



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 :

M<sup>lle</sup> MEGHIT Fatiha  
M<sup>lle</sup> SAADAOUI Nawel

*Thème*

**Evaluation des effets antioxydants et antifongiques  
des huiles essentielles sur *Candida albicans***

Soutenu publiquement le : 03/07/2024

**Jury:**

<b>Président:</b>	D <sup>r</sup> LAARADJ-ZAZOU Khalida	<b>Grade</b>
<b>Encadrant:</b>	M <sup>lle</sup> BENMESSAOUD Amel	MCB
<b>Co-encadrant:</b>	D <sup>r</sup> SELLES Ammar	Doctorante
<b>Examinateur:</b>	D <sup>r</sup> MEDJBER Nacera	MCA
		MCB

Année universitaire 2023-2024

## ***Remerciements***

*Louange à Dieu pour sa grâce et sa générosité qui ont permis d'achever ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mlle **Benmessaoud A.** pour avoir accepté d'être l'encadrant de ce travail et pour nous avoir accordé toute sa confiance pour l'accomplir. Nous la remercions également pour ses conseils, ses orientations et sa présence constante tout au long du déroulement du travail.*

*Nous remercions également le co-encadrant Dr **Selles M.** pour ses efforts, ses précieux conseils et pour avoir accepté de faire partie de notre mémoire.*

*Nous adressons nos sincères remerciements et notre appréciation au Chef de spécialité d'Infectiologie, Dr **Boudra A.***

*Nos remerciements vont également à Dr **Laaradj N.** Nous sommes honorés que vous ayez accepté de présider notre jury de mémoire.*

*Nous exprimons notre gratitude à Dr **Medjeber N.** pour avoir accepté d'être examinatrice de ce travail.*

*Et nous remercions tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail, en particulier les ingénieurs du laboratoire, et notamment Mlle **Zahra**, l'ingénierie du laboratoire de microbiologie.*

## **Dédicace**

*Louange à Dieu et merci à Lui de m'avoir accordé la volonté et la force de terminer mes études. Par-dessus tout, je prie pour ma tante Yamina. Que Dieu ait pitié d'elle et lui consacre cette œuvre. À mes chers parents, je les remercie pour tout le soutien et les encouragements qu'ils m'ont apportés, ainsi que pour leurs prières continues pour ma réussite tout au long de mon parcours universitaire. Je prie Dieu de les protéger et de les bénir, de leur accorder bonheur et satisfaction, et d'exaucer leurs souhaits.*

*À mes chers frères, Saâd et Abdelkader, merci pour vos encouragements et pour votre confiance constante en moi et en mes capacités à atteindre mes objectifs. À mes chères sœurs, merci pour vos conseils, vos orientations et votre soutien continu. À leurs enfants Siham, Iyad et Noor Elyakine, je souhaite bonheur et joie dans leur vie.*

*À ma collègue et amie Fatiha, qui a été comme mon bras droit et une sœur pour moi, et qui m'a soutenue chaque fois que j'étais découragée tout au long de notre vie universitaire. Je prie pour sa réussite et j'espère que bonheur, plaisir, éclat et succès seront toujours présents dans sa vie.*

*À mes amis Asma, Nesrine, et à tous ceux qui m'ont encouragée à terminer mon mémoire et m'ont soutenue pour aller de l'avant.*

*À toute la famille Saâdaoui et Selem.*

**Nawel**

## **Dédicace**

*Je dédie ce mémoire à Allah qui m'a inspiré patience, volonté et m'a accordé son aide pour mener à bien mes études. **فَالْحَمْدُ لِلّٰهِ***

*J'ai l'honneur de dédier ce travail à mes très chers parents, qui ont été mon premier soutien dans la vie. Leur encouragement constant tout au long de mes études a été indispensable pour progresser etachever ce travail. Je leur souhaite une longue et heureuse vie.*

*À mes très chers frères, Yacine et Farouk, votre aide et votre soutien ont été un véritable moteur pour moi. Je vous souhaite à tous une vie pleine de bonheur et de joie.*

*À ma grand-mère, que Dieu ait son âme.*

*À ma chère amie et binôme Nawel, je dédie ce travail en hommage à tous les moments agréables et inoubliables que nous avons vécus ensemble. Tu es bien plus qu'une amie pour moi, et aucune expression ne peut suffire à exprimer la gratitude et les sentiments de fraternité que j'ai pour toi, ainsi que pour tes sacrifices et ton soutien tout au long de notre vie universitaire.*

*À mon amie Ilham, je la remercie pour le courage et le soutien moral qu'elle m'a apportés.*

*À toute la famille Meghit et Bez.*

**Fatiha**

## Résumé

L'objectif de cette étude est de réduire l'utilisation des antifongiques traditionnels dans le traitement de certaines candidoses en proposant des alternatives naturelles. Des huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation à partir de deux plantes médicinales : *Mentha pulegium* L. et *Origanum vulgare*. Leur efficacité a été évaluée contre deux souches de référence de *Candida albicans*.

L'activité antifongique des huiles essentielles a été mesurée à l'aide de l'aromatogramme et de la méthode de microdilution en microplaques pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI). Leurs propriétés antioxydantes ont également été évaluées en utilisant le pouvoir réducteur ferrique (FRAP) et le piégeage des radicaux libres DPPH. Les résultats ont révélé une activité anticandidale significative, avec des CMI allant de 0,15 à 5 mg/ml. L'essai DPPH a montré une concentration inhibitrice médiane (IC50) de 1,87 mg/ml pour *O. vulgare* et de 10,79 mg/ml pour *M. pulegium*, tandis que l'essai FRAP a enregistré une concentration efficace médiane (EC50) de 1,16 mg/ml pour *O. vulgare* et de 18,61 mg/ml pour *M. pulegium*.

Ces résultats indiquent que les huiles essentielles étudiées pourraient constituer des alternatives prometteuses pour le traitement des candidoses, bien que des recherches supplémentaires soient nécessaires pour évaluer leur efficacité *in vivo*.

**Mots clés :** Huiles essentielles, *Mentha pulegium* L. et *Origanum vulgare*, *Candida albicans*, Activité antifongique, activité antioxydante.

## **Abstract**

The aim of this study is to minimize the use of traditional antifungals in treating certain candidiasis by proposing natural alternatives. Essential oils were extracted through hydrodistillation from two medicinal plants: *Mentha pulegium* L. and *Origanum vulgare*. Their efficacy was assessed against two reference strains of *Candida albicans*.

The antifungal activity of the essential oils was measured using the aromatogram method and the microdilution method in microplates to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC). Their antioxidant properties were also evaluated using the ferric reducing antioxidant power (FRAP) method and the DPPH free radical scavenging method. The results demonstrated significant anticandidal activity, with MIC values ranging from 0.15 to 5 mg/ml. The DPPH assay revealed a median inhibitory concentration (IC50) of 1.87 mg/ml for *O. vulgare* and 10.79 mg/ml for *M. pulegium*, while the FRAP assay recorded a median effective concentration (EC50) of 1.16 mg/ml for *O. vulgare* and 18.61 mg/ml for *M. pulegium*.

These findings suggest that the studied essential oils could be promising alternatives for treating candidiasis, although further research is needed to evaluate their in vivo efficacy.

**Keywords:** Essential oils, *Mentha pulegium* L. and *Origanum vulgare*, *Candida albicans*, Antifungal activity, antioxydant activity.

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقليل استخدام مضادات الفطريات التقليدية في علاج بعض أمراض candidoses ال من خلال اقتراح بدائل طبيعية. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق hydrodistillation من نبتتين طبيتين *Mentha* . تم تقييم فعاليتها ضد سلالتين مرجعيتين من *Candida albicans* . *Origanum vulgaris* و *pulegium L.*

تم قياس النشاط المضاد للفطريات للزيوت الأساسية باستخدام طريقة aromatogramme وطريقة microdilution en . كما تم تقييم خصائصها المضادة للأكسدة باستخدام طريقة microplaques .piégeage des radicaux libres DPPH وطريقة FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

أظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للفطريات كبيراً، مع CMI تتراوح من 0.15 إلى 5 mg/ml. أظهر اختبار DPPH تركيزاً مثبطاً متوسطاً (IC50) قدره 1.87 mg/ml لـ *O. vulgare* و 10.79 mg/ml لـ *M. pulegium* ، بينما سجل اختبار FRAP تركيزاً فعالاً متوسطاً (EC50) قدره 1.16 mg/ml لـ *O. vulgare* و 18.61 mg/ml لـ *M. pulegium*.

تشير هذه النتائج إلى أن الزيوت الأساسية المدروسة قد تشكل بدائل واعدة لعلاج داء المبيضات، على الرغم من أن هناك حاجة إلى المزيد من الأبحاث لتقييم فعاليتها *in vivo* .

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت العطرية، *Candida albicans* ، *Mentha pulegium L.* ، *Origanum vulgare* ، نشاط مضاد للفطريات، نشاط مضادات الأكسدة.

## Sommaire

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
INTRODUCTION GENERALE .....	1

### *Partie Synthèse Bibliographique*

#### *Chapitre 1: Candida albicans*

1.Introduction.....	2
2.L'espece <i>Candida albicans</i> .....	2
2.1 Taxonomie.....	2
2.2 Habitats .....	2
2.3 Structure cellulaire .....	3
2.4 La paroi de <i>C. albicans</i> .....	3
2.4.1 Structure générale: .....	4
2.5 Pathogénicité.....	5
2.6 Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence .....	6
2.6.1 Formation de biofilm .....	6
2.6.2 Formation d'Hyphes .....	7
2.7 Les Aspects Cliniques de <i>C. albicans</i> .....	7
2.7.1 Superficielles.....	7
2.7.2 Candidoses Systémiques.....	8
2.8 Diagnostic .....	8
2.8.1 Méthodes conventionnelles.....	8
2.8.2 Méthodes moléculaires .....	8
2.8.2.1 Technique basée sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR) .....	8
2.9 Les principaux médicaments utilisés et leurs limites contre <i>Candida albicans</i> .....	9
2.9.1 Les molécules antifongiques.....	9
2.9.2 Les polyènes.....	9
2.9.3 Les dérivés azolés .....	10
2.9.4 Les dérivés pyrimidiques .....	11
2.9.5 Les échinocandines.....	11
2.10 Traitement alternatif.....	11

## *Chapitre 2: Les huiles essentielles*

1. Introduction.....	12
2. Localisation des huiles essentielles.....	12
3. Toxicité des huiles essentielles .....	12
4. Utilisation des huiles essentielles.....	13
5. La composition des huiles essentielle.....	13
6. Les effets bénéfiques.....	14
7. Les méthodes d'extraction .....	14
7.1 Hydrodistillation .....	14
7.2 Extraction par fluide supercritique.....	15
7.3 Extraction par entraînement à la vapeur .....	16
7.4 Extraction assistée par micro-ondes.....	17
7.5 Enfleurage .....	17
8. Voies d'administration des huiles essentielles .....	17
8.1. Voie orale .....	17
8.2. Voie cutanée .....	17
8.3. Voie respiratoire .....	18
8. 4. Voie vaginale.....	18
9. Rôle des huiles essentielles.....	18

## *Chapitre 3: Les plantes médicinales utilisées dans cette étude*

1. <i>Origanum vulgare</i> .....	19
1.1 Histoire.....	19
1.2 Nomenclature et classification.....	19
1.3 Présentation botanique d' <i>O. vulgare</i> .....	19
1.4 Distribution géographique .....	20
1.4.1 Répartition mondiale.....	20
1.4.2 En Algérie .....	21
1.5 Utilisation traditionnelle d' <i>Origanum vulgare</i> .....	21
2. <i>Mentha pulegium</i> L. ....	22
2.1 Étymologie.....	22
2.2 Nomenclature et classification.....	22
2.3 Description botanique de <i>Mentha pulegium</i> .....	23

2.4 Aire de répartition .....	23
2.5 Propriétés et utilisations.....	24

### *Partie Expérimentale*

#### *Chapitre 1 Matériel et Méthodes*

1. Objectif du travail .....	26
2. Lieu et durée du travail .....	26
3. Matériel et produits utilisés.....	26
3.1 Produits et appareillage.....	26
4. Matériel fongique.....	27
5 Matériel végétal .....	27
6. Extraction des huiles essentielles.....	27
6.2 Calcul du rendement de l'extraction .....	28
7. Evaluation des activités antioxydantes.....	28
7.1 Evaluation du pouvoir de réduction du fer : FRAP .....	28
7.2 Évaluation du pouvoir antioxydant .....	29
8. Evaluation de l'activité anti- <i>Candida albicans</i> .....	30
8.1 Aromatogramme .....	30
8.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice .....	30
8.3 Détermination de la concentration minimale fongicide.....	31

#### *Chapitre 2: Résultats et discussion*

1.Résultats .....	32
1.1Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles .....	32
1.2Activité antioxydante .....	32
1.3Activité antimicrobienne.....	33
1.3.1Test d'aromatogramme .....	33
1.4Évaluation de la CMI et CMF des huiles essentielles.....	35
Conclusion générale .....	36
REFERENCE BIBLIOGRAPHIE .....	38
Annexes .....	44

## **Liste des tableaux**

Tableau 1 : Position taxonomique de <i>Candida albicans</i> .....	2
Tableau 02: Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie (Hazzit, 2008)	
.....	21
Tableau 3 : Produits, milieux de cultures et appareillages.....	26
Tableau 4 : Rendement et caractères organoleptique des huiles essentielles.....	32
Tableau 5 : Activité antioxydante des huiles essentielles d' <i>O. vulgare</i> et de <i>M. pulegium</i> .....	33
Tableau 6: Activité antifongiques des HE vis-à-vis les souches de référence. ....	34
Tableau 7: CMI et CMF des deux huiles essentielles testées. ....	35

