

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

THEME

**Etude du pouvoir antifongique des huiles
essentielles de quelques plantes aromatiques
d'Algérie sur *Candida albicans***

Présenté par :

M. DJOUDI Abdelhammid

M. ATTIA Mohammed

Devant le jury composé de :

Président :	M. CHAIBI Rachid	MCA	Université Amar Téliidji-Laghouat
Rapporteur :	M. GOUZI Hicham	Prof	Université Amar Téliidji-Laghouat
Co-rapporteur	M ^{me} . MESSAHLI Ilhem	Doctorante	Université Amar Téliidji-Laghouat
Examineur :	M. ZERROUKI Houcine	MAB	Université Amar Téliidji-Laghouat

Soutenu publiquement le, 26 Juin 2019

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

À mon père Djillali qui m'a donné durant toute sa vie l'amour, le soutien, l'éducation, le courage, l'espoir et le vouloir de vivre parmi les meilleurs.

À ma chère mère Adjila qui a bien veillé à notre éducation et qu'elle n'arrête jamais de me guider par sa prière

À mes frères : Mahmoud, Billal, Abd Elhalim (allh yarhmou), med amin abd elgafar À mes soeur : surtout

À tous les membres de ma famille de proche ou de loin ; surtout Adel, Abdelbasset Rachid Abdmoniem

Sans oublier mon binôme Attia Mohamed et toute sa famille surtout son enfants : Bilal, Asia, Aridj

Djoudi abd elhammid

Je dédie ce modeste travail à ceux qui ont fait de moi ce que je suis et qui sont toujours présents pour me soutenir à tout moment et qui n'ont jamais cessé de m'encourager par leur affection et leur prière.

À mes chers parents.

À ma chère femme

À mes chères enfants : Bilal : ASIA : ARIDJ

À toutes la famille de ATTIA . ET HADJADJ

À mon binôme DJOUDI ABD ELHAMMID et toute sa famille

Attia Mohammed



Remerciements..

Nous remercions notre Dieu Allah, le tout puissant, maître des cieux et de terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.

Tout d'abord on tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements à Monsieur Gouzi Hichem qui a dirigé ce travail ce travail et surtout pour sa disponibilité, son assistance et ses conseils judicieux pour nous, malgré ses nombreuses occupations à bien voulu diriger ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à Madame Mesahli Ilhem pour leur aide pour faire se travail.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur Belyagoubi Larbi pour leur aide pour faire se travail.

J'adresse mes remerciements et mes respects à Monsieur Phaïbi Rachid Maître de Conférences à l'université Amar Telidji Laghouat pour avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Je remercie Monsieur Houcine Zerrouki, Enseignant à l'université Amar Telidji Laghouat pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Enfin, nous remercions toutes personnes ayant participé de loins ou du prêt à la réalisation de ce modeste travail.

Table des matières

	Page
Dédicace.....	I
Remerciements.....	II
Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Introduction.....	01
CHAPITRE1 : Synthèse bibliographique	03
1. <i>Candida</i>	03
1.1 Généralités	03
1.2 La candidose	03
1.2.1 Facteurs favorisant des candidoses	04
1.2.2 Aspects cliniques.....	04
1.3 <i>Candida albicans</i>	06
1.3.1 Habitat	06
1.3.2 Forme et morphologie	06
1.3.3 Organisation cellulaire et moléculaire	07
1.3.4 Reproduction	08
1.3.5 Caractères biologiques et physiologiques de <i>Candida albicans</i>	09
1.3.6 Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence	09
1.3.7 Systématique	10
2. Les principaux médicaments utilisés et leurs limites contre <i>Candida albicans</i>	10
2.1 Les molécules antifongiques	10
2.1.1 Les polyènes.....	10
2.1.2 Les dérivés azolés	11
2.1.3 Les dérivés pyrimidiques.....	12
2.1.4 Les échinocandines	12
2.2 Les effets indésirables des antifongiques	12
2.2.1 Les polyènes.....	12
2.2.2 Les dérivés azolés	13
2.2.3 Les dérivés pyrimidiques.....	13
2.2.4 Les échinocandines.....	13
3. Les huiles essentielles et leurs activités antifongiques	13
3.1 Définition	13
3.2 Propriétés des huiles essentielles	14
3.3 Le mode d'extraction des huiles essentielles	14
3.4 Compositions des huiles essentielles	15
3.5 Mode d'action des HE	15
3.6 Conservation des H.E	16
3.7 Facteurs influençant la composition des H.E	16
3.8 Utilisation des H.E	16
3.9 Les principales huiles ayant un pouvoir antifongique	17
3.10 Principales voies d'utilisation des H.E	17
3.10.1 La voie orale	17
3.10.2 La voie rectale	17
3.10.3 La voie gynécologique	18
3.10.4 La voie cutanée	18
3.10.5 La voie respiratoire	18
3.11 La toxicité des huiles essentielles.....	18
CHAPITRE2 : Matériels et méthodes	19
1. Matériels	19
1.1 Matériel végétal	19
1.2 Souches fongiques étudiées	19

Table des matières

2. Méthodes	20
2.1 Extraction des huiles essentielle	20
2.2.1 Détermination des rendements en huiles essentielles.....	20
2.2 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles	21
2.2.1 Disque (Vincent)	21
2.2.2 Détermination de la valeur de la CMI	21
CHAPITRE3 : Résultats et discussion.....	22
1. Rendement d'extraction et quelques propriétés physiques des HEs	22
2. Antifongigramme	22
2. Screening de l'effet anti-candidosique des huiles essentielles de quinze plantes aromatiques	24
3. Détermination de la CMI des huiles essentielles	26
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexe	

Liste des tableaux

Titre du tableau	Page
Tableau 1 : Les différentes caractéristiques des genres de <i>Candida</i>	03
Tableau 2 : Les plantes aromatiques étudiées.....	19
Tableau 3 : Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i>	24
Tableau 4 : Résultats de l'activité antifongique de neuf huiles essentielles des plantes aromatiques sur les souches de <i>candida albicans</i> étudiées déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide (3.5 µl/disque).....	25
Tableau 5 : Détermination de la CMI des HE de quatre plantes aromatiques sur <i>Candida albicans</i>	27

Liste des figures

Titre de la figure	Page
Figure 1 : Muguet buccal	05
Figure 2 : Levures ou blastospores	06
Figure 3 : Levures et filaments (mycélium)	07
Figure 4 : Chlamydospore	07
Figure 5 : Structure chimique de la nystatine (A) et l'amphotéricine B (B).....	11
Figure 6 : Structure du Kétoconazole	11
Figure 7 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).....	20
Figure 8 : Aspet physique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques étudiées. (A) : <i>Artemisia campestris</i> ; (B) : <i>Thymelaea microphylla</i> ; (C) : <i>Salvia officinalis</i> ; (D) : <i>Ammoides verticillita</i>	22
Figure 9 : Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> (IPP 444) déterminé par la méthode de disques.....	23
Figure 10 : Résultats de l'effet de la nystatine sur <i>Candida albicans</i> (ATTC 10231) déterminé par la méthode de disques.....	23
Figure 11 : l'activité des quatre huiles essentielles plus active contre les deux souches de <i>candida albicans</i>	24
Figure 12 : Les résultats de l'effet anti-candidosique des queinces HEs des plantes aromatiques étudiées.....	25
Figure 13 : Exemple du résultat de l'évaluation de CMI de l'huile essentielle de <i>Thymelaea microphylla</i> sur <i>Candida albicans</i>	27

CVV	: candidose vulvo-vaginale
AmB	: Amphotéricine B
ATCC	: American Type Culture Collection
DMSO	: diméthylsulfoxyde
DO	: Densité optique
DMF	: diméthyle foramide
5-FC	: 5-fluorocytosine
HE	: Huile essentielles
AFNOR	: Association Française de Normalisation
H.E.C.T	: Huiles Essentielles Chemotypées
Nys	: nystatine
CMI	: concentration minimale inhibitrice

INTRODUCTION

Introduction

Au cours des 20 dernières années, le nombre d'infections fongiques invasives est en progression, en raison de l'augmentation du nombre de patients en état d'immunodépression sévère (Kriengkauykia, 2011). Les candidoses sont les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Pihet, 2013). En effet, le développement d'une candidose est une complication hospitalière particulièrement redoutée en raison du risque de mortalité élevé (40 à 60%) (Massou, 2013). *Candida albicans* est la cause principale des candidoses rencontrées (Choi, 2014). Le traitement des candidoses bénéficie actuellement de nombreux antifongiques actifs et efficaces. Les résistances de ce microorganisme aux antifongiques ont connu des taux alarmants ces dernières années avec des morbidités et mortalités très élevés. Pour cela la recherche de nouveaux remèdes est une nécessité pour faire face à ce danger et pour assurer les traitements à ces infections (Berrahou, 2016).

Les plantes, largement utilisés dans la médecine traditionnelle et facilement accessibles, représentent une alternative peu coûteuse et peuvent être efficaces contre différentes pathologies (Sardi, 2011)

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une source de substances ayant des vertus thérapeutiques diverses (Buchbauer, 2011). Les essences végétales autrement appelées huiles essentielles sont des substances présentes dans les plantes aromatiques et sont réputées par leur utilisation thérapeutique depuis des siècles. Ces dernières années, L'usage des huiles essentielles en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables.

L'activité antifongique des huiles essentielles des plantes aromatiques a été donc confirmée. Plusieurs recherches ont été faites spécifiquement sur la sensibilité de *Candida albicans* aux huiles essentielles des plantes aromatiques de plusieurs pays et ont montré des activités anti-*Candida* intéressantes (Berrahou, 2016)

L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques et médicinales dont plusieurs sont utilisés depuis longtemps et jusqu'à présent dans la phytothérapie (khadir, 2013). D'après nos connaissances, très peu de travaux ont été faites sur le pouvoir antifongique de plusieurs plantes aromatiques d'Algérie.

Introduction

Par conséquent, ce travail a pour but d'évaluer l'activité antimicrobienne de 15 huiles essentielles issues de plantes médicinales récoltées en Algérie contre deux souches de références de *Candida albicans* IPP 444 et ATCC 10231.

Ce manuscrit est composé de trois principaux chapitres et est séquencé comme suit :

- Le premier chapitre concerne une synthèse bibliographique sur *Candida albicans* et les antifongiques classiques ainsi que les huiles essentielles étudiées ;
- Le deuxième chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisées lors de cette étude ;
- Le dernier chapitre relate la description des résultats avec une discussion qui se terminera avec une conclusion et les perspectives.

