ABREVIATIONS

Liste des abréviations

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

HE : Huile essentielle

EE : extrait éthanolique

HMA : Hôpital Militaire Avicenne

C. albicans : *Candida albicans*

C. glabrata : *Candida glabrata*

C. krusei : *Candida krusei*

C. dubliniensis : *Candida dubliniensis*.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

SAC : Sabouraud-Actidione-Chloramphénicol.

DMSO : DiMéthylSulfOxyde.

NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standards

EP : Extrait de Plante

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

HD : Hydrodistillation.

EV : Entrainement à la vapeur.

SLA : Seuil Limite Arbitraire.

CVV : candidose VulvoVaginale.

DI : Diamètre d'Inhibition.

HRSV : Human Respiratory Syncytial Virus

PLAN

Introduction.....1

Matériels et méthodes..... 3
I.Type et lieu d'étude :.....4
II.Matériels :.....4
1.Plantes sélectionnées :.....4
2.Matériel fongique :.....7
2-1Obtention des souches fongiques :.....8
2-2Collecte des levures :.....8
2-3Identification des souches :.....8
2-4Réisolement des levures :.....13
2-5Milieux de culture :.....14
3.Les antifongiques classiques :.....14
4.Autres matériels :.....15
III.Méthodes :.....15
1.Obtention des extraits :.....16
2.Conservation des extraits :.....19
3.Préparation de l'inoculum fongique :.....20
4.Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique :.....22
5.Détermination de la concentration minimale inhibitrice :.....24
6.Evaluation de l'activité des antifongiques classiques :.....26
7.Analyse statistique des résultats :.....26
Résultats.....27
I. Evaluation de l'activité antifongique des extraits des plantes aromatiques et médicinales : Etude descriptive.....28
1.Screening des extraits de plantes à activité antifongique :.....28
2.Activité antifongique des huiles essentielles en présence du DMSO 10% :.....30
3.Evaluation de l'activité des antifongiques classiques :.....32
4.Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles sur les autres souches de Candida.sp :.....33
5.Détermination de la concentration minimale inhibitrice :.....37
II.Evaluation de l'activité antifongique des extraits des plantes aromatiques et médicinales : Etude analytique.....43

Discussion.....46
I.Généralités sur les huiles essentielles :.....47
II.Aperçus sur les candidoses :.....50
III.Discussion des résultats :.....59
1.Résultats globaux.....59
2.Résultats spéciaux.....61
2-1Mentha pulegium.....61
2-2Eucalyptus globulus.....62
2-3Zingiber officinale Roscoe.....64
2-4Origanum vulgare.....66

2-5Myrtus communis……67
2-6Lavandula dentata……69
IV.Monographie des six plantes à activité antifongique :……73

Conclusion ……83

Annexe……85

Résumés……91

Bibliographie……95

INTRODUCTION

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine [1], et ont vu leur localisation se diversifier. *Candida albicans* reste l'espèce la plus fréquemment rencontrée [2].

Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé et d'autres part lié à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels [3, 4, 5, 6]. Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative aux médicaments actuels. Différentes espèces de végétaux sont connues depuis longtemps pour leurs effets antimicrobiens. Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) constituent une richesse naturelle très importante dont la valorisation demande une parfaite connaissance des propriétés à mettre en valeur. Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle (HE), peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques [7]. L'usage des HE 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. Ces huiles sont d'usage courant en thérapeutique traditionnelle au Maroc et dans plusieurs régions du monde.

Le présent travail constitue l'ébauche d'un projet de recherche visant à proposer des molécules naturelles douées d'activité antifongique manifeste pouvant enrichir le spectre actuel des antifongiques et permettrait de cerner le problème de résistances en plein essor.

Rapport-Gratuit.com

MATERIELS & METHODES

I. Type et lieu d'étude :

Il s'agit d'une étude expérimentale de 8 mois, du Mai 2012 au Décembre 2012, réalisée au sein du service de Parasitologie-Mycologie médicale de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. Ce travail rentre dans le cadre d'un projet de recherche mené en collaboration avec l'équipe Planta Sud du laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la faculté des sciences Ibn Zohr d'Agadir.

II. Matériels:

1. Plantes sélectionnées :

Le Maroc, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de PAM y pousse spontanément.

Trente-sept extraits provenant de 31 PAM marocaines ont été évalués dans notre étude. Le lieu de récolte, les parties utilisées et la nature des extraits sont illustrés dans le (tableau I).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau I : Plantes sélectionnées pour étude de leur activité antifongique :

Nom scientifique	Nom vernaculaire français	Nom vernaculaire arabe	Lieu de récolte	Parties utilisées	Nature des extraits
Cupressus sempervirens	Cyprès	السرو	Imouzer idaoutanane	Feuilles et tiges	HE
Mentha pulegium	Menthe pouliot	فليو	Acheté	sommités fleuries	HE
Tetraclinis articulata	Thuya	العرعار	Imouzer idaoutanane	Feuilles, Rameaux, gomme	HE et extrait éthanolique (EE)
Mentha piperita	Menthe pippermint	النعناع العبدي	Acheté	sommités fleuries	HE
Pinus halepensis	Pin	التايدة الصنوبر البري	Imouzer idaoutanane	feuilles	HE
Artemisia vulgaris	Armoise vulgaire	الشيح	Guelmim	sommités fleuries	HE
Thymus pallidus	Thym	الصحتر	Imouzer idaoutanane	sommités fleuries	EE
Vitex agnus castus	Vitex	بايموت	Taroudant	Feuilles et tiges et graines	HE et décoction
Asteriscu sodorus	Kerkaba	كركابة	Asrarkisse Ait Baha	sommités fleuries	Décoction
Syzygium aromaticum	Girofle	القرنفل	Acheté chez l'herboriste	Bouton floraux, séchées, récoltés 2 fois en hiver et en été	HE
Rosmarinus officinalis	Romarin	الأزير	Récolté au jardin	sommités fleuries et feuilles	HE
Origanum vulgare	Origan	الزعتر	Récolté au jardin	Les sommités fleuries	HE
Citrus aurantium var. amara ou bigaradia	Néroli	البرتقال	HE achetée	Feuilles et fleurs fraiches	HE
Thymus satureioides	Thym S	الزعيترة	Récolté à imouzer idaoutanane à 1200m altitude	Feuilles, Tiges et Fleurs	HE et EE

Tableau I « suite » : Plantes sélectionnées pour étude de leur activité antifongique :

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Nom arabe	Lieu de récolte	Parties utilisées	Nature des extraits
Thymus leptobotrys	Thym L	الزعيترة	Récolté à asrarkiss, à Ait Baha	Feuilles et tiges	HE et EE
Cymbopogon	Lemon grasse	عشب الليمون	Récolté au jardin	Parties aériennes	HE
Zingiber officinale Roscoe	Zingiber	الزنجبيل	Acheté	Rhizome	HE
Melaloca alternifolia	Tea tree	شجرةالشاي	HE acheté	Feuilles	HE
Lavandula dentata	Lavande	الخزامة	Récoltée à Cap Ghir	Sommités fleuries	HE et décoction
Nigella sativa	Nigelle	السانوج	Acheté	graines	EE
Jasminum Grandiflorum	Jasmin	الياسمين	HE achetée	fleurs	HE
Rosa damascena	Rose	الورد	HE achetée	Sommités fleuries	HE
Ormenis mixta	Camomille	البابونج	Acheté chez l'herboriste	Sommités fleuries	EE
Artemisia herba-alba	Armoise	الشيح	Récoltée à Tizintasst à 1500m d'altitude	Feuilles et tiges	HE
Myrtus communis	Myrte	الريحان	Acheté séché chez l'herboriste	feuilles et fruits	HE
Mentha arvensis L.	*Menthe*	النعناع	*Achetée*	*Les parties aériennes*	H.E
Cedrus atlantica	*Cèdre de l'atlas*	الأرز	*Récolté à imouzer idaoutanane*	*Le bois et les feuilles*	H.E
Salvia officinalis	*Sauge*	السالمية	*Achetée chez l'herboriste*	*Les feuilles et les sommités fleuries*	H.E
ocimum basilicum	*Basilic AK*	الحبق	*Acheté chez l'herboriste*	*Feuilles et sommités fleuries*	H.E
citrus aurantifolia	*Citron*	الليمون	*Acheté*	*Le péricarpe*	H.E
Eucalyptus globulus	*Eucalyptus*	الأوكاليبتس	*HE achetée*	*Feuille des rameaux*	H.E

2. Matériel fongique :

L'activité antifongique des différents extraits de plantes a été évaluée sur quatre espèces fongiques du genre *Candida.sp* qui sont: *Candida albicans* (3 souches), *Candida glabrata* (une souche), *Candida krusei* (une souche) et *Candida dubliniensis* (une souche) (tableau II et figure 1). Notre choix a porté essentiellement sur ces espèces fréquemment impliquées dans diverses infections candidosiques et qui posent des problèmes de résistance aux antifongiques classiques [8].

Tableau II : Espèces et nombre de souches de levures testées.

Genre	Espèce	Nombre de souches
Candida.sp	*Candida albicans*	3
	Candida glabrata	1
	Candida krusei	1
	Candida dubliniensis	1

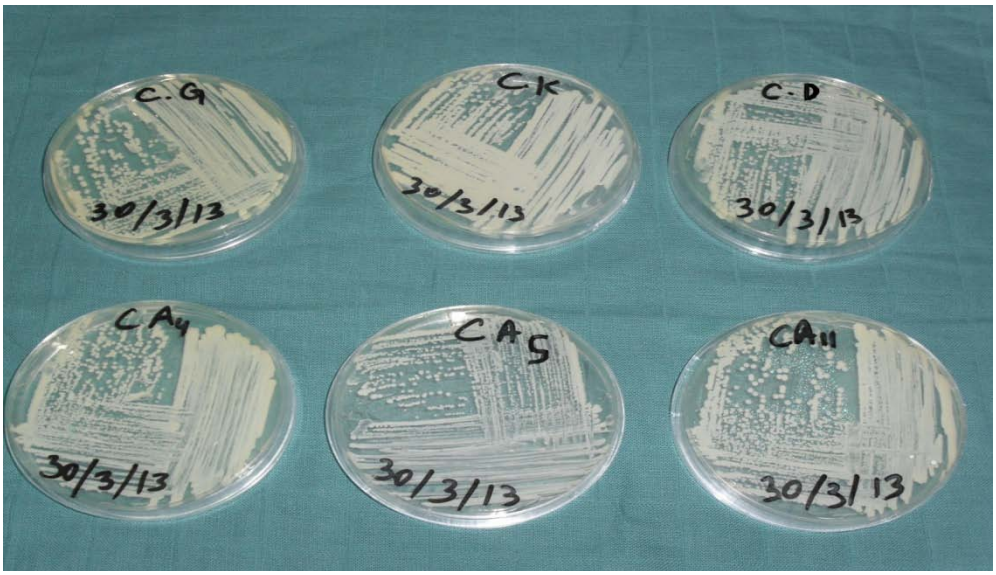

Fig.1 : Souches de levures testées. CG: *Candida glabrata*, CK : *Candida krusei*, CD: *Candida dubliniensis*, CA: *Candida albicans* [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

2-1 Obtention des souches fongiques :

a- Collecte des levures :

Les souches ont été obtenues auprès des laboratoires de Parasitologie-Mycologie médicale et Microbiologie de l'Hôpital Militaire Avicenne (Marrakech), et des laboratoires de Parasitologie et Microbiologie du CHU Mohammed VI. Ces levures sont issues de différents prélèvements (Ongle, squames, prélèvements vaginaux, hémoculture, PDP, selles…etc.).

b- Identification des souches :

Trois méthodes ont été utilisées pour l'identification des levures:

- Le test de blastèse pour l'identification de l'espèce *Candida albicans*.
- Le milieu chromogène Candi Sélect 4 (Bio-RAD/Réf : 63746).
- La galerie d'identification API 20 C AUX® pour identifier les autres levures.

❖ **Test de blastèse :**

Appelé aussi test de filamentation, le test de blastèse consiste à réaliser une suspension de levures dans du sérum frais du lapin ou du cheval et l'incuber à 37 °C pendant trois heures. La détection des tubes germinatifs, ne présentant aucune constriction au niveau de la base, affirme la présence de *C. albicans* (figure 2) [9].

La spécificité et la sensibilité de ce test sont respectivement de 100 % et de 86,3 %. Son principal inconvénient est l'impossibilité de détection des éventuelles associations dans deux tiers des cas [10, 11, 12]. Nous l'avons systématiquement complété par l'auxanogramme par la galerie API 20 C AUX®.

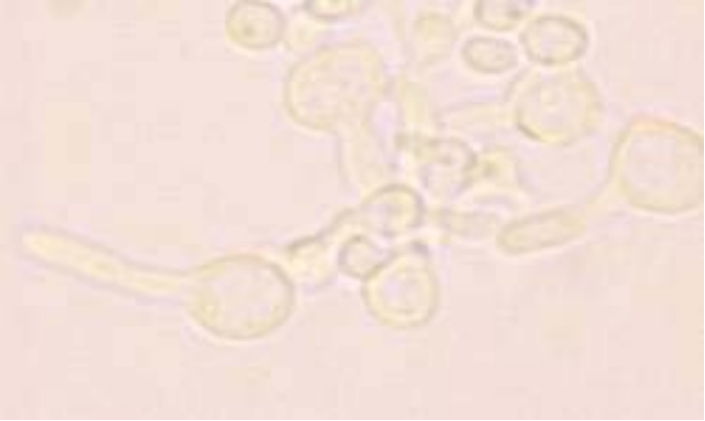

Fig.2 : Les tubes germinatifs du *Candida albicans*

❖ **Le milieu chromogène Candi Select 4 :**

Il s'agit d'un milieu de primo-isolement permettant l'isolement et l'identification directe de *C. albicans*, espèce de *Candida* la plus fréquemment isolée, ainsi que l'identification présomptive de *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. krusei*. La lecture est effectuée après une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures.

L'identification de *C. albicans* se fait directement à la couleur de la colonie. Pour les autres levures, des examens complémentaires sont nécessaires pour identifier l'espèce en cause. Elle se fait comme suit (figure 3):

- Colonies de couleur rose à violet → *C. albicans.*
- Colonies turquoises, brillantes, plates à contours réguliers, morphotype lisse (S) → *C. glabrata* → à compléter par Test RTT Glabrata.
- Colonies turquoises très intenses, bombées, à contours réguliers, morphotype lisse (S) → *C. tropicalis.*
- Colonies turquoises, d'aspect sec, à contours irréguliers, morphotype rugueux (R) → *C. krusei* → à compléter par Test Krusei Color.
- Colonies blanches → autres espèces de levures → galerie d'identification API 20 C AUX®.

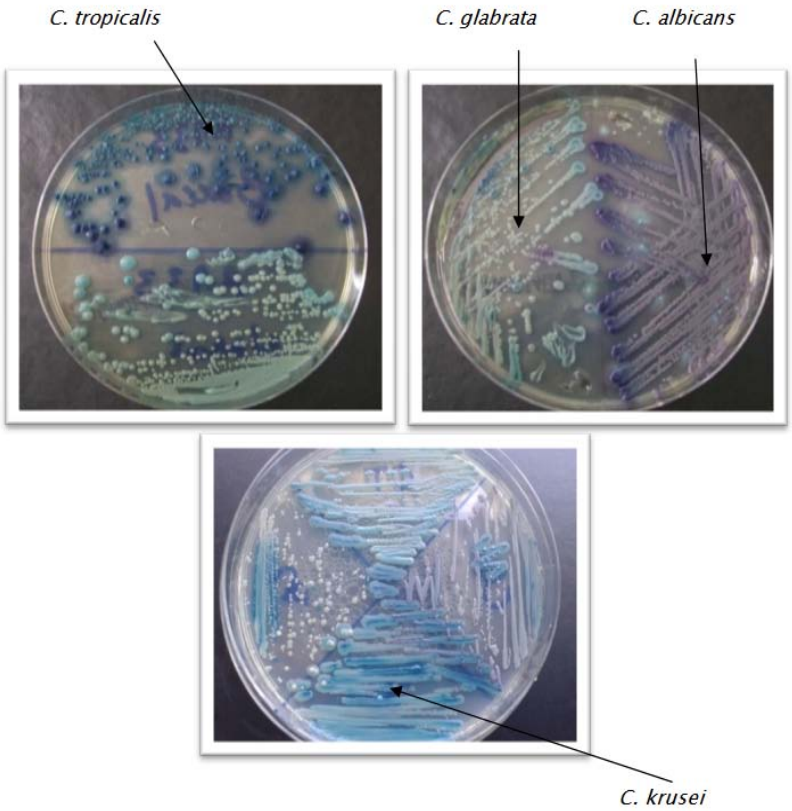

Fig. 3 : Identification des espèces de *Candida* sur le milieu chromogénique.
[Photos du service de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

❖ Technique : Api 20 C AUX :

- principe :

Il s'agit d'un ensemble de tests basés sur l'assimilation de plusieurs sucres (Auxanogramme) par les levures. Cette assimilation diffère selon l'espèce à identifier. La galerie est constituée de 20 cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent d'effectuer 19 tests d'assimilation.

Les cupules sont inoculées avec un milieu minimum semi-gélosé et les levures poussent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant (figure 4).

La lecture de ces réactions se fait par comparaison aux témoins de croissance et l'identification est obtenue à l'aide du tableau d'identification ou du catalogue analytique.

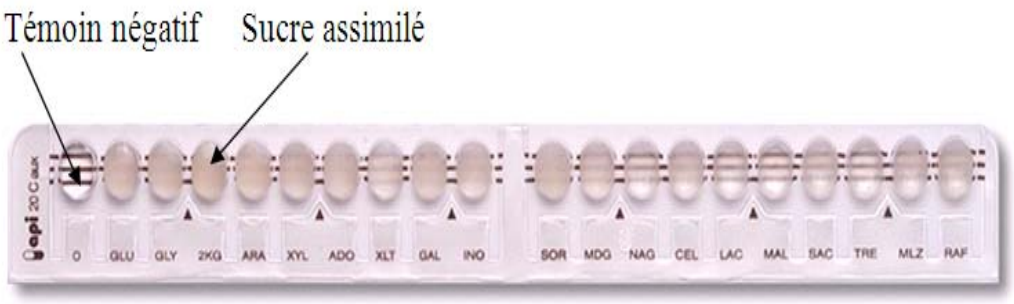

Fig. 4 : Galerie API 20 C AUX®.

- **Préparation de la galerie :(figure 5)**

On réuni le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation et on réparti de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Puis, on dépose stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum :**

- Une suspension fongique est préparée dans une ampoule de Suspension Medium ou Na Cl 0,85% Medium ou on utilise un tube contenant 2 mL de la même solution sans additif.
- Puis on réalise une suspension de turbidité égale à 2 de McFarland.

- **Inoculation de la galerie et lecture:**

- On rempli les cupules avec la suspension obtenue dans C Medium.
- Puis, on referme la boîte d'incubation et on l'incube pendant 48-72 heures à 30°C.
- Après incubation, la lecture de la galerie s'est faite en se référant au tableau de lecture.

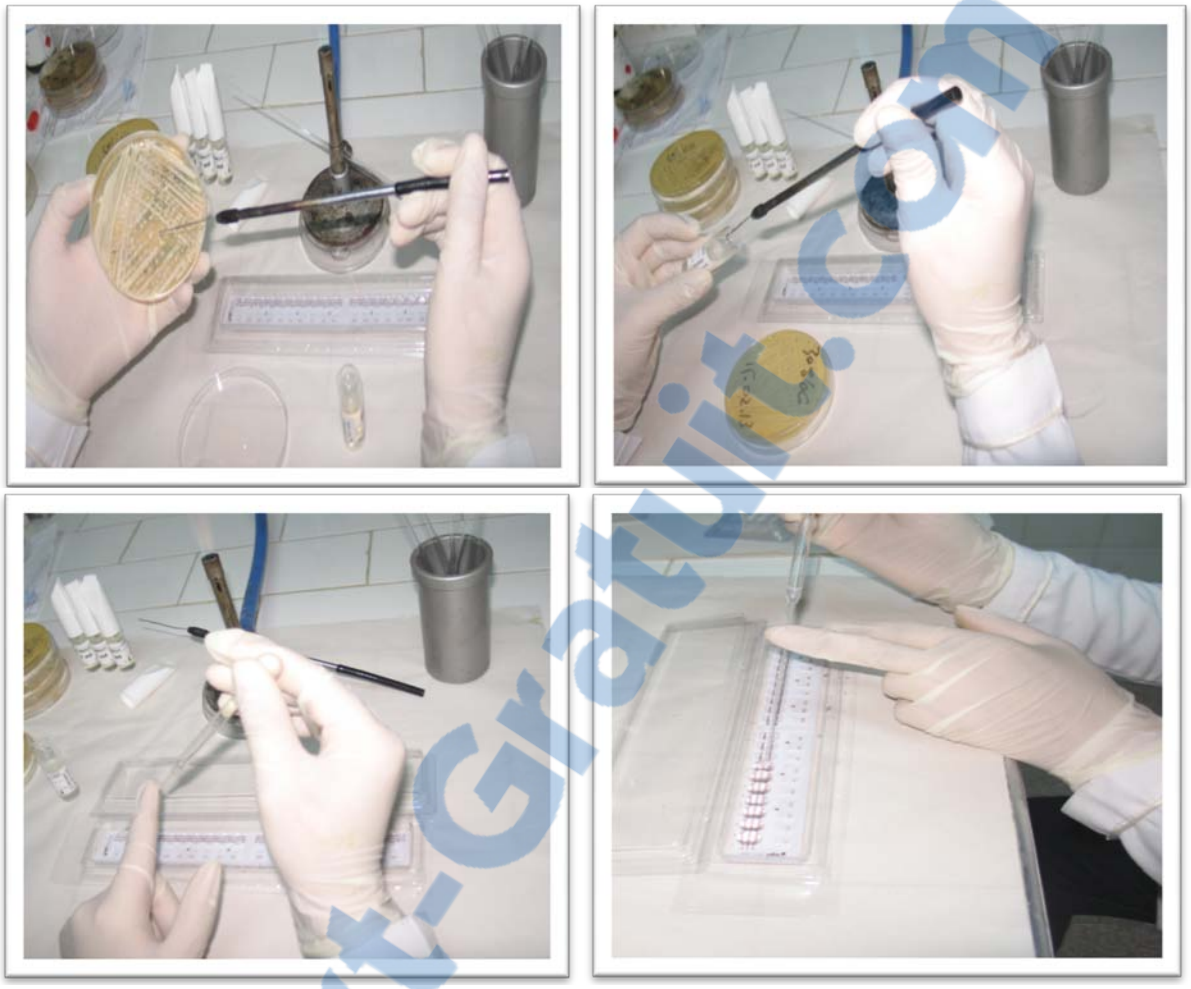

Fig.5 : Réalisation d'un auxanogramme par la galerie API 20 C AUX® [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

- **Identification :**

- **Parle tableau d'identification :** En Comparant les réactions notées sur la fiche de résultats avec celle du tableau.
- **Par le catalogue analytique :** Les tests sont regroupés par triplet de 3, et une valeur (1, 2 ou 4) est indiquée pour chacun. On additionne à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs pour obtenir un nombre de 7 chiffres qui sert de code d'identification (figure 6).