## Liste des figures

Figure 1 : Les différents constituants de la paroi fongique (Diamoid, 1999).....	3
Figure 2 : Organisation moléculaire de la paroi de <i>Candida albicans</i> (Ruiz-Herrera, 2006).....	4
Figure 3: La formation de biofilm .....	7
Figure 4 : Structure chimique de la nystatine (A) et l'amphotéricine B (B).....	10
Figure 5 : Structure du Kétoconazole (Perry et al, 2003). .....	10
Figure 6 : Extraction des huiles essentielles par hydro distillation (Beneteaud, 2011).....	15
Figure 7 : Extraction des huiles essentielles par expression (Beneteaud, 2011).....	16
Figure 8: Extraction des huiles essentielles par Entrainement à la vapeur d'eau (Beneteaud, 2011) .....	16
Figure 9 : Caractéristiques botaniques d' <i>Origanum vulgare</i> (Bouhaddouda, 2016) .....	20
Figure 10 La partie florale d' <i>Origanum vulgare</i> .....	20
Figure 11 : Distribution du genre <i>Origanum vulgare</i> au monde (Ietswaart,1980).....	21
Figure 12 :Feuille de la menthe pouliot ( <i>Mentha pulegium L.</i> ).....	22
Figure 13 : . Représentation schématique et photo de <i>Mentha pulegium L.</i> (Amina, 2015) .....	23
Figure 14: Aire de répartitions des menthes dans le monde. (Chalchat et al., 2000).....	24
Figure 15 : Partie aérienne des plantes testées.....	27
Figure 16 : Dispositif d'hydrodistillation .....	28
Figure 17 : Ampoule à décantation .....	28
Figure 18 : Activité antioxydante des huiles testées. ....	33
Figure 19 : Aromatogramme d'HE et de l'agent antifongique vis-à-vis des souches référenciées de <i>C. albicans</i> . ....	34
Figure 20 : Résultats du test d'évaluation des CMIs .....	35

## Liste des abréviations

**ATCC** : American Type Culture Collection

**C.**: *Candida*

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute

**CMB** : Concentration minimale bactéricide

**CMF** : Concentration minimale fongicide

**CMI** : Concentration inhibitrice minimale

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DZI** : Diamètre de zone d'inhibition

**DPPH** : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

**HE** : Huile essentielle

**EC50** : Concentration Efficace médiane

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power

**IC50**: Concentration inhibitrice médiane ou the half maximal inhibitory concentration

# *Introduction*

## *Générale*

## INTRODUCTION GENERALE

---

### INTRODUCTION GENERALE

Les infections fongiques représentent un problème de santé publique majeur, particulièrement dans les pays en voie de développement, en raison de leur propagation rapide et de leur gravité (**Traoré et al., 2012**). Parmi ces infections, les candidoses causées par les espèces du genre *Candida* sont les plus répandues, avec *Candida albicans* comme espèce prédominante. Cette levure est responsable de 50 % à 90 % des candidoses humaines, qu'elles soient profondes ou superficielles.

*C. albicans* fait partie de la flore commensale du tractus gastro-intestinal, des muqueuses cutanées et des organes génitaux des individus sains. Cependant, elle peut provoquer des infections aiguës ou chroniques en raison de divers facteurs tels que la modification du pH, la grossesse, le manque d'hygiène et l'altération du système immunitaire (immunosuppression). La formation de biofilms par *C. albicans* est un mécanisme de virulence fondamental, contribuant à la transformation de cette levure d'un organisme opportuniste en un pathogène virulent (**Gonzalez et al., 2013**).

Pour éradiquer ces infections et développer des moyens thérapeutiques efficaces, de nombreux médicaments ont été utilisés. Toutefois, la résistance de certaines souches fongiques a conduit les médecins à explorer la médecine traditionnelle, notamment l'aromathérapie (**Koffi et al., 2013**). L'aromathérapie utilise des huiles essentielles extraites de plantes médicinales aromatiques, largement disponibles en Algérie. Ces substances sont reconnues pour leur capacité à inhiber la croissance des souches fongiques grâce à leurs propriétés antifongiques et antioxydantes (**Bouacha et al., 2017**).

Cette étude se propose d'examiner l'efficacité des effets antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de deux plantes médicinales, *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, vis-à-vis *C. albicans*.

Ce mémoire est structuré en trois parties distinctes. La première partie offre une recherche bibliographique sur *C. albicans*, en explorant sa pathogénicité et sa résistance aux agents antifongiques conventionnels. Cette section inclut également une description des huiles essentielles et de leur rôle potentiel dans la lutte contre ces infections. La deuxième partie décrit la méthodologie adoptée pour cette recherche, détaillant les procédures et techniques employées. La troisième partie présente les résultats de l'étude et propose une discussion approfondie sur ces résultats. Enfin, le mémoire se termine par une conclusion générale qui résume les principales découvertes et implications de cette recherche.

*Partie*

*Synthèse Bibliographique*

# *Chapitre 1*

## *Candida albicans*

## **1. Introduction**

Les candidoses sont les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (**Marc, 2013**), causées par des levures du genre *Candida*, responsables d'atteintes superficielles et profondes (**Hochdez, 2007**). Ce genre compte 166 espèces de levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, qui produisent (comme *C. albicans*) ou non (comme *C. glabrata*) des filaments et forment des colonies blanches crèmeuses en culture (**Develoux, 2005**). En pathologie, une dizaine d'espèces sont couramment rencontrées, principalement *C. albicans*, responsable de 70 à 80 % des cas, suivie de *C. tropicalis*, *C. krusei* et *C. parapsilosis* (**Guignard et al., 1989**).

## **2. L'espèce *Candida albicans***

*C. albicans* est une levure opportuniste qui réside dans la flore commensale des humains sains. Morphologiquement, elle présente trois formes : blastospore ronde ou ovulaire, pseudomycélium, et, exceptionnellement, mycélium vrai. Cette levure est non pigmentée, non capsulée, et caractérisée par la formation de colonies blanches et crèmeuses en milieu aérobie. Elle se reproduit de manière asexuée (**Lagane, 2007**). *C. albicans* est fréquemment responsable de 70 % des infections fongiques cutanées, buccales, ou vaginales.

### **2.1 Taxonomie**

Les *Candida* sont des champignons classés parmi les ascomycètes, comme suivant : (**Krick et al., 2008**)

**Tableau 1 :** Position taxonomique de *C. albicans*.

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetales
Famille	<i>Saccharomycetaceae</i>
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<i>Candida albicans</i>

### **2.2 Habitats**

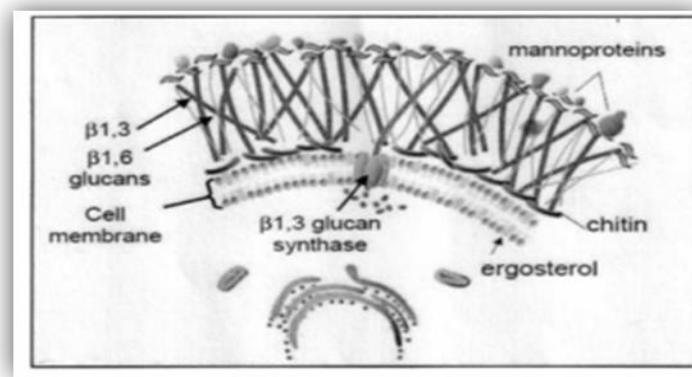
Selon **Lagane (2007)**, *C. albicans* est un commensal des muqueuses chez l'Homme et les animaux à sang chaud, faisant partie intégrante de la flore microbienne. Au niveau des muqueuses digestives et vaginales, cette levure se présente sous forme de blastospore,

considérée comme la forme saprophyte vivant en symbiose avec l'organisme hôte. Cependant, lorsque l'équilibre délicat entre la forme commensale et les défenses immunitaires est rompu, cette symbiose étroite peut se transformer en parasitisme, résultant en une maladie infectieuse appelée candidose.

### **2.3 Structure cellulaire**

*C. albicans* est un champignon unicellulaire eucaryote, dépourvu de chlorophylle. Son organisation cellulaire complexe lui permet de s'adapter à divers environnements et de survivre dans des conditions parfois hostiles. Au cœur de la cellule se trouve un noyau entouré d'une double membrane nucléaire, abritant les chromosomes qui portent l'information génétique de l'organisme. Des mitochondries, responsables de la production d'énergie, et des inclusions lipidiques, stockant des lipides, complètent ce système interne.

La cellule est enveloppée d'une membrane plasmique, riche en ergostérol, un stérol caractéristique des champignons. Cette membrane assure la protection de la cellule et joue un rôle essentiel dans les échanges entre le milieu intérieur et l'environnement externe. Par-dessus la membrane plasmique se trouve une paroi cellulaire, élément crucial pour la survie de *C. albicans*. Elle confère à la levure sa forme et sa rigidité mécanique, la protégeant des agressions extérieures (**Cassone et Strippoli, 1973**).



**Figure 1 :** Les différents constituants de la paroi fongique (**Diamoid, 1999**).

### **2.4 La paroi de *C. albicans***

La paroi de *C. albicans*, constituant la barrière externe de ce champignon pathogène, joue un rôle crucial dans sa survie, sa morphologie et sa virulence. Elle est le premier point de contact avec les cellules hôtes et est impliquée dans des processus clés tels que l'adhésion, l'invasion et l'évasion du système immunitaire (**Klis et al., 2002**).

### 2.4.1 Structure générale

La paroi de *C. albicans* est une structure complexe composée de plusieurs couches distinctes (Figure 2). La couche externe, appelée mannan, est un polysaccharide riche en mannose qui masque les motifs moléculaires sous-jacents et confère à la cellule sa résistance aux agents antimicrobiens. La couche intermédiaire, composée de glucanes et de protéines, assure la rigidité et l'intégrité de la paroi. Enfin, la couche interne, constituée de chitine et de  $\beta$ -1,3-glucanes, fournit un squelette structurel solide.

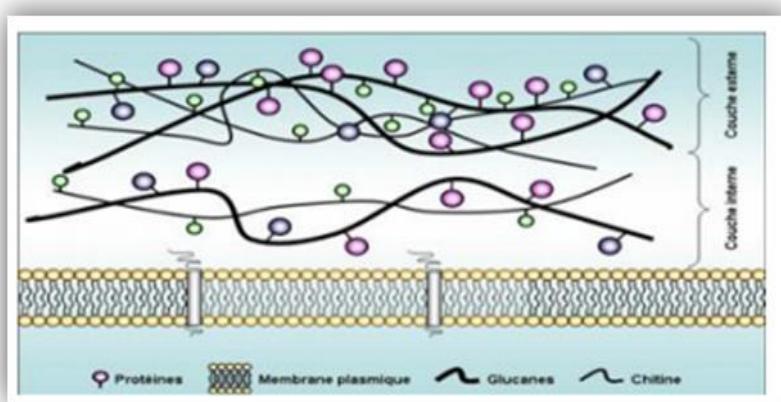


Figure 2 : Organisation moléculaire de la paroi de *C. albicans* (Ruiz-Herrera, 2006).

- **Glucanes**

*C. albicans* contient des  $\beta$ -1,3-glucanes qui se trouvent dans la couche interne de la paroi, visibles en microscopie. Ils représentent 50 à 60 % de la masse totale de la paroi. Ces glucanes forment une chaîne principale de polymères de glucose liés par des liaisons glycosidiques de type  $\beta$ -1,3 et/ou  $\beta$ -1,6. Les  $\beta$ -1,3-glucanes non ramifiés ont une structure microfibrillaire. Bien que la paroi de *C. albicans* contienne à la fois des  $\beta$ -1,3 et des  $\beta$ -1,6 glucanes, il n'y a pas de liaison intra-chaîne  $\beta$ -1,3/ $\beta$ -1,6. L'existence d'une liaison covalente entre les  $\beta$ -1,6 glucanes et la chitine, via une liaison glycosidique entre la position 1 du glucose et la position 6 de la N-acétylglucosamine, a été démontrée chez *C. albicans*.

- **Protéines**

Selon Ruiz-Herrera et al., (2006) les "véritables protéines" liées à la paroi sont N- et/ou O-glycosylées et possèdent des caractéristiques spécifiques telles que la présence d'un motif glycosylphosphatidylinositol (GPI). Elles sont liées aux  $\beta$ -glucanes et à la chitine des couches internes. Les analyses spectrométriques ont révélé que les mannoprotéines, ou phosphopeptidomannanes, représentent environ 6 à 25 % de la paroi. Les mannoprotéines

sont abondantes à la surface de la paroi de *C. albicans* et au niveau de la cicatrice de bourgeonnement.

- **Lipides**

Les lipides sont des composés mineurs de la paroi de *C. albicans*, représentant généralement entre 5 % et 17 % de la paroi. On y trouve des phospholipides, des triglycérides et des stérols libres ou estérifiés. Un lipide particulièrement intéressant de la paroi est le phospholipomannane, qui a été impliqué dans l'induction de la production de TNF- $\alpha$  chez les macrophages murins et humains. Les lipides pariétaux pourraient jouer un rôle dans l'adhérence et l'activation de voies de signalisation chez *C. albicans* (Ghannoum et al., 2001).

- **Espace péri plasmique**

L'espace péri plasmique est situé entre la paroi cellulaire et la membrane plasmique. C'est le site d'activité pour diverses enzymes digestives et pour les enzymes participant à la synthèse de la paroi.

- **Membrane plasmique**

La membrane plasmique est constituée de deux feuillets membranaires. Elle joue un rôle essentiel dans le transport actif des acides aminés, des oses et des ions, ainsi que dans la régulation passive du flux moléculaire nécessaire au maintien de la pression osmotique.

- **Organites intracellulaires**

Dans le cytoplasme, tous les organites cellulaires classiques sont présents: réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, noyau et vacuoles digestives. Le contenu protéique et l'activité enzymatique varient principalement en fonction du stade morphologique, surtout pendant la germination.