Chapitre 1 :
Synthèse
bibliographique

1. *Candida albicans*

1.1 Généralités

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Marc, 2013). Elles sont dues à des levures du genre *Candida*, responsables d'atteintes superficielles et profondes (Hochedez, 2007). Le genre *Candida* compte 166 espèces. Ce genre regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, productrices (exemple : *C. albicans*) ou non (exemple : *C. glabrata*) de filaments et donnant des colonies blanches crémeuses en culture (Develoux, 2005). Une dizaine d'espèces sont habituellement rencontrées en pathologie, principalement *Candida albicans* qui est en cause de 70- 80 % des cas et un moindre degré *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* (Guignard et al., 1989). Le tableau suivant résume l'ensemble des caractéristiques des différentes souches du *candida*.

Tableau 1: Les différentes caractéristiques des Genre de *Candida* (Ascioglu et al., 2002).

Espèce	Fréquence	État saprophyte	Manifestations cliniques	Remarques
<i>Candida albicans</i>	+++	Tube digestif	Candidoses cutanéomuqueuses digestives et Urinaires, candidémies, candidoses systémiques	--
<i>Candida dubliniensis</i>	+	Nouvelle espèce isolée chez les sidéens	Candidoses orales chez des patients infectés par le VIH, candidémies	Souches résistantes au fluconazole.
<i>Candida glabrata</i>	++	Tube digestif	Voies génito-urinaires, Vaginites, candidoses urinaires, candidémies, candidoses systémiques	Plus fréquent en cancérologie. Souches résistantes au fluconazole.
<i>Candida krusei</i>	++	Produits laitiers, bière	Vaginites, Candidémies	Résistance au fluconazole

1.2 La candidose

Le spectre des symptômes rencontrés varie considérablement, de la candidose cutanée d'une grande fréquence en pratique de ville à la candidose disséminée rencontrée chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est particulièrement sombre (Develoux, 2005).

1.2.1 Facteurs favorisant des candidoses

Les facteurs favorisant peuvent être décomposés en facteurs intrinsèques ou extrinsèques. Pour les candidoses cutanéomuqueuses, les facteurs locaux sont prédominants. Pour les infections invasives, les facteurs de risque sont plus nombreux et varient selon le terrain (immunodéprimés, chirurgie abdominale lourde, patients de réanimation...) (El bouri, 2014).

Facteurs intrinsèques (liés à l'hôte) : Les facteurs liés à l'hôte sont multiples. Ils peuvent être physiologiques (Nouveau-né, vieillard, surcharge pondérale, grossesse), locaux (transpiration, macération, irritations...) ou liés au terrain du patient (diabète, immunodépression en particulier au cours de l'infection à VIH, d'une hémopathie maligne ou d'un cancer...) (ANOFEL, 2014).

Facteurs extrinsèques (iatrogènes) : Les facteurs iatrogènes sont également très divers et comprennent l'usage de corticoïdes, immunosuppresseurs, l'antibiothérapie à large spectre et les antiseptiques, la toxicomanie intraveineuse, les gestes chirurgicaux (chirurgie digestive, cardiaque) ; la transplantation d'organes ou bien encore la pose de dispositifs intravasculaires (cathéters veineux centraux notamment) (ANOFEL, 2014).

1.2.2 Aspects cliniques

Candidoses cutanées : Elles sont très communes et sont favorisées par l'humidité et la macération, ce qui explique l'atteinte préférentielle des plis et leur fréquence chez l'obèse. L'intertrigo à *Candida.sp* est plus rare aux pieds. L'intertrigo peut siéger aux plis inguinaux, inter-fessiers, abdominaux, sous-mammaires, axillaires, du cou (Develoux, 2005, Hay, 1999).

Onychomycoses à *Candida.sp* : Elles sont fréquentes aux mains avec une prédominance féminine nette. La présence de *Candida.sp* dans cette localisation signe le plus souvent une surinfection d'une onycholyse d'autre origine (hématome, psoriasis) et ne nécessite alors aucun traitement spécifique. Classiquement, l'onychomycose à *Candida.sp* débute par une paronychie, ou atteinte des tissus périunguéaux (El bouri, 2014)

Candidoses oropharyngées : Des levures du genre *Candida* sont isolées des muqueuses buccales chez les individus sains. Les pics de prévalence sont observés chez l'enfant de moins de 18 mois et le sujet âgé – dans le premier cas interviendrait une immaturité du système immunitaire, dans le second la fréquence du port de prothèses dentaires (ANOFEL, 2014).



Figure 1 : Muguet buccal (ANOFEL, 2014).

La perlèche ou chéilite accompagne volontiers les candidoses oropharyngées. Elle correspond à une inflammation de la commissure labiale et réalise une fissure humide, érythémateuse, squameuse ou croûteuse souvent bilatérale (ANOFEL, 2014).

Candidoses génitales : La candidose vulvo-vaginale (CVV) est l'une de plus fréquentes infections gynécologiques de la femme en période d'activité génitale. Les symptômes majeurs de la CVV sont un prurit et des brûlures vulvaires. Les leucorrhées sont d'abondance variable, classiquement blanchâtres, « caillebotées » (Vazquez, 2002).

Candidoses digestives : L'oesophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives (Vazquez, 2003). Et les *Candida.sp* représentent la première cause d'oesophagite. *C. albicans* est là encore la principale espèce incriminée. L'oesophagite (inflammation de la muqueuse de l'oesophage) à *Candida.sp* est un marqueur de l'infection à VIH et peut être la première manifestation clinique du sida. Les manifestations de cette localisation sont dominées par la dysphagie (difficulté à la déglutition), l'odynophagie (déglutition douloureuse) et les douleurs rétrosternales. Chez le sidéen, il faut noter la fréquence des formes asymptomatiques (Develoux, 2005).

Candidémie et candidoses systémiques : La candidémie définit une condition où une levure du genre *Candida* a été identifiée par au moins une hémoculture. Une candidose systémique se réfère à une situation où une levure du genre *Candida* a été identifiée dans plusieurs sites non contigus et impliquant une dissémination hématogène, bien que les hémocultures soient restées négatives. Leur traitement est donc semblable, mais peut être modulé en fonction des sites anatomiques infectés (Develoux, 2005). La mortalité reste élevée entre 40 à 60% (Massou et al., 2012). Les candidoses systémiques se manifestent aussi par des manifestations cutanées considérées comme des métastases, prenant l'aspect de papulopustules uniques ou multiples et siégeant préférentiellement au tronc et aux extrémités.

La candidose systémique peut être d'origine nosocomiale ; dans ce cas, le plus souvent, le point de départ est exogène (cathétérisme central, ...) et plus rarement endogène (à partir d'un foyer intestinal) (ANOFEL, 2014).

1.3 *Candida albicans*

Candida albicans est une levure polymorphique commensale qui peut entraîner des infections sévères particulièrement chez les patients immunodéprimés. Ce champignon possède ou peut exprimer plusieurs facteurs de pathogénicité (Berrahou, 2016). En milieu hospitalier, la levure *Candida albicans* représente la cause majeure des infections nosocomiales opportunistes d'origine mycosique (Raoult, 1998).

1.3.1 Habitat

Candida albicans se trouve dans les cavités naturelles de l'homme, au niveau des muqueuses de la cavité buccale, de l'intestin et du vagin (Salerno et al, 2011) et de l'animal ou il vit de façon normale et exclusive chez 15 à 30 % du sujet sain. Ainsi, on le rencontre couramment dans le tube digestif ou il peut apparaître dans les 24 heures suivant la naissance. C'est un saprophyte exclusif des muqueuses (Guignard et al, 1989).

1.3.2 Forme et morphologie

Candida albicans est une levure non capsulée, non pigmentée, aérobie, diploïde, dont le matériel génétique se répartit en huit chromosomes. Cette levure peut mesurer de 3 à 15 μm (Kabha et al, 1995). *Candida albicans* a une capacité de croître sous des formes morphologiques variées (Kumamoto et Vincés, 2005).

Les blastospores ou blastoconidies : C'est la forme la plus courante de multiplication de *C. albicans*. Elles se présentent sous forme de petites cellules ovoïdes de 3,5 à 6 micromètres sur 6 à 10 micromètres figure 2. Cette cellule peut émettre un bourgeon qui donnera une cellule fille identique à la cellule mère (Guignard et al, 1989).

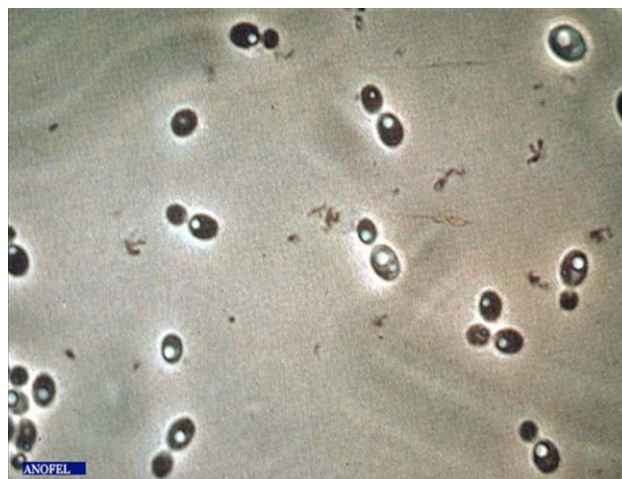


Figure 2 : Levures ou blastospores (ANOFEL,2014)

Pseudo –mycélium : Il se forme par croissance tubulaire à partir du blastospore mesurant de 500 à 600 μ m de longueur et de 3 à 5 μ m de largeur (Bouchet et al, 1989).

Le mycélium : Il s'agit de blastospore qui a donné naissance à un tube germinatif pour former un vrai mycélium (Figure 3) (Senet et Robert, 1995).



Figure 3 : Levures et filaments (mycélium) (ANOFEL,2014).

Chlamydozspores : Les chlamydozspores sont des structures terminales ou latérales arrondies, mesurent deux fois la taille du blastospore et possèdent une paroi plus épaisse figure 4 (Coste et al, 2002). Les chlamydozspores sont la forme de résistance de *Candida albicans* et participent à l'identification du champignon en laboratoire. Elles sont rarement mises en évidence in vivo (Cole, 1991).

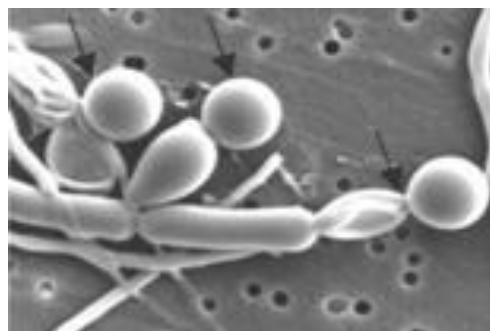


Figure 4 : Chlamydozspore (C.Munro Abe rdeen University, Ecosse).

1.3.3 Organisation cellulaire et moléculaire

Structure intracellulaire : *Candida albicans* possède tous les organites intracellulaires caractéristiques des eucaryotes : un noyau, délimité par une double membrane nucléaire, et renfermant huit chromosomes un nucléole ; un réticulum endoplasmique ; et un appareil de Golgi (Chu et al,1993).

