des deux souches de *Candida* de référence à l'égard des huiles essentielles à tester avec des diamètres de zones d'inhibition qui ont varié de 72.67 ± 8.33 à 80 ± 5.29 mm pour l'huile essentielle de *Cinnamomum aromaticum* et de 29.33 ± 1.15 à 30.67 ± 1.15 mm pour celle de *Syzygium aromaticum*.

L'huile essentielle de *C. aromaticum* a exercé une activité fongicide avec une CMI et une CMF égaux de 0.156 µl/ml. Cependant, l'huiles essentielles de *S. aromaticum* a été fongicide à l'égard de *C. albicans* ATCC10237 avec des valeurs de CMI et CMF de 0.625 µl/ml et 2.5 µl/ml, respectivement. Toutefois, elle a été fongistatique vis-à-vis de *C. albicans* ATCC10231 (CMI=0.625µl/ml et CMF=5µl/ml).

A la lumière de cette étude nous recommandons ce qui suit :

- Etudier l'activité synergique (anti-fongique et antioxydante) d'un mélange de ces deux huiles essentielles,
- Elargir la gamme des souches fongiques à tester.

*Références  
Bibliographiques*

*A*

1. Adinew B. 2014. GC-MS and FT-IR analysis of constituents of essential oil from Cinnamon bark growing in South-west of Ethiopia. *Int J Herbal Med.* 1: 22-31.
2. AFNOR (Association Française de Normalisation). 1992. Recueil des normes françaises « Huiles essentielles », 4ème édition, Paris.
3. Ahmad I, Beg AZ. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacol.* 74 (2) : 113-23.
4. Alais C, Linden G et Miclo L. 2008. Biochimie alimentaire, DUNOD. 6ème édition, paris. pp. 67-71.
5. Alitonou A G, Tchobo F P, Avlessi F, Yehouenou B, Yedomonhan P, Koudoro A Y, Menut C et Sohounhloue D K. 2012. Chemical and biological investigations of *Syzygium aromaticum* L. essential oil from Be nin. *Int J Biol Chem Sci.* 6(3): 1360-1367.
6. Anton R et Lobstein A. 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. & Doc., Paris, 522p.
7. Athamnia I et Djaibet C Z G. 2018. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et du *Thymus capitatus* L. sur des agents d'otomycose : Cas d'*Aspergillus niger*.
8. ATTOU A. 2017. Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent).
9. Ayoola G A, Lawore F M, Adelowotan T, Aibinu I E, Adenipekun E, Coker H A B et Odugbemi T O. 2008. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *African Journal of Microbiology Research.* 2: 162-166.

*B*

10. Bajpai V K, Kang S C. 2010. Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 87: 327-336.
11. Beirão A R B and Bernardo-Gil M G. 2006. Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2<sup>nd</sup> Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal ; 8p.

12. Belaiche P. 1979. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 l'aromatogramme. Ed. Maloine. Paris
13. Benlaribi I H. 2018. Diagnostic mycologique. Cours 3ème année, sciences pharmaceutiques.
14. Benson E S, Filler S C et Berman J. 2002. A forkhead transcription factoris important for true hyphal as well as yeast morphogenesis in *Candida albicans*. Eukaryot Cell. 1: 787-798
15. Bernard T, Perineau F, Delmas M et Gaset A. 1989. Extraction of essential oils by refining of plant materials. II. Processing of products in the dry state: *Illicium verum* Hooker (fruit) and *Cinnamomum zeylanicum* Nees (bark). Flavour Fragrance J, 4: 85-90.
16. Besombes C. 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
17. Bodey G P, Mardani M, Hanna H A, Boktour M, Abbas J, Girgawy E, Hachem R Ym Kontoyiannis D P and Raad I I. 2002. The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans fungemia* in immunocompromised patients with cancer. Am J Med. 112: 380-385.
18. Bondet V, Brand-Williams W and Berset C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. Lebensm.-Wiss. U.-Technol., vol. 30 No6, p.609-615.
19. Bouhdid S, Idaomar M, Zhiri A, Baudoux D, Shali N S & Abrini J. 2006. *Thymus* essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. International congress of biochemistry, pp. 324-328.
20. Bouzouita N, kachouri F, Ben halima M, Chaabouni M M. 2008. Composition chimique et activités antioxydante , antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *juniperus phoenicea*. Journal de la société chimique de Tunisie .10 :119-125
21. Boz I, Burzo I, Zamfirache M M, Toma C et Padurariu C. 2009. Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae). Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie, pp.36-39.
22. Brodowska M, GUzek D ,Kolota A, Glabska D, Horcyczak E G, Wojtasik I M, Wierzicka A. 2016. Effect of diet on oxidation and profile of volatile compounds of pork after freezing storage. Journal of food and nutrition research : 55 (1) : 40-47
23. Bruneton J. 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. France.