## **2.5 Pathogénicité**

Les infections de la peau et des muqueuses causées par *C. albicans* peuvent survenir chez des sujets sains comme chez des individus immunodéprimés. Les candidoses cutanées se développent principalement dans les zones de transpiration telles que l'aine, les aisselles, les espaces interdigitaux, ainsi que sur des écorchures ou des brûlures. *C. albicans* peut infecter diverses muqueuses, notamment la cavité buccale, la muqueuse vaginale et l'œsophage. Parmi les candidoses les plus connues affectant la cavité buccale, le muguet ; Il est fréquent chez les nouveau-nés, les patients sous antibiotiques à large spectre, et les personnes immunodéprimées, notamment celles atteintes du sida. Les candidoses génitales, ou vulvo-vaginites, sont également courantes, et dans 80 % des cas, elles sont causées par cette espèce (Thierry, 2009).

## 2.6 Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence

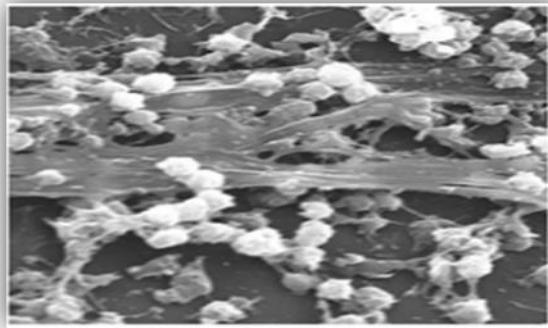
D'après **Legane (2007)**, Les mécanismes de pathogénicité et les facteurs de virulence de *C. albicans*, pathogène opportuniste, résultent d'une combinaison de facteurs liés aux statuts immunologique et physiologique de l'hôte ainsi qu'aux caractéristiques propres du microorganisme. L'infection candidosique est souvent initiée par une diminution des défenses immunitaires de l'hôte, perturbant l'équilibre de commensalisme et entraînant le passage de la colonisation à l'infection.

Par exemple, les candidoses vaginales sont principalement causées par des modifications du pH et de l'environnement microbien, tandis que les infections systémiques sont généralement associées à une immunodéficience, comme celle observée chez les patients cancéreux soumis à une chimiothérapie ou à une antibiothérapie à large spectre. Plusieurs facteurs de virulence sont impliqués, notamment le dimorphisme (**Legane, 2007**), l'adhérence aux surfaces (**Douglas, 2003**), la formation de mycéliums vrais et de pseudo mycéliums, et les infections (**Samaranayake et al., 2002**).

### 2.6.1 Formation de biofilm

Les biofilms de *C. albicans*, composés de levures ovales et d'hyphes longues, se développent à la surface des cellules et jouent un rôle crucial dans la résistance aux antifongiques comme les azolés et les polyènes. Ils facilitent la dissémination de *C. albicans* vers d'autres tissus et protègent les cellules fongiques contre la dispersion, compliquant ainsi le traitement des infections fongiques (**Macias Paz et al., 2022**).

Les biofilms sont des communautés de microorganismes qui adhèrent à un support et sont enrobés d'une matrice exo-polysaccharidique. Ils se forment sur toute interface solide/liquide, y compris sur les tissus vivants, constituant une barrière protectrice contre les agressions physiques, chimiques, thermiques et biologiques. Cependant, lorsque l'organisme s'affaiblit et que ses défenses sont perturbées, les biofilms peuvent devenir des réservoirs microbiens à l'origine d'infections (**Filloux et Vallet, 2003**).



**Figure 3:** Biofilm fongique.

### **2.6.2 Formation d'hyphes**

*C. albicans* est capable de former des hyphes, structures filamenteuses qui sont essentielles à sa pathogénicité. La transition de la forme levure à la forme hyphale permet à *C. albicans* de pénétrer les tissus hôtes et d'échapper aux défenses immunitaires. Les hyphes jouent un rôle clé dans l'invasion tissulaire et la dissémination de l'infection. Les facteurs environnementaux, tels que le pH, la température et les signaux de la surface cellulaire, régulent cette transition morphologique (**Sudbery, 2011**).

La formation des hyphes est également cruciale pour le développement des biofilms. Les hyphes aident à stabiliser la structure du biofilm et à protéger les cellules fongiques à l'intérieur de la matrice du biofilm. Cette dualité morphologique permet à *C. albicans* de s'adapter et de survivre dans divers environnements hostiles (**Sudbery, 2011; Fanning et Mitchell, 2012**).

## **2.7 Les Aspects Cliniques de *C. albicans***

*C. albicans* est un champignon opportuniste qui peut provoquer des infections chez l'humain. Ces infections se manifestent sous deux formes principales en fonction du site de l'infection : les candidoses superficielles et les candidoses systémiques (**Pfaller et Diekema, 2007**).

### **2.7.1 Candidoses superficielles**

Les candidoses superficielles affectent les couches externes de l'épiderme et les muqueuses. Elles incluent les infections de la peau, des ongles, de la bouche (muguet oral), et des voies génitales (vaginite à *Candida*). Ces infections sont généralement moins graves et peuvent être traitées efficacement avec des antifongiques topiques ou oraux (**Pfaller et Diekema, 2007**).

### **2.7.2 Candidoses systémiques**

Les candidoses systémiques, ou candidémies, sont plus graves et surviennent lorsque *C. albicans* pénètre dans la circulation sanguine et se propage à travers le corps. Ces infections peuvent affecter des organes internes tels que le cœur, les reins, le foie et le cerveau, et sont souvent associées à un taux de mortalité élevé. Elles sont particulièrement préoccupantes chez les patients immunodéprimés, comme ceux atteints de cancer, de SIDA, ou recevant des traitements immunosuppresseurs.

## **2.8 Diagnostic**

Pour diagnostiquer *C. albicans* en laboratoire, on utilise des méthodes conventionnelles et moléculaires.

### **2.8.1 Méthodes conventionnelles**

Les méthodes conventionnelles sont les plus couramment utilisées pour l'identification des champignons. Elles reposent sur la culture et l'examen microscopique des souches fongiques. L'examen microscopique est réalisé à partir d'un échantillon prélevé par écouvillonnage, suivi d'une observation au microscope. Cependant, cet examen n'est pas spécifique car les espèces de *Candida* présentent une morphologie similaire.

L'identification sur milieu sélectif se fait souvent sur gélose CHROMagar *Candida*, un milieu sélectif différenciant les espèces de *Candida* par leur apparence et leur couleur de colonie. Un autre test couramment utilisé est le test du tube germinatif, où après incubation pendant 2 à 4 heures à 37°C dans du sérum, *C. albicans* forme un tube germinal caractéristique. Des tests biochimiques tels que l'API et VITEK sont également employés pour l'identification et la différenciation des espèces de *C. albicans*, ainsi que pour étudier leur sensibilité aux antifongiques.

### **2.8.2 Méthodes moléculaires**

Les méthodes moléculaires sont plus rapides et plus précises pour la détection des candidoses, jouant un rôle crucial dans la détection des allèles de résistance aux antifongiques. Deux techniques sont particulièrement utilisées :

#### **2.8.2.1 Technique basée sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR)**

Cette technique repose sur l'amplification d'une petite séquence spécifique d'ADN. La PCR en temps réel est couramment utilisée pour quantifier le produit de PCR pendant la réaction.

Le polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (RFLP) est une autre technique intéressante pour la détection et l'identification des espèces de *Candida*.

## 2.9 Les principaux médicaments utilisés et leurs limites contre *C. albicans*

### 2.9.1 Les molécules antifongiques

Les antifongiques représentent un groupe diversifié de médicaments utilisés pour traiter les infections fongiques. Ils doivent pénétrer dans la cellule fongique intacte et se fixer sur leurs cibles pour perturber le fonctionnement cellulaire et obtenir un effet fongistatique (**Ghannoum et Rice, 1999**).

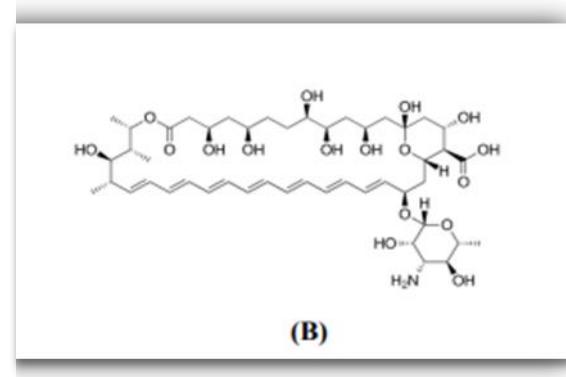
Leurs mécanismes d'action sont variés : certains inhibent la membrane fongique et la synthèse de la paroi cellulaire, d'autres perturbent la synthèse des acides nucléiques ou des microtubules, et certains altèrent les membranes fongiques (**Niimi et al., 2010**).

Les composés antifongiques utilisés actuellement se divisent en cinq groupes selon leur mode d'action : les polyènes, les échinocandines, les azolés, les fluorocytosines et les allylamines. Les deux premiers groupes sont issus de produits naturels, tandis que les trois autres sont synthétiques (**Odds, 2003**).

### 2.9.2 Les polyènes

Le polyène le plus connu est l'amphotericin B (AmB), utilisée depuis 1960 comme principal antifongique (**Ostrosky et al., 2003**). Ce polyène macrolide est un produit naturel de *Streptomyces nodosus*. L'AmB comprend une chaîne polyhydroxylée hydrophile et une chaîne polyène lipophile. Elle possède une grande affinité pour l'ergostérol membranaire. Son mode d'action, communément admis, est la formation de complexes insolubles stérols-AmB, entraînant un réarrangement moléculaire de la membrane de la levure. Cela altère la perméabilité cellulaire, provoquant la fuite de métabolites essentiels et la pénétration de sodium, conduisant à un œdème cellulaire (**Legane, 2007**).

L'AmB est insoluble dans l'eau et non absorbable par voie orale, nécessitant une administration par voie veineuse. Son spectre d'activité est large, incluant les levures, les champignons filamenteux et les champignons dimorphiques (**Legane, 2007**).



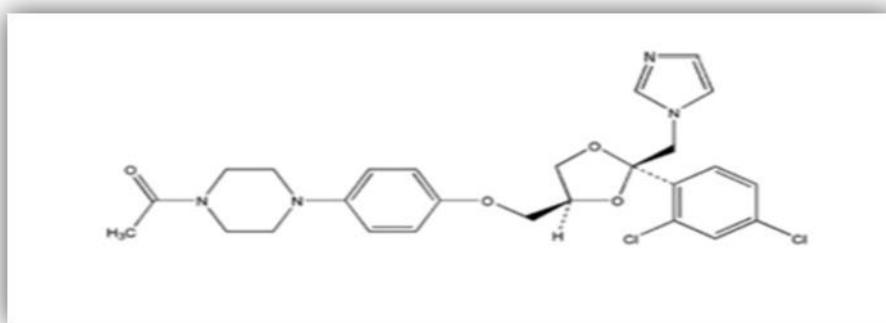
**Figure 4 :** Structure chimique de l'amphotéricin B.

### 2.9.3 Les dérivés azolés

Les dérivés azolés sont des molécules de synthèse dérivées du noyau azolé, comprenant un imidazole à deux atomes d'azote ou un triazole à trois atomes d'azote en commun (**Odds et al., 2003**).

Le kéroconazole, un antifongique imidazole illustré par la Figure 5, est lipophile et pratiquement insoluble dans l'eau (**Winnicka et al., 2012**), mais soluble dans des solvants organiques tels que l'éthanol, le DMSO et le DMF (diméthylformamide) (**Waugh, 2008**).

Le kéroconazole est l'un des antifongiques administrés par voie orale dans le traitement des infections superficielles et profonds (**Sugar et al, 1987**), il est utilisé aussi par voie topique. Il bloque l'activité d'enzyme lanostérol 14  $\alpha$ -demethylase (cytochrome). Il inhibe la biosynthèse du l'ergostérol qu'est nécessaire à la formation de la membrane fongique (**Odds, 2003**). Le kéroconazole inhibe la transformation du *C. albicans* de la forme blastospore à la forme mycéienne



**Figure 5 :** Structure du Kéroconazole (Perry et al, 2003).

#### **2.9.4 Les dérivés pyrimidiques**

Les dérivés pyrimidiques incluent la 5-fluorocytosine (5-FC), dérivé fluoré de la pyrimidine largement soluble dans l'eau, administrable par voie orale ou intraveineuse (**Legane, 2007**). Cliniquement, la 5-FC a souvent été utilisée en combinaison avec l'AmB pour une action synergique renforcée contre les infections fongiques, bien que cette association ait parfois minimisé la détection des phénomènes de résistance liés à la 5-FC (**Legane, 2007**).

#### **2.9.5 Les échinocandines**

Les échinocandines, dont la caspofungine est la plus connue, sont des lipopeptides amphiphiles semi-synthétiques comprenant un noyau hexapeptide cyclique et une chaîne latérale lipidique. Soluble dans l'eau mais non absorbée par voie orale, est administrée par voie veineuse (**Legane, 2007**).

Contrairement aux autres antifongiques, les échinocandines se distinguent par leur mode d'action unique qui consiste à inhiber la synthèse de la paroi fongique (**Odds, 2003**).

### **2.10 Traitement alternatif**

Face à la résistance croissante des espèces fongiques aux antifongiques conventionnels, les chercheurs se tournent de plus en plus vers des traitements alternatifs. Les huiles essentielles, produits naturels extraits des plantes par diverses méthodes, se révèlent être une option prometteuse dans le domaine des traitements naturels.

Les huiles essentielles sont privilégiées en raison de leurs nombreuses propriétés thérapeutiques. Elles possèdent des effets anticancéreux, anti-inflammatoires, antifongiques, antioxydants et antitoxiques, offrant ainsi une vaste gamme de possibilités pour le traitement de différentes affections.