La paroi : Initialement, la paroi de *Candida albicans* était considérée comme une structure inerte, assurant la protection et la rigidité du protoplaste.

Désormais, il est établi que la paroi est un composant essentiel pour de nombreux aspects biologiques et pathogéniques de *Candida albicans* (Cassone, 1989. Ruiz-Herrera et al., 2006).

La paroi est constituée principalement de polysaccharides : β -glucanes (Ils comptent pour 50-60 % de la masse totale de la paroi) (Ruiz-Herrera et al, 2006) et chitine (composant mineur de paroi) qu'est un polysaccharide linéaire fait de plus de 2 000 unités de N-acétylglucosamine (Reiss et al, 1992). La couche externe de la paroi est constituée en grande partie de différents types de mannoprotéines se sont nombreuses à la surface de la paroi de *C. albicans*, ainsi qu'au niveau de la cicatrice de bourgeonnement (Horisberger et al., 1988 ; Ruiz-Herrera et al., 2006). La paroi contient également un certain nombre de protéines (6-25 %) ayant une activité enzymatique. En particulier la N-acétylglucosamidase, la phosphatase acide, la protéinase, la glucanase et la chitinase (Poulain et al., 1995).

1.3.4 Reproduction

Reproduction asexuée : Le mode de multiplication de *C. albicans* est principalement de type asexué. La multiplication est assurée par bourgeonnement de la blastospore à un pôle particulier de la cellule, donnant naissance, après division du noyau par simple mitose et septation de la cellule, à une blastospore fille qui se dissocie ultérieurement de la blastospore mère (Odds, 1979). Sous certaines conditions (température, pH, composition du milieu de culture), la séparation ne se produit pas à la suite de la septation. Les cellules restent attachées les unes aux autres et forment une chaîne plus ou moins ramifiée appelée pseudomycélium (Berrahou, 2016). Les conditions favorisant la formation de pseudomycélium favorisent également la formation de mycélium vrai chez *C. albicans*. Ce deuxième mode de multiplication végétative consiste en une croissance apicale, conduisant tout d'abord à la formation d'un tube germinatif puis d'un filament mycélien. Le filament mycélien se présente sous la forme d'articles cellulaires cylindriques et séparés par des cloisons ou septa incomplets avec persistance d'un pore central assurant la continuité cytoplasmique (Odds, 1979, 1985 ; Staebell et al, 1985)

Reproduction sexuée : Contrairement à la plupart des levures, *C. albicans* est un organisme diploïde pour lequel aucune phase haploïde n'a été observée. Son génome semble contenir les gènes nécessaires à la reproduction sexuée des champignons (Berrahou, 2016).

1.3.5 Caractères biologiques et physiologiques de *Candida albicans*

Milieu de vie : Toutes les espèces du genre *Candida* sont aérobies et leur croissance est possible pour des pH allant de 3 à 7. La majorité des levures peuvent pousser entre 20°C et 30°C.

Caractères physiologiques : Cette espèce possède la propriété de fermenter le glucose et le maltose, mais pas le lactose, ni la raffinose, ni le saccharose (Dupont, 1985). Elle est incapable de réduire les sels de tétrazolium et de les transformer en un composé coloré (la colonie restera blanche). *C. albicans* n'élabore pas d'uréase mais capable de produire une protéase kératolytique, capable de digérer la couche cornée de l'épiderme, d'où la pathogénicité du champignon lorsqu'il est présent à la surface de la peau (Berrahou, 2016).

Milieus de culture : *C. albicans* peut croître sur des milieux tels que Sabouraud, RAT (Rice Agar Tween), RA (Rice Agar) (Vaubour, 2006), milieu P.C.B (pomme de terre, carotte, bile) et les **milieux riches** (sérum humain ou animal (Guignard et al, 1989).

Un antibiotique comme le chloramphénicol doit être additionné au milieu de culture pour éviter la croissance des bactéries et une contamination par ces dernières (Raoult, 1998).

Colonies : En culture, l'aspect macroscopique de *C. albicans* est celui d'une colonie blanche à crème, lisse et crémeuse, à bords nets (Berrahou, 2016).

1.3.6 Mécanismes de pathogénicité et facteurs de virulence

De façon générale, le rôle infectieux de *Candida albicans*, pathogène opportuniste, semble favorisé par une combinaison de facteurs liés aux statuts immunologique et physiologique de l'hôte, ainsi qu'à des facteurs liés au microorganisme, plutôt qu'à un facteur de virulence unique. Les infections candidosiques sont ainsi probablement initiées par une diminution des défenses de l'hôte qui modifie l'équilibre de commensalisme au profit de la levure, et entraîne le basculement du stade de colonisation à celui de l'infection (Legane, 2007). Les infections de la peau et des muqueuses telles que les candidoses vaginales par exemple, sont principalement dues à des modifications du pH et de l'environnement microbien, alors qu'une atteinte systémique est habituellement associée à une insuffisance des défenses de l'hôte, telle que celle présentée par les patients hospitalisés en oncologie soumis à une chimiothérapie ou à une antibiothérapie à large spectre (Legane, 2007). Plusieurs facteurs de virulence ont été proposés : le dimorphisme (Legane, 2007), L'adhérence aux surfaces (Hoyer et al, 1998, Douglas, 2003), La formation de mycéliums vrais et de pseudomycéliums (Hoyer et al, 1998) et Les infections (Samaranayake et al, 2002).

1.3.7 Systématique : (Errol et al, 2011)

Règne : Eumycota

Phylum : Ascomycota

Sous embranchement : Saccharomycota

Classe : Saccharomycètes

Famille : Saccharomycetaceae

Genre : *Candida*

Espèce : *Candida albicans*

2. Les principaux médicaments utilisés et leurs limites contre *candida albicans*

2.1 Les molécules antifongiques

Les antifongiques comprennent un groupe important et diversifié de médicaments utilisés pour traiter les infections fongiques. Les antifongiques doivent pénétrer dans la cellule fongique intacte et se fixent sur ses cibles pour perturber le fonctionnement cellulaire et parvenir à un effet fongistatique (Ghannoum et Rice, 1999). Leur mécanisme d'action varie, ils inhibent la membrane fongique et la synthèse de la paroi cellulaire, la synthèse de l'acide nucléique, les microtubules et inhibent aussi les altérations des membranes fongiques) (Niimi et al., 2010). Les composés antifongiques utilisés actuellement peuvent être divisés en 5 groupes selon leur mode d'action les polyènes, les échinocandines, les azolés, les fluorocytosines, les allylamines, les deux premières sont issues de produits naturels tandis que les trois autres sont synthétiques (Odds, 2003).

2.1.1 Les polyènes

Le plus connu des polyènes est l'Amphotéricine B (AmB), utilisée depuis 1960 comme le chef de file des antifongiques (Ostrosky et al ,2003). Il s'agit d'un polyène macrolide, produit naturel de *Streptomyces nodusus*. L'AmB comprend une chaîne polyhydroxylée hydrophile, associée à une chaîne polyène lipophile. L'AmB possède une grande affinité pour l'ergostérol membranaire. Le mode d'action communément admis est la formation de complexes stérols-AmB insolubles, qui entraînent un réarrangement moléculaire au niveau de la membrane de la levure. Ainsi, il en résulte une altération de la perméabilité cellulaire, avec fuite de métabolites essentiels à la vie du champignon, et pénétration de sodium avec oedème cellulaire (Legane, 2007). L'AmB est insoluble dans l'eau et non absorbable par voie orale. Elle est donc administrée par voie veineuse. Son spectre d'activité reste large : il inclut les levures, les champignons filamenteux et les champignons dimorphiques (Legane, 2007).

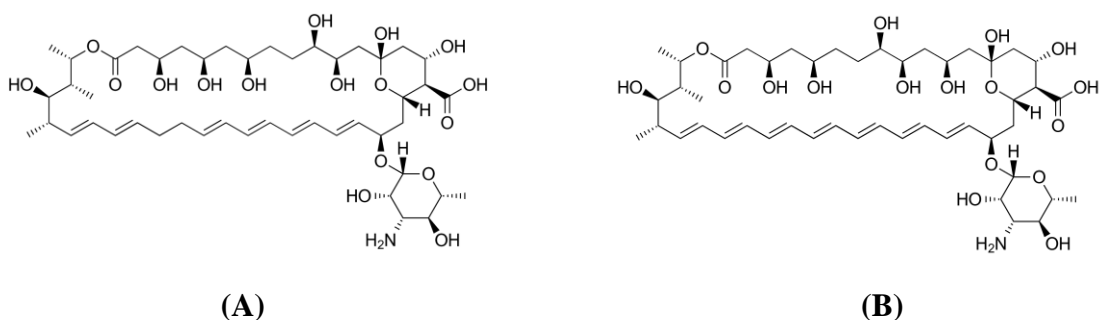


Figure 5 : Structure chimique de la nystatine (A) et l'amphotéricine B (B).

2.1.2 Les dérivés azolés

Il s'agit de molécules de synthèse issues de la modification du noyau azolé. Ce groupe d'antifongiques a en commun un noyau azolé contenant deux atomes d'azote (imidazolé) ou trois atomes d'azote (triazolé) (Odds et al, 2003).

Le kétoconazole est un antifongique imidazole caractérisé par la présence d'un noyau azolé (Figure 5), il est lipophile, pratiquement insoluble dans l'eau (Winnicka et al, 2012), soluble dans les solvants organiques comme l'éthanol, DMSO, DMF (dimethyl formamide) (Waugh, 2008).

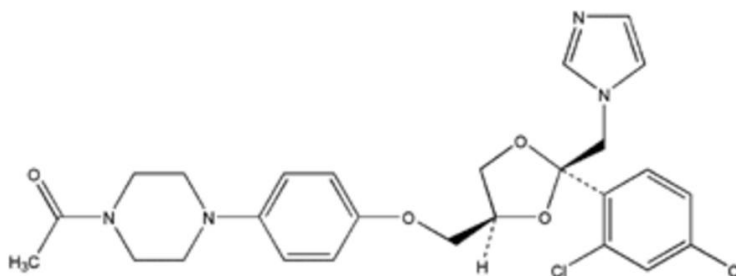


Figure 6 : Structure du Kétoconazole (Perry et al, 2003).

Le kétoconazole 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 α -demethylase (cytochrome). Il inhibe la biosynthèse du l'ergostérol qu'est nécessaire à la formation du membrane fongique (Odds, 2003). Le kétoconazole inhibe la transformation du *C. albicans* de la forme blastospore à la forme mycélienne.

2.1.3 Les dérivés pyrimidiques

Le plus connu d'entre eux est la 5-fluorocytosine (5-FC). Il s'agit d'un dérivé fluoré de la pyrimidine, substance hautement soluble dans l'eau, qui peut être administrée par voie orale ou veineuse (Legane, 2007). En clinique, la 5-FC a jusqu'alors été communément utilisée en combinaison avec l'AmB afin d'obtenir une interaction synergique plus efficace pour lutter contre les infections fongiques. Or, il semblerait que cette combinaison ait entraîné la minimisation de la détection de l'émergence de phénomènes de résistance associés à l'utilisation de la 5-FC (Legane, 2007).