24. Bruneton J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier 3ème édition, Paris.
25. Bruneton, J. 2009. Pharmacognosie –plantes médicinales. Lavoisier 4<sup>e</sup> éd, revue et augmentée, tec & Doc-edition médicinales internationales, Paris, 1288p.



26. Caillet S et Lacroix M. 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA).P:1- 8
27. Caldefie-Chezet F, Guerry M, Chalcat J C, Fusillier C, Vasson M.P. & Guilloteff J. 2003. Anti-inflammatoire et bactéricide de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* sur les polynucléaires neutrophiles humains : étude in vitro. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 142, pp. 113-142.
28. *Candida albicans*. <http://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2009/12/candida-albicans.html>
29. Carson C F, Hammer K A and Riley TV. 2006. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. Clin Microbiol Rev. 1 janv; 19 (1): 50-62.
30. Chabasse D, Robert R, Marot A et Pihet M. 2006. *Candida* pathogènes. Paris, Lavoisier, Editions TEC et DOC.
31. Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla- Nakbi A B, Rouabhia M, Mah- douani K et Bakhrouf A. 2007. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. *Myrtaceae*): a short review. Phytother Res. 21: 501-506.
32. Chi H W, Yang Y S, Shang S T, Chen K H, Yeh K M, Chang F Y & Lin J C. 2011. *Candida albicans* versus *non-albicans* bloodstream infections: the comparison of risk factors and outcome. Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 44(5), 369-375.
33. Chlamydospore chez *Candida albicans*, [https://www.researchgate.net/publication/301357163\\_CANDIDAL\\_INFECTION\\_EPIDEMIOLOGY\\_PATHOGENESIS\\_AND\\_RECENT\\_ADVANCES\\_FOR\\_DIAGNOSIS/figures?lo=1](https://www.researchgate.net/publication/301357163_CANDIDAL_INFECTION_EPIDEMIOLOGY_PATHOGENESIS_AND_RECENT_ADVANCES_FOR_DIAGNOSIS/figures?lo=1)

34. Chang H C, Huang G J, Agrawal D C, Kuo C L, Wu C R et Tsay H S. 2007. Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. *Botanical Studies*, 48: 397–406.
35. *Cinnamomum aromaticum*. [http://uses.plantnet-project.org/fr/Cinnamomum\\_aromaticum](http://uses.plantnet-project.org/fr/Cinnamomum_aromaticum)
36. CLSI. 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, 7th Ed.
37. Cutler N R, Sramek J J, Narang P N. 1994. Pharmacodynamics and Drug Development : Perspectives in Clinical Pharmacology. *John Wiley & Sons*, pp 491