En somme, les huiles essentielles représentent une alternative viable et efficace dans le traitement des maladies fongiques et autres affections, grâce à leurs multiples propriétés thérapeutiques et leur capacité à surmonter la résistance aux traitements conventionnels

# *Chapitre 2*

## *Les huiles essentielles*

## **1. Introduction**

Les huiles essentielles (HE), également appelées huiles volatiles ou éthérées (**Guenther, 1948**), sont des liquides aromatiques obtenus à partir de diverses matières végétales telles que les fleurs, bourgeons, graines, feuilles, rameaux, écorces, herbes, bois, fruits et racines. Elles se caractérisent par leur solubilité dans les solvants organiques ou lipidiques, une densité inférieure à celle de l'eau, un aspect lipidique et une forte odeur. Découvertes par les Arabes au Moyen Âge, les HEs étaient alors utilisées comme parfums et pour leurs propriétés médicinales telles que fongicides, virucides et antiseptiques. Elles peuvent être extraites par diverses méthodes, dont l'expression, la fermentation, l'enfleurage et l'extraction, mais la distillation à la vapeur d'eau est la méthode la plus couramment utilisée pour la production commerciale (**Van de Braak et Leijten, 1999**).

Le terme "huile essentielle" trouve son origine au XVIe siècle, lorsque le réformateur suisse de la médecine, Paracelse von Hohenheim, a nommé le composant actif d'un médicament "Quinta essentia"

## **2. Localisation des huiles essentielles**

Les HEs sont présentes presque exclusivement chez les végétaux supérieurs, avec une production notable parmi les familles des *Labiées*. On les rencontre dans toutes les parties de la plante : fleurs (bergamotier, tubéreuse), feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits (toutes-épices, anis), et grains (muscade). Elles sont souvent localisées près de la surface de la plante, dans les cellules à HEs des *Lauracées* ou *Zingibéracées*, poils sécréteurs des *Labiées*, poches sécrétrices des *Myrtacées* ou *Rutacées*, et canaux sécréteurs des *Apiacées* ou *Astracées*. La composition de l' HE peut varier selon sa localisation au sein des organes d'une même espèce (**Bruneton, 1993**).

## **3. Toxicité des huiles essentielles**

D'après **Runguba (2000)**, l'aromathérapie est largement utilisée dans le monde entier en raison de l'efficacité des HEs dans le traitement de nombreuses pathologies et de leur usage généralement sécurisé. Cependant, comme tout produit naturel, ces substances peuvent avoir des effets toxiques.

De nombreuses recommandations mettent en garde contre les effets toxiques potentiels des HEs. Par exemple, pendant la grossesse, l'utilisation d' HEs telles que l'huile de *M. pulegium*,

riche en cétone et pulegone, peut entraîner des conséquences graves, comme des naissances prématurées, des malformations congénitales, ou même la mort du fœtus.

De plus, l'Institut Français d'Aromathérapie (IFA) déconseille l'utilisation de l'huile de Thym rouge pour les soins du visage, ainsi que celles de Cannelle, Clou de girofle, et Origan en raison de leur effet irritant sur la peau (**Runguba, 2000**).

#### **4. Utilisation des Huiles Essentielles**

L'aromathérapie, une branche de la phytothérapie, se distingue par l'utilisation des HEs pour traiter divers troubles et maladies humaines. De plus en plus de médecins et de pharmaciens s'y intéressent, malgré la négligence historique de nombreux ouvrages sur le sujet. Récemment, on observe un retour significatif à l'utilisation des HEs pour la désinfection et le traitement des maladies infectieuses, en raison de leur efficacité durable et de l'absence de résistance qu'elles provoquent, contrairement aux antibiotiques (**Valnet et al., 1978**).

Les HEs offrent plusieurs modes d'application efficaces. D'une part, elles peuvent être appliquées directement sur la peau, où elles sont absorbées et agissent localement et systématiquement pour traiter diverses affections cutanées et douleurs musculaires. D'autre part, leur inhalation permet de traiter les maladies oto-rhino-laryngologiques et bronchopulmonaires, comme les infections respiratoires et les sinusites (**Franchomme, 1981**).

L'absorption cutanée des HEs est facilitée par leur petite taille moléculaire et leur lipophilie, ce qui leur permet de pénétrer les couches profondes de la peau et d'atteindre la circulation sanguine. L'application topique est couramment utilisée pour traiter les infections cutanées, les inflammations et les douleurs musculaires. Les HEs peuvent être diluées dans des huiles porteuses pour éviter les irritations cutanées.

L'inhalation, quant à elle, permet aux HEs de pénétrer rapidement dans les voies respiratoires et de se diffuser dans les poumons. Cette méthode est particulièrement efficace pour traiter les affections respiratoires, comme les rhumes, les bronchites et les sinusites. Les HEs peuvent être utilisés en diffusion atmosphérique, en inhalation sèche sur un mouchoir ou encore dans des bains de vapeur.

#### **5. La composition des huiles essentielles**

Selon **Mayer (2012)** et **Yanisse (2013)**, les HEs présentent une composition chimique complexe, principalement constituée de composés terpéniques et aromatiques dérivés du phénylpropane. Les terpéniques incluent les monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes, tandis que les aromatiques comprennent des substances comme l'acide et

l'aldéhyde cinnamique, l'eugénol, le carvacrol, l'anéthol et l'aldéhyde anisique. Un constituant dominant, appelé composé majoritaire, détermine souvent les propriétés thérapeutiques de l'HE. Les variations chimiques au sein d'une même espèce végétale conduisent à différents chémotypes, influencés par l'origine géographique, le climat et le sol. La composition des HEs peut également changer pendant l'extraction et la conservation. En plus de ces principaux constituants, les HEs contiennent également des acides organiques, des cétones de faible poids moléculaire et des coumarines volatiles en proportions plus faibles.

## **6. Les effets bénéfiques (HE)**

Les HEs sont reconnues pour leurs multiples bienfaits pour la santé humaine, comprenant des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes et anti-inflammatoires (**Bakkali et al., 2008; Astani et Schnitzler, 2014**). Issues d'extractions de plantes aromatiques, ces substances volatiles ont démontré leur efficacité dans le traitement des infections cutanées, des affections respiratoires et des maladies inflammatoires (**Lis-Balchin, 2003; Groot et Schmidt, 2016**).

En plus de leurs applications thérapeutiques, les HEs sont largement utilisées en aromathérapie pour soulager le stress, améliorer la qualité du sommeil et favoriser le bien-être général (**Ali et al., 2015**).

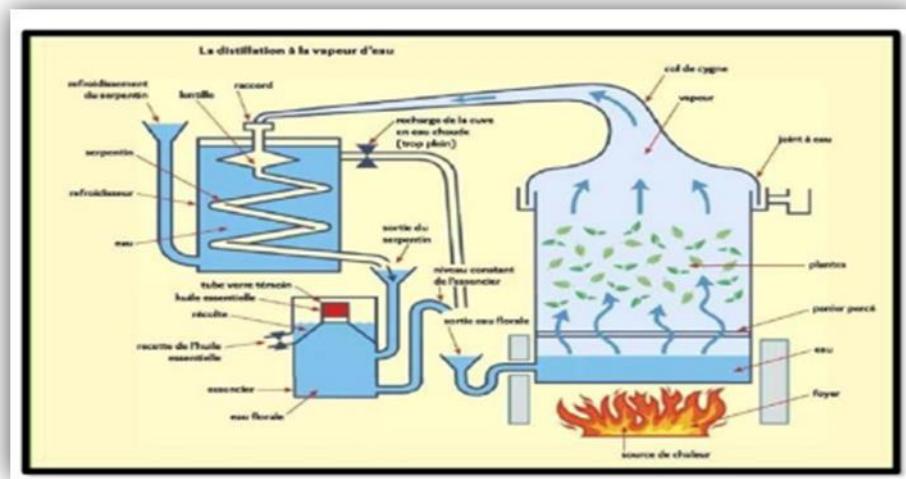
## **7. Les méthodes d'extraction**

L'extraction d'une HE est une opération complexe et délicate, visant à capter et recueillir les composés les plus volatils, subtils et fragiles élaborés par le végétal, sans altérer leur qualité. La difficulté de cette tâche est illustrée par la rapidité avec laquelle le parfum d'une fleur, même la plus odorante, se dégage, se disperse ou se dénature une fois ses pétales froissés. Lorsque la cuticule cireuse des poches épidermiques est brisée, l'essence s'échappe, et les molécules odorantes se dissipent rapidement dans l'air ambiant (**Lahlou, 2004**).

### **7.1. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est la méthode la plus couramment utilisée pour l'extraction des HEs des plantes. Cette méthode consiste à faire bouillir la matière végétale dans un ballon au laboratoire ou dans un alambic industriel. Après l'ébullition, les molécules sont libérées et emportées par la vapeur d'eau, puis condensées dans le réfrigérant. Après décantation, l'huile est séparée de l'eau en raison de la différence de densité. L'hydrodistillation est souvent privilégiée pour les plantes contenant des HEs dans leurs fleurs ou leurs feuilles fraîches ou

sèches, et elle est adaptée aux plantes aux constituants chimiques thermorésistants (**Bouhadouda, 2016**).



**Figure 6 :** Extraction des huiles essentielles par hydro distillation (**Beneteaud, 2011**).

## 7.2. Extraction par fluide supercritique

L'extraction par fluide supercritique est une méthode moderne pour extraire les HEs des plantes à faible rendement. Cette technique utilise des fluides à l'état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de température et de pression au-delà du point critique, où les fluides possèdent une bonne diffusibilité dans la matière solide et un bon pouvoir solvant.

Le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est le fluide le plus utilisé pour cette méthode en raison de ses nombreux avantages : c'est un produit naturel, chimiquement inerte, sélectif, non toxique, ininflammable et peu coûteux. L'extraction par CO<sub>2</sub> se fait à des pressions et des températures au-delà de son point critique (p : 72.8 bar ; T : 31°C). Une fois que le fluide supercritique a traversé le produit à traiter et s'est chargé en composés à extraire, il est détendu pour passer en phase gazeuse. Cette méthode permet d'obtenir des HEs de haute qualité en un temps plus court comparé aux méthodes classiques (**Bouhadouda, 2016**).

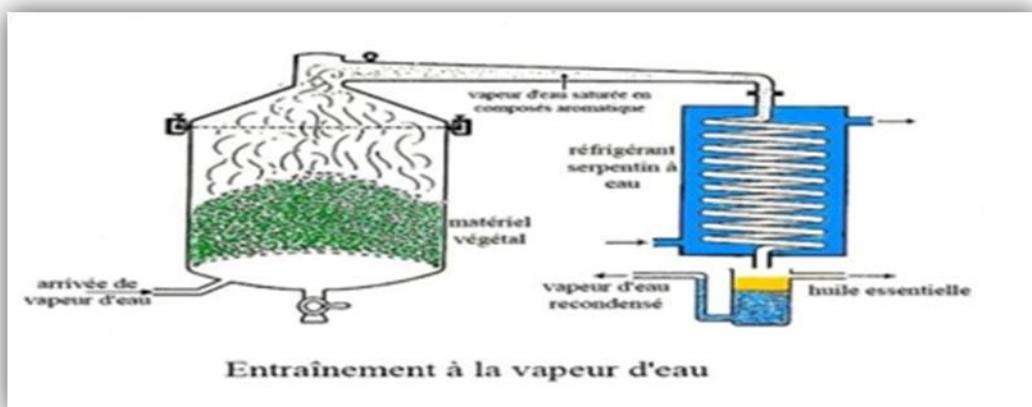


**Figure 7 :** Extraction des huiles essentielles par expression (Beneteaud, 2011)

### 7.3. Extraction par entraînement à la vapeur

Cette méthode est adaptée pour l'extraction des HEs à partir de plantes fraîches en eau, telles que la menthe et le myrte, ou des plantes dont les HEs se trouvent dans les feuilles. Elle réduit considérablement le risque d'hydrolyse et de réactions chimiques indésirables des HEs. Le matériel végétal est placé sur une grille au-dessus d'une plaque située à une certaine distance du fond d'un alambic rempli d'eau. La chaleur appliquée fait évaporer l'eau de l'alambic.

Ensuite, la vapeur traverse le matériel végétal, entraînant avec elle les molécules aromatiques de la plante. La vapeur et les composés aromatiques sont dirigés vers un système de refroidissement où ils se condensent pour revenir à l'état liquide. La vapeur condensée se sépare par décantation en deux phases : l'HE et l'eau florale ou hydrolat (Bouhadouda, 2016).



**Figure 8:** Extraction des huiles essentielles par Entrainement à la vapeur d'eau (Beneteaud, 2011)

#### **7.4. Extraction assistée par micro-ondes**

L'extraction par micro-ondes est une approche innovante qui utilise la chaleur générée par les micro-ondes pour extraire les HEs. En chauffant directement le matériel végétal sans ajout de solvant ou d'eau, les micro-ondes permettent de rompre la structure cellulaire et d'extraire les composants volatiles tels que les HEs présentes dans les glandes et les récipients oléifères. Ces composants s'évaporent avec l'eau et forment un mélange qui est récupéré et séparé pour obtenir les huiles pures. Cette méthode offre plusieurs avantages, notamment une extraction plus rapide et efficace, des rendements plus élevés, et une meilleure préservation de la qualité des extraits. Elle est également adaptée à toutes les espèces de plantes (**Boukhatem et al., 2019**).

#### **7.5. Enfleurage**

L'enfleurage est une méthode d'extraction qui utilise la liposolubilité des composants aromatiques des plantes. Cette méthode consiste à déposer les pétales de fleurs fraîches sur des plaques en verre recouvertes de couches minces de graisse animale (saindoux). Les HEs présentes dans les pétales des fleurs sont absorbées par la graisse en 24 à 72 h, selon l'espèce. Les pétales sont ensuite remplacés par d'autres frais jusqu'à saturation du corps gras, qui est ensuite épuisé par un solvant évaporé sous vide. Cette méthode est moins utilisée en raison de son faible rendement (**Bouhadouda, 2016**).