2.1.4 Les échinocandines

Le plus connu est la caspofungine. Les échinocandines sont des lipopeptides amphiphiles semisynthétiques, comprenant un noyau hexapeptide cyclique et une chaîne latérale lipidique.

La caspofungine est soluble dans l'eau et non absorbée par voie orale, mais injectée par voie veineuse (Legane, 2007). Les échinocandines se différencient des autres antifongiques par leur mode d'action original. En effet, elles inhibent la synthèse de la paroi fongique (Odds, 2003)

2.2 Les effets indésirables des antifongiques

2.2.1 Les polyènes

Les effets indésirables habituels sont peu dangereux, mais rendent le traitement inconfortable (céphalées, fièvres, troubles digestifs...). Parfois, des réactions allergiques rares peuvent mener au choc anaphylactique. Toutefois, l'AmB présente une toxicité élevée notamment d'ordre rénal. Ainsi, au cours d'un traitement prolongé on voit apparaître des lésions chroniques localisées au niveau du tubule pouvant aboutir à une insuffisance rénale (Zager, 2000). Elle nécessite une adaptation posologique et une surveillance régulière de la fonction rénale. Une toxicité veineuse quasi permanente est constatée, les toxicités hématologique, hépatique et neurologique sont rapportées de façon plus exceptionnelle. De nouvelles formes galéniques d'AmB vectorisées par des lipides ont été développées. Sous formulation lipidique, la néphrotoxicité est amoindrie en raison d'une interaction mineure avec les cellules de l'hôte (Adler, 1994. Sabra et al, 2001), et il semblerait que l'efficacité de cette formulation soit supérieure à la précédente (Ostrosky, 2003). D'autres formulations sont en cours d'étude, notamment une combinaison de l'AmB avec un tétrapeptide immunomodulateur (tuftsin), capable d'augmenter les fonctions immunitaires des macrophages, des neutrophiles et des monocytes, et qui a déjà fait ses preuves in vivo chez un modèle murin (Khan et Owais, 2006).

2.2.2 Les dérivés azolés

La tolérance de ces traitements reste bonne, avec seulement quelques troubles digestifs et de rares réactions cutanées. Leur toxicité est surtout hépatique, avec une élévation du taux des transaminases. Les dérivés imidazolés sont de nos jours clairement remplacés par les triazolés tels que le fluconazole ou le voriconazole. Avec l'AmB, les mutations vers la résistance, spontanées ou sous traitement, restent exceptionnelles et négligeables en pratique.

En revanche, chez les dérivés azolés, et chez les triazolés tels que le fluconazole ou le voriconazole, on voit apparaître après traitement des souches de *Candida* résistantes à ces produits, comme notamment *Candida glabrata* (Miyazaki et al., 2006. Goldman et al., 2004).

L'efficacité du kétoconazole est limitée dans le traitement de la méningite et faible pour les patients immunodéprimés (Odds 2003).

2.2.3 Les dérivés pyrimidiques

Le problème de résistance, associé à l'utilisation de la 5-FC en monothérapie, a récemment pu être mis en évidence dans plusieurs études (Hope et al., 2006). Bassetti et al., 2007). Outre des troubles digestifs, la 5-FC est associée à une toxicité hépatique et hématologique.

2.2.4 Les échinocandines

Il ne semble pas exister de toxicité dose-limitante pour la caspofungine (Legane, 2007).

3. Les huiles essentielles et leurs activités antifongiques

L'accroissement des infections fongiques, notamment celles qui sont dues à la prolifération du genre *Candida*, parmi les patients immunodéprimés (patients ayant subi une transplantation d'organes et donc soumis à un traitement immunosuppresseur, patients immunodéprimés à la suite d'un traitement antimitotique ou d'une infection par le VIH) et le développement de souches résistantes aux médicaments utilisés soulignent la nécessité de la découverte de nouveaux agents antifongiques. Pour cela, les sécrétions végétales telles que les huiles essentielles sont intéressantes pour leur pouvoir fongistatique. (Giordani et Kaloustian, 2006).

3.1 Définition

Selon la pharmacopée française, les HE ou huiles volatiles sont « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation pour extraire ces principes volatiles. Cette définition a été valable jusqu'à la huitième édition de la pharmacopée (1965) puisque les éditions suivantes ne réfèrent plus qu'au terme d'HE (El bouri, 2014).

En 1998, AFNOR par sa norme AFNOR NF 75-006 définit une HE comme étant un « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche. L'HE est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple : redistillation, aération, ...) (Yanisse, 2013).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HE ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales. Le terme "huile" vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme "essentielle" fait référence à l'odeur dégagée par la plante productrice. Les HE sont biosynthétisées comme métabolites secondaires par des plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence de structures sécrétrices des HE dans presque tous les organes du végétal (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...) (El bouri, 2014). Une huile essentielle est un mélange complexe d'éléments chimiques qui sont nécessairement volatils de poids moléculaire souvent inférieur à trois cent daltons et hydrophobe mais il est à noter que cette hydrophobie n'est pas totale car il y a bien formation d'azéotrope et évaporation avec l'eau (Yanisse, 2013).

3.2 Propriétés des huiles essentielles

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau, il existe cependant des exceptions (les HE de cannelle, de girofle et de saffran. Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles. Elles ont une composition assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Les HE sont généralement incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques (Berrahou, 2016).

3.3 Le mode d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs modes d'extraction des huiles essentielles comme la distillation, l'hydrodistillation, la percolation (Mayer, 2012). Deux procédés sont principalement employés et font l'objet d'une monographie à la Pharmacopée.

L'expression à froid : est utilisée pour obtenir les essences et est réservée aux Citrus (citron, mandarine, orange...). Ce procédé consiste à briser mécaniquement les zestes frais d'agrumes en soumettant la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique. Cette méthode est simple et limite l'oxydation à son minimum.

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau : est le procédé le plus utilisé pour obtenir les huiles essentielles : Une source de chaleur chauffe un alambic qui contient de l'eau et les végétaux disposés sur un plateau. La chaleur entraîne la formation de vapeur qui traverse les végétaux et emporte avec elle les molécules aromatiques. On récupère un liquide composé d'eau et d'huile essentielle. L'huile essentielle plus légère, se sépare de l'eau. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité des huiles essentielles obtenues en diminuant les altérations liées au procédé de distillation (El bouiri, 2014).

3.4 Compositions des huiles essentielles

Composition chimique d'une HE est assez complexe, on y trouve généralement de nombreux constituants appartenant principalement à deux grandes familles chimiques : les composés terpéniques et les composés aromatiques, dérivés du phénylpropane. Les composés terpéniques sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les diterpènes (C20) et les triterpènes (C30). Ces composés ont tous la même origine métabolique. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes. On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis et de fenouil) qui sont les principaux membres de cette famille. Les acides organiques, les cétones de faible poids moléculaire et les coumarines volatiles entrent également en faible proportion dans la constitution des HE. Parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement, on l'appelle composé majoritaire. A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes, ce qui conduit à admettre l'existence de chémotypes chimiques (Mayer, 2012).

Le chémotype définit la molécule aromatique révélatrice des principales propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle. Une plante de même variété botanique peut produire des huiles essentielles de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. (Exemple : Thym à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalol, etc.). La composition chimique des HE peut varier aussi au cours de l'extraction et durant la conservation (Yanisse, 2013).

3.5 Mode d'action des HE

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Cox et al, 2000).

En effet, les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch et al, 1989). En général les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium. (Hulin et al., 1998). L'efficacité d'une HE dépend de sa richesse en composés phytochimiques, plus l'H.E est riche en substances actives, plus son activité est importante (Berrahou, 2016).

3.6 Conservation des H.E

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans). Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996) (Mayer, 2012).

3.7 Facteurs influençant la composition des H.E

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol, la période de récolte et les techniques de cueillette et du séchage (Mayer, 2012 ; Sheehan et al., 1999).

3.8 Utilisation des H.E

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de troubles et de maladies humaines. Cette spécialité intéresse de plus en plus les médecins et les pharmaciens qui ont ignoré un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie. Actuellement, un retour très net aux HE pour la désinfection et le traitement des maladies infectieuses a été signalé. Les HE ont une efficacité durable sans aucune résistance contrairement aux antibiotiques (Valnet et al,1978). Deux récepteurs offrent un abord évident quant à la puissance des huiles : la peau et la sphère oto-rhino laryngologique et broncho-pulmonaire (Franchomme, 1981).

Les HE ont donc une action globale, un « large spectre » sur l'ensemble de la physiologie. Les huiles essentielles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques, de produits d'entretien et de tout autre produit, comme par exemple insecticides, désodorisants d'ambiance, diffuseurs, bougies (Mayer, 2012).

3.9 Les principales huiles ayant un pouvoir antifongique

De nombreux travaux ont montré l'utilisation des huiles essentielles pour inhiber la croissance des levures (Giordani et Kaloustian, 2006).

3.10 Principales voies d'utilisation des H.E

Le corps humain donne aux médecines et pharmaciens qui pratiquent l'aromathérapie plusieurs interfaces intéressantes pour l'administration des huiles essentielles. Ces voies ont une importance variable en fonction des aptitudes, de l'âge, de la pathologie du patient, du germe à traiter et sa localisation dans l'organisme.

3.10.1 La voie orale

L'ingestion ne doit jamais se faire pure : il faut toujours les diluer avec de l'huile végétale ou par exemple dans du miel car celles-ci ne sont pas solubles dans l'eau et laisser fondre sous la langue. Il existe des capsules à avaler déjà prêtes avec une base d'huile végétale (El bouri, 2014). En solution, les HE étant peu hydrosolubles cela nécessite l'emploi d'un excipient pour favoriser la prise en solution aqueuse. L'éthanol à 95% v/v n'est plus utilisé car mélangé aux HE donne une solution homogène mais dès que remis en milieu aqueux les HE surnagent, pour cela il est préférable le mélange avec des huiles hydrophile puisque qu'elles donnent des émulsions suffisamment stables pour être absorbée, ou bien les HE peuvent être diluées dans des teintures mères, leur fort degré alcoolique facilite leurs solubilité, cas utilisé aussi pour la formulation des ampoules à base de complexe d'HE (Attou, 2017).

3.10.2 La voie rectale

Cette voie est utilisée pour une action locale ou générale, en cas d'infections pulmonaires chez les enfants ou les patients ayant une mauvaise tolérance gastrique. Les HE sont absorbés rapidement par les veines hémorroïdaires inférieures et se déversent rapidement dans le système artériolaire des alvéoles pulmonaires, d'où la possibilité d'administration d'importantes quantités.