Rapport-Gratuit.com

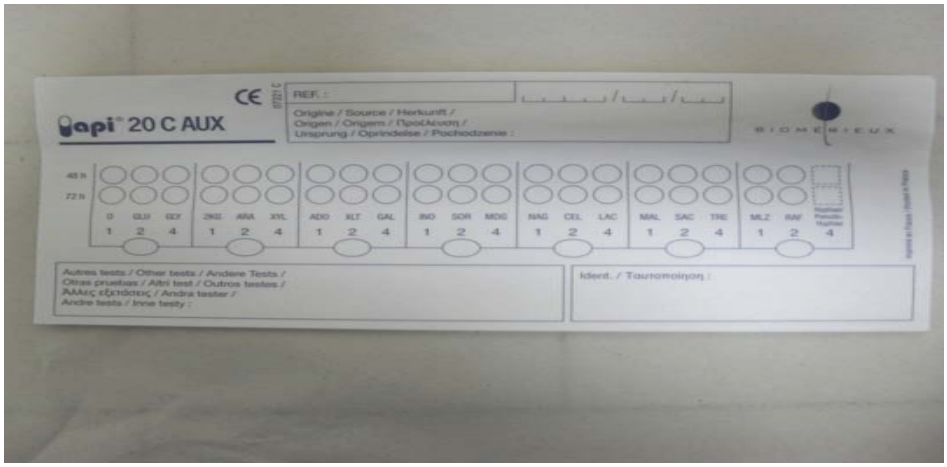

Fig.6 : Fiche d'identification de la galerie API 20 C AUX® [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

c- Réisolement des levures :

Nos souches sont entretenues par repiquage, toutes les deux à trois semaines, sur milieu Sabouraud-Actidione-Chloramphénicol (SAC) par la méthode d'isolement en quadrant (figure 7):

A) Dépôt de l'échantillon.

B) Stries serrées sur la première moitié de la boîte (stries vertes).

C) Après avoir tourné la boîte de 90°, des stries serrées sont à nouveau effectuées sur une moitié de boîte (stries rouges).

D) Le dernier quadrant est ensemencé sans rentrer au contact des quadrants précédents. Cette technique permet d'obtenir dans le dernier quadrant des colonies isolées schématisées en E et en pratique en F.

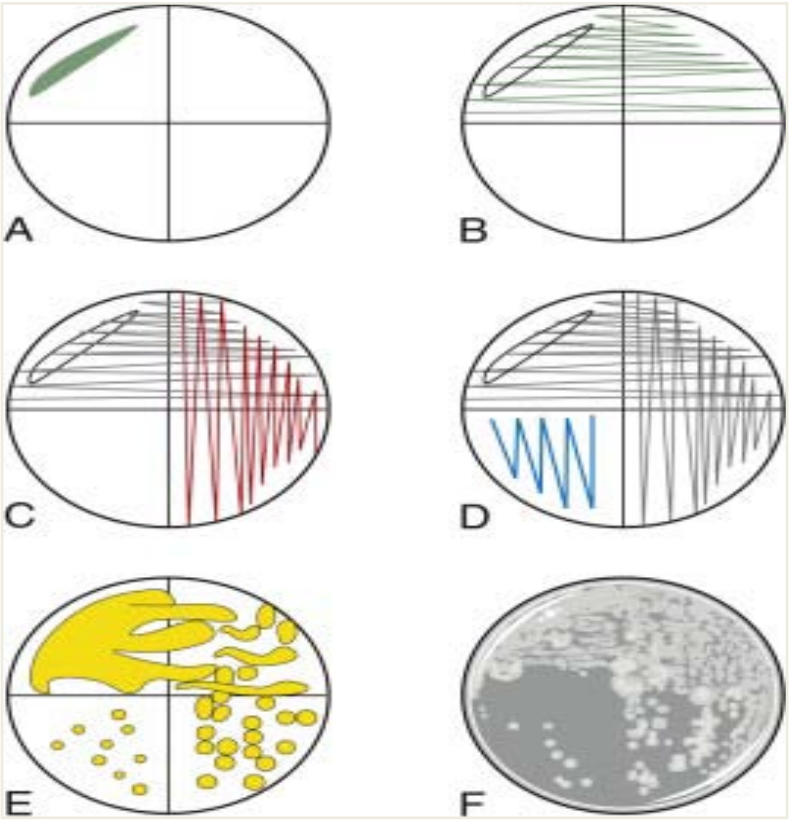

Fig.7: Repiquage par méthode d'épuisement en stries.

d- Milieux de culture :

Les levures du genre *Candida.sp* sont peu exigeantes, et un grand nombre de milieux de culture est utilisé permettant leur développement. Toutefois, le milieu de Sabouraud est le mieux adapté à la culture des champignons [1]. Nous avons utilisé dans notre étude le milieu SAC (Bio-RAD/Réf : 64644).

3. Les antifongiques classiques :

Les antifongiques classiques utilisés dans notre étude sont le fluconazole, la terbinafine et l'amphotéricine B.

- Fluconazole: fluconazole Win® gélule 150 mg. lot 0006, P : 06/2014 MAPHAR (2-(2,4 difluorophényl)-1,3-di (1H-1, 2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol) ;

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

- Terbinafine:Téguma® comprimé de 250 mg. Lot 111252, P : 02/2014 COOPER ((2E)-N, 6,6-triméthyl-N-(naphtalén-1-ylméthyl)hept-2-én-4-yn-1-amine) ;
- Amphotéricine B:fungizone® suspension buvable (10 %).lot W994, P : 11/2013 LAPROPHAN.

4. Autres matériels:

- DMSO (diméthylsulfoxyde) : C_2H_6OS,
- Sérum glycosé à 5%, sérum,
- Boites de Pétri en plastique de 9cm de diamètre,
- Tubes à hémolyse en verre et en plastique,
- Tubes eppendorf,
- Vortex puissant et réglable type Stuart® (BioCote),
- Galerie API 20C AUX (BioMérieux®), pipette Pasteur stérile, Médium
- Etuve nüve incubator modèle EN 055,
- Agitateur à plaque ELISA: Heidolph Instruments TITRAMAX 1000,
- Microscope binoculaire à immersion LEICA DM 1000,
- cellules de Malassez.

III. Méthodes :

Les PAM ont été identifiées au laboratoire de Biologie végétale, par les soins de l'équipe de Monsieur le Pr. MSANDA Fouad de la Faculté des sciences Ibn Zohr d'Agadir.

1. Obtention des extraits :

1-1 Extraction des HE :

Deux méthodes ont été utilisées pour extraire les HE (figure 8):

- 1-L'hydrodistillation (water distillation), c'est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans l'eau et le tout est porté à ébullition.
- 2-Distillation par entraînement à la vapeur d'eau (steam distillation). Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante. Cette méthode est la plus utilisée en industrie pour l'extraction des HE.

Fig. 8 : Extraction des HE [Photo du laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la faculté des Sciences Ibn Zohr d'Agadir]

L'extraction des HE a été faite au laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la Faculté des sciences Ibn Zohr d'Agadir. Elle a été effectuée par hydrodistillation en utilisant le Cleavenger apparatus préconisé par la pharmacopée Française (figure 9).

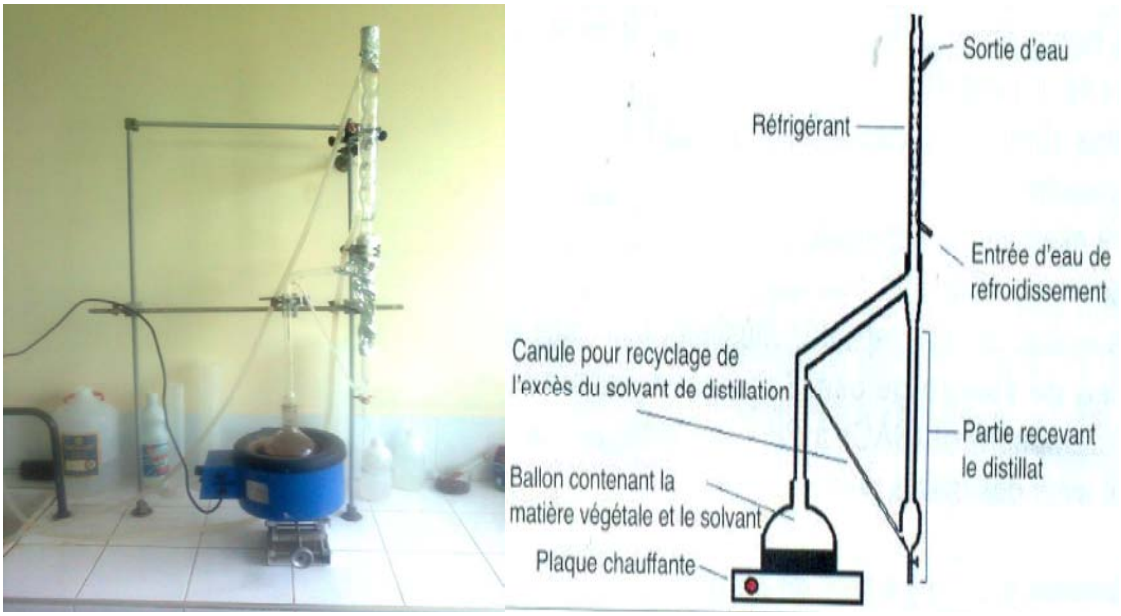

Fig.9 : Appareil Cleavenger apparatus [Photo du laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la faculté des Sciences Ibn Zohr d'Agadir]

300g des PAM séchées à l'ombre pendant une à deux semaines sont immergés dans un litre d'eau distillée puis portés à ébullition. La vapeur d'eau entraine avec elle les HE volatiles, qui sont ensuite condensées par un condenseur froid qui les transforme en liquide. Le produit obtenu (HE) étant plus légère que l'eau surnage à la surface, puis récupéré, mesurée et pesée pour déterminer le rendement en fonction de la matière sèche.

Les extraits obtenus sont stockés à 4°C dans des flacons teintés et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de leurs utilisation.

1-2 Extraction par solvant volatil (Ethanol, Méthanol) :

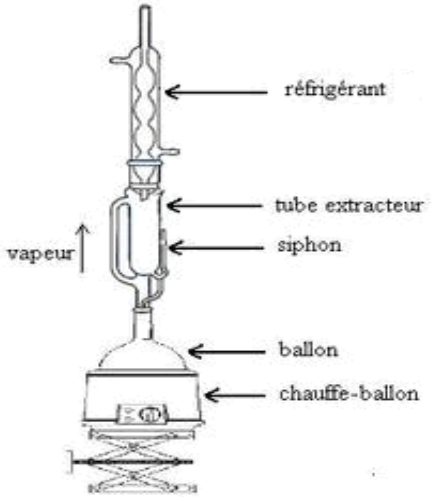

Fig. 10 : Extraction par le Soxhlet [Photo du laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la faculté des Sciences Ibn Zohr d'Agadir]

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première (figure 10).

Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (300 ml). Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire (60g) est insérée dans l'extracteur, au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfier. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide d'un appareil appelé Rotavapor (figure11).

Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés extraits. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide.

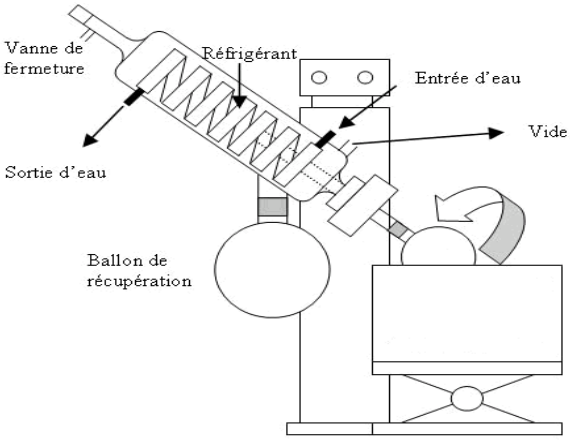

Fig.11 : Rotavapeur pour l'évaporation du solvant [Photo du laboratoire de Génie des procédés et Biotechnologie végétale de la faculté des Sciences Ibn Zohr d'Agadir]

2. Conservation des extraits :

Très volatiles par nature, les HE peuvent rapidement perdre leurs propriétés. Très vite, elles commencent à vieillir, généralement au bout de 6 mois. Au mieux, elles peuvent conserver leurs propriétés thérapeutiques pendant environ trois ans [13]. Pour cela, elles doivent être impérativement gardées à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur, et contenues dans des flacons en verre (les HE sont réputées « ronger » les plastiques) opaques ou teintés (en bleu ou brun) hermétiquement clos, entreposés debout (figure 12) [14, 15, 16].

Les HE se volatilisent au contact de l'air. Aussi faut-il bien veiller à ne pas laisser les flacons trop longtemps ouverts [14, 17].

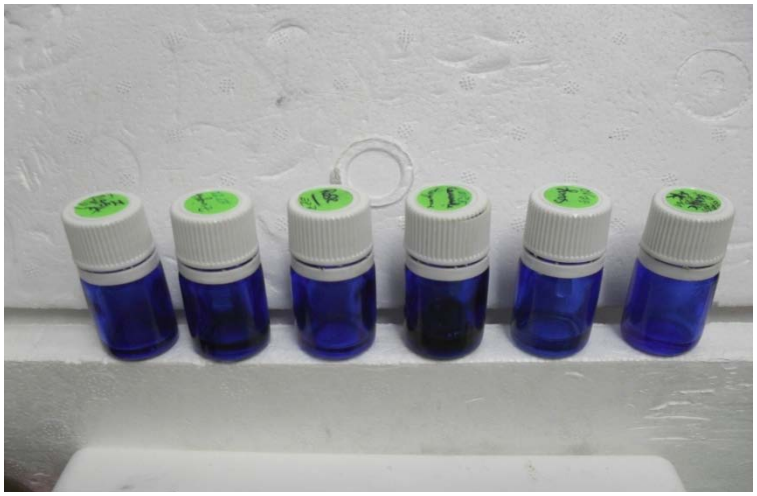

Fig.12 : Les flacons en verre teinté contenant des huiles essentielles.
[Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech].

3. Préparation de l'inoculum fongique :

Les suspensions mères de levures sont préparées à partir d'une culture des différentes souches sur milieu SAC incubées pendant 48h à 37°C. Sur la paroi d'un tube à hémolyse contenant 5 ml de sérum glycosé à 5%, on écrase une colonie de levures mesurant 1,5 à 3 mm de diamètre, prélevée de la culture par pipette Pasteur stérile. Les suspensions sont préparées dans le sérum glycosé à 5% et ajustées à 2.10^3 levures/mm^3 après comptage à la cellule de Malassez.

3-1 Utilisation de la cellule de Malassez :(figure 13)

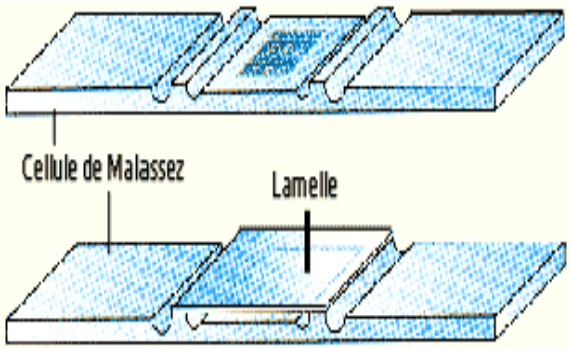

Fig.13 : Cellule de Malassez.

Une cellule de Malassez est une lame spéciale quadrillée qui permet le comptage de différents types de cellules.

- **Mode opératoire:**

Pour réaliser le remplissage de la cellule, il faut :

- Humidifier les glissières latérales sur lesquelles va reposer la lamelle ;
- Déposer la lamelle sur les rebords, celle-ci doit adhérer par un "effet ventouse" ;
- Placer l'extrémité de la pipette contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordement vers les rigoles.

- **Principe de comptage :**

- La totalité de la cellule est composée de 100 rectangles dont les dimensions sont:

Long.= 0,25 mm / larg.= 0,20 mm / Prof. = 0,20 mm,

- Le volume total de la cellule est de 1 mm^3 (100 x 2,5x 0,2 x 0,20).
- Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales (0,25 mm) et de 10 bandes horizontales (0,20 mm) formant ainsi 100 rectangles,
- On ne compte les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule.
- On totalise le nombre de cellules présentes dans chaque rectangle.

Arbitrairement, il est convenu de ne tenir compte que les cellules positionnées sur les côtés droits et inférieurs !

- On calcule le nombre moyen de cellules par rectangle (total des cellules observées dans 10 rectangles divisé par le nombre de rectangles comptés).
- On multiplie le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par mm^3.

- Exemple de calcul :

Rectangle compté	Nombre de cellules comptabilisées	Calculs
Rectangle 1	20 cellules	Moyenne par rectangle : (20+14+10+23+16+8+19+14+21+15)/10 =16 cellules Nombre de cellules dans 1 mm^3 : $16 \times 100 = 1,6.10^3 .mm^{-3}$
Rectangle 2	14 cellules	
Rectangle 3	10 cellules	
Rectangle 4	23 cellules	
Rectangle 5	16 cellules	
Rectangle 6	8 cellules	
Rectangle 7	19 cellules	
Rectangle 8	14 cellules	
Rectangle 9	21 cellules	
Rectangle 10	15 ellules	

4. Méthodes d'évaluation de l'activité antifongique :

➢ Technique de macrométhode en milieu liquide :

L'activité antifongique des différents extraits de plantes sur la croissance des levures a été évaluée par la technique de macrométhode en milieu liquide selon les recommandations de la NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) M38P pour les levures [18]. Dans des tubes à hémolyse contenant 200 µl de la suspension fongique mère, préalablement préparée et ajustée à 2.10^3 levures/mm^3, on ajoute 10 µl de l'extrait de plante (EP) à tester puis homogénéisée au mixeur Vortex. Ensuite on ajoute 10 µl de DMSO 10% puis une deuxième homogénéisation est effectuée. Enfin, les tubes sont complétés par la quantité suffisante de sérum glycosé 5% pour avoir un volume final de 1 ml pour chaque tube. Le screening des extraits a été réalisé sur *C. albicans* 5 par addition de 10 µl d'EP à 2 mL de la suspension fongique mère.

Les témoins négatifs ont été préparés par ajout des souches testées aux milieux adéquats sans EP. Le comptage des tubes témoins s'est fait à l'aide de la cellule de Malassez pour déterminer le nombre de levures/mm^3 à T_0. Chaque test a été réalisé deux fois dans les

mêmes conditions expérimentales et les résultats indiqués représentent la moyenne de ces deux tests.

L'ensemble des tubes à hémolyse, hermétiquement fermés, sont incubés à 37°C pendant 48 heures sous agitation continue en utilisant l'agitateur à plaques ELISA (figure 14) qui réalise des secousses vibratoires réglées à une fréquence de 1350 tours/min.

Fig. 14: Incubation des tubes pendant 48 heures à 37°C sous agitation continue [Photo du laboratoire d'immunologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech].

Après 48h d'incubation à 37°C, chaque tube est homogénéisé au mixeur Vortex puis le nombre de levures est déterminé par comptage à la cellule de Malassez. Sont considérés comme efficaces, les extraits dont le taux d'inhibition est supérieur à 80%. Le taux d'inhibition est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'Inhibition en (\%)} = [1 - (T_{48\ extrait} - T_0) / (T_{48\ témoin} - T_0)] \times 100$$

Où :

T_0 : nombre de levures dans le tube témoin à temps zéro.

$T_{48\ témoin}$: nombre de levures dans le tube témoin après 48h d'incubation.

$T_{48\ extrait}$: nombre de levures dans le tube avec extrait testé, après 48h d'incubation.

5. Détermination de la Concentration minimale inhibitrice (CMI):

Cette technique consiste à inoculer, par une suspension levurique standardisée, une gamme de concentration décroissante en HE. Après incubation, l'étude de la gamme permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) relative à chaque extrait, qui est déterminée comme étant la plus faible concentration de l'extrait qui inhibe plus de 90% la croissance du champignon testé.