### **8. Voies d'administration des huiles essentielles**

#### **8.1. Voie orale**

Les HEs peuvent être administrées par voie orale sur ordonnance, sous forme de sirops, de gouttes à avaler, ou de gélules. Les gouttes sont souvent prises avec un support tel que le miel ou des comprimés neutres disponibles en pharmacie. Cependant, cette voie d'administration n'est généralement pas recommandée pour les femmes enceintes, les femmes allaitantes, et les enfants de moins de 6 ans (**Muther, 2015**).

#### **9.2. Voie cutanée**

La voie cutanée est particulièrement adaptée pour traiter de nombreuses affections grâce à l'absorption rapide et à la diffusion efficace des HEs dans la circulation sanguine. L'application peut se faire par friction, massage, bain, ou compresse. Dans certains cas, il est conseillé de diluer l'HE pour éviter les irritations cutanées (**Muther, 2015**).

### **9.3. Voie respiratoire**

La voie respiratoire est utilisée pour administrer des substances volatiles, permettant une absorption rapide et efficace des HEs. Cette méthode favorise la circulation générale des huiles, évitant ainsi leur passage par le métabolisme intestinal et hépatique (**Bouyahya et al., 2016**).

### **9.4. Voie vaginale**

L'administration par voie vaginale permet aux HEs d'agir de manière ciblée et efficaces sur les infections vaginales. Cette méthode, réalisée sous surveillance médicale, utilise diverses formes telles que les crèmes (**Roux, 2011; Cazau-Beyret, 2013**).

## **10. Rôle des huiles essentielles**

Le rôle précis des HEs dans la physiologie végétale demeure encore partiellement méconnu, bien qu'elles semblent jouer un rôle crucial dans l'adaptation des plantes à leur environnement. Ces composés volatils produits par les plantes influencent le comportement des microorganismes, des champignons, des insectes et des herbivores. Les HEs peuvent agir comme des mécanismes de défense contre les prédateurs, en repoussant les insectes et les herbivores, ou en protégeant contre les pathogènes. Elles sont également impliquées dans l'attraction des insectes pollinisateur et des disséminateurs de graines, ainsi que dans des processus allélopathiques et des interactions tritrophiques.

Ces relations interviennent généralement à trois niveaux d'une chaîne alimentaire, impliquant une espèce végétale, un insecte herbivore et son prédateur ou parasite. En plus de leur rôle dans les interactions écologiques, les huiles essentielles jouent un rôle vital pour la plante elle-même. Certains de leurs composants agissent comme des messagers internes ou interviennent dans le métabolisme végétal. De plus, les HEs peuvent servir de source d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est pas suffisante (**Descheppe, 2017**).

# *Chapitre 3*

## *Les plantes médicinales utilisées dans cette étude*

## **1. *Origanum vulgare***

### **1.1 Histoire**

L'origan, connu depuis l'Antiquité en Grèce et en Italie, était utilisé non seulement pour ses vertus aromatiques en cuisine, mais aussi pour ses propriétés médicinales. De plus, il jouait un rôle symbolique important, étant associé à la joie et utilisé lors des mariages pour apporter paix et bonheur aux mariés.

### **1.2 Nomenclature et classification**

Le terme "origan" provient de deux mots grecs : "OROS" signifiant montagne et "ganos" signifiant éclat, ce qui se traduit par "ornement des montagnes" (**Figueredo, 2007**).

La classification taxonomique selon **Deysson (1967)** est la suivante :

- **Embranchement** : Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Dicotylédones
- **Sous-classe** : Gamopétales
- **Série Superovariées** : Tétracycliques
- **Super ordre** : Tubiflorales
- **Ordre** : Lamiales
- **Famille** : *Lamiaceae*
- **Sous-famille** : Népetoïdées
- **Genre** : *Origanum*

La famille des *Lamiaceae* comprend 187 genres et 3 000 espèces. C'est la famille la plus homogène de la sous-classe des gamopétales, avec la plupart des genres riches en HEs (**Atlan, 1987**). L'ancien nom des *Lamiaceae* était "Labiées", dérivé du mot latin "Labium" signifiant lèvre, en raison de la forme particulière des corolles

### **1.3 Présentation botanique d'*O. vulgare***

Une plante herbacée vivace, varie en taille de 30 à 80 cm de hauteur, selon **Ietswaart (1980)**. Elle fleurit de mai à octobre (Figure 9). Ses tiges sont dressées, souvent rougeâtres et velues, portant des feuilles ovales, opposées et espacées, qui possèdent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes.

Les fleurs, blanches ou roses, sont groupées en inflorescences. Chaque fleur se situe à l'aisselle d'une bractée ovale, dépassant le calice. Le fruit de l'origan est constitué d'akènes.

La période de floraison s'étend de mai à octobre (**Teuscher et al., 2004** ; **Figueredo, 2007**) (Figure 10).



**Figure 9 :** Caractéristiques botaniques d'*O. vulgare* (**Bouhaddouda, 2016**).

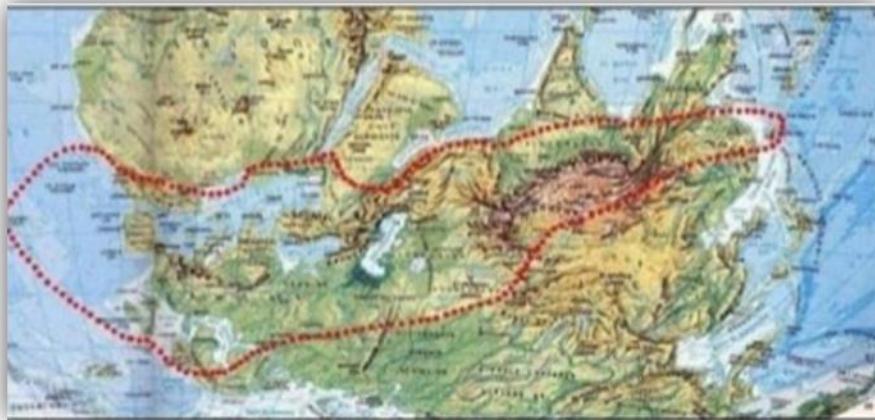
**Figure 10 :** La partie florale d'*O. vulgare*

#### 1.4 Distribution géographique

Le genre *Origanum*, identifié par Ietswaart en 1980, est divisé en trois groupes comprenant dix sections, regroupant 38 espèces, six sous-espèces, trois variétés et des hybrides naturels.

##### 1.4.1 Répartition mondiale

*O. vulgare* est une plante spontanée endémique présente au nord de l'Afrique, notamment en Algérie et en Tunisie (**Ietswaart, 1980**). Elle est courante dans les zones sèches et ensoleillées telles que le Tell, poussant du niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur des substrats calcaires (**Baba Aissa, 1990**). On la trouve également dans les îles Canaries, en Europe du Nord, en Asie de l'Est et en Afrique du Nord. La Turquie, considérée comme le centre génétique du genre *Origanum*, abrite 16 espèces (**Baser, 1995**).



**Figure 11 :** Distribution du genre *Origanum* au monde (**Ietswaart, 1980**).

#### 1.4.2 En Algérie

L'origan est une plante très répandue en Algérie, représentée par deux espèces : *Origanum vulgare* ssp. *glandulosum* et *Origanum floribundum* (**Mahfouf, 2018**) (Tableau 2).

**Tableau 2:** Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie (**Hazzit, 2008**)

Espèce	Localisation caractéristique
<i>Origanum vulgare</i>	- Commune dans tout le Tell. - Endémique Algéro-Tunisienne. - Pousse dans les garrigues et broussailles
<i>Origanum floribundum mumbi</i>	- Espèce rare qui pousse dans la partie nord centrale (Kabylie, Médéa, Blida). - Endémique d'Algérie. - Pousse en pâturage et surtout en montagne

#### 1.5 Utilisation traditionnelle d'*Origanum vulgare*

Les plantes du genre *Origanum* sont traditionnellement utilisées pour traiter diverses affections dermatologiques, protéger les tissus dans le traitement des crevasses, et soulager les troubles urinaires ainsi que les piqûres d'insectes (**Bruneton, 1999**).

En cas de rhume, l'origan est employé comme antalgique pour les affections de la cavité buccale et du pharynx, et pour traiter les troubles respiratoires, la dyspepsie, les menstruations douloureuses et l'arthrite rhumatoïde (**Bruneton, 1999**). En outre, l'origan est couramment utilisé pour sa saveur et son arôme dans les aliments, ainsi que dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Tucker et Maciarello, 1994**).

## **2. *Mentha pulegium* L.**

### **2.1 Étymologie**

Le terme "pouliot" provient du latin "pulegium", lui-même dérivé de "pulex" qui signifie puce, en référence à la capacité de la plante à repousser ces insectes (**Gamisans et Jeanmonod, 1993**). La menthe pouliot, couramment appelée "fliyou" en arabe vernaculaire, est largement employée en médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures (**Agnihotri et al., 2005**). Cette plante est divisée en deux sous-espèces : *Mentha pulegium* ssp. *vulgaris* et *Mentha pulegium* ssp. *pulegium* (**Quézel et Santa, 1962**), la seconde étant le sujet de notre étude.

La menthe pouliot pousse naturellement dans des zones humides, que ce soit en plaine ou en montagne, et émerge en été, dès le mois de juillet, sous forme d'herbe vivace à tige feuillue et fleurie, localement appelée "fliou" (**Baba Aissa, 1999 ; Mossaddak, 1995**).



**Figure 12 :** Feuille de la menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.).

### **2.2 Nomenclature et classification**

Selon **Quézel et Santa (1963)** et **Guignard et Dupont (2004)**, la classification systématique de *Mentha pulegium* L., connue en Algérie sous le nom vernaculaire "fliyou" et en français sous le nom de "menthe pouliot", est la suivante :

- **Règne** Plantes:
- **Embranchement** : Phanérogames ou Spermaphytes
- **Sous-embranchement** : Angiospermes
- **Classe** : Eudicots
- **Sous-classe** : Astéridées
- **Ordre** : Lamiales

- **Famille :** Lamiacées
- **Genre :** *Mentha* (Tourn.) L.
- **Espèce :** *Mentha pulegium* L.

### 2.3 Description botanique de *Mentha pulegium*

La famille des *Lamiacées*, aussi appelée Labiéees, regroupe environ 258 genres et 6900 espèces qui sont principalement concentrées dans le bassin méditerranéen (**Botineau, 2010**). Le genre *Mentha*, faisant partie de cette famille, compte entre 25 et 30 espèces réparties à travers le monde (**Dorman et al., 2003**). Les menthes sont des plantes herbacées vivaces, connues depuis l'Antiquité pour leurs nombreuses utilisations, notamment en médecine traditionnelle (**Edrissi, 1982**).

*M. pulegium* L., communément appelée menthe pouliot, se caractérise par des tiges dressées, souvent de section carrée, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées, pouvant atteindre 10 à 30 cm de hauteur. Les feuilles opposées de *M. pulegium* sont petites, ovales ou oblongues, légèrement dentelées ou crénelées, munies de courts pétioles. La plante est glabre et présente des inflorescences formées de nombreux verticillastres denses et espacés (**Quezel et Santa, 1963**). Les fleurs, de couleur rose lilas à parfois blanches, apparaissent de mai à fin septembre et sont regroupées en glomérules à l'aisselle des feuilles.

Le calice de la fleur est à cinq dents poilues, avec une gorge obstruée par des poils à maturité. La corolle, également poilue à la gorge, présente une bosse sur un côté (**Raybaud, 1985**).



**Figure 13 :** Représentation schématique et photo de *M. pulegium* L. (**Amina, 2015**).

### 2.4 Aire de répartition

*M. pulegium* L., est une plante vivace aromatique qui s'épanouit dans un vaste territoire. Son aire de répartition s'étend principalement à travers le bassin méditerranéen, où elle est omniprésente, mais elle ne s'arrête pas là. Cette espèce voyageuse s'aventure également sur d'autres continents, établissant sa présence dans des régions d'Asie, d'Amérique et même du

nord de l'Afrique, couvrant une zone allant de l'Égypte au Maroc (**Gamisans et Jeanmonod, 1993**).

En Algérie, la menthe pouliot est particulièrement abondante. On la retrouve spontanément dans les zones humides, comme les marécages bordant les routes, mais elle affectionne également les pâturages de montagne, où elle s'installe naturellement (**Quézel et Santa, 1963; Chalchat et al., 2000**). Cette plante adaptable apprécie les milieux humides et apprécie les climats tempérés, ce qui explique sa large distribution à travers le monde.



**Figure 14:** Aire de répartitions des menthes dans le monde (**Chalchat et al., 2000**)

## 2.5 Propriétés et utilisations

Les feuilles et les sommités fleuris de *M. pulegium* L. possèdent des propriétés antiseptiques et sont utilisées traditionnellement pour traiter le rhume, l'intoxication, la sinusite, le choléra, la bronchite et la tuberculose. Elles sont également reconnues pour leurs effets antioxydants (**ELGhorab, 2006**). Cette plante est largement employée pour soulager les symptômes du rhume, les maux de gorge, la toux et les infections pulmonaires, et elle agit également comme un excellent digestif (**Hmamouchi, 2001**).

L'HE de *M. pulegium* L. démontre une activité antibactérienne notable (**Derwich et al., 2010; Mahboubi, 2008**). Son parfum agréable repousse certains parasites et elle est reconnue pour ses propriétés insecticides bien établies. Historiquement, elle était brûlée dans les espaces infestés par les puces et utilisée sous forme de lotion pour débarrasser les animaux domestiques de ces nuisibles parasites (**Baba Aissa, 1999**).