## D

38. De Groot A C & Schmidt E. 2016. Tea tree oil: contact allergy and chemical composition. *Contact dermatitis*, 75(3), 129-143.
39. Degryse A C, Delpla I & Voinier M A. 2008. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.
40. Deng X, Liao Q, Xu X, Yao M and Zhou Y. et al. 2014. Analysis of essential oils from cassia bark and cassia twig samples by GC-MS combined with multivariate data analysis. *Food Anal Methods*, 7: 1840-1847.
41. Desmares C, Laurent A & Delerme C. 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.
42. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, and Mnif W. 2016. Essential Oils’Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*. 3 (4): 25.
43. Dieng Y, Sow D, Ndiaye M, Guichet E, Faye B, Tine R, Lo A, Sylla K, Ndiaye M, Abiola A, Dieng T, Ndiaye J L, Le Pape P et Gaye O. 2012. Identification de trois souches de *Candida africana* au Sénégal. *Journal de Mycologie Médicale*. 22 (4): 335-340.
44. Dongmo P M J, Tchoumboungang F, Ndongson B, Agwanande W, Sandjon B, Zollo P H A & Menut C. 2010. Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of *Canarium schweinfurthii* and *Aucoumea klaineana* (*Burseraceae*) growing in Cameroon. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 1 (4): pp. 606-611.
45. Donlan R M. 2001. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clin Infect Dis*33: 1387– 1392.

46. Douglas L J. 2002. Medical importance of biofilms in *Candida* infections. Rev Iberoam Micol 19:139– 143.
47. Douglas L J. 2003. *Candida* biofilms and their role in infection. Trends Microbiol 11: 30– 36.
48. Dufrensne P. 2021. Identification des champignons d'importance médicale. Institut national de santé publique. Québec.
49. Dupont F et Guignand J L. 2007. Botanique : Systématique moléculaire. 14eme Edition, Masson, Paris France. 188 p.
50. Dutta A & Palazzi D L. 2011. *Candida non-albicans* versus *Candida albicans* fungemia in the non-neonatal pediatric population. The Pediatric infectious disease journal, 30(8), 664-668.
51. Džamić A M, Soković M D, Ristić M S, Novaković M, Grujić-Jovanović S, Tešević, V, Marin P D. 2010. Antifungal and antioxidant activity of *Mentha longifolia* (L.) Hudson (*Lamiaceae*) essential oil. *Botanica serbica*. 34 (1): 57-61.



52. Edris A E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytother Res*. 21(4):308-23.
53. El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EA, Casablanca H. 2015. Essential oils : from extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* ; 483 (1-2): 220–243.
54. El Jemli M, Kamal R, Marmouzi I, Zerrouki A, Cherrah Y and Alaoui K. 2016. Radical-Scavenging Activity and Ferric Reducing Ability of *Juniperus thurifera* (L.), *J. oxycedrus* (L.), *J. phoenicea* (L.) and *Tetraclinis articulata* (L.). *Advances in Pharmacological sciences*. (6).
55. El-Mansouri Kh. 2013. Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse : Faculté de médecine et de pharmacie. Marrakech : Université Cadi Ayyad. 107p
56. Eyob S, Martinsen B K, Tsegaye A, Appelgren M et Skrede G. 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* ((Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology*, 7: 2585–2592.

F

57. Farhat A. 2010. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
58. Fasty D. 2007. Ma bible des huiles essentielles. Le duc Editions. P : 20.
59. Fekih N. 2014. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie. Chimie Organique Appliquée. Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaid – Tlemcen.
60. Ferhat M A, Meklati B Y, Chemat F. 2007. Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave dry' distillation. *Flavour Fragr J.* 22 (6) :494–504.
61. Ferhout H., Boha T. J. and Guillot J. 1999. Antifungal activity of selected essential oils, cinnamaldehyde and carvacrol against *Malassezia furfur* and *Candida albicans*. *Journal of Essential Oil Research.* 11: 119-129.
62. Festy D. 2011. Les huiles essentielles ça marche ! Avec 78 formules à commander en pharmacie, LEDUC.S EDITION. P. 22-26