- Technique de macrodilution en milieu liquide :

200 µl de l'HE à tester sont placés dans un tube eppendorf contenant 200 µl de DMSO à 10% puis homogénéisés au mixeur Vortex. Une dilution en cascade de demi en demi est effectuée dans le DMSO à 10%, de manière à obtenir une gamme de concentration décroissante en HE (Figure 15.a).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

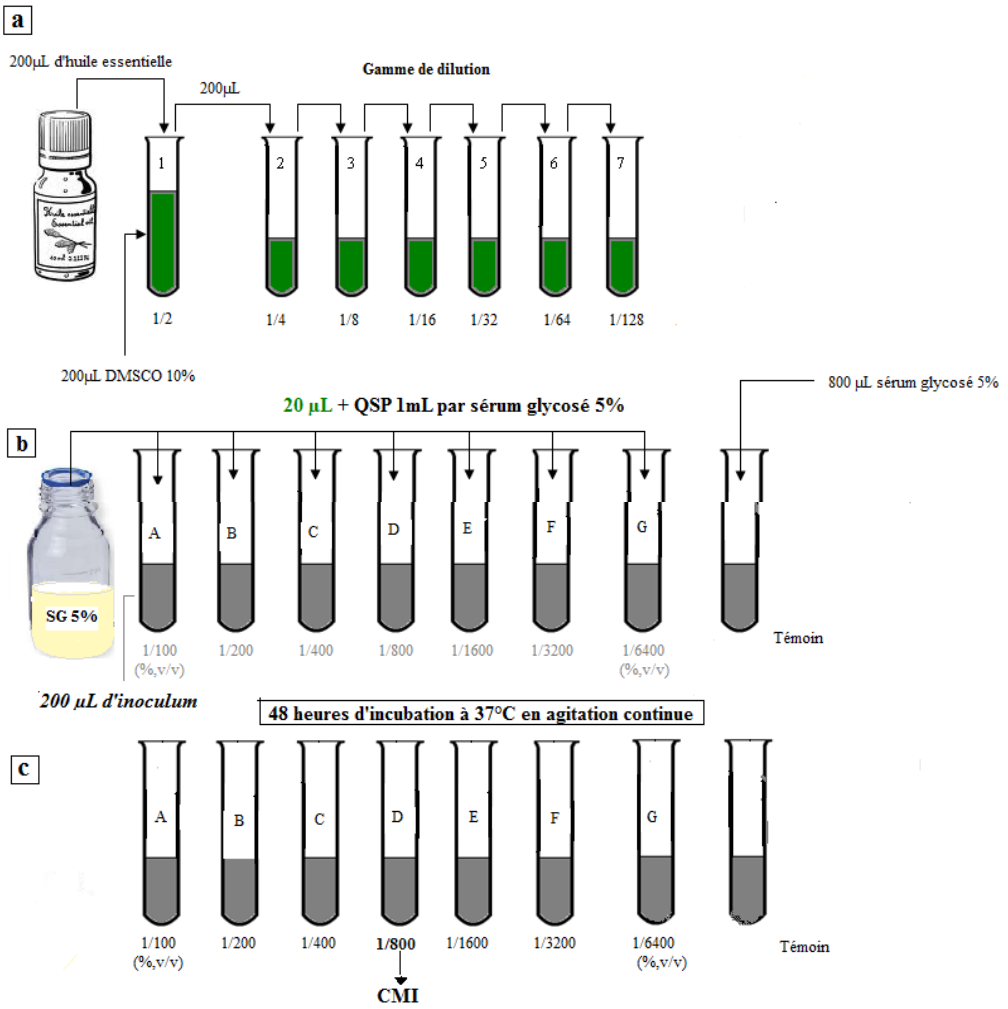

Fig.15: Méthode de préparation de la gamme décroissante des HE pour déterminer la CMI en milieu liquide.

A partir des différents tubes de la gamme, nous prélevons 20µL qu'on rajoute à 200µl d'inoculum fongique, de densité équivalente à 2.10^3 levures.mm^{-3}, distribués dans une série de tubes à hémolyse. Après homogénéisation au Vortex, les tubes sont complétés par la quantité suffisante de sérum glycosé 5% pour avoir un volume final de 1 ml pour chaque tube. Un témoin de la croissance fongique, pour lequel 200 µl de l'inoculum ont été additionnés de 800 µl du sérum glycosé 5%, est également préparé.

L'ensemble des tubes à hémolyse, hermétiquement fermés, sont incubés à 37°C pendant 48 heures sous agitation continue en utilisant l'agitateur à plaques ELISA (Fig.15b).

Après incubation, les tubes sont quantifiés à la cellule de Malassez puis le taux d'inhibition de chaque concentration de la gamme est calculé. La CMI de l'HE testée est alors déterminée comme étant la faible concentration en HE capable d'inhiber à plus de 90% la croissance du champignon étudié (Fig. 15c).

6. Evaluation de l'activité des antifongiques classiques :

Les antifongiques usuels ont été dissous dans le DMSO à 10% afin d'évaluer leur activité antifongique dans les mêmes conditions expérimentales que celles des HE étudiées sur les levures sélectionnées. Pour la forme galénique comprimés et gélules, cas du fluconazole 150 mg et la Terbinafine 250 mg comprimé, les médicaments ont été additionnés, après broyage, à 2 ml de DMSO 10 %. Pour la forme galénique sirop, cas de l'amphotéricine B 10%, 1 ml de ce dernier est additionné à 2 ml de DMSO à 10%. L'étude de l'activité des antifongiques classiques a été faite par la technique de macrométhode en milieu liquide décrite ci-dessus.

7. Analyse statistique des résultats :

L'ensemble des résultats recueillis ont été saisis et analysés au moyen du logiciel SPSS en utilisant le test de Student.

RESULTATS

I. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes aromatiques et médicinales : étude descriptive.

1. Screening des extraits de plantes à activité antifongique :

Trente-sept extraits provenant de 31 PAM marocaines couramment utilisées en médecine traditionnelle ont été évalués pour leur activité antifongique vis-à-vis de *Candida albicans* 5 (tableau III).

Tableau III : Screening des extraits de plantes sur *C. albicans* 5

Extrait	Taux d'inhibition de la pousse de *Candida albicans* 5				
	100-80%	80-60%	60-40%	40-20%	20-0%
Artemisia herba-alba	89,46	-	-	-	-
Artemisia vulgaris	93,82	-	-	-	-
Cedrus atlantica	100	-	-	-	-
Citrus aurantifolia	81,82	-	-	-	-
Citrus aurantium	100	-	-	-	-
Cupressus sempervirens	100	-	-	-	-
Cymbopogon	100	-	-	-	-
Eucalyptus globulus	100	-	-	-	-
Jasminum grandiflorum	96,07	-	-	-	-
Kerkaba (décoction)	-	-	-	-	0
Lavandula dentata	93,33	-	-	-	-
Lavandula dentata (décoction)	-	-	-	-	0
Melaloca alternifolia	100	-	-	-	-
Mentha arvensis L.	100	-	-	-	-
Mentha piperita	100	-	-	-	-
Mentha pulegium	100	-	-	-	-
Myrtus communis	100	-	-	-	-
Nigella sativa	-	-	-	32,92	-
Ocimum basilicum	100	-	-	-	-
Origanum vulgaris	97,50	-	-	-	-
Ormenis mixta (EE)	-	-	-	-	0
Pinus halepensis	95,66	-	-	-	-
Rosa damascena	-	64,89	-	-	-
Rosmarinus officinalis	100	-	-	-	-
Salvia officinalis	100	-	-	-	-
Syzygium aromaticum	100	-	-	-	-
Tetraclinis articulata	95,54				
Tetraclinis articulata (EE)	-	-	-	-	3,72
Thymus leptobotrys	94,09	-	-	-	-
Thymus leptobotrys (EE)	-	-	-	-	0
Thymus pallidus(EE)	-	-	-	-	0
Thymus satureioides (HD)	95,78	-	-	-	-
Thymus satureioides (EV)	100	-	-	-	-
Thymus satureioides (EE)	-	-	-	-	0
VITEX agnus-castus	84,11	-	-	-	-
VITEX agnus-castu (décoction)	-	-	-	-	7,04
Zingiber officinalis	100	-	-	-	-

La majorité des HE était active et a manifesté une puissante activité antifongique. Vingt-sept HE ont eu un taux d'inhibition (TI) supérieur à 80 % (figure 16). Les HE de la rose et de la nigelle ont inhibé la pousse fongique de 64,89% et 32,92% respectivement. Les cinq extraits éthanoliques avec les trois autres obtenus par décoction se sont révélés presque ou totalement inactifs (tableau III).

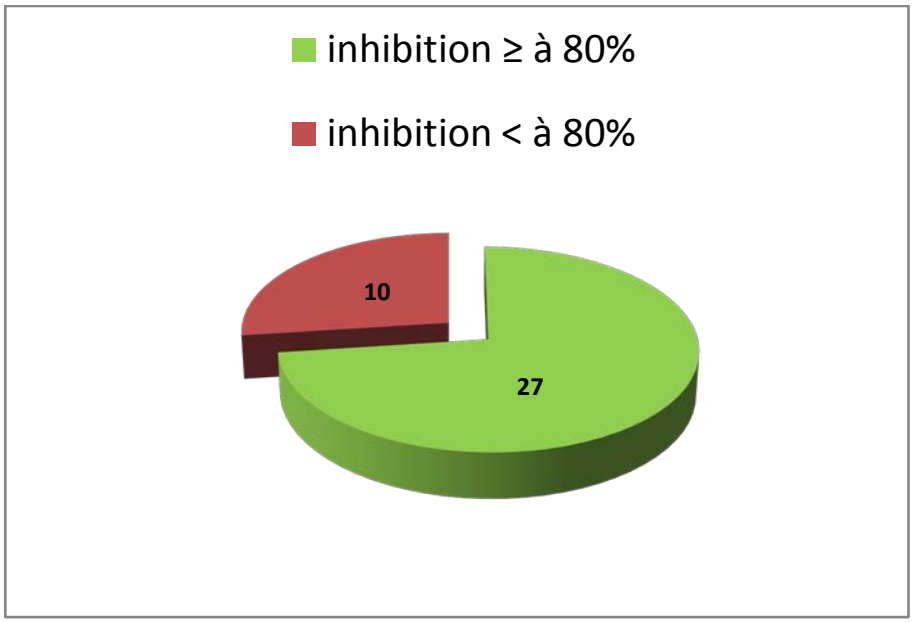

Fig.16 : Activité des extraits de plantes selon le pourcentage d'inhibition
80% : Seuil Limite Arbitraire (SLA) de l'activité antifongique.

2. Activité antifongique des huiles essentielles en présence du DMSO 10% :

Vingt-trois HE, dont le TI est supérieur au seuil limite arbitraire de 80 %, ont été sélectionnées pour réévaluer leurs activités antifongiques sur *C. albicans* 5 en présence d'un émulsionnant. Le DMSO 10 % a été choisi comme émulsionnant. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau IV.

Tableau IV : activité antifongique des HE en présence du DMSO 10%.

Extrait	Taux d'inhibition de la pousse de *Candida albicans* 5				
	100-80%	80-60%	60-40%	40-20%	20-0%
Artemisia herba-alba	100	-	-	-	-
Artemisia vulgaris	100	-	-	-	-
Citrus aurantifolia	100	-	-	-	-
Citrus aurantium	100	-	-	-	-
Cupressus sempervirens	100	-	-	-	-
Cymbopogon	100	-	-	-	-
Eucalyptus globulus	100	-	-	-	-
Lavandula dentata	98,92	-	-	-	-
Melaloca alternifolia	95,04	-	-	-	-
Mentha arvensis L.	96,85	-	-	-	-
Mentha piperita	100	-	-	-	-
Mentha pulegium	100	-	-	-	-
Myrtus communis	100	-	-	-	-
Ocimum basilicum	100	-	-	-	-
Origanum vulgaris	100	-	-	-	-
Pinus halepensis	100	-	-	-	-
Rosmarinus officinalis	96,31	-	-	-	-
Salvia officinalis	100	-	-	-	-
Syzygium aromaticum	93,26	-	-	-	-
Tetraclinis articulata	100				
Thymus leptobotrys	100	-	-	-	-
Thymus satureioides(EV)	100	-	-	-	-
Zingiber officinalis	100	-	-	-	-
DMSO 10%	-	-	-	-	0

Les résultats émanant des tests montrent une augmentation du pouvoir inhibiteur des HE en présence de DMSO 10%. Ce dernier, en concentration utilisée, n'a pas d'effet inhibiteur sur la croissance fongique (tableau IV).

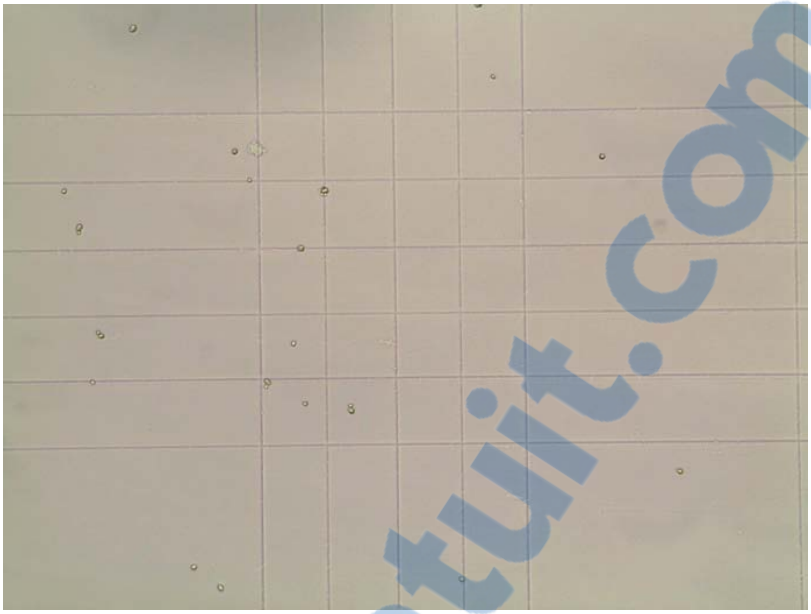

Fig.17: *C. albicans* 5 à T_0 d'incubation sous l'action de l'HE de lavande dentée [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech] (Exemple d'inhibition de la croissance des levures par les HE).

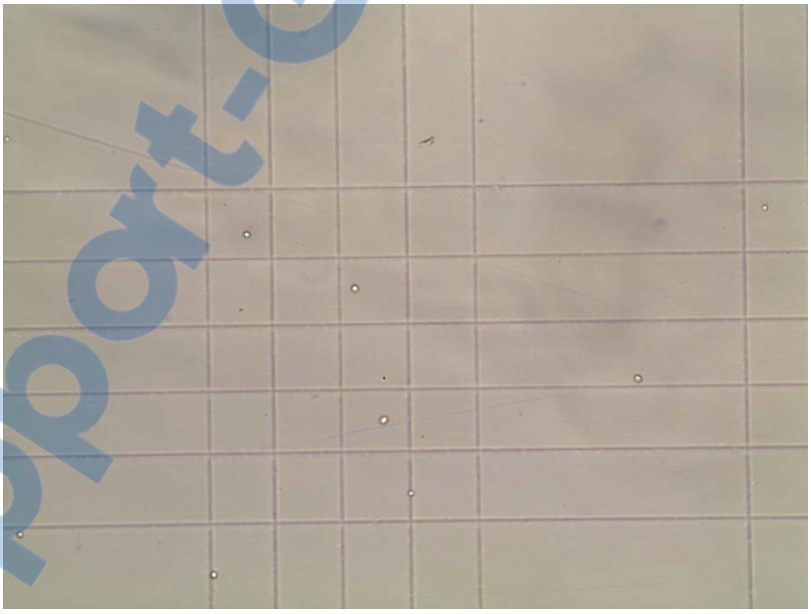

Fig.18: *C. albicans* 5 à T_{48} d'incubation sous l'action de l'HE de lavande dentée [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech] (Exemple d'inhibition de la croissance des levures par les HE).

3. Evaluation de l'activité des antifongiques classiques :

Rapport-Gratuit.com

Les antifongiques classiques, solubilisés dans le DMSO 10%, ont été évalués sur *C. albicans* 5. La terbinafine a manifesté la plus forte activité inhibitrice avec un TI de 100%. L'amphotéricine B a inhibé la pousse de la levure à 89,14 %. Cependant le fluconazole s'est révélé inefficace (figure 19).

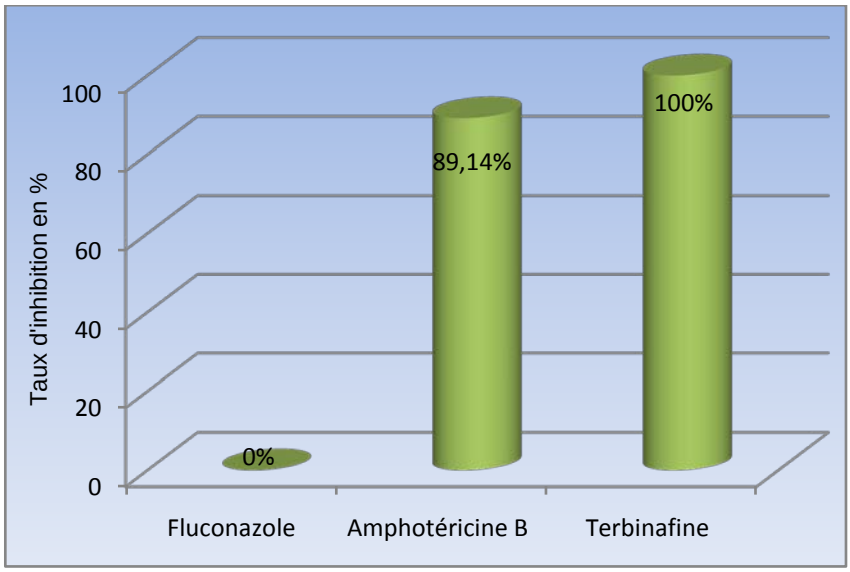

Fig. 19 : Activité des antifongiques classiques sur *Candida albicans* 5.

4. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles sur les autres souches de Candida. Sp :

Vingt-trois EP ont manifesté une puissante activité antifongique à l'encontre de *Candida albicans* 5. Par défaut de volume de nos essences, la menthe pouliot, la Lavande dentée, l'Eucalyptus, l'Origan, le Cyprès, le Gingembre et le Myrte ont été sélectionnés pour évaluer leurs activités antifongiques sur *C. albicans 4*, *C. albicans 11*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *C. dubliniensis*, comparée à l'activité des antifongiques classiques.

4-1 Candida albicans 4 :

La pousse de *C. albicans* 4 a été inhibée à 100% par toutes nos HE sélectionnées. Quant aux antifongiques classiques, le TI était de 100% pour la terbinafine, 71,30% pour l'amphotéricine B et de 0% pour le fluconazole (figure 20).

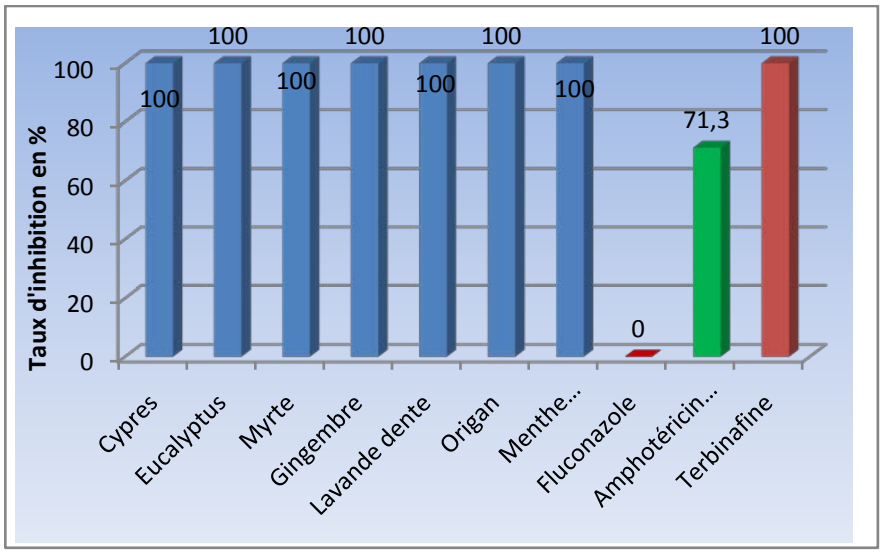

Fig.20 : Activité des HE sélectionnées et des antifongiques classiques sur *C. albicans* 4

4-2 Candida albicans 11 :

Nos HE ont inhibé la croissance de *C. albicans* 11 de plus de 95,57 % (HE d'Origan) sauf pour l'HE du Cyprès qui s'est révélée inefficace sur cette levure. Pour les antifongiques usuels, la terbinafine était active à 100 %, l'amphotéricine B à 88,13 % et le fluconazole était inactif (figure 21).