En Italie, la menthe pouliot est largement utilisée pour aromatiser les farces et les pâtes relevées, ainsi que pour assaisonner des plats traditionnels comme le boudin ou les saucisses aux herbes (**Callery, 1997; Seidemann et Wurzmittel-Lexikon, 1997**).

### *Chapitre 3 Les plantes médicinales utilisées dans cette étude*

---

En Algérie, elle est particulièrement appréciée et utilisée dans la préparation de plats traditionnels comme le ragout de pomme de terre au poulot, appelé batata fliou (**Baba Aissa, 1999**).

*Partie*

*Expérimentale*

# *Chapitre 1*

## *Matériel et Méthodes*

## **1. Objectif du travail**

Le but principal de notre recherche est d'analyser l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de deux plantes médicinales, *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*, vis-à-vis *C. albicans*. Pour réaliser ce travail, nous avons établi les objectifs suivants :

- Accueillir les plantes, les laver et les laisser sécher dans l'obscurité ;
- Extraire l'huile essentielle par hydrodistillation ;
- Tester l'activité antifongique de l'huile essentielle ;
- Évaluer l'activité antioxydante des huiles.

## **2. Lieu et durée du travail**

Ce travail a été réalisé au sein des laboratoires de microbiologie et de biochimie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, sur une période allant du 28 février au 25 mars.

## **3. Matériel et produits utilisés**

### **3.1 Produits et appareillage**

Le Tableau 3 liste tous les milieux de culture utilisés ainsi que les produits et les équipements employés.

**Tableau 3 : Produits, milieux de cultures et appareillages.**

<b>Appareils</b>	<b>Verreries et autres</b>	<b>Produits chimiques et milieux de culture</b>
-Agitateur magnétique thermique (STUART) -Etuve (Rostfrei 37°C) -Vortex (VFI) -Balance électrique (Kern) -Microscope optique(Optika) -Autoclave (Sanoclav) -Micropipettes - Spectrophotomètre(Jenway 7305)	-Becher -Tubes à essais -Boites de pétri -Lames -Lamelles -Embouts -Tubes eppendorfs -Pipettes Pasteur -Microplaques à 96 trous	-Violet de Gentiane -Bleu de méthylène -Nystatine - TréphenyltetrazoliumChloride -Sabouraud bouillon -Gélose Sabouraud Chloramphénicol Actidione

#### **4. Matériel fongique**

Pour la réalisation de ce travail, deux souches fongiques de référence ont été sélectionnées : *C. albicans* ATCC 10231 (CA) et *C. albicans* ATCC 10237 (M3). Ces souches ont été repiquées sur un milieu Sabouraud-Chloramphénicol-Actidione et incubées à 37 °C pendant 24 h pour les utiliser. Des observations macroscopiques et microscopiques ont été effectuées afin de vérifier la pureté des souches

#### **5. Matériel végétal**

Dans notre étude, nous avons examiné deux plantes médicinales, *M. pulegium* et *O. vulgare*, récoltées dans la région d'Ath Ouassif, située dans la Wilaya de Tizi-Ouzou. La collecte a eu lieu au début du mois d'Aout. Les plantes récoltées ont été séchées et conservées à l'abri de la lumière à une température ambiante afin de préserver son intégrité moléculaire. L'extraction de l'HE a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un hydro-distillateur au laboratoire. L'identification de la plante a été réalisée par Pr. AIT HAMMOU, botaniste à la Faculté des sciences de la nature et de la vie de TIARET, en se basant sur la description de **Quézel et Santa (1962)**.



**Figure 15 :** Partie aérienne des plantes testées  
(A): *M. pulegium*; (B): *O. vulgare*

#### **6. Extraction des huiles essentielles**

La méthode utilisée est l'hydrodistillation, réalisée avec un hydro distillateur (Figure 16) dans le laboratoire de biochimie de notre université. Cette technique implique l'immersion des parties végétales dans de l'eau distillée portée à ébullition pendant deux à trois heures. La vapeur est ensuite condensée dans un réfrigérant, formant un liquide contenant l'huile

essentielle et l'hydrolat (**Adam et al., 1998**). L'huile est séparée par décantation à l'aide d'une ampoule à décanter (Figure 17). Les résidus d'eau présents dans l'huile sont éliminés par l'ajout de sulfate de sodium (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), et l'huile est ensuite stockée dans un flacon sombre à 4°C.



**Figure 16 :** Dispositif d'hydrodistillation



**Figure 17 :** Ampoule à décantation

### 6.1. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement en huiles essentielles a été calculé pour les deux plantes testées. Ce rendement d'extraction est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de matière végétale sèche. Il est exprimé comme suit : (**Bousbia et al., 2018**)

$$R = (M_{vs}/M_{he}) \times 100$$

R : Rendement en pourcentage.

M<sub>he</sub> : la masse d'huile essentielle récupérée en gramme.

M<sub>vs</sub> : la masse de matière végétale en gramme.

## 7. Evaluation des activités antioxydantes

### 7.1. Evaluation du pouvoir de réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Le pouvoir réducteur du fer est l'un des tests les plus couramment utilisés pour déterminer la capacité antioxydante des substances. Il repose sur la réduction des ions ferriques [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>-3</sup> en ions ferreux [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>-4</sup> dans un milieu neutre, ce qui produit une coloration bleue en présence d'ions Fe<sup>+3</sup>. Différentes concentrations d'huile essentielle dans l'éthanol ont été préparées puis mélangées à 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml d'une

solution de ferricyanure de potassium ( $K_3Fe(CN)_6$ ) à 1 %. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement, 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % ont été ajoutés pour arrêter la réaction. Les mélanges ont ensuite été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Dans un aliquote, 1 ml de surnageant a été combiné avec 1 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de chlorure ferrique ( $FeCl_3$  à 0,1 %).

L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière mais en remplaçant l'huile essentielle par de l'éthanol (Yen et Duh, 1993). Le contrôle positif est représenté par des antioxydants standards, l'acide ascorbique et l'acide gallique, dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des substances testées.

### **7.2. Évaluation du pouvoir antioxydant**

L'évaluation de l'activité antioxydante des échantillons a été réalisée en utilisant la méthode du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). En solution alcoolique, le radical DPPH présente une couleur violette, dont l'intensité est mesurée à 517 nm. Lorsque le radical DPPH capture un électron apparié à un hydrogène, il est réduit à sa forme non radicalaire, de couleur jaune pâle. Cette décoloration indique le pouvoir antioxydant d'un échantillon (Niki, 2010).

La méthode consiste à mélanger 1 ml de différentes dilutions de l'huile essentielle (dans l'éthanol) avec 0,2 ml de solution de DPPH préparée à 0,5 mM dans de l'éthanol pur. L'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Le blanc est composé de 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de solution de DPPH.

Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé en utilisant la formule suivante :

$$AA (\%) = (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{test}} / Abs_{\text{contrôle}}) \times 100.$$

AA : activité anti-radicalaire,

Abs<sub>test</sub>: absorbance de l'échantillon,

Abs<sub>contrôle</sub>: absorbance du contrôle négatif.

## **8. Evaluation de l'activité anti-*Candida albicans***

### **8.1. Aromatogramme**

Pour évaluer l'activité antifongique, nous avons conduit un aromatogramme, une méthode d'analyse similaire à l'antibiogramme mais adaptée aux huiles essentielles plutôt qu'aux antibiotiques.

### *Préparation de l'inoculum*

Des colonies jeunes de *C. albicans* ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et suspendues dans 9 ml d'eau physiologique stérile. Ces cultures ont été standardisées en utilisant un spectrophotomètre à  $10^6$  UFC/ml (DO = 0.15, mesurée à une longueur d'onde de 625 nm) (**Mendoza-Juache et al., 2017**).

### *Ensemencement*

La gélose Sabouraud a été coulée dans des boîtes de Pétri et laissée refroidir. Les suspensions fongiques préparées ont été ensemencées sur la gélose à l'aide d'un écouvillon stérile, en réalisant des stries serrées pour assurer une répartition uniforme.

### *Diffusion sur les disques*

Des disques imprégnés de d'huiles essentielles à tester (5 $\mu$ l) ont été placés au centre des boîtes de Pétri. Des disques de Nystatin à différentes concentrations (10, 20 et 30  $\mu$ g) ont également été utilisés comme témoins positifs.

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h.

### *Lecture*

La lecture a été faite par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un double décimètre. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'HE (**Ponce et al., 2003**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

### **7.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La détermination de la concentration minimale inhibitrice des deux huiles essentielles sur les deux souches testées a été réalisé par la méthode de microdilution sur des microplaques selon le protocole précédemment rapporté (**El-Baz et al., 2021**). Des dilutions dans le bouillon sabouraud ont été préparées de chaque huile essentielle et ajoutées à des microplaques à fond rond de 96 puits avec des concentrations finales allant de 0,078 à 40 mg/ml. Pour améliorer la solubilité de l'huile, du Tween 80 a été ajouté à une concentration finale de 0,1% (v/v). Après la préparation susmentionnée, des inocula pour chaque souche ont été ajoutés aux plaques (volume final de  $10^5$  UFC/ml), puis incubés à 37 °C pendant 22 h.

Pour révéler la croissance fongique, après la période d'incubation, une solution aqueuse de 2,3,5-triphényltétrazolium chlorure (TTC) (2 mg/ml) a été ajoutée à chaque puits et incubée à 37 °C pendant environ 2 h. Un changement de couleur en violet révèle la présence d'activité microbienne. La CMI est la concentration la plus faible d'huile essentielle qui empêche la croissance fongique visible.

### **7.3. Détermination de la concentration minimale fongicide**

Pour déterminer la Concentration Minimale Fongicide (CMF), nous avonsensemencé des cultures à partir des préparations n'ayant pas présenté de changement de couleur sur gélose Sabouraud, puis incubé ces cultures à 37°C pendant 48 h, conformément à la méthode décrite par **El Alama et al. (2017)**, en incluant toujours un témoin positif.

La CMF est définie comme la plus faible concentration de l'huile essentielle empêchant toute croissance visible de *C. albicans* après incubation.

Un rapport CMF/CMI inférieur à 4 indique un effet fongicide, tandis qu'un rapport supérieur ou égal à 4 indique un effet fongistatique, selon les critères établis par **Derwich et al. (2010)**.

# *Chapitre 2*

## *Résultats et discussion*

## 1. Résultats

### 1.1 Rendement et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Après la décantation de l'huile essentielle, les caractéristiques organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur ont été notées. Le rendement en huile essentielle est indiqué par la quantité d'huile (en ml) obtenue à partir de 100 g de matière végétale sèche. Les résultats des rendements ainsi que les différentes caractéristiques organoleptiques des huiles testées sont présentés dans le Tableau 4.

**Tableau 4 :** Rendement et caractères organoleptique des huiles essentielles.

Huile essentielle	<i>O. vulgare</i>	<i>M. pulegium</i>
Aspect	Huileux	Huileux
Couleur	Jaune foncé	Jaune clair
Odeur	Aromatique forte	Aromatique modérée
Rendement (%)	2.8	1.2

Selon le tableau, l'*O. vulgare* étudié dans notre travail a présenté un rendement de 2,8 %, un résultat plus élevé que celui obtenu par **Mahfouf (2018)** pour l'origan d'Algérie qui a rapporté une valeur de 1,15 %. De même, l'étude de **Mechergui et al. (2010)** a montré un rendement bien inférieur, entre 0,1 et 0,7 %, pour l'*O. vulgare* de Tunisie. L'HE de *M. pulegium*, avec un rendement de 1,2 %, est presque similaire à celui rapporté dans une étude précédente menée par **Belghazi et al. (2002)**, qui était de 0,82 %.

Selon **Leyva-Lopez et al. (2017)** et **Morshedloo et al. (2017)**, de nombreux facteurs influencent le rendement et les caractéristiques physico-chimiques, tels que l'espèce et les conditions environnementales, la technique d'extraction, les conditions de séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturelles et l'âge du matériel végétal.

### 1.2 Activité antioxydante

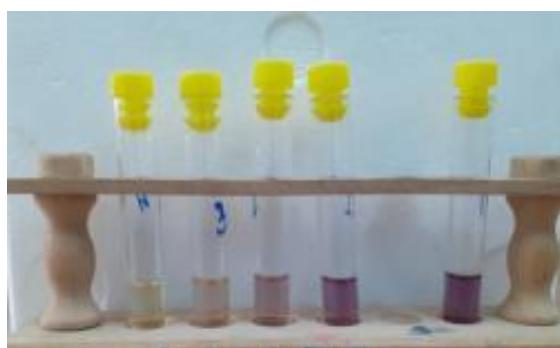
Les activités antioxydantes des huiles ont été évaluées par la mesure du pouvoir réducteur et la capacité de piégeage du radical libre DPPH. Les différents tests ont été menés avec des standards et les huiles essentielles à différentes concentrations. Les EC 50 et les IC 50 calculées sont rapportées dans le tableau 5.

**Tableau 5 :** Activité antioxydante des huiles essentielles d'*O. vulgare* et de *M. pulegium*

<b>Huiles essentielles / standard</b>	<b>FRAP</b>	<b>DPPH</b>
	(EC 50) mg/ml	(IC 50) mg/ml
Acide Ascorbique	0.02694 ± 0.00147	0.00742 ± 0.0006
<i>O. vulgare</i>	1.16 ± 0.01	1.87 ± 0.003
<i>M. pulegium</i>	18.61 ± 2.22	10.79 ± 0.54

Les résultats obtenus ont révélé que l'HE d'*O. vulgare* possède le pouvoir réducteur le plus élevé avec une EC50 de 1,16 mg/ml. En revanche, l'HE de *M. pulegium* présente une capacité réductrice plus faible, avec une EC50 de 18,61 mg/ml. Ce pouvoir réducteur reste inférieur à celui de l'antioxydant standard. Des résultats similaires ont été obtenus pour l'inhibition du radical DPPH, l'huile d'origan ayant le pouvoir le plus élevé avec une IC50 de 1,87 mg/ml, suivie de la menthe avec une IC50 de 10,79 mg/ml.