Cette voie est interdite depuis 2012 chez les enfants de moins de 30 mois et ceux ayant des antécédents de convulsion fébrile ou d'épilepsie. Des ovules d'HE préparées avec les mêmes excipients peuvent être utilisés pour un effet local anti-infectieux sur la muqueuse vaginale (Attou, 2017).

3.10.3 La voie gynécologique

Elle permet une action rapide localement avec l'emploi d'ovules vaginaux fabriqués sur le même modèle que les suppositoires en aromathérapie (El bouri, 2014).

3.10.4 La voie cutanée

Largement utilisée en aromathérapie, car l'effet est au même temps local et général car les HE pénètrent facilement et rapidement les couches cutanées pour gagner la microcirculation périphérique puis la circulation générale.

L'application se fait en regard de l'organe cible : sur le dos et thorax pour l'action sur l'arbre pulmonaire, colonne vertébrale : action sur le système nerveux, abdomen : action sur les organes internes (estomac, foie, reins...), et puis nuque, temple, front, lobes des oreilles pour l'action sur les céphalées et migraines. Les huiles végétales sont les meilleurs excipients pour l'administration, les crèmes, gels et pommades peuvent être aussi utilisés (Attou, 2017). On peut également mettre quelques gouttes d'huile essentielle dans un bain (El bouri, 2014).

3.10.5 La voie respiratoire

Lors de la diffusion dans l'atmosphère, il faut prendre soin de choisir des huiles essentielles labélisées biologiques, pures, et adaptées afin d'éviter les allergies et les contre-indications. Cette voie d'administration est préférée dans certaines indications comme pour les huiles essentielles utilisées pour une indication respiratoire comme l'*Eucalyptus globulus*, le Pin (El bouri, 2014).

3.11 La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (El bouri, 2014 ; Smith et al., 2000 ; Naganuma et al., 1985).

Chapitre2 :

Matériels

-et-

méthodes

1. Matériels

1.1 Matériel végétal

La partie aérienne de quinze plantes aromatiques d'Algérie achetées auprès de l'herboriste en 2019, au niveau de la région de Laghouat et de Tlemcen. Les plantes sont broyées en poudre fine à l'aide d'un mortier puis conservées dans un flacon en verre à l'abri de la lumière pour une utilisation ultérieure. Le tableau (2) indique le nom scientifique et vernaculaire des plantes étudiées.

Tableau 2 : Les plantes aromatiques étudiées.

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Nom arabe	Famille botanique
<i>Artemisia campestris</i>	Armoise	التقففت	Asteraceae
<i>Thymus vulgaris</i>	Thym	الزعرتر	Lamiacées
<i>Ammoïdes varticillata</i>	Nankha	النونخة	Apiacées
<i>Thymeleae microphylla</i>	Thymelée	اكليل الإبل	Thymelaeaceae
<i>Lavandula stoechas</i>	Lavande	الخزامة	Lamiaceae
<i>Myrtus communis</i>	Basilic	الريحان	Lamiacées
<i>Salvia officinalis</i>	Sauge	الحكيم الشائع	Lamiacées
<i>Mentha piperita</i>	Menthe poivrée	النعناع	Lamiaceae
<i>Ruta graveolens</i>	Rue	الفيجل	Rutacées
<i>Artemisia herba halba</i>	Seriphidium	الشيح	Astéracées
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romarin	اكليل الجبل	Lamiacées
<i>Juniperus communis</i>	Genévrier	العرعار	Cupressaceae
<i>Laurus nobilis</i>	Laurier	الرند	Lauraceae
<i>Thymus ciliatus</i>	thym à bornéol	الزعيترة	Lamiacées
<i>Saturja calamintha</i>	Satureja	الدومران	Lamiacées

1.2 Souches fongiques étudiées

Deux levures de *Candida albicans* (ATCC 10231 et IPP444), ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer l'être humain et pour leur pathogénicité. Elles sont entretenues par repiquage sur milieu Sabouraud solide (pH 5.6) favorable à leur croissance pendant 48 heures à 37°C. Ces souches fongiques sont fournies par le Laboratoire de Recherche des Produits Naturels par le Docteur Belyagoubi Larbi de l'Université de Tlemcen.

La nystatine (Nys) utilisée comme antifongique standard pour tester la sensibilité des deux espèces de *Candida albicans* est solubilisée dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour avoir une concentration finale de 10 mg/mL. L'interprétation des résultats de l'antifongigramme est basée selon Bonouman-Ira et *al.* (2011). La souche est dite sensible lorsque le diamètre d'inhibition est inférieur à 10 mm et résistante si le diamètre est supérieur ou égale à 10 mm.

2. Méthodes

2.1 Extraction des huiles essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (Figure 7). Plusieurs distillations ont été réalisées par ébullition pendant environ trois heures de 200 g de poudre végétale avec 1 litre d'eau distillée dans un ballon de 2 litres surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les huiles essentielles, moins denses que l'eau, surnagent à la surface.

Elles ont été recueillies et le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière sèche. L'huile essentielle a été stockée à 4°C à l'obscurité dans un tube en verre fermé hermétiquement.



Figure 7 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).

2.2.1 Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle (Rd), est défini Comme le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M^{HE}) et la Masse de la matière végétale utilisée (M^{ms}). Il est donné par la formule suivante : (AFNOR ,2000).

$$Rd(\%) = \left(\frac{M^{HE}}{M^{ms}} \right) \times 100$$

avec :

Rd: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%)

M^{HE} : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g)

M^{ms} : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

2.2 Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

2.2.1 Disque (Vincent)

Cette méthode consiste à déposer à l'aide d'une pince métallique stérile un disque de 6 mm de diamètre imprégner d'un volume de 3 µl d'HE dans la boîte de Pétri préalablement ensemencée par écouvillonnage par un inoculum d'une densité optique de 0.2 mesurée à 620 nm ($5 \cdot 10^6$ cellule/ml). Après incubation des boîtes de Pétri à 37°C pendant 48 heures, l'absence de la croissance fongique se traduit par la formation d'un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés en mm.

2.2.2 Détermination de la valeur de la CMI

La concentration minimale inhibitrice est déterminée seulement pour les huiles essentielles ayant un pouvoir anti-candidosique élevé dont le diamètre d'inhibition de la croissance fongique est égal ou supérieur à 20 mm.

Des volumes compris entre 2.5-30 µl de chaque l'huile essentielle sont ajoutés dans une série de tubes à essai contenant 10 ml de milieu Sabouraud liquide additionné (1% de Tween 80) Les huiles essentielles. Après agitation des tubes à l'aide d'un vortex, 0.1 mL d'inoculum fongique de densité optique de 1.0 mesurée à 620 nm ($2 \cdot 10^6$ cellule/ml) est ajoutée immédiatement à l'aide d'une micropipette.

Les tubes sont ensuite incubés pendant 24 heures à 37°C. La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'µl/ml inhibant toute culture visible à l'œil nu après la durée de culture à 37 °C précisée pour chaque souche.

Chapitre 3 :
Résultats et Discussion

1. Rendement d'extraction et quelques propriétés physiques des HEs

Les huiles essentielles de plantes aromatiques étudiées sont obtenues par hydrodistillation. Elles sont pour la plupart de couleur jaune et transparent ayant un aspect liquide et caractérisées par très forte odeur aromatisante (Figure 8). Les valeurs du rendement d'extraction ont été calculées par rapport à la matière végétale sèche et sont comprise entre 0.5-2.7%. Les plantes *Lavandula stoechas* et *Thymelaea microphylla* ont les valeurs de rendement les plus élevées (2.4-2.7%).

Selon Said et *al.* (2011) et Tefiani (2015), le rendement en huiles essentielles varie essentiellement selon la nature et l'origine géographique la plante utilisée, ainsi que le matériel et la méthode d'extraction.

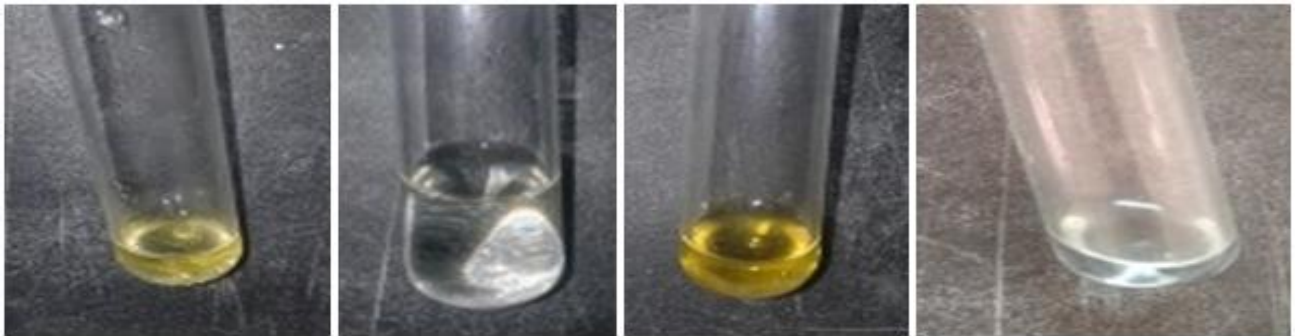


Figure 8 : Aspect physique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques étudiées. (A) : *Artemisia campestris* ; (B) : *Thymelaea microphylla* ; (C) : *Salvia officinalis* ; (D) : *Ammoides verticillita*.

2. Antifongigramme

La sensibilité des souches *Candida albicans* (IPP444) et *Candida albicans* (ATTC 10231) a été étudiée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance fongique en milieu saboureau solide et ceci en présence de différentes concentrations de la nystatine comme antifongique standard.

D'après les Figures 9 et 10 on constate que la nystatine a un effet antifongique plus élevé sur *Candida albicans* qui augmente avec l'augmentation de la concentration de la nystatine (Tableau 3).



Figure 9 : Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans* (IPP 444) déterminé par la méthode de disques.



Figure 10 : Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans* (ATCC 10231) déterminé par la méthode de disques.

On remarque aussi que le méthanol, utilisé comme solvant, n'a aucun effet antifongique sur la levure. En présence d'une concentration finale de la nystatine à 1.5 µg/Disque, des diamètres d'inhibition d'environ 31.0 et 37.5 mm ont été observés vis-à-vis de *Candida albicans* (ATCC10231) et *Candida albicans* (IPP444), respectivement. La valeur de la CMI a été déterminée par la méthode de diffusion sur disque qui égale à 1.25 µg/mL (0.00125 µg/Disque). D'après l'interprétation de l'antifongogramme proposée par Bonouman-Ira et al. (2011), les deux souches fongiques de *Candida albicans* sont sensibles à la nystatine.

D'après Vandeputte (2008), les polyènes ont pour cible l'ergostérol, le principal composant de la membrane plasmique des champignons. Leur caractère amphotère leur permet de s'associer à la bicouche lipidique de la membrane fongique, en formant des pores ceci provoque la déstabilisation de la membrane plasmique tandis que le canal permet la fuite de composants intracellulaires, à l'origine de la lyse cellulaire. Carrillo-Munoz et al. (2006) suggèrent que les polyènes seraient capables d'induire un stress oxydatif, notamment chez *C. albicans*.