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

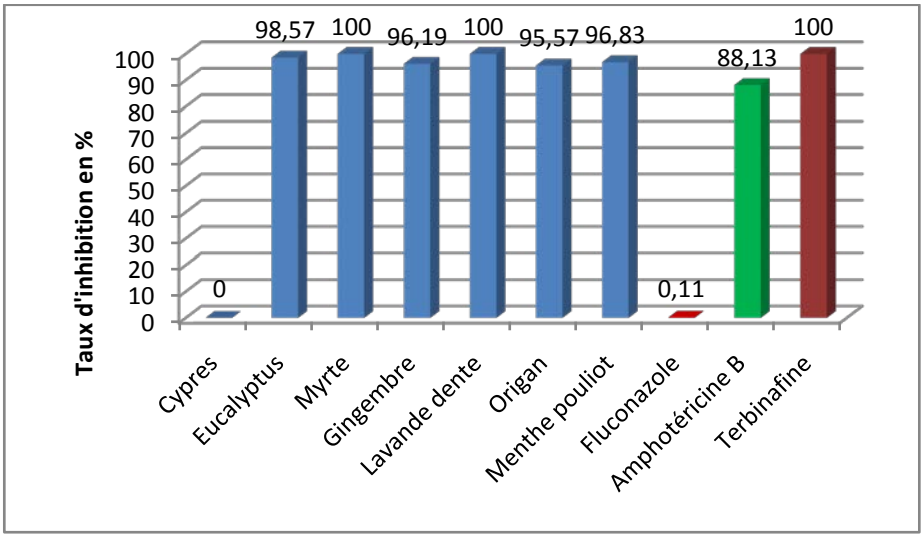

Fig.21 : Activité des HE sélectionnées et des antifongiques classiques sur *C. albicans* 11.

4-3 Candida dubliniensis :

Candida dubliniensis testée dans notre étude était sensible à l'action de toutes nos HE évaluées avec un TI de 100 %. Par contre, elle a résisté à l'action du fluconazole et de l'amphotéricine B. La terbinafine était active à 100 % (figure 22).

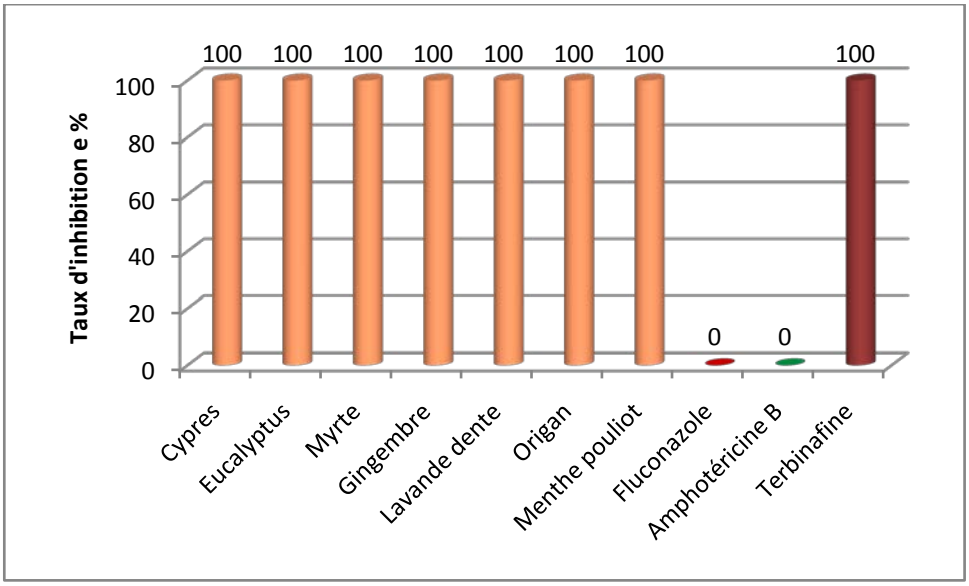

Fig.22 : Activité des HE sélectionnées et des antifongiques classiques sur *C. dubliniensis.*

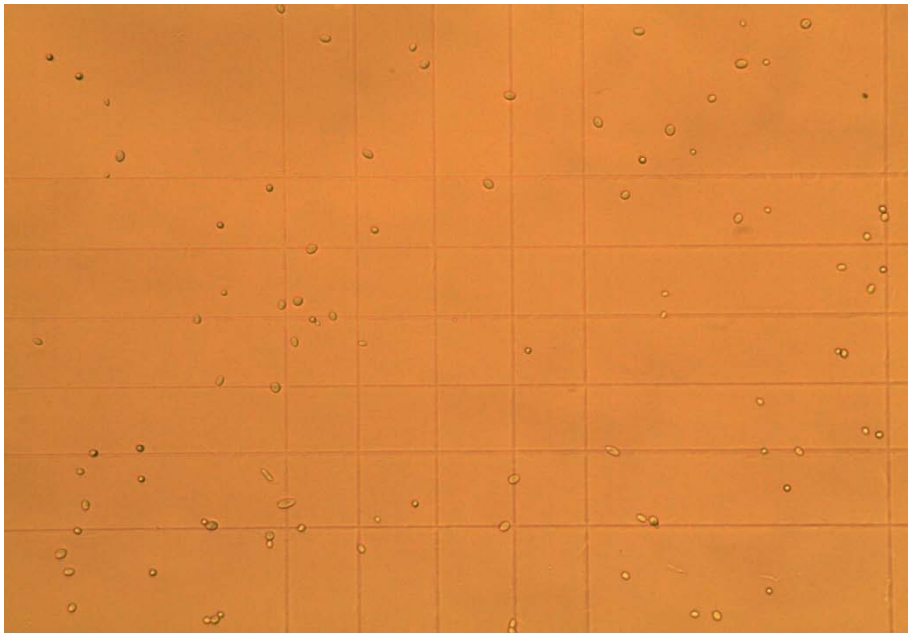

FIG. 23 : *C. dubliniensis* à T_{48} d'incubation dans le tube témoin
[Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech].

4-4 Candida glabrata :

L'activité antifongique des HE sur *C. glabrata* était supérieure à celle des antifongiques classiques avec des TI supérieurs à 97,21 % (HE du cyprès). Les TI des antifongiques étaient de 84,56 %, 52,15 % et 0 % pour la terbinafine, l'amphotéricine B et le fluconazole, respectivement (figure 24).

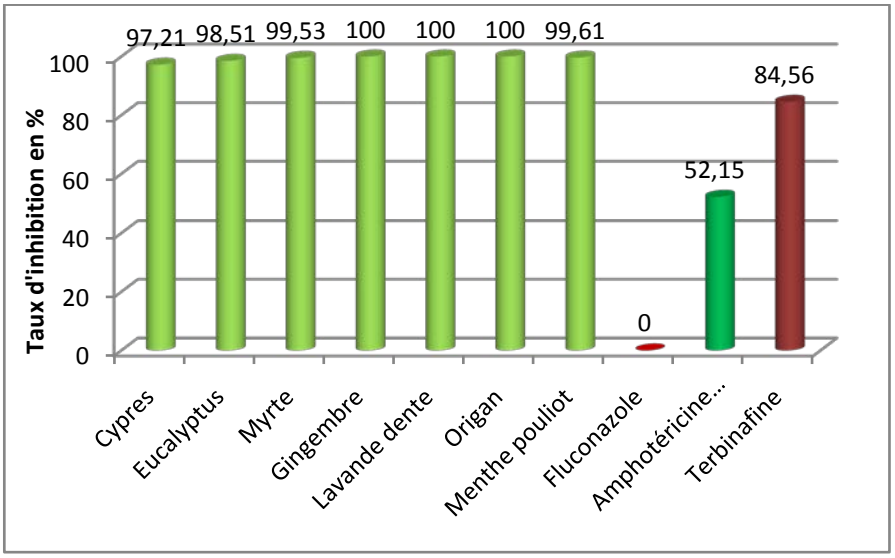

Fig.24 : Activité des HE sélectionnées et des antifongiques classiques sur *C. glabrata.*

4-5 Candida krusei :

Le TI sur *C. krusei* était de 100 % pour toutes les HE évaluées. Le fluconazole, toujours inactifs sur les autres souches, a inhibé de 100 % la pousse de C. krusei. TI pour la terbinafine et l'amphotéricine B était respectivement de 94,76 % et 88,48 % (figure 25).

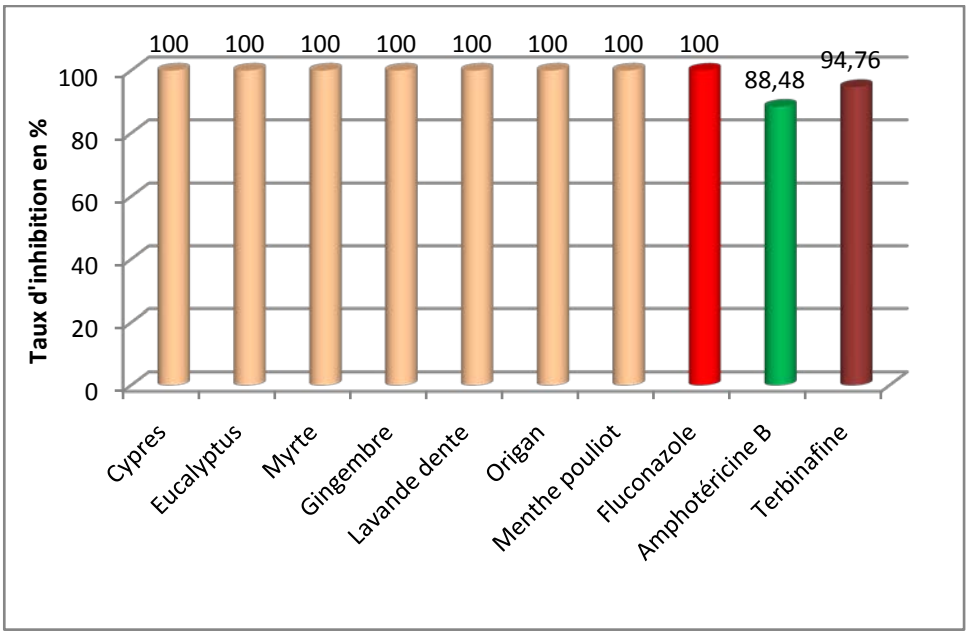

Fig.25 : Activité des HE sélectionnées et des antifongiques classiques sur *C. krusei.*

5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice :

La CMI est définie comme étant la concentration minimale de l'extrait qui inhibe à plus de 90 % la croissance fongique. Elle a été déterminée, par la technique de macrodilution en milieu liquide, pour La Menthe pouliot, la Lavande, le Myrte, l'Eucalyptus, l'Origan et le Gingembre qui ont manifesté une activité antifongique sur les différentes souches levuriques testées, ainsi que pour les antifongiques classiques.

Les résultats relatifs à la croissance des levures étudiées soumises à l'action des différentes concentrations des HE testées sont illustrés dans les tableaux V à XI. Les concentrations sont exprimées en % (v/v) de 10 µl de l'HE pure.

Tableau V. Activité antifongique de l'H.E de la M. pouliot sur les espèces de *Candida.sp* testées

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en H.E (%) v/v			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	36,74	52,49	95,27	98,86
C. albicans 5	35,47	65,97	100	100
C. albicans 11	70,74	100	100	100
C. dubliniensis	0	100	100	100
C. glabrata	40,18	94,33	95,84	100
C. krusei	0	100	100	100

Tableau VI. Activité antifongique de l'H.E de la Lavande dente sur les espèces de Candida.sp testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en H.E (%) v/v			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	0	0	100	100
C. albicans 5	0	68,60	97,09	98,83
C. albicans 11	0	0	100	100
C. dubliniensis	40,45	100	100	100
C. glabrata	0	32,36	100	100
C. krusei	0	0	100	100

Tableau VII. Activité antifongique de l'H.E du Myrte sur les espèces de *Candida.sp* testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en H.E (%) v/v			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	7,94	64,30	100	100
C. albicans 5	44,15	83,40	96,07	100
C. albicans 11	13,94	37,50	100	100
C. dubliniensis	58,42	81,22	100	100
C. glabrata	0	83,33	100	100
C. krusei	38,46	67,78	100	100

Tableau VIII. Activité antifongique de l'H.E d'Eucalyptus sur les espèces de *Candida.sp* testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en H.E (%)			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	2,38	4,49	82,16	93,96
C. albicans 5	0	0	22,36	100
C. albicans 11	0	0	100	100
C. dubliniensis	0	0	0	100
C. glabrata	7,76	54,32	100	100
C. krusei	34,30	69,34	100	100

Tableau XII. Activité antifongique d'Origan sur les espèces de *Candida.sp* testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en HE (%)					
	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	–	–	33,63	98,35	100	100
C. albicans 5	–	–	13,64	81,88	98,01	99,87
C. albicans 11	–	–	52,55	91,71	100	100
C. dubliniensis	–	–	4,02	100	100	100
C. glabrata	–	–	72,03	100	100	100
C. krusei	18,32	69,19	100	100	100	100

Tableau X. Activité antifongique de l'H.E du Gingembre sur les espèces de Candida.sp testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en H.E (%)			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	1,31	34,43	100	100
C. albicans 5	28,93	0	100	100
C. albicans 11	8,95	82,08	100	100
C. dubliniensis	0	0	100	100
C. glabrata	18,18	100	100	100
C. krusei	64,22	100	100	100

Tableau XI. Les valeurs des CMIs* en % (v/v) de chaque HE sur les différentes espèces de *Candida.sp.*

Espèces	Origan	Gingembre	Myrte	Eucalyptus	Lavande	M. pouliot
C. albicans 4	0,25	0,5	0,5	1	0,5	0,5
C. albicans 5	0,5	0,5	0,5	1	0,5	0,5
C. albicans 11	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25
C. dubliniensis	0,25	0,5	0,5	1	0,25	0,25
C. glabrata	0,25	0,25	0,5	0,5	0,5	0,25
C. krusei	0,125	0,25	0,5	0,5	0,5	0,25

* : concentrations minimales inhibitrices.

Dans l'ensemble, les six HE testées (Origan, Gingembre, Myrte, Eucalyptus, Lavande et Menthe pouliot) présentent des activités antifongiques sur toutes les souches de *Candida.sp* testées à des concentrations allant de 0,125 à 1 % (v/v) (Tableau XI). La plus faible CMI a été obtenue avec l'HE d'Origan sur *C. krusei* (0,125 %(v/v)), tandis que la plus haute CMI a été obtenue par l'HE d'Eucalyptus sur *C. albicans 4, C. albicans 5* et *C. dubliniensis* avec une concentration de 1 % (v/v). Ainsi, selon l'efficacité des HE testées, celle d'Origan est toujours de loin la plus efficace contre les *Candida.sp* alors que l'HE d'Eucalyptus reste la moins efficace. Quant à leur sensibilité, les souches de *Candida.sp* étudiées peuvent être classées selon l'ordre décroissant suivant : *C. krusei* > *C. glabrata* > *C. albicans 11*> *C. dubliniensis* > *C. albicans* 4 > *C. albicans* 5.

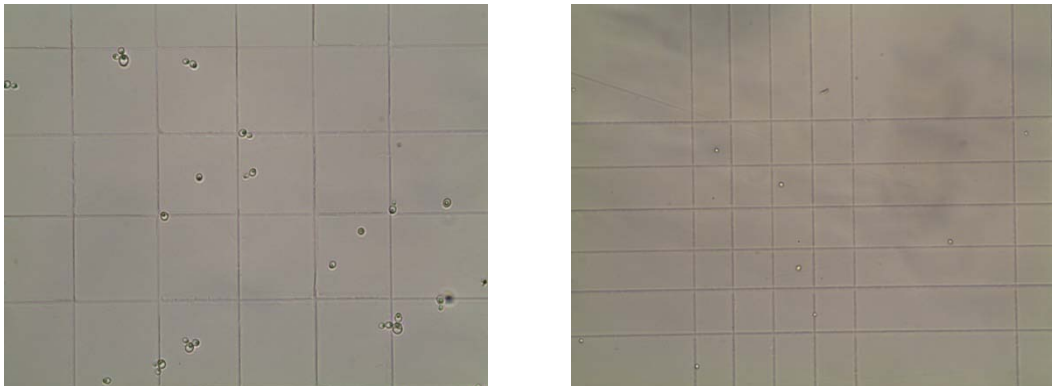

Fig.26: *C. glabrata* à T_0 d'incubation (à gauche) et à T48 d'incubation sous l'action de l'HE du Gingembre à la concentration de 1% (v/v) (à droite) [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

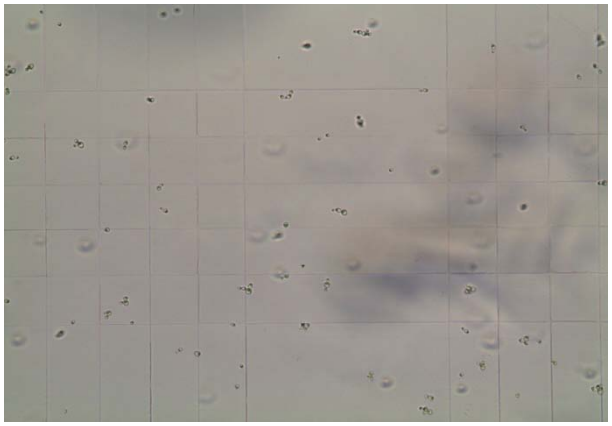

Fig.27: *C. glabrata* à T_{48} d'incubation sous l'action de l'HE du Gingembre à la concentration de 0.125 % (v/v) [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

FIG. 28: *C. krusei* à T_{48} d'incubation sous l'action de l'HE d'origan à la concentration de 0.125 % (v/v) [Photo du laboratoire de Parasitologie-Mycologie médicale de l'HMA de Marrakech]

Les résultats relatifs à la croissance des levures étudiées soumises à l'action des différentes concentrations des antifongiques classiques sont illustrés dans le tableau XII à XV.

Tableau XIV. Activité antifongique de la terbinafine sur les espèces de *Candida.sp* testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en terbinafine (%)						
	0,015	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	0	0	0	93,32	96,86	100	100
C. albicans 5	45,91	50,51	74,48	100	96,69	100	100
C. albicans 11	68,40	89,54	99,28	100	100	100	100
C. dubliniensis	88,88	100	100	93,49	100	100	100
C. glabrata	71,42	100	100	94,52	93,28	97,17	100
C. krusei	53,09	78,76	99,55	90,70	100	100	100

Tableau XII. Activité antifongique du fluconazole sur les espèces de *Candida.sp* testées

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en fluconazole (%)			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	0	0	10,36	31,47
C. albicans 5	0	0	0	0
C. albicans 11	0	0	0	0
C. dubliniensis	0	0	0	0
C. glabrata	0	0	0	0
C. krusei	0	0	0	100

Tableau XIII. Activité antifongique de l'amphotéricine B sur les espèces de *Candida.sp* testées.

Candida.sp testés	Taux d'inhibition de la croissance fongique Concentration en amphotéricine B (%)			
	0,125	0,25	0,5	1
C. albicans 4	0	66,75	95,49	91,17
C. albicans 5	0	0	81,33	93,77
C. albicans 11	16,39	75,20	87,70	88,11
C. dubliniensis	0	0	0	0
C. glabrata	0	0	0	50
C. krusei	21,82	54,36	69,04	97,22

Rapport-Gratuit.com

Tableau XV. Les valeurs des CMI* en % (v/v) des antifongiques classiques sur les différentes espèces de *Candida.sp.*

Espèces	Fluconazole	Amphotéricine B	Terbinafine
C. albicans 4	-	0,5	0,125
C. albicans 5	-	1	0,125
C. albicans 11	-	-	0,062
C. dubliniensis	-	-	0,031
C. glabrata	-	-	0,031
C. krusei	1	1	0,062

La terbinafine s'est révélée la plus active sur toutes les souches de levures avec des CMI inférieures à celles obtenues avec les HE. Les CMI étaient évaluées à 0.125% (v/v) contre *C. albicans* 4 et *C. albicans* 5, à 0.062% (v/v) contre *C. albicans* 11 et *C. krusei*, et à 0.031% (v/v) contre *C. dubliniensis* et *C. glabrata*. La CMI du fluconazole, actif uniquement sur *C. krusei*, était à 1% v/v. Pour l'amphotéricine B, elle a inhibé la croissance de *C. albicans* 5, *C. albicans* 4 et *C. krusei* à une CMI respectivement de 1, 0.5 et 1% (v/v).

II. Evaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes aromatiques et médicinales : Etude analytique :

L'effet des HE de : Menthe pouliot, Lavande dentée, Myrte, Eucalyptus, Origan, et Gingembre sur les souches de *C. albicans* et *non albicans* est très important par rapport à celui du fluconazole et de l'amphotéricine B ($p<0,05$). En revanche, il n'y avait pas de différence significative par rapport à l'effet de la terbinafine ($p>0,05$) (tableau XVI et XVIII).

L'analyse comparative de l'effet des extraits sur les souches de *Candida albicans* et *non albicans* n'a pas objectivé de différence significative ($p<0,05$) (tableau XVII et XIX).

Tableau XVI: Etude analytique des taux d'inhibition des extraits de plantes et des antifongiques classiques sur les souches de Candida albicans.