Dans une étude menée par **Bernaoui et Louetri (2018)**, un résultat de IC50 = 1300 µg/ml, similaire à nos résultats, a été obtenu. Cependant, la valeur de l'IC50 de la présente étude est inférieure aux résultats obtenus par **Ounaissia (2015)**, qui a étudié les huiles essentielles d'*O. vulgare* et de *M. pulegium* et a trouvé des IC50 de 21,33 µg/ml et 16,03 µg/ml, respectivement.



**Figure 18 :** Activité antioxydante des huiles testées.

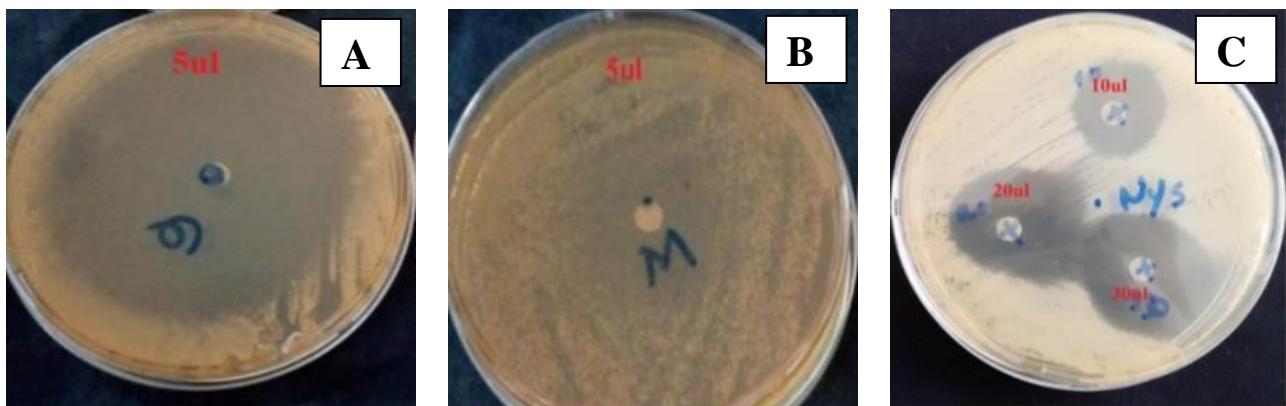
### 1.3 Activité antimicrobienne

#### 1.3.1 Test d'aromatogramme

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles contre les deux souches de références de *C. albicans* a été effectuée par la méthode de l'aromatogramme. L'action fongistatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné de l'huile étudié. Les résultats du test de sensibilité des souches sont Regroupés dans le Tableau 6 et la Figure 19.

**Tableau 6:** Activité antifongiques des HE vis-à-vis des souches de référence.

<i>C. albicans</i>	Taux d'inhibition (mm)				
	<i>O. vulgare</i>	<i>M. pulegium</i>	Nystatin		
	5 µl	5 µl	10 µg	20 µg	30 µg
ATCC10231	60	20	16	20	24
ATCC10237	62	15	21	23	27



**Figure 19 :** Aromatogramme d'HE et de l'agent antifongique vis-à-vis la souche référencées de *C. albicans* (M3). A : Effet de l'HE d'*O. vulgare* (5µl) ; B : Effet de l'HE de *M. pulegium* (5µl) ; C : Effet de la nystatin à différentes concentrations (10, 20, et 30 µg/ml)

Nous pouvons constater que toutes les souches fongiques testées sont sensibles aux deux huiles essentielles. L'activité inhibitrice était beaucoup plus élevée pour l'huile essentielle d'*O. vulgare*, avec une zone d'inhibition de 60 à 62 mm. Selon l'échelle citée par **Mutai et al. (2009)**, l'huile essentielle d'*O. vulgare* a montré une très forte activité contre les souches testées, avec une zone d'inhibition de 69 mm. Ce résultat est en contraste avec les travaux de **Bhat et al. (2018)**, qui ont rapporté une zone d'inhibition de  $30 \pm 3$  mm, et ceux de **Madani (2011)**, avec une zone d'inhibition de 12 à 17 mm.

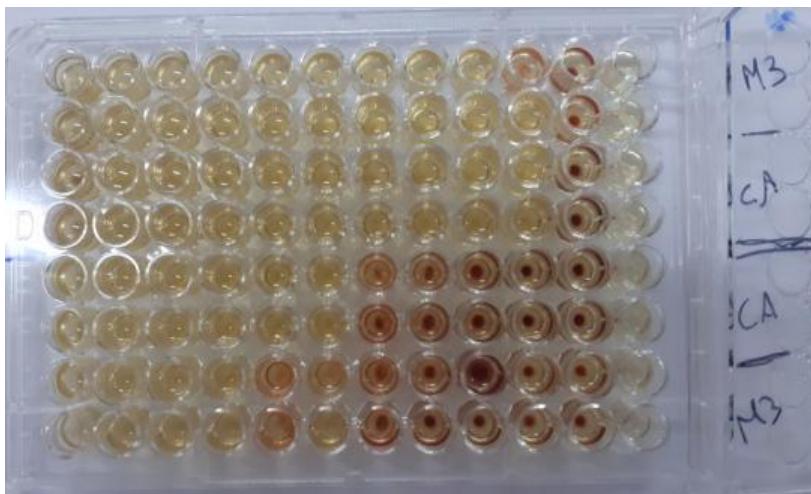
L'huile essentielle de *M. pulegium* a également montré une activité inhibitrice de la croissance microbienne, avec une zone d'inhibition entre 15 et 20 mm. Notre résultat est similaire à celui de l'étude précédente menée par **Mahboubi (2018)**, qui a rapporté une zone d'inhibition de 13 à 21 mm.

#### **1.4 Évaluation de la CMI et CMF des huiles essentielles**

Les deux huiles ont été testées par la méthode de microdilution sur deux souches de *C. albicans*. Les résultats sont représentés dans le Tableau 7 et figure 20.

**Tableau 7:** CMI et CMF des deux huiles essentielles testées.

<i>C. albicans</i>	<i>O. vulgare</i> (mg/ml)		<i>M. pulegium</i> (mg/ml)	
	CMI	CMF	CMI	CMF
ATCC10231	0.62	0.62	1.25	1.25
ATCC10237	0.15	0.62	5	5



**Figure 20 :** Résultats du test d'évaluation des CMIs

Les résultats obtenus par la microdilution, représentés dans le Tableau 7, montrent que l'HE d'*O. vulgare* est plus efficace vis-à-vis de *C. albicans* avec une CMI de 0.62 et de 0.15 mg/ml. Suivi par *M. pulegium* avec une CMI de 1.25 et 5 mg/ml. L'expression du rapport CMF/CMI indique que l'effet des huiles essentielles est fongicide pour les deux souches.

**Benziane et al. (2023)** dans une autre étude sur *O. glandulosum* a trouvé un effet fongicide sur des souches isolées de *C. albicans* avec des CMI de 250 à 500 µg/ml.

Des CMI moins importantes pour l'huile de *M. pulegium* avec des valeurs similaires de 5000 µg/ml obtenus par **Gourich et al. (2022)**. D'autre étude on montré l'effet fongicides des deux huiles testées (**Delic et al., 2013; Baj et al., 2020**).

*Troisième*  
*Partie*  
*Conclusion*

## **Conclusion générale**

Cette étude visait à évaluer les effets antifongiques et antioxydants des huiles essentielles d'*O. vulgare* (origan) et de *M. pulegium* (menthe pouliot) sur *C. albicans*. Les résultats obtenus sont prometteurs et démontrent le potentiel de ces huiles essentielles en tant qu'alternatives naturelles aux antifongiques traditionnels.

Les rendements obtenus pour les huiles essentielles des deux plantes sont appréciables. L'huile essentielle d'*O. vulgare* a montré un rendement de 2.8 %, tandis que celle de *M. pulegium* a enregistré un rendement de 1.2 %. Ses résultats sont en ligne avec les études précédentes.

Les capacités antioxydantes des huiles essentielles ont révélé que l'huile essentielle d'*O. vulgare* possède le pouvoir réducteur le plus élevé, tandis que l'huile essentielle de *M. pulegium* présente une capacité antioxydante également significative. En ce qui concerne les effets antifongiques, toutes les souches de *C. albicans* testées ont montré une sensibilité aux deux huiles essentielles, avec une activité inhibitrice croissante en fonction du volume de l'huile essentielle utilisée.

Les tests de microdilution ont montré que l'huile essentielle d'*O. vulgare* est plus efficace contre *C. albicans*, suivie par *M. pulegium*. Ces résultats indiquent un effet fongicide pour les deux huiles essentielles.

En conclusion, cette étude démontre que les huiles essentielles utilisées dans cette étude possèdent des propriétés antifongiques et antioxydantes significatives, offrant ainsi des alternatives prometteuses aux traitements antifongiques conventionnels. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer la toxicité et la tolérance de ces huiles essentielles, notamment sur les muqueuses auriculaires et vaginales. La richesse de la flore algérienne en espèces végétales à fort potentiel thérapeutique souligne l'importance de poursuivre les investigations dans ce domaine.

***REFERENCE***

***BIBLIOGRAPHIE***

### **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

- ❑ Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1998). Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1739–1745.
- ❑ Agnihotri, S., Vaidya, A., Kumar, S. (2005). Essential oils: A comprehensive review of their therapeutic use. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2), p. 23-45, Inde.
- ❑ Ali, B. H., Al-Marzoqi, A. H., Al-Walaiti, T., & Al-Riyami, F. (2015). The effect of aromatherapy on stress and sleep quality in critically ill patients in the intensive care unit: A randomized controlled trial. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 12(4), 2.
- ❑ Amina, K. (2015). Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles de *Pinus halepensis*. *Journal Algérien de Pharmacologie*, 7(3), p. 77-90, Algérie.
- ❑ Astani, A., & Schnitzler, M. (2014). Exploring the frontiers of therapeutic effects of essential oils: Potential for future applications in medicine and dentistry. *International Journal of Dentistry*, 2014, Article ID 813947.
- ❑ Atlan, D. (1987). *Plantes aromatiques et médicinales: Origine, culture, propriétés*. Éditions El-Alif.
- ❑ Baba Aissa, F. (1990). Étude ethnobotanique et taxonomique du genre *Origanum L.* en Algérie. Thèse de doctorat, Université d'Alger.
- ❑ Baj, T., Biernasiuk, A., Wróbel, R., & Malm, A. (2020). Chemical composition and in vitro activity of *Origanum vulgare L.*, *Satureja hortensis L.*, *Thymus serpyllum L.*, and *Thymus vulgaris L.* essential oils towards oral isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Open Chemistry*, 18(1), 108-118.
- ❑ Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 437-473.
- ❑ Baser, K. H. (1995). *Türkiye'nin ot bitkileri*. Hilmi Baser Yayıncılık.
- ❑ Belghazi, L., Lahlou, N., Alaoui, I. M., Aboussaouira, T., Habti, N., Tantaoui, I. A., Talbi, M., Blaghen, M., & Fellal, Zarrouck, K. (2002). Extraction et analyses par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la menthe pouliot: Test antifongique. *Biochimie et Santé*, 46(38), 134-141.
- ❑ Benziane, M. Y., Bendahou, M., Benbelaïd, F., Khadir, A., Belhadef, H., Benaissa, A., Ouslimani, S., Mahdi, F., & Muselli, A. (2023). Efficacy of endemic Algerian

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

essential oils against single and mixed biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Archives of Oral Biology*, 145(November 2022), 105584.