G

63. Gachkar L, Yadegari D, Rezaei M.B, Taghizadeh M, Astaneh S A and Rasooli I. 2007. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.*, 102: pp.898-904.
64. Galvão L C C, Furletti V F, Bersan S M F, Cunha M G, Ruiz A L T G, Carvalho J E. 2012. Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects [Internet]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* [cité 16 juin 2019].
65. Garnéro J. 1996. Huiles essentielles. Techniques de l'Ingénieur, traité Constantes physico-chimiques; K 345-1, 39p.
66. Garreta R. 2007. Des simples à l'essentiel: de l'herboristerie à l'aromathérapie, pratiques et représentations des plantes médicinales, Presses Université. P : 308-312.
67. Gaylor R, Jahiel M, Duclos T, Panja Ramanoelina P, Fawbush F et Danthu P. 2014.

- Bud, leaf and stem essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from Madagascar, Indonesia and Zanzibar. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 3 (3) : 224-233.
68. Grûnwald J et Jancke C. 2004. Guide de la phytothérapie. Editions Marabout, 416 p.
69. Guan W, Ly S, Yan R, Tang S et Quan C. 2007. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*. 101 : 1558–1564.
70. Guezzen L .2019. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la région de Tlemcen. Thème de master. Université abou bekr belkaïd faculte de medecine Dr B. Benzerdjeb- Tlemcen



71. Haleng J, Pincemail J, Defraigne J O, Charlier C et Chapelle J P. 2007. Le stress oxydant. *Revue Medical de Liege*. 10: 628-638.
72. Hammer K A, Carson C F. 2011. Antibacterial and antifungal activities of essential oils. In: Thormar.
73. Huang D F, Xu J G, Liu J X, Zhang H et Hu Q P. 2014. Chemical constituents, antibacterial activity and mechanism of action of the essential oil from *Cinnamomum cassia* bark against four food-related bacteria. *Microbiology*, 83: 357-365.
74. Hassan W, Rehman S, Noreen H, Gul S, Neelofar and Ali N. 2016. Gas chromatography mass spectrometric (GCMS) analysis of essential oils of medicinal plants. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 4(8): 420-437
75. Hayes A J et Markovic B. 2003. Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (lemon myrtle). Part 2. Absorption and histopathology following application to human skin. *Food Chem Toxicol.*; 41 (10):1409–1416.
76. Hazzit M. 2002. Arômes alimentaires. Thèse magister, USTHB, Alger. 96p.



77. Jeantet R, Croguennec T, Schuck P et Brule G. 2006. Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique, volume 1. Ed. Tec. & Doc., Lavoisier, pp. 95–151.

78. Jeyaratnam N, Nour A H, Kanthasamy R, Nour A H, Yuvaraj A R et Akindoyo J O. 2016. Essential oil from *Cinnamomum cassia* bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. *Ind Crops Prod.* 92: 57-66.

K

79. Kaloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martino M. Abou L & Vergnes M F. 2008. Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne, phytothérapie, 6 (3), 160-164.doi :10.1007/s10298-008-0307-1
- 80.
81. Kasim N N, Ismail S N A S, Masdar N D, Ab Hamid F et Nawawi W I. 2014. Extraction and potential of cinnamon essential oil towards repellency and insecticidal activity. *Int J Scient Res Publ*, 4: 1-6.
82. Kayser F H et Bottger E C. 2008. Manuel de poche de microbiologie médicale. Médecine-sciences, Flammarion.
83. Kennouche, A., Benkaci-Ali, F., Scholl, G., Eppe, G. 2015. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Eugenia caryophyllata* Cloves Extracted by Conventional and Microwave Techniques. *Journal of biologically active Products from nature.* 5(1): 1-11.
84. Kojic E M and Darouiche R O. 2004. *Candida* infections of medical devices. *Clin Microbiol Rev* 17:255– 267.
85. Kremery V & Barnes A J. 2002. *Non-albicans Candida spp.* causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *Journal of hospital infection*, 50(4), 243-260.
86. Kuate J, Menut C et Boyom F F. 2015. Antimicrobial Activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Essential Oils Against *Phytophthora megakarya*. *J Phytopathol.* 163(7-8) :632–641.
87. Kulevanova S and Panovska T K. 2001. Antioxidant activity of essential oils of different wild *Thymus*. *Species. Bull. Chem. Technol. Macedonia*, 20, 1, pp.61-66.