Tableau 3 : Résultats de l'effet de la nystatine sur *Candida albicans*.

Nystatine (μg /Disique)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
	<i>C. albicans</i> (ATCC)	<i>C. albicans</i> (IP444)
0	6.0	6.0
0.00125	9.7	7.0
0.12	14.3	13.3
0.6	16.0	15.3
15	31.0	37.5

2. Screening de l'effet anti-candidosique des huiles essentielles de quinze plantes aromatiques

Nous avons pu déterminer l'effet antifongique de quinze huiles essentielles obtenu à partir des plantes aromatiques médicinales les plus largement utilisées par la population algérienne. Les résultats ainsi trouvés dans indique sur la Figure (11). On remarque que la présence de l'huile essentielle provoque l'apparition d'un halo d'inhibition dont le diamètre est variable d'une plante à une autre.

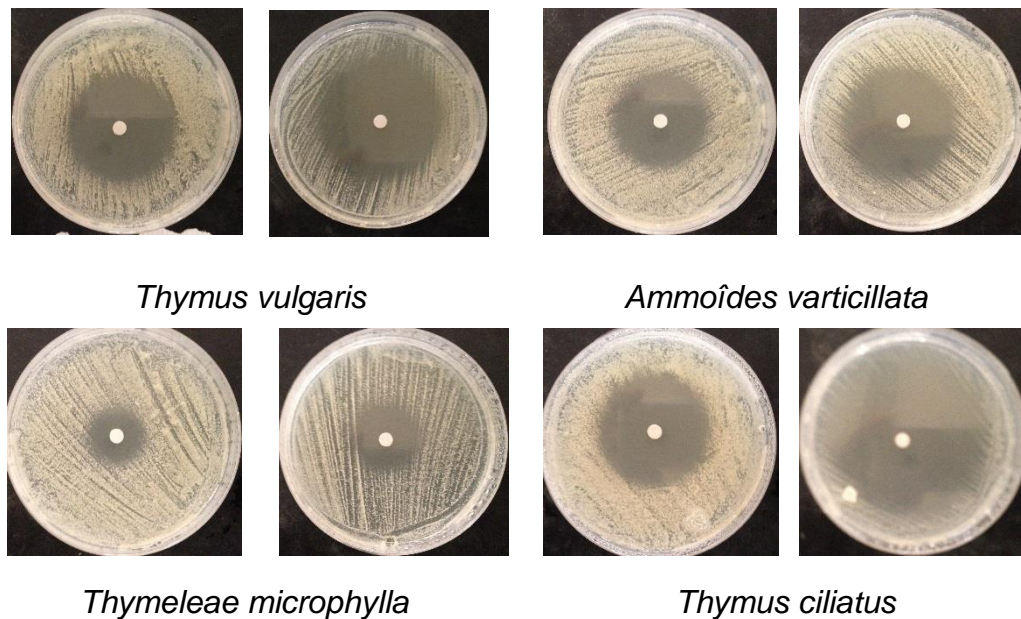


Figure 11 : l'activité des quatre huiles essentielles plus active contre les deux souches de *Candida albicans*

On constate d'après les résultats montrés dans le Tableau (4) et la (Figure12) que le diamètre d'inhibition dépend d'une part de la souche fongique et d'autre part de l'huile essentielle testée.

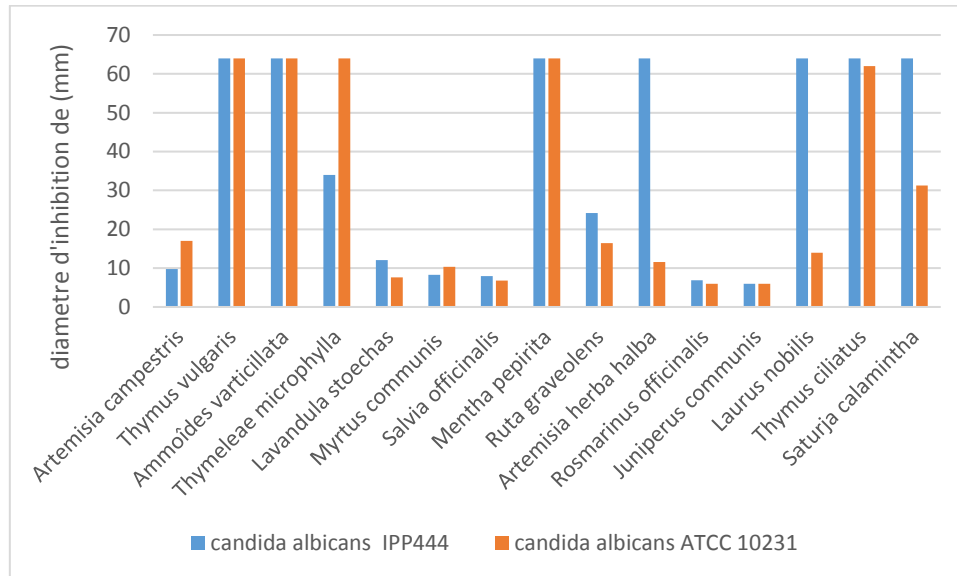


Figure 12: Les résultats de l'effet anti-candidosique des queinces HEs des plantes aromatiques étudiées.

Tableau 4 : Résultats de l'activité antifongique de neuf huiles essentielles des plantes aromatiques sur les souches de *candida albicans* étudiées déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide (3.5 µl/disque).

Huile essentielle	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	
	<i>C. albicans</i> (IPP444)	<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)
<i>Thymus vulgaris</i>	41.2±0.5	45.0±2.9
<i>Ammoïdes varticillata</i>	37.2±0.5	41.8±0.3
<i>Thymelaeae microphylla</i>	21.3±0.5	24.4±0.2
<i>Mentha pepirita</i>	36.8±2.5	10.7±0.2
<i>Artemisia herba halba</i>	08.3±0.2	06.9±0.0
<i>Rosmarinus officinalis</i>	07.2±0.5	06.0±0.0
<i>Laurus nobilis</i>	08.7±0.2	06.8±0.0
<i>Thymus ciliatus</i>	40.6±1.3	56.0±1.4
<i>Saturja calamintha</i>	11.5±0.2	13.0±1.0

Parmi les quinze HEs testées, seulement neuf ont inhibées de manière significative la croissance des deux souches de *Candida albicans*. Par contre, les huiles essentielles de *Salvia officinalis*, de *Rosmarinus officinalis*, de *Juniperus communis* et de *Myrtus communis* n'ont aucun effet antifongique. On note également une activité antifongique relativement faible pour les HEs de *Lavandula stoechas* et *Artemisia campestris*.

On remarque aussi que les huiles essentielles obtenus à partir de *Thymus vulgaris*, *Ammoïdes varticillata*, *Thymelaea microphylla*, et *Thymus ciliatus* ont une forte activité anti-candidosique.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature. Yekhlef et al (2011) a trouvé que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* à 3.5 µl/disque provoque l'apparition d'une zone d'inhibition de la croissance de *Candida albicans* à 64 mm.

Berahou (2016) a montré que l'huile essentielle d'*Ammoïdes varticillata* possède l'activité antifongique plus élevée sur *Candida albicans* (ATCC10231) par rapport aux huiles essentielles du thym et l'origan avec un diamètre d'inhibition d'environ 50 mm. Par ailleurs, Abdelouahid et Bekhechi (2004) signalent de leur part que l'huile essentielle de cette plante provoque l'apparition d'une zone d'inhibition d'environ 40 mm contre des souches de *Candida albicans*.

Le pouvoir antifongique plus élevé des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, d'*Ammoïdes varticillata* et *Thymus ciliatus* est due à leur richesse en thymol et carvacrol (Cheurfa et al., 2013 ; Attou et al., 2017 ; Daoudi, 2015). Plusieurs travaux ont montré que l'huile essentielle de *Thymelaea microphylla* exerce aussi une action inhibitrice sur des bactéries pathogènes (Bounab et al., 2017 ; Dahamna et al., 2015).

3. Détermination de la CMI des huiles essentielles

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a consisté à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber totalement la croissance fongique (Kanoun et al., 2015). La CMI des huiles essentielles est déterminées par la méthode de macrodilution sur milieu Sabourau liquide (Figure 13).

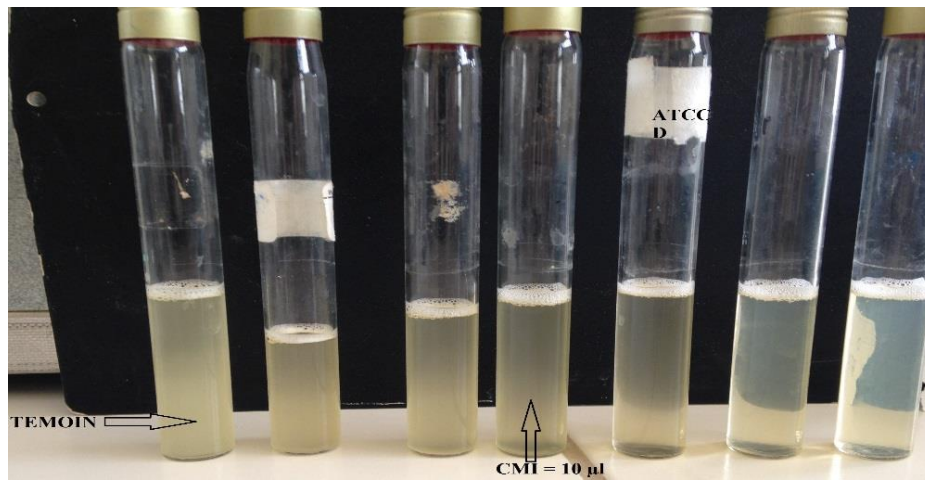


Figure 13: Exemple du résultat de l'évaluation de CMI de l'huile essentielle de *Thymelaea microphylla* sur *Candida albicans*.

Les valeurs de la CMI des huiles essentielles des plantes qui possèdent l'activité antifongique la plus élevée sont regroupées dans le Tableau (5). D'après ses résultats, on remarque que les huiles essentielles de *Thymus ciliatus* et *Thymelaea microphylla* sont plus efficaces par rapport aux autres huiles essentielles testées vue la faible valeur de leur CMI. De plus, les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et *Ammoïdes varticillata* exercent un effet similaire sur les deux espèces de *C. albicans*.

Tableau 5 : Détermination de la CMI des HE de quatre plantes aromatiques sur *Candida albicans*.

Huile essentielle	C. albicans (IPP 444)	C. albicans (ATCC)
	CMI (µg/ml)	CMI (µg/ml)
<i>Thymus vulgaris</i>	10.9	10.9
<i>Ammoïdes varticillata</i>	9.1	9.1
<i>Thymelaea microphylla</i>	2.0	8.2
<i>Thymus ciliatus</i>	2.2	8.8

Nos résultats sont relativement similaires par rapport à ceux trouvés dans la littérature.