	Menthe	Lavande	Myrte	Eucalyptus	Origan	Gingembre
Moyenne ±écart-type Max Min	98,94 ±2,59 100 93,65	99,64 ±0,87 100 97,85	100 ±0 100 100	99,52 ±1,17 100 97,13	98,52 ±3,62 100 91,13	98,73 ±3,11 100 92,38
Fluconazole						
Moyenne ±écart-type Max Min	0,036 ±0,08 0,22 0	0,036 ±0,08 0,22 0	0,036 ±0,08 0,22 0	0,036 ±0,08 0,22 0	0,036 ±0,08 0,22 0	0,036 ±0,08 0,22 0
Comparaison statistique	**P= 0 ,000** Test de Student	**P= 0,000** Test de Student	**P= 0,000** Test de Student	**P= 0,000** Test de Student	**P= 0,000** Test de Student	**P= 0,000** Test de Student
Terbinafine						
Moyenne ±écart-type Max Min	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100
Comparaison statistique	**P= 0,341** Test de Student	**P= 0,341** Test de Student	**P= 1** Test de Student	**P= 0,341** Test de Student	**P= 0,341** Test de Student	**P= 0,341** Test de Student
Amphotéricine B						
Moyenne± écart-type Max Min	82,85 ±10,43 94,83 67,66	82,85 ±10,43 94,83 67,66	82,85 ±10,43 94,83 67,66	82,85 ±10,43 94,83 67,66	82,85 ±10,43 94,83 67,66	82,85 ±10,43 94,83 67,66
Comparaison statistique	**P= 0,004** Test de Student	**P= 0,003** Test de Student	**P= 0,002** Test de Student	**P= 0,003** Test de Student	**P= 0,006** Test de Student	**P= 0,005** Test de Student

Tableau XVII : Analyse comparative de l'effet des extraits sur *Candida albicans*:

	Lavande	Myrte	Eucalyptus	Origan	Gingembre
Menthe	P=0,54	P=0,34	P=0,62	P=0,82	P=0,90
Lavande	_	P=0,34	P=0,34	P=0,47	P=0,50
Myrte	_	_	p=0,34	P=0,34	P=0,34
Eucalyptus	_	_	_	P=0,53	P=0,57
Origan	_	_	_	_	P=0,91
Test utilisé	Test de Student				

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau XVIII : Etude analytique des taux d'inhibition des extraits de plantes et des antifongiques classiques sur les souches de *Candida non albicans*

	Menthe	Lavande	Myrte	Eucalyptus	Origan	Gingembre
Moyenne ±écart-type Max Min	99,86 ±0,32 100 99,21	100 ±0 100 100	99,84 ±0,38 100 99,05	99,50 ±1,21 100 97,02	100 ±0 100 100	100 ±0 100 100
Fluconazole						
Moyenne ±écart-type Max Min	33,33 ±51,63 100 0	33,33 ±51,63 100 0	33,33 ±51,63 100 0	33,33 ±51,63 100 0	33,33 ±51,63 100 0	33,33 ±51,63 100 0
Comparaison statistique	**0,01** Test de Student	**P=0,01** Test de Student	**P=0,01** Test de Student	**P=0,01** Test de Student	**P=0,01** Test de Student	**P=0,01** Test de Student
Terbinafine						
Moyenne ±écart-type Max Min	93,10 ±7,81 100 83,13	93,10 ±7,81 100 83,13	93,10 ±7,81 100 83,13	93,10 ±7,81 100 83,13	93,10 ±7,81 100 83,13	93,10 ±7,81 100 83,13
Comparaison statistique	**P=0,06** Test de Student	**P=0,056** Test de Student	**P=0,061** Test de Student	**P=0,076** Test de Student	**P=0,056** Test de Student	**P=0,056** Test de Student
Amphotéricine B						
Moyenne ±écart-type Max Min	46,87 ±40,18 100 51,38	46,87 ±40,18 100 51,38	46,87 ±40,18 100 51,38	46,87 ±40,18 100 51,38	46,87 ±40,18 100 51,38	46,87 ±40,18 100 51,38
Comparaison statistique	**P=0,009** Test de Student	**P=0,009** Test de Student	**P=0,009** Test de Student	**P=0,009** Test de Student	**P=0,009** Test de Student	**P=0,009** Test de Student

Tableau XIX : Analyse comparative de l'effet des extraits sur *Candida* non *albicans*:

	Lavande	Myrte	Eucalyptus	Origan	Gingembre
Menthe	P=0,34	P=0,90	P=0,49	P=0,34	P=0,34
Lavande	_	P=0,34	P=0,34	P=1	P=1
Myrte	_	_	p=0,53	P=0,34	P=0,34
Eucalyptus	_	_	_	P=0,34	P=0,34
Origan	_	_	_	_	P=1
Test utilisé	Test de Student				

DISCUSSION

I. Généralités sur les huiles essentielles :

Les HE ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des Hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des HE remonte à fort longtemps puisque l'Homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes. La vapeur dégagée entrainait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'HE [19]. Au fil des siècles, l'extraction et l'usage des principes odorants des plantes sont développés, notamment par les civilisations arabe et égyptienne, qui leurs attribuent avant tout un usage religieux [20]. Puis progressivement, les HE se font connaitre pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles. En guise d'exemple, à l'époque des grandes épidémies dans la Grèce Antique, les principes odorants de certaines plantes aromatiques étaient répandus par fumigation dans les rues des villes pour combattre la propagation des maladies infectieuses. La fumigation des personnes malades est en effet l'une des plus anciennes techniques thérapeutiques [21]. Plus tard en France, il a été remarqué que les ouvriers parfumeurs et tanneurs, qui étaient en contact quotidiennement avec des HE, résistaient de manière quasi absolue aux épidémies de toutes sortes [22].

De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des HE et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. Le thymol, par exemple, est employé en soins dentaires pour ses propriétés antiseptiques ou encore l'eugénol pour ses propriétés analgésiques [23]. Pour tenter de trouver de nouveaux remèdes aux fléaux actuels, la communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des HE, car un nombre non négligeable de composés volatils, tels que les sesquiterpènes, ont montré des activités pharmacologiques remarquables contre les maladies comme le cancer [24]. Les HE constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives.

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. Il existe divers procédés dont deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation à la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leur organes et celui par expression des fruits des hespéridés ». Cette définition a été valable jusqu'à la huitième édition de la pharmacopée (1965) puisque les éditions suivantes ne référent plus qu'au terme d'HE.

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 entrainement 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'entrainant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, …]

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…). Il s'agit de structures histologiques sécrétrices spécialisées qui diffèrent selon l'organe végétal considéré et qui sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. Ces structures sont également impliquées dans le stockage de ces huiles.

Le rôle exact que jouent les HE dans la physiologie de la plante productrice reste encore mal connu. Il a été démontré qu'elles ont un effet attractif envers les animaux qui servent à la pollinisation [25] et à la dispersion des graines, un effet répulsif contre les herbivores [26], un effet allélopathique [27] et servent également de moyen de défense contre les organismes phytopathogènes.

De point de vue physico-chimique, une HE 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.

La 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. Cependant, cette complexité de la composition chimique des HE suscite plusieurs remarques:

- parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement, on l'appelle composé majoritaire.
- à 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.

Le chémotype définit la molécule aromatique révélatrice des principales propriétés thérapeutiques de l'HE. Une plante de même variété botanique peut produire des HE de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat et aussi bien au cours de l'extraction et durant la conservation (exemple de Thyms à thymol, à géraniol, à

carvacrol, à linalol, etc.). Une HE peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes; Ce qui explique la polyvalence d'action des HE.

On effectue une chromatographie en phase gazeuse liée à une spectrométrie de masse pour identifier et quantifier chacune de ces molécules et connaître ainsi la composition précise des HE.

II. Aperçus sur les candidoses :

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine [1]. Elles sont dues à des levures du genre *Candida*, responsables d'atteintes superficielles et profondes [28]. 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 [8]. L'espèce majoritaire est *C. albicans* qui est un commensal du tube digestif. Les autres espèces de *Candida* sont cependant de plus en plus souvent identifiées comme *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* [28].

Les candidoses sont favorisées par des facteurs locaux et/ ou généraux. Les principaux déséquilibres cutanés et muqueux facilitant la prolifération locale des *Candida* sont: l'humidité et la macération (Exemple: grands plis des obèses, port de bottes et de vêtements trop serrés), les microtraumatismes, microplaies et irritations locales (Exemple: appareils dentaires), l'hyperacidité (buccale, vaginale). Les facteurs généraux favorisant les candidoses sont ceux classiquement impliqués dans le déterminisme des mycoses. Ainsi, les cancers et les hémopathies, la maladie de Hodgkin, la tuberculose, les polytraumatismes, les interventions chirurgicales lourdes, l'héroïnomanie, les endocrinopathies (en particulier le diabète), l'antibiothérapie au long cours, les traitements immunodépresseurs (corticoïdes, immunosuppresseurs prescrits lors des greffes d'organes et de moelle osseuse) et le SIDA, tiennent une place particulière dans la genèse des candidoses.

La multiplication récente de ces terrains favorisant se traduit par le maintien

d'espèces classiquement reconnues en pathologie humaine (Exemple: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*) et par l'émergence d'espèces saprobiontiques habituelles, soit des muqueuses et sélectionnées par les imidazolés auxquels elles sont peu ou non sensibles (Ex : *C. krusei*, *C. glabrata*), soit de la peau, des fruits, légumes et céréales, ou des produits laitiers (Ex : *C. guilliermondi*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*) [29]. Il est difficile de donner l'ensemble des particularités des différentes espèces de *candida* (Tableau XX). Durant leur adaptation au commensalisme, certaines espèces se sont spécialisées pour certains sites anatomiques. Ainsi, *C. albicans* est un saprophyte des muqueuses digestives et génitales, et ne se trouve que rarement sur une peau saine. À l'inverse, *C. parapsilosis* est une levure fréquente de la peau mais non du tube digestif, et expose au risque de contaminations manuportées. *C. glabrata* a une écologie proche de celle de *C. albicans*. De nombreuses espèces vivent dans le milieu extérieur et peuvent se retrouver accidentellement dans le tube digestif suite à leur ingestion et être exceptionnellement responsables d'une infection (*exemple: C. guilliermondii*) [8].

Tableau XX: Tableau récapitulatif de différentes caractéristiques des espèces de *Candida* étudiées dans notre étude [30].

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

Sur le plan clinique, 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 [8].

1. Candidoses cutanées :

Très communes [31], elles 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'aspect, cliniquement évocateur, est celui d'un érythème suintant, lisse, prurigineux, parfois douloureux, débutant au fond du pli puis s'étendant. Les bords sont irréguliers avec des papules ou pustules satellites. Le fond du pli est parfois recouvert d'un enduit blanchâtre. L'intertrigo peut siéger aux plis inguinaux, interfessiers, abdominaux, sous-mammaires, axillaires, du cou [8].

2. 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. Elle se traduit par une tuméfaction tendue, érythémateuse parfois, douloureuse, entourant la tablette unguéale. La pression de l'œdème fait sourdre une sérosité, voire du pus. L'atteinte de l'ongle est secondaire; des dépressions transversales de son bord apparaissent au fur et à mesure des poussées évolutives. L'évolution peut aboutir à Une onychodystrophie totale.

L'onycholyse distale à *Candida.sp* ne s'observe qu'aux mains [30]. Il y a un décollement de la tablette unguéale; l'hyperkératose distale est discrète, jaune verdâtre; la surinfection

Rapport-Gratuit.com

bactérienne est responsable des dyschromies [8].

3. Candidoses oropharyngées :

Il existe plusieurs formes cliniques de candidose oropharyngée. La forme pseudomembraneuse ou « muguet » est la plus classique, en particulier chez le sujet infecté par le VIH. Elle débute par un érythème de la muqueuse. En quelques jours apparaissent des granulations blanchâtres qui vont confluer, donnant des membranes blanc jaunâtre. Les signes fonctionnels sont une sécheresse, une sensation de goût métallique et de cuisson de la bouche. Il existe des candidoses buccales érythémateuses pures, aussi répandues que le muguet. Dans la candidose hyperplasique, on observe des plaques irrégulières blanchâtres de la langue ou de la muqueuse jugale. Les plaques sont adhérentes, difficilement détachables. Cette forme s'observe plus volontiers chez les fumeurs. Il existerait un risque de transformation maligne de ce type de lésion. Les langues noires villeuses ne sont pas des candidoses, mais il peut y avoir surinfection par des levures appartenant à différentes espèces. La chéilite angulaire ou perlèche accompagne volontiers les candidoses oropharyngées. Elle correspond à une inflammation de la commissure labiale qui est érythémateuse, fissurée, squameuse ou croûteuse [8].

4. Candidoses génitales :

La candidose vulvovaginale (CVV) est l'une de plus fréquentes infections gynécologiques de la femme en période d'activité génitale [32]. Les symptômes majeurs de la CVV sont un prurit et des brûlures vulvaires. Les leucorrhées sont d'abondance variable, classiquement blanchâtres, « caillebotées ». Un examen direct doit être systématiquement pratiqué; une culture s'impose en cas de récidive. Ces dernières années, on a noté une importance croissante de CVV dus à des *Candida* non *albicans*: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* [8].

Pour une meilleure prise en charge thérapeutique des CVV, il a été proposé de distinguer les CVV simples des CVV compliquées. Les premières représentent environ 90 % des cas. Elles se

caractérisent par un caractère sporadique, une symptomatologie discrète ou modérée, la responsabilité de *C. albicans* et la survenue chez une femme sans terrain sous-jacent. Les secondes incluent au moins une des situations suivantes : symptomatologie sévère ; CVV récidivante ; responsabilité d'un *Candida* non *albicans* ; terrain anormal comme par exemple un diabète. Une CVV récidivante se définit par la survenue d'au moins quatre épisodes prouvés de CVV pendant une période de 12 mois.

5. Candidoses digestives :

L'œsophage est la localisation la plus commune des candidoses digestives [33] et les *Candida.sp* représentent la première cause d'œsophagite. *C. albicans* est là encore la principale espèce incriminée. L'œsophagite 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, l'odynophagie et les douleurs rétrosternales. Chez le sidéen, il faut noter la fréquence des formes asymptomatiques. Le diagnostic repose sur l'endoscopie; elle n'est pas indispensable si l'on est en présence d'une symptomatologie évocatrice avec présence de candidoses oropharyngées. L'aspect le plus évocateur est celui de plaques blanc jaunâtre reposant sur une muqueuse érythémateuse plus ou moins ulcérée [8].

6. 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 [8]. La mortalité reste élevée entre 40 à 60% [34]. La symptomatologie est non spécifique. Une fièvre est observée dans environ 80 % des cas et une leucocytose dans 50 % [35]. Les défaillances des examens

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

biologiques peuvent retarder le diagnostic, les hémocultures ne sont positives que dans 50 % des cas et il n'existe pas de méthode sérologique fiable utilisable en routine.

Le diagnostic biologique des candidoses repose d'abord sur un examen direct des produits biologiques, qui vise à mettre en évidence la présence de blastospores ou de formes mycéliennes de *Candida.sp*. La valeur de cet examen varie en fonction du type de prélèvement, et le caractère pathogène de la levure ne pourra être affirmé qu'après confrontation des résultats au contexte clinique. Parallèlement, une mise en culture sur milieu(x) spécifique(s) sera réalisée, permettant d'isoler le micro-organisme. Dans un second temps, il conviendra d'identifier précisément l'(les) espèce(s) de *Candida* en cause, en faisant appel aux techniques conventionnelles (tests biochimiques et immunologiques) ou aux nouvelles technologies (biologie moléculaire et protéomique). L'étude de la sensibilité aux antifongiques ne sera envisagée que dans certaines circonstances (infections profondes ou récidivantes, exposition préalable aux antifongiques azolés). En l'absence de prélèvement(s) profond(s) disponible(s), les techniques indirectes (recherche d'anticorps, d'antigènes ou d'acides nucléiques) seront d'une aide précieuse au diagnostic de candidose profonde [1].

Sur le plan thérapeutique, les candidoses bénéficie actuellement de nombreux antifongiques actifs et efficaces [36]. Malgré cela, le problème des résistances de plus en plus nombreuses à un ou plusieurs antifongiques persiste encore. Par ailleurs, le problème des récidives n'est pas résolu et on sait qu'il n'y a pas d'immunité vis-à-vis des champignons, mais plutôt un terrain favorable aux mycoses. Ce problème des mycoses à répétition a été soulevé et il semble plus s'agir d'une absence d'éradication du germe que d'une infestation [2].

Le traitement antifongique, quelle que soit la gravité des candidoses, ne se conçoit qu'en prenant en compte les facteurs de risque, locaux et généraux, et leur traitement. La suppression des facteurs locaux a un rôle majeur dans les atteintes cutanées. L'ablation de matériel étranger est souvent un prérequis pour la stérilisation des foyers lors des candidoses profondes. Il ne faut pas non plus oublier l'intérêt de la chirurgie qui doit être discutée dans certaines localisations [8].

Historiquement, parmi les plus anciens antifongiques, rappelons l'existence de l'iode (1903), qui n'est plus utilisé dans le traitement des mycoses superficielles, des produits soufrés (pyrithione, tolnaftate, sulfure de sélénium) et des acides organiques (benzoïque, salicylique, undécylinique) encore employés aujourd'hui. A partir des années 50, les nouveaux antifongiques ont révolutionné le traitement des mycoses. Ces produits se repartissent en 2 catégories : les antifongiques d'origine naturelle et les antifongiques de synthèse. Les antifongiques naturels appartiennent à deux familles, les polyènes et les benzohydrofuranes [37].

Les indications des traitements antifongiques sont modulées en fonction de l'agent pathogène et de l'état immunitaire du patient, mais également en fonction de la localisation et de l'étendue des lésions [38]. Le traitement repose pour les formes localisées sur l'éradication des facteurs favorisants et les topiques locaux d'antifongiques. Ce n'est que lors de récidives dûment authentifiées que des traitements systémiques peuvent se justifier. Pour les formes disséminées, un traitement antifongique systémique est indispensable [8].

- **Candidoses cutanées [8]:** Antifongiques locaux (imidazolés, amphotéricine B, cyclopiroxolamine) pendant 2 à 4 semaines. La forme galénique est choisie en fonction des localisations, du caractère humide ou sec des lésions. Dans certains cas, sur des terrains fragilisés et devant des lésions étendues, un traitement systémique peut se justifier.
- **Onychomycose à *Candida.sp* [8]:** application de topiques antifongiques (imidazolé, ciclopirox), six à huit applications par jour, ou de solutions filmogènes une ou deux fois par semaine jusqu'à la repousse saine de l'ongle. En cas de périonyxis, il faut associer au traitement précédent un traitement local associant un antiseptique. En cas d'échec thérapeutique (2 mois) ou d'atteinte de plusieurs ongles avec périonyxis important, un traitement par voie orale est ajouté.
- **Candidoses oropharyngées [8]:** antifongiques locaux (nystatine en suspension, amphotéricine B suspension ou miconazole suspension buvable) gardés en contact 2 à 3 minutes avant d'être avalés. La durée du traitement est de 10 à 15 jours dans les

formes aiguës et de 3 semaines dans les formes chroniques. Une perlèche est traitée par désinfection du versant cutané et gel antifongique appliqué sur les deux versants pendant 15 jours. Chez l'immunodéprimé, le traitement local est d'abord tenté. En cas de mauvaise observance, d'échec du traitement local, de forme étendue, on utilise le fluconazole à la posologie de 100 à 200 mg/j, en comprimé ou en solution, pendant 5 à 10 jours. En cas de candidoses réfractaires au fluconazole, on peut essayer l'itraconazole en solution (> 200 mg/j) qui est efficace dans deux tiers des cas.

- **Candidoses œsophagiennes [8]**: fluconazole 100 mg/j pendant 2 à 3 semaines [34]. D'autres antifongiques peuvent être utilisés si l'amélioration n'est que transitoire, tel le voriconazole 200 mg en deux prises par jour. L'amphotéricine B est réservée aux cas sévères ou à ceux résistants aux azolés.
- **Candidoses génitales [8]**: Un premier épisode de CVV relève d'un traitement local. Un azolé ovule ou capsule le soir au fond du vagin pendant 3 jours associée à un savon alcalin et un azolé sous forme de crème, émulsion fluide ou lait pendant 2 à 4 semaines. En cas de candidose vaginale récidivante, on traite l'épisode aigu comme précédemment avec un ovule à trois reprises à 3 jours d'intervalle à partir du 19éme ou 20éme jour du cycle, et ceci sur 4 à 6 mois ou fluconazole 150 mg, contre-indiqué chez la femme enceinte, en une prise hebdomadaire pendant six mois [39].
- **Candidémie et candidoses systémiques** : Le consensus international est de traiter toute candidémie, même isolée [40, 41, 42]. La stratégie retenue par la conférence de consensus sur la prise en charge des infections fongiques se base sur la présence ou non d'une insuffisance rénale, d'une neutropénie et d'un traitement antérieur ou non par un azolé, et distingue la période après isolement mais avant identification et quand la levure est dûment identifiée [43]. (Figure 29 et 30).