L

88. Laaradj D, Gharou N, Lazizi N. 2018. Evaluation de l'activité antifongique de l'huile de la cannelle de chine (*Cinnamomum cassia*). Mémoire master infectiologie. Faculté des

- Sciences de la Nature et de vie. Université Ibn Khaldoun de Tiaret.
89. Lahlou M, 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.
90. Lang G, Buchbauer G. 2012. A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr J.*;27(1):13-39.
91. Larbi S et Rabah S. 2014. Etude de l'efficacité des huiles essentielles de *Curcuma longa* comme un biopesticide cas antifongique. Mémoire : Agroforesterie. Telemcen : Abou Bekr Belkaïd, 60p.
92. Lardry J M, Haberkorn V. 2003. Les formes galéniques destinées à l'usage externe. *Kinésithérapie, Les Annales*, n° 16.
93. Laurent J. 2017. Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine [PhD Thesis].
94. Lee S, Najiah M, Wendy W et Nadirah M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (Clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. *Front. Agric. China*, 3(3): 332–336.
95. Li H B, Wong C C, Cheng K W et Feng C. 2008. Antioxidant properties in vitro and total Phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*. 41(3), 385–390.
96. Lim T T et Tee J J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*. 103 : 1003–1008.



97. Madhavi D L, Deshpande S S, Salunkhe D K. *Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives*. CRC Press; 1995.
98. Mahboubi M et Mahboubi M. 2015. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Eugenia caryophyllata* Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18:4, 967-975.
99. Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur N A, Echard B W, Bagchi D et Preuss H G. 2001. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 228: 111–117
100. Masango P. 2005. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J Clean Prod.*; 13 (8):833–839.

101. Merghache D. 2010. Évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits de l'écorce de la cannelle de Chine. Thèse de magister, Université Tlemcen.
102. Möller K. 2008. La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. P : 152.



103. Nabavi S F, Di Lorenzo A, Izadi M, Sobarzo-Sanchez E, Daglia M et Nabavi S M. 2015. Antibacterial effects of *cinnamon*: From farm to food, cosmetic and pharmaceutical industries. *Nutrients*, 7: 7729-7748.
104. Naili N E P et Kesraoui M. 2013. Activité antibactérienne du Cumin velu *Ammodaucus leucotrichus*. Mémoire de Master, en Botanique médicale et Cryptogamie.
105. Nana W L, Eke P, Fokom R, Bakanrga-Via I, Begoude D, Tchana T, Tchameni N S, Paris M et Hurabielle M. 1981. Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson. P 339.
106. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1999. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test, 9th International Supplement. M100- S9, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
107. Nedjai I et Nedjai S. 2017. Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire: écologie microbienne. Bejaia: Université A. Mira. 64p
108. Nessrien M N Y and Mohamed A T. 2007. Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. *World J. Dairy & Food Sci.*, 2 (1): pp. 01-09.



109. Odds F.C. 1988. *Candida* and Candidosis In: Odds F.C ed. A review and bibliography 2 nd ed.London : BaillièreTindall, united Kingdom. 42-59.
110. Oussalah M, Caillet S, Lacroix M. 2006. Mechanism of Action of Spanish Oregano, Chinese *Cinnamon*, and Savory Essential Oils against Cell Membranes and Walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot.* 1 mai;69 (5):1046-55.