Yekhlief (2011) et Giordani et al. (2006) ont signalé que l'huile essentielle de *thymus vulgaris* inhibe fortement la croissance de *Candida albicans* en milieu liquide.

Oliveira (2017) a obtenu une valeur de CMI de 10 µg/mL pour l'effet d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur *Candida albicans*. Cette valeur est très proche par rapport à celle trouvée dans notre présente étude.

De plus, une valeur de CMI d'environ 2.5 µl/ml a été trouvée par Attou et al. (2017) et Berrahou (2016), ceci pour l'effet d'huile essentielle d'*Ammonides varticillata*. Par conséquent, on peut dire que l'activité de l'huile essentielle dépend fortement de la région de la récolte de la plante.

On signale que notre résultat trouvé sur l'effet de l'huile essentielle de *thymus ciliuatus* sur *Candida albicans* est en désaccord par rapport à celui rapporté par Bousmaha et al. (2007) (CMI 1 mg/mL). Cette différence est due probablement à la saison de la récolte, à l'effet des facteurs pédo-climatiques et aussi du cycle végétatif de la plante étudiée. (Bona et al ,2016).

CONCLUSION

L'apparition des souches fongiques résistantes aux traitements chimiques à base de fongicides synthétiques pousse à la recherche d'autres méthodes pour lutter contre ces affections et qui utilisent l'approche de la médecine traditionnelle par l'utilisation de certaines plantes médicinales. Notre travail a été consacré à l'étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur *Candida albicans* incriminée en pathologies humaines.

Les résultats de l'aromatogramme montrent que les huiles essentielles provenant de *Thymus vulgaris* ; *Ammoïdes verticillata* ; *Thymeleae microphylla* et *Thymus ciliatus* inhibent de manière efficace la croissance de *Candida albicans*. L'activité antifongique de ces plantes c'est avérée relativement faible par rapport à la nystatine.

L'évaluation de la CMI montre que parmi les plantes testées, seulement les huiles essentielles de *Thymeleae microphylla* et *Thymus ciliatus* ont un pouvoir anti-candidosique le plus élevé.

Par conséquent, il serait envisageable de compléter cette étude par l'identification des principes actifs de ces huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM) et de recherche d'autres activités biologiques. On pourra également valorisée les huiles essentielles les plus actives dans la fabrication des crèmes et des gels et des solutions de bain de bouche qui peuvent être utilisés pour le traitement des candidoses superficielles.

REFERENCES

- Abdelouahid, D.E., Bekhechi, C (2004). Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata*(Nûnkha). *Biologie & Santé* vol. 4, n° 2.
- Adler-Moore, J., AmBisome targeting to fungal infections. *Bone Marrow Transplant* 1994. 14 Suppl 5: S3-7.
- AFNOR. (2000). Huiles essentielles, Monographies relatives aux huiles essentielles, Tome 2, 6 ème édition, AFNOR, Paris
- Ascioglu S., Rex J.H., de Pauw B., Bennett J.E., Bille J., Crokaert F., et al.: Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus; *Clin Infect Dis* (2002) 34: 7–14.
- Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL) .candidose .2014
- Attou Amina, Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne,2017 , Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen .
- Bassetti, M., Trecarichi, E. M., Righi, E., Sanguinetti, M., Bisio, F., Posteraro, B., Soro, O., Cauda, R., Viscoli, C. and Tumbarello, M., Incidence, risk factors, and predictors of outcome of candidemia. Survey in 2 Italian university hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007. 58: 325-331.
- Berrahou Imene, Effet inhibiteur de quelques huiles essentielles sur *Candida albicans* , 2016 , Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers TLEMEN.
- Bona, E. Cantamessa, S. Pavan M., Novello, G. Massa, N. Rocchetti, A. Berta G. and Gamalero E.2016. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072.
- Bonouman-Ira V, Angora E, Djohan V, Vanga-Bosson H, K Sylla-Thanon, Beourou S, Touré AO, Faye-Ketté H, Dosso M, Koné M. 2011. Profil de résistance des *Candida non albicans* à Abidjan en 2011. Resistance of *Candida albicans* in Abidjan in 2011, *Revue Bio-Africa*, 9: 27-31.
- Bounab, S., Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., and Figueredo, G. 2017. Phytochemical investigations and antibacterial and antioxidant properties of *Thymelaea microphylla* essential oil. *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*; 15 : 1205-1215.
- Buchbauer G (2011) A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour Fragr J* 27: 13–39
- Carrillo-Muñoz, A. J., G. Giusiano, P. A. Ezkurra, and G. Quindós. 2006. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev. Esp. Quimioter.* 19:130-139.
- Cassone, A., Cell wall of *Candida albicans*: its functions and its impact on the host. *Curr Top Med Mycol* 1989. 3: 248-314.
- Cheurfa, M. (2015). Intérêt des biomolécules d'origine végétale sur la santé. Thèse de doctorat LMD, sciences alimentaires et nutrition, Université Hassiba Ben Boualien – Chlef.
- Choi H, Dong Gun L (2014) Antifungal activity and poreforming mechanism of astacidin 1 against *Candida albicans*. *Biochimie* 105: 58–63
- Chu, W. S., Magee, B. B. and Magee, P. T., Construction of an SfiI macrorestriction map of the *Candida albicans* genome. *J Bacteriol* 1993. 175: 6637-6651.
- Cole, G. T., Seshan, K. R., Phaneuf, M. and Lynn, K. T., Chlamyospore-like cells of *Candida albicans* in the gastrointestinal tract of infected, immunocompromised mice. *Can J Microbiol* 1991. 37: 637-646.

- Coste, A., M. D. Linas, S. Cassaing, J. Bernad, S. Chalmeton, J. P. Seguela, and B. Pipy (2002). A sub-inhibitory concentration of amphotericin B enhances candidastatic activity of interferon-gamma- and interleukin-13-treated murine peritoneal macrophages. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 49:731-740.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, et al. (2000) The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol* 88:170-175
- Dahamna, S., Dehimi, K., Merghem, M., Djarmouni, M., Bouamra, D., Harzallah, D., Khennouf, S. 2015. Antioxidant, Antibacterial and Hypoglycemic Activity of Extracts from *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur, *International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients*, 2: 15.
- Daoudi, F. 2015. Analyse chimique et propriétés biologiques des huiles essentielles de *Chiliadenus rupestris* et *Thymus coloratus* (Zaater) de la région de Tlemcen. Université Abou Bekr Belkaïd de Tlemcen. Mémoire Master en Chimie. 69pages.
- Develoux M., Bretagne S.: Candidoses et levures diverses. EMC-Maladies Infectieuses (2005) 2: 119–139.
- Douglas, L. J., *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends Microbiol* 2003. 11: 30-36.
- Dupont B. (1985). L'écobiologie des *Candida*. Laboratoire Squibb.
- El bouri Rachid. étude de l'effet fongitoxique de 37 extraits de plantes aromatiques et médicinales sur différentes espèces de *Candida* en milieu liquide, 2014, faculté de médecine et de pharmacie –RABAT
- Errol Reiss, Jean Schadomy. H, Marshall Lyon (2011). *Fundamental Medical Mycology*. ISBN 978-0-470-177791-4.
- Filler, S. G., Swerdloff, J. N., Hobbs, C. and LUCKETT, P. M., Penetration and damage of endothelial cells by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1995. 63: 976-983.
- Franchomme P., 1981.- L'aromatologie à visée anti-infectieuse, *Phytomédecine*, 1 et 2, 25-47.
- Ghannoum, M. A., & Rice, L. B. (1999). Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 501-517.
- Giordani R, Regli P, Kaloustian J, et al. (2004) Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytother Res* 18: 990–5
- Giordani R., Kaloustian J., Action anticandidosique des huiles essentielles :leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques,2006, Université de la Méditerranée, Marseille, France
- Goldman, G. H., da Silva Ferreira, M. E., dos Reis Marques, E., Savoldi, M., Perlin, D., Park, S., Godoy Martinez, P. C., Goldman, M. H. and Colombo, A. L., Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004. 50: 25-32.
- Guignard J.L., Bouchet P., Madulo G., Regli p (1989). *Mycologie générale et médicale*. Abrégé Masson., , 107-120,108-109.
- Hay R.: The management of superficial candidiasis; *J. Am. Acad. Dermatol.* (1999) 40: S35–42.
- Hochedez P., Detry A., Caumes E.: *Mycoses superficielles EMC* (2007) pp: 4-1380.
- Hope, W. W., Warn, P. A., Sharp, A., Howard, S., Kasai, M., Louie, A., Walsh, T. J., Drusano, G. L. and Denning, D. W., Derivation of an in vivo drug exposure breakpoint for flucytosine against *Candida albicans* and Impact of the MIC, growth rate, and resistance genotype on the antifungal effect. *Antimicrob Agents Chemother* 2006. 50: 3680-3688.