- Beneteaud, L. (2011). Analyse des composés volatils des forêts de pin d'Alep. *Revue Française d'Ecologie*, 67(4), p. 78-92, France.
- Bernaoui, L., & Louetri, Y. K. (2018). Caractérisation phytochimique du genre *Origanum* et leurs bioactivités. Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar - El Oued, Algérie.
- Bouacha, S., Belkacem, A., & Cheriet, H. (2017). Effets des pratiques de gestion forestière sur la productivité des forêts de pin d'Alep. Éditions Universitaires d'Algérie, p. 210-225, Algérie.
- Bouhadouda, N. (2016). Étude des huiles essentielles de *Pinus halepensis* des montagnes d'Algérie. *Journal Algérien de Botanique*, 12(2), p. 123-135, Algérie.
- Boukhatem, M., Ferhat, M.A., Kameli, A., Saidi, F., & Mekarnia, M. (2019). Essential oils of Algerian *Pinus halepensis* Mill.: Composition, antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Essential Oil Research*, 31(3), p. 213-223, Algérie.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from different parts of *Pinus halepensis*. *Natural Product Research*, 30(8), p. 909-914, Maroc.
- Botineau, M. (2010). Flore et végétation de la Méditerranée: Le cas du pin d'Alep. Presses Universitaires de Bordeaux, p. 45-61, France.
- Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Algérie.
- Bruneton, J. (1999). *Pharmacopée phytochimique: Végétaux, biochimie, phytothérapie* (4ème éd.). Tec & Doc.
- Callery, R. (1997). The role of Aleppo pine in Mediterranean ecosystems. *Mediterranean Journal of Botany*, 12(3), p. 102-118, Italie.
- Cassone, A., & Strippoli, V. (1973). Ultrastructural changes in the cell wall of *Candida albicans* during morphogenesis. *Journal of General Microbiology*, 77(2), 235-244.
- Cazau-Beyret, M. (2013). Phytothérapie et aromathérapie: Le cas du pin d'Alep. Editions Médicales Universitaires, p. 54-69, France.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- ॥ Chalchat, J. M., Michel, P., & Fournié, J. (2000). Écosystèmes forestiers et pastoraux des montagnes du Maghreb: Diversité et vulnérabilité. *Editions IRD*.
- ॥ Delaforge, J. (2006). *Aromathérapie*. Editions Dangles.
- ॥ Delic, D., Skrobonja, J., Karaman, M., Matavulj, M., & Bogavac, M. (2013). Antifungal activity of essential oils of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* against three *Candida albicans* strains. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, 124, 203-211.
- ॥ Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2010). GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6, 191-198.
- ॥ Deschepper, R. (2017). Influence des pratiques sylvicoles sur la biodiversité des forêts de pin d'Alep. *Belgian Journal of Forestry Research*, 33(2), p. 90-104, Belgique.
- ॥ Developoux, M. (2005). Impact des changements climatiques sur la distribution géographique du pin d'Alep. Presses Académiques de Genève, p. 33-50, Suisse.
- ॥ Dorman, H., Deans, S., & Sneddon, C. (2003). Antimicrobial and antioxidant properties of essential oils of *Pinus halepensis*. *Phytotherapy Research*, 17(5), p. 516-521, Royaume-Uni.
- ॥ Douglas, C. J. (2003). Candida biofilms: Their significance and role in antifungal therapy. *Critical Reviews in Microbiology*, 29(4), 313-320.
- ॥ Diamoid, D. (1999). Étude des adaptations physiologiques du pin d'Alep aux conditions arides. Université de Rabat, p. 15-32, Maroc.
- ॥ Edissi, A. (1982). Le pin d'Alep: Biologie et écologie. Editions Algériennes de Botanique, p. 12-27, Algérie.
- ॥ El Alama, H., El Aissami, A., Benmoussa, A., Ait Haj Said, A., Arahou, M., & El Alaoui-Faris, F. (2017). Cinétique des interactions huile essentielle-antifongique. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 86, 67-77.
- ॥ El-Baz, A. M., Mosbah, R. A., Goda, R. M., Mansour, B., Sultana, T., Dahms, T. E. S., & El-Ganiny, A. M. (2021). Back to nature: Combating *Candida albicans* biofilm, phospholipase, and hemolysin using plant essential oils. *Antibiotics*, 10(1), 1-18.
- ॥ Elghorb, A. (2006). Étude de la régénération naturelle du pin d'Alep après incendie. *Journal Marocain d'Ecologie*, 18(2), p. 34-49, Maroc.
- ॥ Fanning, P., & Mitchell, J. (2012). Adaptation du pin d'Alep aux sols calcaires dans les régions arides. *Australian Journal of Botany*, p. 23-37, Australie.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- ❑ Figueredo, G. (2007). Étude comparative des huiles essentielles de différentes provenances de *Pinus halepensis*. *Journal of Essential Oil Research*, 19(5), p. 452-459, Espagne.
- ❑ Filloux, A., & Vallet, I. (2003). Biofilm development: From initial adhesion to maturation and dispersion. *Biofilms*, 2(2), 91-108.
- ❑ Franchomme, P. (1981). *L'aromathérapie*. Éditions Joël Picard.
- ❑ Gamisans, J., & Jeanmonod, J. (1993). *Catalogue des Plantes Vasculaires de la Région Méditerranéenne Occidentale*. Editions Gandini.
- ❑ Ghannoum, T., & Rice, L. B. (1999). Antifungal agents: Mode of action, spectrum, and resistance. *Infectious Diseases in Clinical Practice*, 7(6), 355-367.
- ❑ Gourich, A. A., Bencheikh, N., Bouhrim, M., Regragui, M., Rhafouri, R., Drioiche, A., Asbabou, A., Remok, F., Mouradi, A., Addi, M., Hano, C., & Zair, T. (2022). Comparative analysis of the chemical composition and antimicrobial activity of four Moroccan North Middle Atlas medicinal plants' essential oils: *Rosmarinus officinalis* L., *Mentha pulegium* L., *Salvia officinalis* L., and *Thymus zygis* subsp. *gracilis* (Boiss.). *Chemistry (Switzerland)*, 4(4), 1775-1788.
- ❑ Gonzalez, J., Martínez, R., & Lopez, F. (2013). Influence des conditions climatiques sur la régénération naturelle du pin d'Alep. Editorial Científica Española, p. 78-95, Espagne.
- ❑ Groot, P. A. J., & Schmidt, E. (2016). Essential oils in the management of respiratory tract infections: Evidence and potential. *International Journal of General Medicine*, 9, 25-37.
- ❑ Guenther, E. (1948). *Essential oils*. Robert E. Krieger Pub. Co.
- ❑ Guigrard, P., Martin, R., & Leroy, J. (1989). Caractérisation des sols forestiers et leur influence sur la croissance du pin d'Alep. Éditions Françaises de la Forêt, p. 22-39, France.
- ❑ Hazzit, M. (2008). Étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles de *Pinus halepensis*. *Journal of Natural Products*, 71(5), p. 612-618, Algérie.
- ❑ Hmamouchi, M. (2001). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Éditions du Maghreb, p. 123-138, Maroc.
- ❑ Hoyer, L. L., Vargas, S. L., & Beckwith, D. (1998). *Candida albicans* biofilm formation: A role for adhesins and proteases. *Critical Reviews in Microbiology*, 24(2), 197-215.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- ॥ Ietswaart, J. H. (1980). A revision of the genus *Origanum* (Labiatae). *Blumea*, 26(1), 1-112.
- ॥ Koffi, K., Adou, A., & Kouamé, N. (2013). Analyse de la diversité génétique des populations de pin d'Alep dans différentes régions méditerranéennes. Université de Yaoundé, p. 53-67, Cameroun.
- ॥ Krick, P., Smith, R., & Johnson, T. (2008). Effet des pathogènes et des ravageurs sur la santé des forêts de pin d'Alep. University of California Press, p. 90-108, USA.
- ॥ Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18(6), p. 435-448, Maroc.
- ॥ Lagane, S. (2007). Modélisation de la croissance et du rendement des plantations de pin d'Alep. Éditions Agro Paris Tech, p. 48-63, France.
- ॥ Leyva-Lopez, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules*, 22(6), 989.
- ॥ Lis-Balchin, M. (2003). L'utilisation du pin d'Alep dans l'aromathérapie et la phytothérapie. *Medicinal Plant Research*, p. 53-70, Royaume-Uni.
- ॥ Mahfouf, N. (2018). Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Botanique. Mémoire de master, Université Chadli Benjedid - El Tarf, Algérie.
- ॥ Mahboubi, M., & Haghi, G. (2018). Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L.. Centre de recherche de la Barij Essence Pharmaceutical Company, 87135-1178, Kashan, Iran.
- ॥ Macias Paz, A., Romero, P., & Jiménez, A. (2022). Effets des changements climatiques sur la reproduction du pin d'Alep. University of Seville Press, p. 123-140, Espagne.
- ॥ Mendoza-Juache, A., Aranda-Romo, S., Bermeo-Escalona, J. R., Gómez-Hernández, A., Pozos-Guillén, A., & Sánchez-Vargas, L. O. (2017). The essential oil of *Allium sativum* as an alternative agent against *Candida* isolated from dental prostheses. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(3), 158–164.
- ॥ Marc, A. (2013). Dynamique de la végétation et succession écologique dans les écosystèmes de pin d'Alep après incendie. Presses Universitaires de France, p. 134-150, France.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- BOOK Martinez, R., & Luque, J. (2003). Control of fungal infections. *The New England Journal of Medicine*, 348(1), 20-32.
- BOOK Mayer, H. (2012). Effets du changement climatique sur les écosystèmes de pin d'Alep en Europe. Springer, p. 102-119, Allemagne.
- BOOK Mechergui, K., Coelho, J., Serra, M., Lamine, S., Boukhchina, S., & Khouja, M. L. (2009). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: Chemical composition and antioxidant activity.
- BOOK Mossaddak, A. (1995). Impact des facteurs environnementaux sur la production des huiles essentielles de *Pinus halepensis*. Revue Marocaine de Botanique, 10(1), p. 89-102, Maroc.
- BOOK Morshedloo, M. R., Craker, L. E., Salami, A., Nazeri, V., Sang, H., & Maggi, F. (2017). Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions, and gene expression patterns of mono- and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111, 119-128.
- BOOK Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D., & Roussis, V. (2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 143-148.
- BOOK Muther, C. (2015). Impact of climate change on Aleppo pine forests in the Mediterranean basin. *Journal of Mediterranean Forestry*, 21(1), p. 34-49, Suisse.
- BOOK Niimi, M., Kobayashi, K., & Saito, Y. (2010). Impact des pratiques sylvicoles sur la biodiversité des forêts de pin d'Alep. *Japanese Journal of Forestry*, p. 112-128, Japon.
- BOOK Niki, E. (2010). Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(4), 503-515.
- BOOK Odds, F. C. (2003). Antifungal therapy: Strategies, limitations and the need for new approaches. *Fungal Genetics and Biology*, 39(5), 332-343.
- BOOK Ostrosky, A., Balows, A., & Goldman, R. (2003). Antifungal agents: Mechanisms of action, spectrum, and resistance. In *Antimicrobial agents and chemotherapy* (pp. 1479-1514). American Society of Microbiology.
- BOOK Ounaissa, S. G. N. (2015). Contribution à l'étude d'activités antioxydantes et anti-inflammatoires de certaines huiles essentielles. Mémoire de master, Département de Biologie, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie.
- BOOK Perfect, D., Burgel, P., Netzer, K., & Kauffman, S. (2003). Azoles: Mechanism of action and resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(12), 1081-1092.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- ❑ Pfaller, R.T., & Diekema, D. (2007). Rôle des mycorhizes dans la nutrition du pin d'Alep. *Mycology Research*, p. 54-70, USA.
- ❑ Ponce A G, Fritz R, Del Valle C, Roura S I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*. 36(7): 679-684.
- ❑ Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. CNRS.
- ❑ Raybaud, C. (1985). Le rôle écologique du pin d'Alep dans les écosystèmes méditerranéens. *Études Méditerranéennes*, 22(4), p. 101-115, France.
- ❑ Roux, S. (2011). Gestion des écosystèmes forestiers de *Pinus halepensis* en Provence. *Études de la Forêt Méditerranéenne*, 45(2), p. 102-117, France.
- ❑ Runguba, J. (2000). *Aromathérapie: Vertus et dangers des huiles essentielles*. Editions Dangles.
- ❑ Samaranayake, L. P., Samaranayake, M. S., & Wust, K. (2002). *Candida albicans: Pathogenesis, immunity, and therapy*. *Microbiological Reviews*, 66(3), 392-410.
- ❑ Seideman, E., & Wurzmittel-Lexikon, D. (1997). Das große Buch der Gewürze: Verwendung und Wirkung. Verlag Springer, p. 220-235, Allemagne.
- ❑ Sudbery, P. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 737-748.
- ❑ Sugar, S., Molina, R., & Krah, R. (1987). Effets de l'éclaircie sur la croissance du pin d'Alep. *Canadian Journal of Forest Research*, p. 201-219, Canada.
- ❑ Teuscher, E., Anton, R., & Lobstein, A. (2004). Plantes aromatiques et médicinales: Bases scientifiques et applications. Springer-Verlag, p. 223-237, Allemagne.
- ❑ Thierry, J. (2009). Candidoses cutanées et muqueuses. In *Médecine interne* (pp. 1243-1250). Elsevier Masson.
- ❑ Traoré, A., Kouadio, Y., & N'dri, B. (2012). Étude des impacts environnementaux sur la croissance du pin d'Alep. Éditions Scientifiques Africaines, p. 102-119, Côte d'Ivoire.
- ❑ Tucker, A. O., & Maciarello, L. (1994). *Herbs of the Mediterranean: A guide to their culinary and medicinal uses*.
- ❑ Valnet, J., & Kubala, L. (1978). *La phytothérapie*. Éditions Dangles.

## **REFERENCE BIBLIOGRAPHIE**

---

- ॥ Van de Braak, S., & Leijten, J. (1999). Effets des feux de forêt sur les écosystèmes de pin d'Alep. *Dutch Forestry Journal*, p. 45-61, Pays-Bas.
- ॥ Waugh, R. (2008). Antifungal drugs. In *Pharmaceutical chemistry* (pp. 839-887). John Wiley & Sons.
- ॥ Winnicka, A., Niewiadomska-Czubowska, K., & Ratuszniak, J. (2012). Ketoconazole—A review of its mechanism of action, pharmacokinetics, clinical uses, and adverse effects. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 69(4), 569-583.
- ॥ Yanisse, M. (2013). *Aromathérapie et phytothérapie: Guide pratique pour une utilisation optimale des huiles essentielles et des plantes médicinales*. Editions Dangles.
- ॥ Zaghdoudi, N., Zaghdoudi, M., & Dahmani, S. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Marrubium vulgare* L. and *Calendula officinalis* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 130(2), 235-240.
- ॥ Yen, G. C., & Duh, P. D. (1993). Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70(4), 383-386.

# **ANNEXES**

## **Annexe 1**

**Composition de milieu de culture Sabouraud** (Pharmacopée Européenne 2002)

Peptones 10.0 g

Glucose 40.0 g

Agar 15.0 g

Eau distillée 1000 ml

**Composition de milieu de culture Sabouraud Chloramphénicol** (Pharmacopée

Européenne 2011)

Peptones 10.0 g

Glucose 40.0 g

Agar 15.0 g

Chloramphénicol 0.5g

Eau distillée 1000ml

**Annexe 1:** Equipment de laboratoire.

		
<b>Microscope</b>	<b>Spectrophotometre UV – visible</b>	<b>vortex</b>
		
<b>Bain marie</b>	<b>Etuve</b>	<b>Balance</b>

	
<b>Agitateur magnétique thermique</b>	<b>Autoclave</b>

### **Annexe 3 : Réalisation du test de DPPH**