*P*

111. Pamphile M, Randrianasolonjanahary H & Razafindrajaona J M. 2009. Etude des substances actives de *Cinnamosma fragrans*. Actes du symposium biomad. Université de mahajang. 22p.
112. Petkov V, Roussinov K, Todorov S, Lazarova M, Yonkov D and Draganova S. 1984. Pharmacological investigations on *Rhaponticum carthamoides*. *Planta Med.*, 50: pp. 205-209.
113. Pibiri M C. 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat n°3311, Ecole polytechnique fédérale de lausanne.
114. Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C et Salgueiro L. 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*. 58(11): 1454–1462. doi:10.1099/jmm.0.010538-0
115. Ponce AG, Fritz R, del Valle C et Roura SI. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss c hard. *Lebensm. - Wiss. u. - Technol.* 36: 679–684.
116. Portes E. 2008. Synthèse et Etudes de tétrahydrocurcuminoïdes : Propriétés photochimiques et antioxydantes, applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle. Thèse de doctorat. No 3695. Université Bordeaux I, 244p.

*R*

117. Raaman N. 2006. Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde.
118. Radulovic N, Dekic M, Radic Z S et Palic R. 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Geranium columbinum L.* and *G. Lucidu m L.* (*Geraniaceae*). *Turk J Chem.* 35: 499–512.
119. Raharivelomanana P J, Terrom G, Bianchini J, et Coulanges P. 1989. Contribution à l'étude de l'action antimicrobienne de quelques huiles essentielles extraites de plantes malgaches. II: Les lauracées. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 56(1), 261-271
120. Rashid ch A, Qureshi M Z, Raza S A, William J and Arshad M. 2010. Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universităţii din Bucureşti – Chimie (serie nouă)*. 19: 23-30.

121. Rasooli I, Fakoor M H, Yadegarinia D, Gachkar L, Allameh A and Rezaei M B. 2008. Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. Food Chemistry. 135-140.
122. Raza S A, Rehman A, Adnan A & Qureshi F. 2009. Comparison of antioxidant activity of essential oil of *Centella asiatica* and Butylated hydroxyanisole in sunflower oil at ambient conditions. Biharean Biol. 3 (1): 71-75.
123. Rhayour K. 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
124. Rodríguez O, Sánchez R, Verde M, Núñez M, Ríos R et Chávez A. 2014. Obtaining the essential oil of *Syzygium aromaticum*, identification of eugenol and its effect on *Streptococcus mutans*. J Oral Res. 3(4): 218-224.
125. Rolland Y. 2004. Actualités des lipides en cosmétique : Antioxydants naturels végétaux. OCL. Vol. 11, n°6, 419-424. In Traoré M. C., 2006. Étude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali, pp. 175p.



126. Sadgrove N, Jones G. 2015. A Contemporary Introduction to Essential Oils: Chemistry, Bioactivity and Prospects for Australian Agriculture. Agriculture. 5: 48-102. doi:10.3390/agriculture5010048
127. Saeed A et Shahwar D. 2015. Evaluation of biological activities of the essential oil and major component of *Syzygium aromaticum*. J Anim Plant Sci. 25(4):1095-1099.
128. Saiman L, Ludington E, Pfaller M, Rangel-Frausto S, Wiblin R T, Dawson J. 2000. Risk factors for candidemia in Neonatal Intensive Care Unit patients. The National Epidemiology of Mycosis Survey study group. Pediatr Infect Dis J 19: 319– 324.
129. Samaranayake L P, Fidel P L, Naglik J R, Sweet S P, Teanpaisan R, Coogan M M, Blignaut E. and Wanzala P. 2002. Fungal infections associated with HIV infection. Oral Dis. 8 (Sup 2): 151-160
130. Sameer G M et Badri A M. 2017. Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and *Citrus aurantifolia* essential oils against some microbes in Kh artoum, Sudan. EC Microbiology. 12(6): 253-259.
131. Sani M.P. 2006. Les polyphénols en agro-alimentaire. Paris : Lavoisier. pp. 347-289.