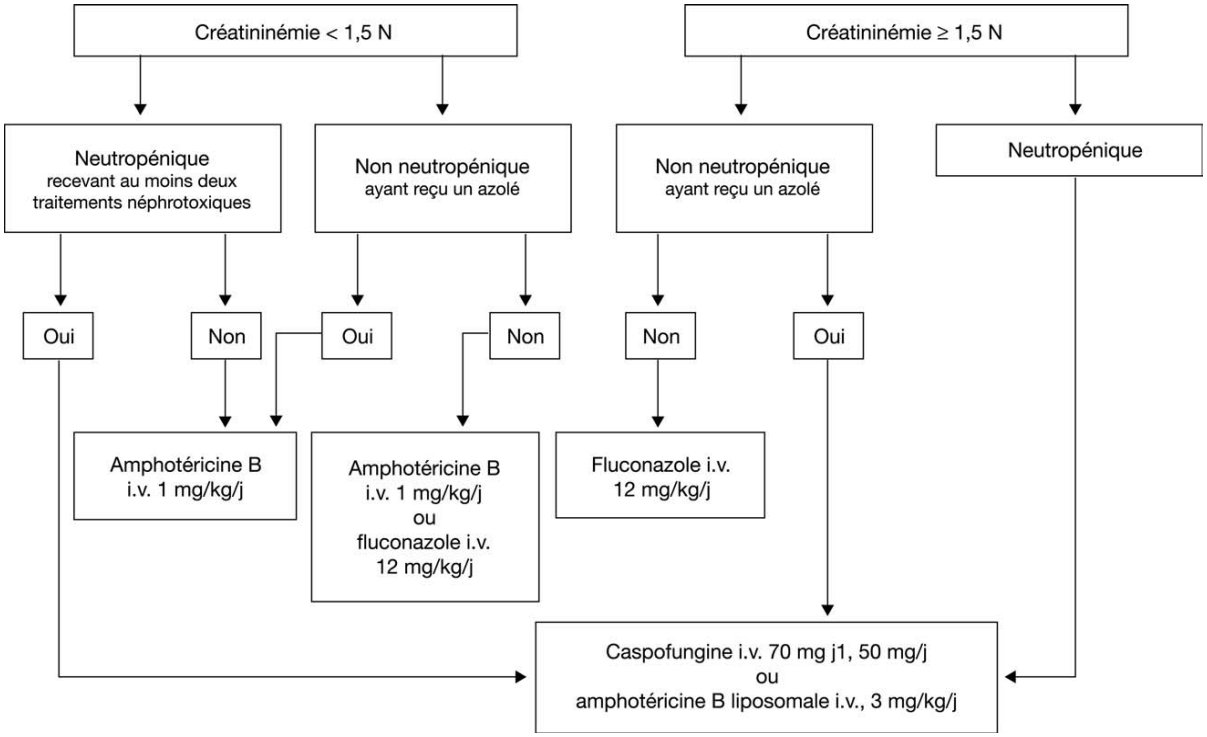

Fig.29 : Arbre décisionnel. Hémoculture positive à levure avant identification (Conférence de consensus « Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte », Paris, mai 2004). N : normale ; i.v.: voie intraveineuse [43]

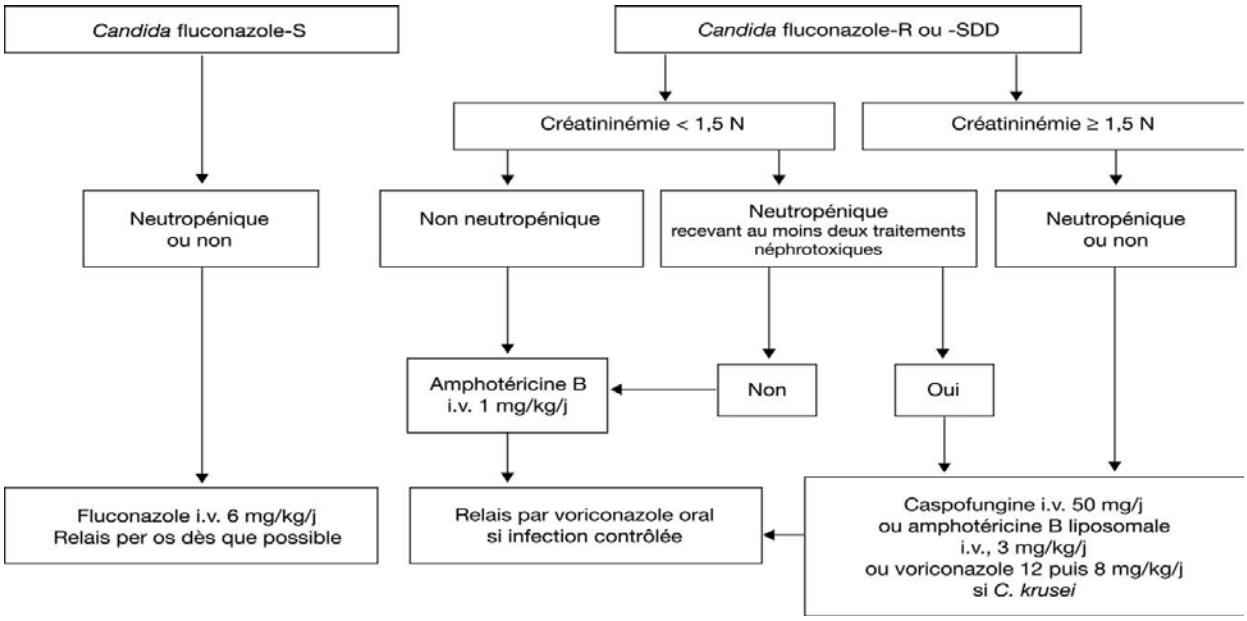

Fig.30 : Arbre décisionnel. Hémoculture positive à levure après identification de l'espèce en cause (Conférence de consensus « Pris en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte », Paris, mai 2004). S : sensible ; DD : dose-dépendant ; R : résistant ;
N : normale ; i.v: voie intraveineuse [43].

III. Discussion des résultats :

1. Résultats globaux :

Les candidoses méritent une attention plus particulière de par leur fréquence et leur ténacité. Par ailleurs, compte tenu de la recrudescence de ces infections et de l'utilisation plus fréquente des antifongiques, on assiste à une émergence de souches pathogènes résistantes [44, 45, 46]. Ce problème de résistance et celui de la récidive justifient en quelque sorte le choix de ce travail dont l'objectif est de contribuer à la recherche d'autres produits antimycosiques qui manifestent à la fois une activité fongistatique et fongicide, qu'ils soient disponibles et moins chers. L'étude de l'activité antifongique des substances naturelles telles les HE sur les champignons présente un grand intérêt à ce propos; c'est dans cette optique que nous avons testé plusieurs extraits de PAM contre des levures du genre *Candida.*

Les résultats issus des tests d'inhibition des levures montrent que sur 37 extraits de plantes testés, 27 HE, représentant un pourcentage de 72,97% de nos extraits étudiés, ont montré une grande activité antifongique sur *C. albicans* 5 et dont 16 ont eu un TI à 100% reflétant l'importance de ces essences. Deux HE (5,40%), celle de la rose et celle de la nigelle, ont manifesté une activité inhibitrice modérée avec un TI respectivement de 64,89% et 32,92%. Les Cinq extraits éthanoliques avec les trois extraits obtenus par décoction (21,61% de nos extraits), se sont révélés presque ou totalement inefficaces (TI entre 7.04% et 0%).

Le choix des levures à tester dans notre étude a porté essentiellement sur les espèces fréquemment impliquées dans diverses infections candidosiques et qui posent des problèmes de résistance aux antifongiques classiques à savoir *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *C. dubliniensis* [20]. Sept HE ont été évaluées sur ces espèces: Origan, Cyprès, Eucalyptus, Myrte, Lavande dentée, Menthe pouliot et Gingembre. Les résultats obtenus montrent une activité antifongique manifeste de toutes nos HE avec un TI de la pousse fongique de 100% sauf pour l'HE du Cyprès qui était inefficace sur *C. albicans* 11.

Les HE évaluées dans notre étude ont manifesté une meilleure activité antifongique comparée à celle des antifongiques classiques sauf pour la terbinafine qui a inhibée toutes les souches levuriques testées. L'amphotéricine B était inactive sur *C. dubliniensis* tandis que le fluconazole n'a inhibé que la pousse de *C. krusei*. L'étude analytique de l'effet des HE de : Origan, Myrte, Menthe pouliot, Lavande, Eucalyptus, et Gingembre sur les souches de *C. albicans* et *non albicans* a montré qu'il est très important par rapport à celui du fluconazole et de l'amphotéricine B ($p<0,05$). En revanche, il n'y avait pas de différence significative par rapport à l'effet de la terbinafine ($p>0,05$). Quant à la comparaison de l'effet de ces extraits entre eux, l'étude analytique n'a pas objectivé de différence significative ($p<0,05$).

Du fait de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, des agents dispersants de nature différente sont utilisés d'habitude: des solvants, tel l'éthanol, ou des émulsionnants tel le tween 80 [47]. Remmal et al. [48] ont montré dans un travail sur l'activité antimicrobienne des HE que l'éthanol, les tween 20 et 80 et le triton100 avaient tous un effet dépréciateur de l'activité antimicrobienne des HE, déterminée en milieu solide par rapport à l'agar-agar utilisé à 0,2 %. À cette concentration, elle donne au milieu une viscosité capable d'empêcher les constituants des HE de se réassocier après agitation. La comparaison des résultats obtenus montre que l'éthanol et les détergents exercent une inhibition de l'activité antifongique des HE étudiées.

À la lumière des problèmes posés, de disponibilité de l'agar-agar à 0,2 % d'une part, et les difficultés que présente l'utilisation des agents dispersants [48], en particulier leur emploi *in vivo* [49] d'autre part , nous avons alors choisi le DMSO comme agent émulsionnant étant donné qu'il est utilisé dans plusieurs études [50, 51, 52, 53]. Testé, dans notre étude, à la concentration de 10%, il s'est révélé dépourvu de tout effet dépréciateur sur la croissance fongique.

La CMI a été déterminée pour six HE ayant prouvé une activité antifongique sur toutes les souches étudiées. L'expression des CMI n'est pas standardisée. Elle peut être exprimée en pourcentage, en µg/ml, ou en µl/ml. Dans notre étude, la CMI est exprimée en % (v/v) par

manque des valeurs du rendement pour certaines plantes. Les valeurs des CMIs obtenues étaient entre 0,125 à 1% (v/v), selon le type de la levure testée et selon la concentration choisie.

2. Résultats spéciaux :

2-1 Mentha pulegium :

Le pouvoir antifongique de l'HE de la *M. pulegium* a été étudié vis-à-vis de six isolats cliniques de *Candida.sp.* Elle s'est révélée active contre toutes les souches testées avec une CMI allant de 0,25 à 0,5% (v/v).

Nos résultats corroborent d'autres travaux sur le pouvoir antifongique de l'HE de la Menthe pouliot (tableau XXI). En effet, l'équipe de Lahlou [54] a montré que l'HE de *M. pulegium* inhibe la croissance d'un *Penicillium.sp* à un volume de 20 µl. Ouraini et al. [2, 55] ont obtenu une inhibition totale de la croissance des dermatophytes à partir d'une concentration de 2 µg/ml de l'HE de *M. pulegium.*

Hmiri et al. [56] ont pu obtenir une inhibition de la croissance d'*Alternaria alternata* et de *Penicillium expansum*, deux champignons responsables de pourriture de pommes, par l'HE de la Menthe pouliot à partir de 10µl. Par ailleurs, *Botrytis cinerea*, un autre champignon responsable de la pourriture des pommes, ainsi que d'autres espèces fongiques (*Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Fusarium culmorum, Fusarium oxysporum et Trichoderma* sp.) sont tous sensibles à l'activité antifongique de l'HE de la Menthe pouliot [57, 58].

Mentha piperita (la Menthe peppermint), une autre variante de *Mentha L.* a été rapportée dans plusieurs travaux douée d'une forte activité antibactérienne et antifongique. Djenane et al. [59] ont pu montrer une sensibilité d'*Escherichia .coli* et du *Staphylococcus .aureus* à l'HE de la Menthe peppermint avec une CMI de 0,50 µl/ml. Agarwal et al. [60] ont pu obtenir une inhibition de la pousse de *C. albicans* par l'HE de la Menthe peppermint à une concentration minimale de 0.05 % v/v.

Tableau XXI : Différents résultats enregistrés sur l'étude de l'activité antifongique des extraits de la Menthe.

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
Djenane et al. [59] (2012)	Antibactérienne et antioxydante	Méthode de diffusion sur disque/Méthode de microdilution en milieu liquide	Hydrodistillation	Diamètre d'inhibition (DI): E. coli 12.24 mm ±1.22/ *S. aureus* 18.39 mm ± 2.35. CMI : 0,50 µl/ml pour *E.coli* et *S.aureus*. Activité antioxidante présente
Hmiri et al. [56] (2011)	Antifongique	Méthode de microatmosphère	Hydrodistillation	Inhibition complète de d'*A.alternata* et de *P.expansum* par 10µl
Agarwal et al. [60] (2010)	Antifongique	Méthode de diffusion sur disque/ Méthode de microdilution en milieu liquide	Achetée	CMI sur *C. albicans* à 0,05 % v/v.
Bonjar et al. [61] (2004)	Antibactérienne	Méthode de diffusion sur milieu gélosé utilisant les puits	Macération par méthanol	DI : entre 7 et 14mm sur *B.bronchiseptica*, *Staphylococcus epidermidis* et *Bacillus cereus*
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	Achetée	CMI : de 0,25 à 0,5% v/v

2-2 Eucalyptus globulus :

L'activité antifongique de l'HE d'Eucalyptus globulus a été évaluée sur six isolats de levures du genre *Candida*. Les résultats obtenus prouvent les propriétés inhibitrices de l'HE d'Eucalyptus sur les *Candida.sp* avec une CMI de 0,5 % v/v (pour *C. albicans* 11, *C. glabrata* et *C. krusei*) de 1 % (v/v) (pour *C. albicans* 4, *C. albicans* 5, et *C. dubliniensis*). Nos résultats sont conformes à ceux qui ont été obtenus par d'autres auteurs sur l'activité antimicrobienne de l'HE d'Eucalyptus globulus (tableau XXII). Tyagi et al. [62] ont obtenu une inhibition complète de la croissance de *C. albicans* à une concentration de 1750mg/l. Précédemment, Djenane et al. [63]

Rapport-Gratuit.com

ont montré que l'HE d'Eucalyptus possède une forte activité antibactérienne contre *E. coli* O157:H7 et *S. aureus*. Le même effet sur *E. coli* et *S. aureus* a été montré par Raho et al. [64] avec un DI de 8 à 26mm. HMIRI et al. [56] ont pu mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* du Maroc à un volume de 30µl vis-à-vis de deux champignons causant la pourriture des pommes, *A. alternata* et *P. expansum*. Su et al. [65] et Somda et al. [66] ont mis en évidence le pouvoir antifongique des HE d'*E. camaldulensis* de Taiwan vis-à-vis de dix espèces fongiques. Cependant, l'HE d'*Eucalyptus.sp* de Chine a été inactive vis-à-vis *d'A. alternata* ; cette inactivité peut être attribuée à la composition chimique de cette huile [67]. Usachev et al. [68] ont mis en évidence l'activité antivirale de l'HE d'*Eucalyptus polybractea* vis-à-vis du virus de l'influenza A.

Tableau XXII: Différents résultats enregistrés sur l'étude de l'activité antifongique des extraits d'Eucalyptus.

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
HMIRI et al. *Eucalyptus camaldulensis* [56] (2011)	Antifongique	Méthode de micro-atmosphère	Hydrodistillation	Inhibition fongique complète par 30µl d'HE
Agarwal et al. [60] (2010)	Antifongique	Milieu gélosé sur disque et macrodilution en milieu liquide	HE achetée	CMI : 0.05% v/v
Raho et al. [64] (2012)	Antibactérienne	Diffusion sur disque et Macrodilution	Hydrodistillation	DI : 8 à 26mm
Tyagi et al. [62] (2010)	Antifongique	Macrodilution	----	CMI : 2,25 mg/ml
Usachev et al. [68] (2013) *Eucalyptus polybractea*	Antivirale vis-à-vis du virus de l'influenza A	----	----	Présente
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI : entre 0,5 et 1% v/v

2-3 Zingiber officinale Roscoe :

L'HE du Gingembre a manifesté une activité antifongique contre toutes les souches levuriques testées dans notre étude avec une CMI allant de 0,25% v/v à 0,5% v/v. Nos résultats corroborent d'autres travaux sur les propriétés antimicrobiennes du Gingembre (tableau XXIII). Vishnu Agarwal et al. [60] ont obtenu une inhibition de la croissance de *C. albicans* par l'HE du Gingembre avec un DI de 2,6mm et une CMI de 3% (v/v). Pozzatti et al. [69] ont obtenu une inhibition totale de la formation du tube germinatif avec une CMI allant de 0,4 à 1,6mg/ml et de 0,4 à 0,8 mg/ml respectivement pour *C. albicans* et *C. dubliniensis*.

Ponmurugan Karuppiah et al. [70] quant à eux, se sont intéressés à l'activité antibactérienne de l'EE du Gingembre. *Klebsiella* sp, *Entermobacter* sp, *E. coli*, *Bacillus* sp, *Proteus* sp, *S. aureus*, et *Pseudomona aeruginosa* se sont révélés sensibles à l'action de l'EE du Gingembre avec des CMI respectivement de 185.58, 185.50, 75.60, 74.50, 70.20, 68.45 et 67.00µg/ml. Par ailleurs, *Mycobacterium tuberculosis*, bactérie responsable de la tuberculose, a été sensible à l'HE du Gingembre [71].

Yasodha Sivasothy et al. [72] ont rapporté une CMI allant de 0,16 à 0,63 mg/ml par l'HE du Gingembre sur des bactéries gram positif (*Bacillus licheniformis* (ATCC12759), *Bacillus spizizenii* (ATCC6633) et *S. aureus* (ATCC12600) et gram négatif (*E. coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883) et *Pseudomonas stutzeri* (ATCC17588) responsable de pourriture d'aliments. L'activité antibactérienne de l'HE du Gingembre a été attribuée à sa composition riche en caryophyllène oxide, α-pinène, α-terpineol, linalool, 1,8-cinéole et en géraniol, composants connus pour leur activité antibactérienne.

Un autre spectre d'activité du Gingembre est représenté par ses propriétés antivirales. Récemment, les travaux de Jung San Chang et al. [73] prouvent l'activité de l'HE du Gingembre vis-à-vis du HRSV (human respiratory syncytial virus) par diminution de l'attachement du virus aux cellules respiratoires et une stimulation de la sécrétion d'IFN-β.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Tableau XXIII: Différents résultats enregistrés
sur l'étude de l'activité antifongique des extraits du Gingembre

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
Raju Gautam et al. [71] (2007)	Antibactérienne (Bacille de Koh)	---	---	Présente
P. Pozzatti et al. [69] (2010)	Antifongique	Microdilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI: 400 et 1600 µg/ml pour *C. albicans* et entre 400 et 800 µg/ml pour *C. dubliniensis*.
Vishnu Agarwal et al. [60] (2010)	Antifongique	Diffusion sur disque/ macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI: 3% v/v. DI: 2,6 mm.
Ponmurugan Karuppiah et al. [70] (2012)	Antibactérienne	Diffusion sur disque/ macrodilution	Solvant éthanolique	DI: 4 et 16mm. CMI (µg/ml): 185.58, 185.50, 75.60, 74.50, 70.20, 68.45, 67.00 contre *klebsiella* sp, *entermobacter*, *E. coli*, *Bacillus* sp, *Proteus* sp, *S. aureus*, et *P. aeruginosa* respectivement.
Yasodha Sivasothy et al. [72] (2011)	Antibactérienne	Microdilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI: 0.16-0.63 mg/ml (*Bacillus licheniformis* (ATCC12759), *B. spizizenii* (ATCC6633) et *Staphylococcus aureus* (ATCC12600), *E. coli*(ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883) et *Pseudomonas stutzeri* (ATCC17588)
Jung San Chang et al. [73] (2013)	Antivirale (HVRS)	ELISA et plaque reduction assay.	Hydrodistillation	présente
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	Achetée	CMI: 0,25 et 0,5% (v/v)

2-4 Origanum vulgare :

L'HE d'Origan étudiée dans notre étude a montré la plus forte activité antifongique sur les levures testées par rapport aux autres HE avec une CMI allant de 0,125 % v/v (*sur C. krusei*) à 0,5% v/v (sur *C. albicans* 5). Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par d'autres travaux sur les propriétés inhibitrices antimicrobiennes de l'origan (tableau XXIV). A.R. Khosravi et al. [74] ont pu obtenir une inhibition de la pousse de 16 isolats de *C. glabrata* avec un DI de 18 à 40mm et une CMI allant de 0,5 à 1100 mg/ml. P. Pozzatti et al. [69] ont mis en évidence l'effet inhibiteur des HE de l'Origan vis-à-vis de *C. albicans* et de *C. dubliniensis*, Les CMI étaient de 0,05 mg/ml et 0,2 mg/ml. L'équipe de Maarif et al. [75] quant à elle, a rapporté l'activité antifongique de l'HE de l'Origan sur *C. albicans*, A. *niger*, *T. rubrum* et *M. canis* avec des CMI de 2.5, 1.25, 0.312 et 0.156 % (v/v) respectivement.

Dans les travaux de Bonjar et al. [61], *S. aureus*, *S. epidermidis* et *B. cereus* se sont révélés tous sensibles à l'HE *Origanum majorana* iranienne avec un DI allant de 7 à 14mm.

Tableau XXIV: Différents résultats enregistrés sur l'étude de l'activité antifongique des extraits d'Origan.

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
Shahidi Bonjar et al. [61] (2004) (*O.majorana*)	Antibactérienne	Diffusion sur gélose utilisant les puits	Macération par methanol	DI : entre 7 et 14mm sur, *S. aureus*, *S. epidermidis* et *B. cereus*
A.R. Khosrav et al. [74] (2011) *O.vulgare*	Antifongique (16 isolats de *C. glabrata*)	Diffusion sur gélose utilisant les puits/macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	DI : 18—40 mm avec (moyenne: 27.1 mm) CMI: 0.5 à 1100mg/ml (moyenne: 340.2mg/ml)
P. Pozzatti et al. [69] (2010)	antifongique	Microdilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI: 400 et 1600 µg/ml pour *C. albicans* et entre 400 et 800 µg/ml pour *C. dubliniensis.*
Maarif et al. (*O. vulgare*) [75]	Antifongique	Macrodilution en milieu solide gélosé	Hydrodistillation	CMI: *C. albicans*: 2,5 % v/v *T. rubrum*: 0,312% v/v *M.canis:* 0,156% v/v *A. niger*: 1,25% v/v
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI: 0,125 à 0,5% (v/v)

2-5 Myrtus communis :

Le Myrte, plante répandue dans le pourtour méditerranéen, a été utilisé dans la médecine traditionnelle comme antiseptique et désinfectant [76]. Dans notre étude, on a étudié l'activité antifongique de l'HE du Myrte, extraite des feuilles et des fruits par hydrodistillation, vis-à-vis de six souches de *Candida.sp*. L'HE du Myrte s'est révélée active avec une CMI de 0,5 % sur toutes les souches testées. Nos résultats concordent avec d'autres travaux sur l'activité antimicrobienne du Myrte (tableau XXV). En effet, Davod yadegarinia et al. [77] ont montré l'activité antifongique et antibactérienne de l'HE du Myrte avec un DI de 21.33, 13 et 10 mm

pour *C. albicans*, *E. coli* et *S. aureus* respectivement. La CMI était à 4µl/ml pour *C. albicans* et 8µl/ml pour *E. coli* et *S. aureus*. Djenane, Yangüela, Amrouche, et al. [63] ont montré que l'HE du Myrte possède une forte activité antibactérienne contre *E. coli* O157:H7 et *S. aureus*. Shahidi Bonjar et al. [61] ont mis en évidence, par la méthode de diffusion sur gélose utilisant des puits, l'activité antibactérienne de l'HE du Myrte vis-à-vis de *S. epidermidis* et *Bordetella bronchiseptica* avec un DI supérieur à 15 mm. Dans les travaux de Derieu et al. [78], l'HE du Myrte, extraite par hydrodistillation, s'est révélée active sur *Helicobacter pylori* avec une CMI entre 0,01 et 2,5% v/v.