- Horisberger, M., and M. F. Clerc. 1988. Ultrastructural localization of anionic sites on the surface of yeast, hyphal and germ-tube forming cells of *Candida albicans*. *Eur J Cell Biol* 46:444-52.
- Hoyer, L. L., Payne, T. L., Bell, M., Myers, A. M. and Scherer, S., *Candida albicans* ALS3 and insights into the nature of the ALS gene family. *Curr Genet* 1998. 33: 451-459.
- Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. (1998) .Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.
- Kabha Kisra , Liat Nissimov , Abed Athman , Yona Keisari, Haralambos Parolis , Leseley A. S.Parolis , RuTh M. Grue, Jutta Schlepper-Schafer , Alan R.B. Ezekowitz Dennis E. Ohman, and Itzhak Ofek (1995). Relationships among Capsular Structure, Phagocytosis, and Mouse Virulence in *Klebsiella pneumonia*. *INFECTION AND IMMUNITY* .p.847-852 Vol.63.
- Khan, M. A. and Owais, M., Toxicity, stability and pharmacokinetics of amphotericin B in immunomodulator tuftsin-bearing liposomes in a murine model. *J Antimicrob Chemother* 2006. 58: 125-132.
- Kriengkauykiat J, Ito JI, Dadwal SS (2011) Epidemiology and treatment approaches in management of invasive fungal infections. *J Clin Epidemiol* 3: 175–91
- Kumamoto, C.A., and Vines ., M.D.(2005) Contributions of hyphae and hypha-coregulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell Microbial* 7:1546-1554.
- Lagane céline, role de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la reponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-a-vis de *Candida albicans*. implication de ppar- γ .2007, universite toulouse iii .
- Marc P., Agnes M. : Diagnostic biologique des candidoses. *Revue Francophone Des Laboratoires* (Mars 2013) No 450.
- Massou S, Ahid S, Azendour H, et al (2013) Les candidoses systémiques en réanimation médicale: analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation. *Pathol Biol* 61: 118–12
- Massou S. et al. : Les candidoses systémiques en réanimation médicale : analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation. *Pathologie Biologie* (2012).
- Mayer F. : Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite ; Université de Lorraine faculté de pharmacie (2012) pp : 1-30.
- Mille, C., G. Janbon, F. Delplace, S. Ibata-Ombetta, C. Gaillardin, G. Strecker, T.Jouault, P. A. Trinel, and D. Poulain. (2004). Inactivation of CaMIT1 inhibits *Candida albicans* phospholipomannan beta-mannosylation, reduces virulence, and alters cell wall protein beta-mannosylation. *J Biol Chem* 279:47952-60. and insights into the nature of the ALS gene family. *Curr Genet* 1998. 33: 451-459.
- Miyazaki, T., Miyazaki, Y., Izumikawa, K., Kakeya, H., Miyakoshi, S., Bennett, J. E. and Kohno, S., Fluconazole treatment is effective against a *Candida albicans* erg3/erg3 mutant in vivo despite in vitro resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2006. 50: 580-586.
- Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T.: A study of the phototoxicity of lemon oil; *Arch. Dermatol. Res.* (1985)278: 31-36.
- Niimi, Masakazu, Firth, Norman A., et Cannon, Richard D, (2010). Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology*vol. 98, no 1, p. 15-25.
- Odds, F. C. (1979). *Candida and Candidosis*, Leicester University Press ed, London.
- Odds, F. C. (1985). Morphogenesis in *Candida albicans*. *Crit Rev Microbiol* 12:45-93.
- Odds, F. C. (2003). "Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication." *Mycologist* 17(02): 51-55.
- Ostrosky-Zeichner, L., Marr, K. A., Rex, J. H. and Cohen, S. H., Amphotericin B: time for a new "gold standard". *Clin Infect Dis* 2003. 37: 415-425.

- Ouraini D. et al. : Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturoioides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie* (2007) No 1: 6–14.
- Perry C.M et Coll (2003) phospholipomannan promotes survival of phagocytosed yeasts through modulation of bad phosphorylation and macrophage apoptosis. *J Biol Chem.* 278: 13086-13093.
- Pihet M, Marot A (2013) Diagnostic biologique des candidoses. *Rev Francoph Labo* 450: 47–61
- Poulain, D. and Feuillade-de-Chauvin, M., *Candidoses et levures diverses*: 1995.
- Pozzatti P. et al.: Activities of essential oils in the inhibition of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* germ tube formation. *Journal de mycologie médicale* (2010) 20: 185-189.
- Raoult, D.(1998) .*Dictionnaire de maladies infectieuses : épidémiologie, diagnostic* .2-84299-036-6.
- Reiss, E., V. M. Hearn, D. Poulain, and M. G. Shepherd. (1992). Structure and function of the fungal cell wall. *J Med Vet Mycol* 30 Suppl 1:143-56.
- Ruiz-Herrera, J., Elorza, M. V., Valentin, E. and Sentandreu, R., Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res* 2006. 6:14-29.
- Sabra, R., Zeinoun, N., Sharaf, L. H., Ghali, R., Beshara, G. and Serhal, H., Role of humoral mediators in, and influence of a liposomal formulation on, acute amphotericin B nephrotoxicity. *Pharmacol Toxicol* 2001. 88: 168-175.
- Said, O . , Said ,H., Satrani, B., Ghanmi, M., Mansouri, N., Mohamed, H., Chaouch, A. (2011)., Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de *Plectranthus aromaticus* Roxb. De l'île de la Grande Comore. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(2), 251-258
- Salerno, C., Pascale, M., Contaldo, M., Esposito, V., Busciolano, M., Milillo, L., Guida, A., Petrucci, M., Serpico, R. (2011). *Candida-associated denture stomatitis*. *Med Oral.*
- Samaranayake L.P, Fidel P.L., Naglic J.R., Sweet S.P., Teanpaisan R., Coogam M.M., Blignaut E. and Wanzala P., (2002) fungal infections associated with HIV infection. *Oral Dis*; 2:151-160.
- Sardi JC, Almeida AM, Mendes Giannini MJ (2011) New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites a brief review. *Arch Oral Biol* 56: 951–9
- Senet J.M., Robert R. (1995) *Physiopathologie des candidoses* . *Jour. Mycol. Méd.* , Vol 5, 145-166.
- Sheehan D.J., Hitchcock, C.A. and Sibley C.M.: Current and emerging azole antifungal agents *Clin. Microbiol. Rev* (1999) 12(1) : 40–79.
- Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., Hotchkiss S.A.: Human skin absorption and Metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxico. Appl. Pharmacol.* (2000)168: 189-99.
- Staebell, M., and D. R. Soll(1985). Temporal and spatial differences in cell wall expansion during bud and mycelium formation in *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 131:1467-80.
- Sugar, A., S. Alsip, et al. (1987). "Pharmacology and toxicity of high-dose ketoconazole." *Antimicrobial agents and chemotherapy* 31(12): 1874-1878.
- Tefiani, C. (2015). *Les propriétés biologiques des huiles essentielles de Curcuma longa, Ammoides verticillata et Thymus ciliatus ssp. Eu-ciliatus*. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaghanem.

- Valnet J., Duraffourd C.H., Duraffourd P. & Van Hoof L., 1978.- L 'aromatogramme : nouveaux résultats et essais d'interprétation sur 268 cas cliniques, *Plant, Med, Phytothérapie*, 12, 43-52.
- Vandeputte P. (2008). Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. Interactions entre organismes. Université d'Angers. Français.
- Vaubour Doll, M (2006). Parasitologie et mycologie (tome 3) .978-2-915585-40-7.
- Vazquez J.A., Sobel J.D.: Mucosal candidiasis; *Infect Dis Clin North Am* (2002) 16: 793–820.
- Vazquez J.A.: Invasive oesophageal candidiasis: current and developing treatment options. *Drugs* (2003) 63:971–89.
- Waugh Christine D. (2008). Le kétoconazole. *xPharm : La référence complète Pharmacologie* Pages 1-6
- Winnicka, K., M. Wroblewska, et al. (2012). "Hydrogel of ketoconazole and PAMAM dendrimers: Formulation and antifungal activity." *Molecules* 17(4): 4612-4624.
- Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.-C., Ayachi A.2011. Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle . *Phytothérapie* 9:209-218.
- Yanisse Siham, recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes aromatiques et médicinales en milieu solide, 2013, faculte de medecine et de pharmacie -RABAT.
- Zager, R. A., Polyene antibiotics: relative degrees of in vitro cytotoxicity and potential effects on tubule phospholipid and ceramide content. *Am J Kidney Dis* 2000. 36: 238-249

ANNEXES

Annexe 01 : composition de milieu Sabouraud solide .

Peptone	10g/l
D(+)- glucose	40 g/l
Agar	15 g/l

Ph 5.6 ± 0.2 à 37°C

Composition de milieu de culture : Sabouraud liquide

Caséine peptone	5 g
Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Hcl	Qlq goutte
Tween 80	1 %
PH	5.6
Eau distillé	1000 ml

ملخص:

Candida albicans هي مسببة مرضية انتهازية مستوطنة تشارك في العديد من الإصابات. في هذا العمل قمنا بتقييم حساسية سلالتين مرجعيتين *Candida albicans* (ATCC10231 و IPP 444) مع خمس عشر من الزيوت الأساسية مشتقة من حصاد النباتات العطرية في مناطق مختلفة من الجزائر والمستخدم في الطب التقليدي تم استخلاص الزيوت العطرية بواسطة طريقة التقطير الرطب. تم الحصول على مردود استخراج جيد (0.5 – 2.7 %). حيث كلا السلالات الفطرية حساسة للنيساتين.

تُظهر نتائج الرسم العطري التي تم تقييمها عن طريقة الانتشار بواسطة القرص الصلب أن أربعة نباتات فقط لها قدرة عالية على مقاومة *Candida albicans* (*Thymus vulgaris* و *Ammodes varticillata* و *Thymeleae microphylla* و *Thymus ciliatus*). التراكيز الأدنى للتثبيط يتم تحديدها بواسطة طريقة التخفيف الكلي على السائل وذلك في الوسط Sabouraud وكانت ما بين 2.2-10.9 ميكروغرام / مل.

يمكن اعتبار الزيوت الأساسية للنباتات العطرية في الجزائر مصدرا واعداء للعوامل المضادة للفطريات الجديدة التي يمكن استخدامها في علاج

داء المبيضات (*candida*)

الكلمات المفتاحية: نباتات عطرية، زيوت أساسية، مضاد للفطريات، *Candida albicans*، التركيز الأدنى المثبط.

Résumé

Candida albicans est un pathogène opportuniste nosocomial impliqué dans de nombreuses infections. Dans ce travail, nous avons évalué la sensibilité de deux souches de références de *Candida albicans* (IPP 444 et ATCC 10231) vis-à-vis de quinze huiles essentielles issues de plantes aromatiques utilisées dans la médecine traditionnelle Algérienne. Les huiles essentielles ont été extraites par la méthode d'hydrodistillation. De bon rendement d'extraction était obtenu (0.5-2.7%). Les deux souches fongiques sont sensibles à la nystatine.

Les résultats de l'aromatogramme réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé montrent que parmi les plantes testées seulement quatre ont un pouvoir anti-candidosique élevé (*Thymus vulgaris* ; *Ammodes varticillata* ; *Thymeleae microphylla* et *Thymus ciliatus*) Les valeurs de CMI de ses plantes déterminées par la méthode de macrodilution sur milieu Sabouraud liquide sont comprises entre 2.2-10.9 µg/ml.

Les huiles essentielles des plantes aromatiques d'Algérie peuvent être considérées comme une source prometteuse de nouveaux agents antifongiques qui peuvent être utilisés dans le traitement des candidoses.

Mots clés : Plantes aromatiques, huile essentielle, antifongique, *Candida albicans*, CMI.

Abstract

Candida albicans is a nosocomial opportunistic pathogen involved in many infectious diseases. In this work we evaluated the sensitivity of two reference *Candida albicans* strains (IPP 444 and ATCC 10231) against fifteen essential oils extracted from Algerian aromatic plants used in traditional medicine. The essential oils have been extracted using hydrodistillation method. The yield extraction was found to be 0.5-2.7%. The both fungal strains were sensitive to nystatin. The aromatogram realized by agar diffusion method show that from all tested plants only four plants have a high antifungal activity (*Thymus vulgaris*; *Ammodes varticillata*; *Thymeleae microphylla*, *Thymus ciliates*). The CMI values ranged from 2.2 to 10.9 µg/mL, determined by liquid macrodilution method. The essential oils of aromatic plants can be considered as a promising source of a new antifungal agent that can be used for the treatment of candidose.

Keywords: Aromatic plants, essential oils, antifungal, *Candida albicans*, CMI.