132. Satrani B, Ghanmi M, Farah A, Aafi A, Fougrach H, Bourkhiss B, Bousta D & Talbi M. 2007. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp. 85-96.
133. Saville S P, Lazzell A L, Monteagudo C et Lopez-Ribot J L. 2003. Engineered control of cell morphology in vivo reveals distinct roles for yeast and filamentous forms of *Candida albicans* during infection. Eukaryot Cell. 2:1053—60.
134. Sayyada G N, Shazia T H et Shahana U K. 2010. Use of CHROMagar *Candida* for the presumptive identification of *Candida* species directly from clinical specimens in resource-limited settings. Libyan J Med. 5: 2144 - DOI: 10.3402/ljm.v5i0.2144
135. Scimeca D et Tétou M. 2005. Votre santé par les huiles essentielles : Le guide pratique pour prévenir et guérir tous les maux quotidiens, les huiles essentielles pour le corps et l'esprit, leur mode d'utilisation, les meilleures associations, Ed. Alpen, P : 24-26.
136. Scimeca D. 2006. Les Plantes du Bonheur. Ed: ALPEN, p: 10-17.
137. Selles S M A. 2019. Diarrhée néonatale du veau et son traitement par les plantes médicinales et les produits de la ruche. Thèse de doctorat. Université de Mascara
138. Selles S M A, Kouidri M, Belhamiti B T et Ait Amrane A. 2020. Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. Journal of Food Measurement and Characterization. 14(4) :2352–2358.
139. Sharaf A, Mishra M S et Sharma K. 2011. Antibacterial activity of commercial and wild *Cinnamon species*. J Phytol, 3: 102-106.
140. Shellie R, Marriott P, Chaintreau A. 2004. Quantitation of suspected allergens in fragrances (Part I): evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography for quality control. Flavour Fragr J;19 (2):91–98.
141. Simiat O J, Lateefah A A, Kazeem A A. 2017. Phytochemical Screening and Antimicrobial evaluation of *Syzygium aromaticum* Extract and Essential oil. Int J Curr Microbiol App Sci. 6(7): 4557-4567.
142. Singh J, Baghotia A et Goel S P. 2012. *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family *Myrtaceae*): A Review. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 3 (4) : 1469-1475.
143. Singh R, Lawrence R, Lawrence K, Agarwal B, Gupta R K et Dar S. 2015. Antioxidant and Antibacterial Activity of *Syzigium Aromaticum*, *Zingiber Officinale* and *Cinnamomum Zeylanicum* Essential Oils. Chemical Science Transactions, 4(1) : 239-245.
144. Smail L. 2022. Effets comparatifs de deux huiles essentielles contre les candidoses vaginales chez la femme. Université Ibn Khaldoun. Tiaret. P 83.

145. Smith-Palmer A, Stewart J et Fyfe L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol.* févr; 26 (2): 118-22.
146. Sobel J D. 1998. Vulvovaginitis due to *Candida glabrata* an emerging problem. *Mycoses Probl* 1998 ; 41:18-22.
147. Sobel J D. 2007. Vulvovaginal candidosis. *Lancet.* 369 :1961-71.
148. Sokamte T A, Jazet D P M et Tatsadjieu N L. 2016. In vitro Activity of *Syzygium aromaticum* against Food Spoilage Fungi and Its Potential Use as an Antiradical Agent. *Journal of Microbiology Research.* 6(1): 1-7.
149. Staib P & Morschhäuser J. 2007. Chlamydospore formation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*—an enigmatic developmental programme. *Mycoses*, 50(1), 1-12.
150. *Syzygium aromaticum*. [http://uses.plantnet-project.org/fr/Syzygium\\_aromaticum](http://uses.plantnet-project.org/fr/Syzygium_aromaticum)

*J*

151. Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng N R, Nogueira J M, Saraiva J A. 2013. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crops Prod.* 43:587–595.
152. Tsao S-M et Yin M-C. 2001. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils. *J Med Microbiol.*; 50 (7):646–649.
153. Tube germinatif de *candida albicans*, <https://onlinesciencenotes.com/germ-tube-formation-test-principle-procedure-result-interpretation-and-limitations/>

*V*

154. Viuda-Martos M, Navajas Y R, Zapata E S, Fernández-López J et Pérez-Álvarez J A. 2010. Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour Fragr J*, 25: 13–19.