D'un autre coté, et d'après la littérature, plusieurs extraits de plantes médicinales testés ont déjà montré leur pouvoir inhibiteur de la production des aflatoxines par les moisissures toxinogènes. Les aflatoxines sont un ensemble de composés hautement toxiques produits par les moisissures toxinogènes au cours de leur croissance sur les aliments. Vu leur stabilité thermique, ces substances constituent un danger potentiel chez l'Homme [79]. N. Hayder et al. [80], N. Hayder et al. [81] et Gardeli Chryssavgi et al. [82] ont prouvé l'activité antioxydante et antimutagène de l'HE et des extraits aqueux, héxanique, chloroformique, éthylique et méthanolique du Myrte. Par ailleurs, Wissem Aidi Wannes et al. [83] ont montré que l'extrait méthanolique du myrte possède une activité antioxydante plus importante que son HE.

Tableau XXV: Différents résultats enregistrés

sur l'étude de l'activité antifongique des extraits du Myrte.

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
Shahidi Bonjar et al. [61] (2004)	Antibactérienne	Méthode de diffusion sur gélose utilisant les puits	Macération par méthanol	DI : plus de 15 mm sur *S. epidermidis* et *Bordetella bronchiseptica*
A. Deriu et al. [78] (2007)	Antibactérienne (anti *H. pylori*)	Méthode diffusion sur disque	Hydrodistillation	CMI: 0.01 à 2,5% v/v
N. Hayder et al. [80] (2004)	Antioxydante et antigénotoxique	–	Hydrodistillation et par solvant	Activité antioxydante et antigénotoxique présente
N. Hayder et al. [81] (2008)	antimutagène	–	Solvant	Activité antimutagène présente
Gardeli Chryssavgi et al. [82] (2008)	antioxydante	DPPH* assay FRAP** assay	Hydrodistillation Par solvant	Activité antioxydante présente
Gülten Tiryaki Gündüz et al. [84] (2009)	Antibactérienne	–	Hydrodistillation	Présente
Wissem Aidi Wannes et al. [83] (2010)	Antioxydante	DPPH assay	Hydrodistillation Par solvant	Présente
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	hydrodistillation	CMI : 0,5% v/v

(*) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical.
(**) Ferric reducing-antioxidant power.

2-6 Lavandula dentata :

Notre étude consiste à tester l'effet antifongique de l'HE de Lavande dentée comparé à l'action des antifongiques classiques sur des levures du genre *Candida*. Plusieurs études ont

prouvé les propriétés antibactériennes (Benabdelkader et al., [85]; Dadalioglu and Evrendilek, [86]), antifongiques (Angioni et al., [87]; Benabdelkader et al., [85]), anti-oxydantes (Messaoud et al., [88]; Benabdelkader et al., [85]) et anti-inflammatoires (M. Zuzarte et al. [89]) des HE de *Lavandula* sp. Dans notre étude, l'HE de Lavande dentée évaluée a prouvé une activité antifongique à l'encontre de toutes les souches de levures testées avec une CMI allant de 0.25 à 0.5 % (v/v). L'activité antimicrobienne de *Lavandula L.* a été rapportée dans plusieurs travaux (tableau XXVI). Récemment, Zuzarte et al. [89] ont mis en évidence l'activité antifongique de *Lavandula stoechas*, une autre variété de *Lavandula L.*, sur *Candida.sp* (CMI : 1.25 à 2.50µl/ml), *Aspergillu*s sp (CMI : 1.25 à 5µl/ml) et sur *Cryptococcus neoformans* et des dermatophytes (CMI : 0.32 à 0.64µl/ml). Djenane et al. [59] ont étudié l'activité antibactérienne de *Lavandula angustifolia* sur *E. coli* et *S. aureus* et ont obtenus des CMIs respectivement à 1,00 et 0,25 µl/ml.

Al-Musayeib et al. [90] ont prouvé l'activité Antiplasmodiale, antileishmaniale, et antitrypanosomial de l'extrait méthanolique de Lavande dentée de Yémen. Abdel-Sattar et al. [91] rapporte une meilleure activité antiparasitaire de l'extrait méthanolique de Lavande dentée récoltée en Arabie saoudite sur *Plasmodium falciparum*. Ceci peut être attribué à la variation des lieux de récolte et aux facteurs écologiques, qui ont un impact important dans la composition qualitative et quantitative d'une HE [90].

Vishnu Agarwal et al. [60] ont obtenu une inhibition complète de la croissance de *C. albicans* avec une CMI supérieur à 3% (v/v) par l'HE de *Lavandula angustifolia.*

Tableau XXVI: Différents résultats enregistrés sur l'étude de l'activité antifongique des extraits de Lavande.

Auteur	Activité	Méthode	Extraction	Résultats
Djamel Djenane et al. [59] (2012) (*Lavandula angustifolia*)	Antibactérienne et antioxydante	Méthode de diffusion sur disque / Méthode de microdilution en milieu liquide	-	DI : 1,00 et 0,25 µl/ml pour *E.coli* et *S.aureus* respectivement. CMI : 1,00 et 0,25 µl/ml pour *E.coli* et *S.aureus* respictivement. Activité antioxidante présente
M. Zuzarte et al. [92] (2012) (*Lavandula luisieri*)	Antifongique	Méthode de macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI : 0.16 and 0, 64µl/ml pour les dermatophytes ; 0.32 - 10 µl/ml pour les *aspergillus* ; 0.64-2.5 µl/ml pour les *Candida* et *C. neoformans*.
M. Zuzarte et al. [89] (2013) (*Lavandula stoechas*)	Antifongique et anti-inflammatoire	Méthode de macrodilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI : pour *C. neoformans* et dermatophyte 0.32 à 0.64µl/ml; *Candida* : 1.25 à 2.50µl/ml ; *Aspergillus* : 1.25 à 5µl/ml Activité anti-inflammatoire prouvée
Al-Musayeib et al. [90] (2012) (*L.dentée*)	Antiplasmodiale, antileishmaniale et antitrypanosomial	-	Méthanol	Présente
Vishnu Agarwal et al. [60] (2010) (*Lavandula angustifolia*)	Antifongique	Méthode de diffusion sur disque/ Méthode de microdilution en milieu liquide	Hydrodistillation	CMI sur *C. albicans* plus de 3% v/v.
M. Viuda-Martos et al. [93] (2011) (*Lavandula officinalis*),	Antibactérienne et anti-oxydante	Méthode de diffusion sur disque	Hydrodistillation	*Listeria innocua* : DI à 40, 2l, 10, 5, et 2µl : 15 et 12, 0, 0, 0 respectivement. *Serratia marcescens* : inactive *Pseudomonas fluorescens* : inactive Activité antioxydante : présente faible
Notre étude	Antifongique	Macrodilution en milieu liquide	Achetée	CMI : 0,25 à 0,5% v/v

Les variations de l'activité antifongique observées entres les HE évaluées sont liées à plusieurs paramètres dont la nature et la concentration de l'HE, la méthode d'évaluation utilisée ainsi que de la souche microbienne utilisée. En effet, Miri et al. [56] ont montré que la Menthe pouliot, dominée par la pulégone et qui est une cétone, a une plus forte activité antifongique que l'Eucalyptus, constitué principalement du 1,8-cinéole et qui est un oxyde terpénique. Des travaux antérieurs [94, 95] ont montré que les cétones sont plus actives contre les agents microbiens que les oxydes terpéniques. Ainsi, les différences observées entre les activités antifongiques des HE peuvent être attribuées aux différences de leurs fractions actives. Les travaux de Chebli et al. [58] et de Vilela et al. [96] ont montré que la pulégone et le 1,8-cinéole purs provoquent une inhibition de la croissance mycélienne, mais à des concentrations plus élevées que les HE dans leur totalité ; ainsi l'activité de l'HE est le résultat de ses composés majoritaires et aussi de l'effet synergique des composés minoritaires [2, 58].

Les résultats des degrés d'efficacité des HE sur les microorganismes ont montré [97, 98, 99] que les essences pures sont plus actives que le mélange de leurs composées majoritaires et cela quelle que soit l'essence testée. Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire ou le mélange de composants majoritaires confirme bien l'effet de synergie que pourraient apporter les composants minoritaires à l'activité des HE.

L'étude de la sensibilité des champignons par les deux méthodes, celle des microplaques et celle des disques, a clairement montré des différences entre les deux méthodes d'essai appliquées. Les CMI obtenues par la technique des disques sont plus élevées par rapport à celle de microdilution sur bouillon. Dans une étude réalisée par Niewerth M, et al. [54] sur la comparaison de la sensibilité des dermatophytes par des tests de microdilution, il a été révélé que les CMI obtenues par la méthode de microdilution sur bouillon sont les plus inférieures. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait qu'en milieu liquide la surface de contact entre le microorganisme et la substance active est grande. Par ailleurs, la lecture des résultats dans la méthode des disques est plus facile mais la technique nécessite encore des études sur de grandes séries de dermatophytes pour déterminer la corrélation exacte entre les CMI et le

Rapport-Gratuit.com

diamètre de l'auréole d'inhibition autour des disques imprégnés d'antifongiques.

Les bactéries sont des procaryotes et, de là, elles offrent de nombreuses cibles structurelles et métaboliques qui diffèrent de celles de l'hôte humain. Au contraire, les champignons sont des eucaryotes et par conséquent la plupart des agents toxiques aux champignons sont aussi toxiques pour l'hôte. En outre, puisque les espèces fongiques se développent généralement lentement et souvent sous formes multicellulaires, ils sont plus difficiles à évaluer quantitativement que les bactéries [49]. Cette difficulté complique les expériences conçues pour évaluer les propriétés d'un agent potentiel antimycosique *in vitro* ou *in vivo*. Les agents chimiothérapiques doivent être fongicides et pas seulement fongistatiques [100]. Les HE peuvent remplir ces conditions et demeurent une solution alternative valable pour la lutte contre les infections mycosiques. Ce qui justifie en quelque sorte notre étude sur l'action antifongique des HE.

IV. Monographie des six plantes à activité antifongique :

Fleurs et fruits de myrte

Rameau de myrte

Figure : Myrte (*myrtus communis L.)* [101]

Famille : MYRTACEAE.
Nom latin : *Myrtus communis L.*
Noms vernaculaires : Français : Myrte
Arabe : Arihan, Alas.
Marocain :
Arabe : Rihan, hbibou.
Berbère : Mokko.

Description botanique : Le myrte (myrtus communis, L.) est la seule espèce de la famille des Myrtacées qui existe à l'état naturel au Maroc. C'est un arbrisseau de grandeur variable, de 2 à 5 mètres, divis é en de nombreux rameaux dès la base. Les feuilles, opposées, courtement pétiolées, ovales, aigues, entières, fermes, d'un beau vert luisant, sont parsemées de petits poils transparents. Les fleurs, blanches, odorantes, visibles de mai à juillet, sont portées par un long pédoncule dressé et solitaire à l'aisselle des feuilles. Le fruit est une baie ovoïde, noire à maturité, couronnée par le limbe du calice.

Habitat et répartition géographique : Le myrte se rencontre sur les terrains calcaires et siliceux. C'est un arbuste originaire des pays méditerranéens. Au Maroc, on le rencontre au bord de la mer jusqu'à 1100 m, dans les zones forestières et péri-forestières appartenant aux séries végétales à chêne-liège et chêne Kermès. Il se développe sur un substrat le plus souvent siliceux dans les climats subhumide, humide et perhumide à variante chaude à tempérée. Il est rencontré dans le Rif, la Mamora, Arbaa Sehoul, Amezmiz et dans la vallée d'Erdouz.

Partie utilisée : feuille, fleurs baies.

Usage médical traditionnel : Les utilisations du myrte sont très nombreuses, il est antiseptique, désinfectant, parasiticide, stomachique, stimulant et astringent. Il est aussi employé comme condiment pour fortifier l'estomac, et appliqué contre l'entérite et la dysenterie. De même, son huile essentielle a des propriétés antiseptiques pour l'appareil respiratoire et tonifiantes pour l'épiderme. Il est utile pour luter contre l'acné et le psoriasis. L'huile essentielle du myrte est exploitée industriellement pour la fabrication des parfums et employée pour diminuer les douleurs rhumatismales.

Composition chimique : tannins, HE, camphène, dipentène, cinéole, myrténol, acétate de myrtényle, nérol, géraniol.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

Origan (Origanum vulgare L.) [101]

Famille : LAMIACEAE
Nom latin : *Origanum vulgare L.*
Synonymes : *Origanum compactum Benth.*
Noms vernaculaires:
Français : Origan commun
Arabe : Marou
Marocain :
Arabe : Setter, zaatar
Berbère : Izoukenni, Iz'ioukounni, azekount.

Description botanique: Plante vivace de 20 à 60 cm, très odorante quand on la froisse entre les doigts. La tige dressée, rougeâtre, est couverte de poils noirs. Les feuilles sont ovales, opposées, assez grandes et sont portées par un pétiole long de 5 à l0 m sans dents ou à dents marquées. Dans sa partie supérieure, la tige est ramifiée et chaque ramification se termine par une panicule de fleurs violacées. Les fruits sont des tetrakenes.

Habitat et répartition géographique : Répandu en Europe et l'Asie, dans les plaines jusque vers 2000 m d'altitude. Au Maroc, il est répandu dans les forêts, les pâturages rocailleux, la plaine et les basses montagnes (Haut Atlas, Moyen Atlas, Rif).

Partie utilisée: Tiges fleuries, somités fleuries, feuilles.

Usages médicaux traditionnels: Catarrhe chronique, asthme humide, toux, maux de gorge en infusion ou en inhalation, rhume, bronchites, tuberculose, coryza, coqueluche, atonie digestive, dilatation d'estomac, aérophagie, douleurs d'estomac, manque d'appétit, constipation,

parasitoses intestinales, troubles gastriques et biliaires, diarrhée, troubles circulatoires (stase sanguine du système porte du foie), oligurie, douleurs menstruelles, névralgie et crampes, céphalées, douleurs articulaires, rachitisme de l'enfant et gingivite.

Composition chimique: Huile essentielle: carvacrol, thymol. Tanins, substance amer, saponosides, gomme ou résine, acides phénols, flavonoides, triterpénes, aromadendrine

Pharmacologie: Des travaux scientifiques ont été effectué pour confirmer ou infirmer certains usages traditionnels de cette plante. A forte dose, soit en infusion ou en fumigation l'origan exciterait le cœur. Son essence est un excito sensorielle, puis provoque la dépression avec anesthésie, engourdissement et somnolence.

Toxicologie: L'intoxication est due a la prise de fortes doses d'HE et le tableau de l'intoxication est représenté par un collapsus, un refroidissement des membres, des contractures et des tremblements, une perte de connaissance, une salivation puis une paralysie. L'HE est dermocaustique.

Lavandula dentata

champ de lavande

Lavande dentée (Lavandula dentata L.) [102]

Famille : LABIEES
Nom latin : *Lavandula dentata*
Synonymes :
Noms vernaculaires :
Français : Lavande dentée.
Marocain :
Arabe : Khzâma

Description botanique : Le genre *lavandula* appartient à la famille des labiées. Il comprend environ 30 espèces spontanées réparties principalement dans la région méditerranéenne et vers l'est de l'Arabie Saoudite jusqu'en Inde. Il est particulièrement diversifié au Maroc avec dix espèces spontanées dont cinq sont endémiques.

C'est un arbrisseau présentant une tige fortement ramifiée, portant des rameaux herbacés densément couverts de feuilles linéaires, sessiles et persistantes. Les tiges sont droites et mesurant environ 70cm de haut, elles se terminent par des épis impairs de fleurs bleues ou violettes. Le fruit est un akène. La plante constitue un excellent pâturage pour les abeilles et dégage une odeur agréable.

Souvent plantée dans les jardins campagnards et cultivée en plein champs. La floraison est plus importante de février à juillet, elle dépend essentiellement des espèces, et la récolte de la lavande vraie se fait généralement en juillet.

Habitat et répartition géographique : La lavande est une espèce originaire de l'Ouest du bassin méditerranéen et des iles Canaries. Au Maroc, la lavande existe à l'état naturel dans plusieurs régions notamment dans le Rif, le Moyen, le Haut Atlas et l'Anti-Atlas. Les espèces spontanées comprennent plusieurs variétés, à savoir la lavande officinale, la lavande stoechade, la lavande denté et la lavande maritime. La lavande cultivée dans la région d'Oulmès est un lavandin, c'est un hybride issu du croisement entre la lavande officinale et la lavande espic.

Partie utilisée: Sommité fleurie

Usages médicaux traditionnels: cicatrisante et antiseptique. Elle accélère la guérison des brûlures et plaies, calme les inflammations dues aux piqures d'insectes. Utilisée aussi pour traiter la gale et les poux. Soulage les maux de tête. Elle a des propriétés antivenimeuses en cas de morsure de vipère. La lavande peut être prise en infusion en cas de toux, de grippe, de rhumes, d'insuffisances biliaires d'infections urinaires ou pulmonaires.

Composition chimique: Dérivés terpéniques : acide ursolique - Coumarine : herniarine - Acide labiatique (ac. rosmarinique) - Huile essentielle : carbures terpéniques (limonène, alpha

terpinéol, cinéole, camphre,...), alcools terpéniques libres (linalol, géraniol, bornéol) ester de linalol (acétate) et du géraniol.

Figure : Menthe pouliot *(Mentha pulegium L.)* [101]

Famille: LAMIACEAE
Nom Latin: *Mentha pulegium L.*
Noms vernaculaires : Français : Menthe pouliot
Arabe : Goubaira
Marocain :
Arabe : Fliyou
Berbère : Afilgou, Flayou

Description botanique : Plante vivace de 30 à 50 cm, tige courte, rameaux fleuris dès la base jusqu'au sommet, feuilles petites, velues, grisâtres, peu dentées subsessiles, fleurs purpurines bleues ou blanchâtres groupées en verticilles très espacées, calice presque à 2 lèvres, très velu en dedans corolle brusquement évasée, bossue d'un coté, sans anneau de poils, odeur agréable.

Habitat et répartition géographique : Partout sauf régions désertiques et sahariennes. Lieux humides de la plaine, des basses et moyennes montagnes, jusque vers 2200 m (Rif, Moyen Atlas).

Partie utilisée : **Feuilles, plante entière.**

Usage médical traditionnel : affections gastriques, antispasmodique, carminative, insecticide, expectorante, antispasmodique, antiseptique pulmonaire, rafraîchante, stomachique, béchique, cholérétique, alimentaire.

Composition chimique : huile essentielle dont 70 à 80% de pulégone, cétones : menthone et pipéritone, tanin, menthol, carvone.

Toxicologie : A fortes doses, l'HE est abortive.

Figure : Gingembre (Zingiber officinale Roscoe) [101]

Famille : ZINGIBERACEAE.
Nom latin : Zingiber officinale Roscoe.
Synonymes : Amomum zingiber L.
Zingiber majus Rumph.
Noms vernaculaires : Français : Gingembre,
Arabe : Zinjabil, Skenjabil, Skenjbir
Marocain :
Arabe : Skenjbir.

Description botanique : plante rhizomateuse portant deux sortes de tiges aériennes dressées de 1,5 m de haut, avec des feuilles linéaires lancéolées, engainantes de 20 cm sur 2 cm, les autres fertiles ne dépassent pas 20 cm de haut et portant des sortes de bractées, terminées par un épi ovoïde avec des fleurs jaunes verdâtres. La drogue se présente e morceaux aplatis, irréguliers extérieurement, gris ou blanc. Elle a une odeur spéciale, une saveur brulante et poivrée. Période de floraison : Juin – Octobre.

Habitat et répartition géographique : plante des régions chaudes. Elle croit aux Indes et dans la Jamaïque. Au Maroc, cette plante est importée.

Partie utilisée : le rhizome.

Usages médicaux traditionnels : action antitussive, analgésique, antipyrétique du gingerol, préventive de l'ulcère gastrique de la furanogermenoe, aphonie, affections des vois respiratoires, caries dentaires, otites purulentes, gastralgies, atonie digestive, manque d'appétit, algies pelviennes, troubles menstruels, impuissance sexuelle, atonie, amnésies, rhumatisme, diabète.

Composition chimique : eau, matières minérales, amidon, acides aminés, acide aspartique, cystéine, thréonine, leucine, serine, arginine, glycine, valine, acides gras (acide linolénique, acide pentadécanoique, acide palmitique, acide héptadécanoique, acide stearique, acide caprique, acide arachidique, acide myristique), enzymes : zingibaine, HE, gingerol, gingedione, zingerone, paradiol.