U

155. Ultee A, Bennik M H J, Moezelaar R. 2002. The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 1 avr; 68 (4) :1561-8.

Y

156. Yang C H, Li R X et Chuang L Y. 2012. Antioxidant activity of various parts of *Cinnamomum cassia* extracted with different extraction methods. *Molecules*, 17: 7294-7304.

Z

157. Zabeirou et Hachimou. 2005 - Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata* L) et de la Poivre (*Mentha Piperita* L) dans la région d'Ouargla. Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah., Ouargla, p.16
158. Zahalka J P. 2010. Les huiles essentielles dictionnaire complet d'aromathérapie. Ed du Dauphin. Paris.
159. Zarrin M, Amirrajab N, Nejad B S. 2010. In vitro antifungal activity of *Satureja khuzestanica* jamzad against *Cryptococcus neoformans*. *Pak J Med Sci.* 26 (4): 880-882.
160. Zhang K. 2015. Chemical Composition and Antioxidant Activities of the Essential Oil from the Clove Buds (*Syzygium Aromaticum*) Toward Various Oxidative Stresses in Vitro. *Agriculture and Food Sciences Research*, 2 (1): 19-24.
161. Zubia M, Robledo D and Freile- pelegrin Y. 2007. antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yuctan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 19: 449-458.

# *Annexes*

## Annexes

### 1/ Milieu Sabouraud

Ingrédients	Quantité
Glucose	20 gr
Peptone	10 gr
Agar agar	15 gr
Eau distillée	Quantité suffisante pour 1000ml

pH= 6

### 2/Eau physiologie

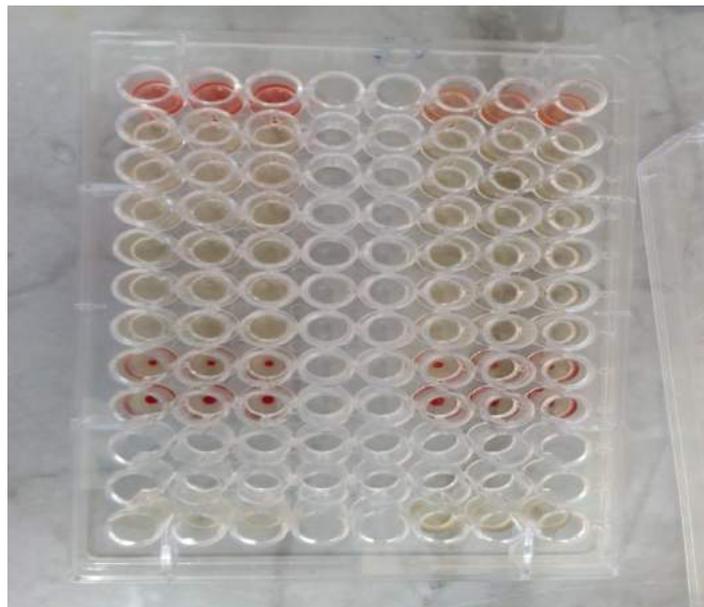
Eau distillée	1000ml
NaCl	9g



Résultats des CMB sur des boîtes de Petri en triplicata coulées par la gélose Sabouraud



Microplaque avant résultat



Microplaque après résultat



Pesée du clou de girofle



Ampoule à décanter contenant l'hydrolat+ HE



Microscope Leica



Test de sensibilité