Pharmacologie : l'administration par voie orale du Gingerol et du shogaol provoque des effets antipyrétiques et analgésiques, produit une inhibition de l'activité motrice, et prolonge le temps de sommeil induit par l'hexobarbital. A faible dose, ces composés abaissent la pression artérielle et suppriment la contraction gastrique in situ. De plus, le shogaol présente une activité antitussive comparable à celle du phosphate de dihydrocodeine. Le gingerol a une activité cardiotonique se traduisant par un effet inotrope positif sur le cœur de cobaye. Le gingerol, le dihydrogingerdione présente une action inhibitrice de la synthèse des prostaglandines.

Toxicologie : per os, le Gingembre est peu toxique chez le lapin, alors qu'il provoque des vomissements chez le chien. Chez ces mêmes animaux, l'extrait provoque par voie veineuse une accélération de la respiration avec diminution de l'amplitude, une accélération du pouls et une élévation de la pression artérielle. Le Gingembre a été utilisé à des fins criminelles. Les dérivés terpéniques et la zingibirine sont responsables d'éruptions exanthématiques.

Figure : Eucalyptus (Eucalyptus globulus) [101]

Famille : MYRTACEAE.
Nom latin : eucalyptus globulus.
Noms vernaculaires :

Français : eucalyptus commun, arbre de la fièvre, gommier bleu de Tasmanie.
Arabe : Hmer, maqal kehel, Samgh edoum.
Marocain :
Arabe : Eucalyptus, kalitous,
Berbère : kritous.

Description botanique : le genre Eucalyptus comporte plus de 600 espèces et sous espèces qui ne sont pas totalement caractérisées.

Les Eucalyptus sont des arbres à tronc élancé et à cime développé, leur écorce est persistante, plus ou moins fibreuse ou caduque se levant chaque année en plaques ou lanières. Leur feuillage est décoratif, souvent très variable avec l'âge et persistantes. Les fleurs verdâtres, sont singulières et en forme d'encensoir. Le fruit est une capsule ligneuse quadrangulaire. Période de floraison et de récolte entre Mai et Octobre.

Habitat et répartition géographique : les Eucalyptus sont des arbres d'origines Australienne. Ce genre a été introduit au Maroc la première fois au début du 20éme siècle et le domaine forestier marocain est caractérisé par une dominance des Eucalyptus surtout dans la région d'Oued cherrat (Rabat, Casablanca), la région de Tetouan, Essaouira, Safi, et la région d'Oujda.

Partie utilisée : feuille, fruit

Usages médicaux traditionnels : bronchites chroniques, toux, catarrhes bronchiques, rhume, grippe, asthme, catarrhe vésical, affections purulentes de l'urètre et du vagin, leucorrhée, blennorragie. Spasmes digestifs, diarrhées rebelles, vertiges, migraines, plaies infectées, eczéma, maux de gencive et de la bouche, écoulement de l'oreille, parasitoses externes (poux), hémorragies digestives, les hémorroïdes, les varices. Homéostatique, fragilité veineuse, sudorifique.

Composition chimique : HE à cinéol, acides et esters : valerate d'isobutyl, isovalerate d'isoanyl, acétate de terpenyl, acide citronellique, acétate de citronellyl, acétate de gernyl, tanins, flavonoides :phlobaphene, flavonol, quercetine, flavanediol, kampferol, flavone, aurones, sucres, saponines, lipides.

Toxicologie : a doses très élevées, l'essence de l'Eucalyptus provoque des maux de tête, des convulsions, des néphrites avec hématurie, affaiblissements des réflexes et de la respiration, abaissement de la pression artérielle et de la température. A doses massives, elle produirait même la paralysie des muscles respiratoires, par la suite une mort par asphyxie. La toxicité se manifeste par une neurotoxicité.

Rapport-Gratuit.com

CONCLUSION

Utilisées depuis toujours par les civilisations, les plantes ont apporté aide et réconfort aux maux les plus divers. Les HE extraites de certaines plantes aromatiques ont prouvé, à ce même titre, leur valeur inestimable pour la santé. Il faut garder à l'esprit que les HE, comme l'ensemble des plantes médicinales, ont un rôle de médicament, que leurs actions thérapeutiques sont souvent puissantes et nécessitent qu'elles soient utilisées de manière appropriée.

Beaucoup de scientifiques, dans le monde entier ont effectué des recherches sur les HE pour leur trouver des activités pharmacobiologiques. Allant du traitement des coliques infantiles à l'utilisation des HE en thérapie anticancéreuse en passant par les utilisations antimicrobienne, anti-inflammatoire et antalgique. Donc, connaissant le nombre de plantes à HE et leur diversité, il est tout à fait compréhensible de continuer des travaux dans ce domaine.

L'apparition des souches fongiques résistantes aux traitements chimiques à base de fongicides synthétiques pousse à la recherche d'alternatives plus efficaces et plus sures. Dans ce cadre, notre travail a été consacré à l'étude de l'activité antifongique de 37 extraits provenant de 31 PAM sur différentes espèces de levures du genre *Candida* les plus incriminées en pathologies humaines. Ainsi nous avons trouvé des HE actives à faible concentration, et leur activité dépasse parfois celle des antifongiques classiques. Elles méritent de ce fait de bénéficier d'un intérêt particulier.

Au terme de notre étude, les résultats préliminaires nous encouragent à passer dans notre projet à l'étape suivante beaucoup plus approfondie et qui est la caractérisation et l'étude de l'effet antifongique des différentes substances rentrant dans la composition des HE avérées intéressantes et prometteuses.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

ANNEXES

Annexe1 :

Résultats du screening des extraits sur *C. albicans* 5

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (B)
Cyprès	1870	5880	1140	3160	12633	3070
Thym S EV	1510	3250	1440	2040	4810	1700
Girofle	1770	3350	1220	1990	5270	1880
Menthe pouliot	1880	2560	944	1870	2996	938
Romarin officinal	1800	3460	1310	2030	3570	1020
Thym S HD	1790	2740	1870	1480	1642	702
Thuya	1610	2680	810	1990	3530	2130
Thym L	2030	5890	1770	1840	3450	2030
Menthe peppermint	1580	5550	1210	1760	3180	1320
Lavande dentée	1670	5840	2000	2130	8240	2460
Pin	2570	8920	2420	2000	7080	2440
Armoise vulgaire	2200	8700	2670	2550	10780	2970
Armoise	1596	6800	2220	1870	6060	2250
Rose	1710	6980	3700	2440	5400	3400
Myrte	1880	5110	784	2310	6650	1600
Sauge	1470	3150	1350	2070	4450	1450
Citron	1580	4720	2380	2000	6320	2470
Eucalyptus	2020	5220	1800	1940	3700	1130
Basilic AK	2640	6120	2180	2360	4985	1400
Origan	2130	5740	2100	2130	4530	2250
Néroli	1980	4260	1370	2090	4870	1930
Tea Tree	2010	4460	1030	1670	3240	908
Nigelle	1930	5770	4750	2380	6580	4930
Vitex (décoction)	2210	9780	9000	2420	8157	7940
Kerkaba (décoction)	2600	6300	10160	1770	4520	6980
Lavande Cap Ghir (décoction)	2300	8560	11140	2320	5620	8440
Thym .P (EE)	2220	4990	6200	2460	5400	5960
Camomille (EE)	1810	3780	3785	2042	3400	2475
Thym L (EE)	2420	4920	5420	2280	5760	12466
Thuya (EE)	2100	3630	3780	2520	3760	3480
Thym S (EE)	1740	4620	8140	2140	5900	9980
Gingembre	2233	6140	1960	2820	7200	2340
Menthe	2060	6766	1730	2000	5010	1930
Lemon grass	2060	7933	1450	2000	2700	1720
Jasmin	1850	3214	1957	1890	2985	1628
Cèdre de l'atlas	1766	3050	1180	2112	3240	1680
Vitex (HE)	1700	2900	1380	1700	3840	2380

Annexe 2 :

Résultats de l'évaluation des extraits actifs sur *C. albicans* 5 en présence de DMSO 10%.

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (B)
Cyprès	242	1202	224	214	1138	212
Thym S EV	426	976	264	492	1272	260
Girofle	234	932	328	224	1282	200
Menthe pouliot	208	852	178	222	904	218
Romain officinal	206	1076	222	216	868	252
Thuya	444	1710	268	362	1360	342
Thym L	232	888	228	228	1022	226
Menthe peppermint	332	1122	290	278	1002	240
Lavande dentée	278	1306	300	282	758	244
Pin	304	880	250	360	838	226
Armoise vulgaire	310	898	296	298	818	226
Armoise	284	870	274	326	746	230
Myrte	294	898	246	274	778	268
Sauge	308	1042	198	358	1074	264
Citron	300	858	196	360	798	214
Eucalyptus	288	690	230	306	834	304
Basilic AK	332	976	250	384	1036	272
Origan	330	1016	220	328	1038	292
Néroli	306	658	200	358	756	248
Tea tree	320	1560	358	288	1140	346
Gingembre	336	990	22	240	920	14
Menthe	286	826	320	312	764	244
Lemon grass	298	1024	244	322	446	150
Terbinafine	284	778	226	334	1298	288
Ampho B	284	1006	336	286	962	384
Fluconazole	262	1120	3004	314	824	3200
DMSO 10%	310	7180	11233	304	7020	12250

Annexe 3 :

Résultats de l'évaluation des extraits sur les autres souches de *Candida.sp.*

- Sur *C. albicans* 4 :

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (B)
Cyprès	390	2040	230	442	1920	222
Menthe pouliot	428	2580	350	432	3180	304
Lavande dentée	346	2700	300	436	2700	246
Myrte	454	3100	406	486	3240	400
Eucalyptus	502	2840	406	590	3140	498
Origan	482	2760	426	464	2580	414
Gingembre	356	2180	226	352	2080	116
Terbinafine	580	1170	462	613	1325	430
Ampho B	304	1980	846	352	2140	800
Fluconazole	490	2120	4200	637	1823	2010

- Sur *C. albicans* 11 :

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (B)
Cyprès	532	1980	2620	398	1430	4260
Menthe pouliot	314	1028	242	398	1438	464
Lavande dentée	340	1106	186	428	1038	178
Myrte	322	1340	304	376	1140	176
Eucalyptus	416	1593	368	302	992	446
Origan	356	1236	434	440	1423	426
Gingembre	376	1216	440	428	2020	216
Terbinafine	307	960	183	426	947	202
Ampho B	295	968	420	455	1327	500
Fluconazole	355	1236	1234	390	1305	1930

• Sur *C. glabrata* :

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev T_{48} extrait (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev T_{48} extrait (B)
Cyprès	376	1580	408	420	968	436
Menthe pouliot	300	1064	306	340	1190	282
Lavande dentée	460	1500	384	356	1246	286
Myrte	342	1190	350	334	723	296
Eucalypus	366	1016	322	350	1223	376
Origan	348	1150	310	378	920	364
Gingembre	390	915	6	404	1066	4
Terbinafine	384	1890	595	527	1790	740
Ampho B	360	1815	1045	557	1715	1120
Fluconazole	302	1555	3432	436	1454	4065

• Sur *C. dubliniensis* :

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev T_{48} extrait (B)
Cyprès	304	674	84	284	826	54
Menthe pouliot	292	598	14	280	808	18
Lavande dentée	310	836	0	302	916	8
Myrte	242	582	8	274	796	100
Eucalyptus	228	470	0	232	533	20
Origan	252	650	52	252	522	54
Gingembre	276	562	0	274	616	0
Terbinafine	262	1164	12	206	314	20
Ampho B	246	557	3100	285	987	5100
Fluconazole	326	440	480	390	540	1235

- Sur *C. krusei* :

Extrait	Nb Lev T_0 (A)	Nb Lev T_{48} (A)	Nb Lev $T_{48extrait}$ (A)	Nb Lev T_0 (B)	Nb Lev T_{48} (B)	Nb Lev $T_{48\ extrait}$ (B)
Cyprès	432	1153	58	420	1016	114
Menthe pouliot	378	920	95	364	1095	43
Lavande dentée	322	1420	30	322	896	36
Myrte	404	1332	70	588	1963	98
Eucalyptus	392	2020	184	390	942	100
Origan	312	908	93	278	1280	165
Gingembre	268	885	0	236	830	0
Terbinafine	326	924	260	380	905	435
Ampho B	330	916	345	422	925	525
Fluconazole	328	1090	283	374	967	294

RESUMES

Résumé

Dans le cadre de la recherche de substances naturelles antifongiques, nous avons testé l'activité fongitoxique in vitro (action fongicide et/ou fongistatique) de diverses huiles essentielles provenant de plantes aromatiques et médicinales marocaines.

Les huiles essentielles, obtenues par hydrodistillation, ont été testées vis-à-vis de différentes espèces de Candida Spp. responsables de mycoses humaines par la méthode de macrodilution en milieu liquide. Les huiles essentielles extraites de la menthe pouliot (Mentha pulegium L.), de lavande (Lavandula dentata L.), du myrte (Myrtus communis L.), d'origan (Origanum vulgare L.), d'eucalyptus (Eucalyptus globulus L.) et du gingembre (zingiber officinale Roscoe) exercent, toutes, une activité antifongique sur l'ensemble de levures sélectionnées avec des concentrations minimales inhibitrices allant de 0,125 % (v/v) à 1 % (v/v).

Les résultats obtenus nous encouragent à passer dans notre projet à l'étape suivante qui est la caractérisation et l'étude de l'effet antifongique des différentes substances rentrant dans la composition des huiles essentielles avérées intéressantes et prometteuses.

Rapport-Gratuit.com

Summary

As part of the search for natural antifungal substances, we have tested the fungitoxic effect in vitro (fungicidal and/or fungistatic action) of a wide range of essential oils from Moroccan aromatic and medicinal plants.

The essential oils obtained by steam distillation, were tested against different Candida species responsible for human mycoses by the macrodilution method in liquid medium. The essential oils of pint pouliot (Mentha pulegium L.), lavender (Lavandula dentata L.), myrtle (Myrtus communis L.), oregano (Origanum vulgare L.), eucalyptus (Eucalyptus globulus L.), and ginger (Zingiber officinale Roscoe) exercise, all of the antifungal activity with the selected set of minimum inhibitory concentrations ranging from 0.125% (v/v) to 1% (v/v).

The results obtained encourage us to move our project to the next step which is the characterization and study of the antifungal effect of different substances used in the composition of essential oils proved interesting and promising.

ملخص

في إطار البحث عن مواد طبيعية مضادة للفطريات، قمنا باختبار النشاط السام للفطريات (سام للفطريات أو كابح الفطريات) لمجموعة من الزيوت الأساسية والتي تم استخلاصها من مختلف النباتات العطرية والطبية المغربية.

تم اختبار الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها عن طريق عملية التقطير على أنواع مختلفة من المبيضات و المسؤولة عن داء فطري جهازي لدى الإنسان باستعمال طريقة الماكرودليسيون في وسط سائل. الزيوت الأساسية المستخلصة من الفليو ، الخزامى ، الريحان ، الزعتر ، الأوكاليبتس والزنجبيل أظهرت أفضل مفعول ضد مختلف المبيضات التي تمت دراستها مع حد أدنى للتراكيز المثبطة متراوحة بين 0,125 % و 1 % (حجم / حجم).

النتائج المحصل عليها تشجعنا إلى المرور في مشروعينا إلى المرحلة التالية و التي تخص تحديد ودراسة النشاط المضاد للفطريات للمكونات الداخلة في تركيب الزيوت الأساسية التي أبانت عن أهميتها وفعاليتها.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

BIBLIOGRAPHIE

1. **Marc Pihet, Agnes Marot**
Diagnostic biologique des candidoses.
REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - MARS 2013 - N°450.

2. **D. Ouraini, A. Agoumi, M. Ismaili-Alaoui, K. alaoui, Y. Cherrah, M.A. Alaoui, M.A. Belabbas et al.**
Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparée aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques
Phytothérapie (2007) Numéro 1: 6-14.

3. **Dzoyem J.P., Tangmouo J.G., Manfouo J.R., Lontsi D., Etoa F. X, Lohouc P.J**
Activité antifongique des extraits de quelques plantes médicinales camerounaises
Nig. J. Nat. Prod. And Med (2010) Vol. 10.

4. **Sheehan D.J., Hitchcock, C.A. and Sibley C.M.**
Current and emerging azole antifungal agents
Clin. Microbiol. Rev (1999) 12(1), 40-79.

5. **Young L.Y., Hull C.M. and Heitman J.**
Distribution of ergosterol biosynthesis confers resistance to amphotericin B in *Candida lusitaniae*
Antimicrob. Agents Chemother (2003) 47, 2717-2724.

6. **Rex J.H., Rinaldi M.G. and Pfaller M.A.**
Resistance of Candida species to Fluconazole
Antimicrob. Agents Chemother (1995) 39, 1-8.

7. **Ouraïni D., Agoumi A., Alaoui M.I., et al.**
Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaine.
Phytothérapie (2005) 3: 3-12

8. **M. Develoux, S. Bretagne.**
Candidoses et levuroses diverses.
EMC-Maladies Infectieuses 2 (2005) 119-139.

9. **S. Anane , F. Khalfallah.**
Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives.
Pathologie Biologie 55 (2007) 262-272.

10. **Chabasse D, Guiguen CP, Contet-Audonneau N.**
Mycologie Médicale.
Paris: Masson; 1999.

11. **Koenig H.**
Guide de mycologie médicale.
Strasbourg: Ellipses; 1995.

12. **Waller J, Koenig H, Chambet M, Kremer M.**
Limites du test de filamentation en sérum pour l'identification de Candida albicans.
J Mycol Med 1991;1:144-5.

13. **JEAN-MICHEL LARDRY, VALÉRIE HABERKORN**
Les huiles essentielles: principes d'utilisation.
Kinesither Rev 2007;(61):18-23.

14. **Werner M.**
Les huiles essentielles : réveil du corps et de l'esprit.
Éditions Vigot, collection Santé Bien-être, 95 pages, 2002.

15. **Telphon T.**
ABC des huiles essentielles.
Éditions Grancher, 2003. 358 pages.

16. **Abrassart J.L.**
Aromathérapie essentielle : huiles essentielles : parfums pour le corps et l'âme.
Éditions Guy Trédaniel.1997, 271 pages.

17. **Valnet J .**
Aromathérapie : traitement des maladies par les essences de plantes.
Éditions Maloine. 545 pages,1984.

18. **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (1997) Publication M27-A: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard.**
Wayne, PA: NCCLS, 1997;17:1—28.

19. **Robert G.**
Les Sens du parfum
Osman Eroyless Multimedia (2000) Paris. 224p.

20. **Sell C.S.**
The chemistry of Fragrance. From Perfumer to Consumer.
The Royal Society of Chemistry. 2nd edition (2006). 329p.

21. **Buchbauer G., Jager W., Jirovetz L., Imberger J., Dietrich H.,**
Therapeutic proprieties of essential oils and fragrances
American Chemical Society (1993) 159-165.

22. **Vanier P.**
Les huiles essentielles et la thérapie par les huiles essentielles
Guide Ressources (1994) 9, 69-73.

23. **Pauli A.**
Antimicrobial proprieties of essential oils constituents
Int. J. Aromater (2001) 11, 126-133.

24. **Modzelewska et al.,**
Sequesterpens: Natural products that decease cancer growth
Curr. Med. Chem.-Anti cancer Agents (2005) 5,477-499.

25. **Ciccarelli D, Garbari F, Pagni A.M.**
The flower of Myrtus communis (Myrtaceae): secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role.
Flora 2008; 203: 85-93.

26. **Isman M.B.**
Plant essential oils for pest and disease management.
Crop Prot 2000; 19: 603-608.

27. **De Feo V, De Simone F, Senatore F.**
Potential allelochemicals from the essential oil of Ruta graveolens.
Phytochemistry 2002; 61 : 573-578.

28. **Hochedez P., Datry A., Caumes E.**
Mycoses superficielles
EMC (2007) 4-1380.

29. **P. Rispail.**
Epidémiologie et diagnostic biologique des candidoses muqueuses et cutanéo-phanériennes (2005) Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes.

30. **Ascioglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, 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.

31. **Hay RJ,**
The management of superficial candidiasis
J Am Acad Dermatol 1999;40:S35-42.

32. **Vazquez JA, Sobel JD.**
Mucosal candidiasis.
Infect Dis Clin North Am 2002;16:793-820.

33. **Vazquez J.A.**
Invasive oesophageal candidiasis: current and developing treatment options.
Drugs 2003;63:971-89.

34. **S. Massou et al.**
Les candidoses systémiques en réanimation médicale : analyse des facteurs de risque et intérêt de l'index de colonisation.
Pathologie Biologie 2012.

35. **Pittet D.**
Candidémie et candidose généralisée.
Encycl Méd Chir (Elsevier SAS, Paris), Anesthésie, 36-983-D-10. 2000. 13p.

36. **Viguie-Vallanet C. (1998)**
Traitements antifongiques en dermatologie.
Encyclopédie médico-chirurgicale, 98-906A-10, pp 1-16.

37. **BIABIANY M.**
RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT D'EXTRAITS ANTIFONGIQUES ISSUS DE LA FLORE GUADELOUPEENNE : Caractérisations phytochimiques, pharmacologiques et formulation.
Thèse Doctorat Biologie, Lille nord de France ;2011 p31.

38. **Nelly Contet-Audonneau, Jean_Luc Schmutz.**
Antifongiques et mycoses superficielles.
Revue Française des Laboratoires, Avril 2001,N°332.

39. **Sobel JD, Wiesenfeld HC, Martens M, Danna P, Hooton TM, Rompalo A, et al.**
Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis.
N Engl J Med 2004;351: 876-83.

40. **Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, et al.**
Guidelines for treatment of candidiasis.
Clin Infect Dis 2004;38:161-89.

41. **Bohme A, Ruhnke M, Buchheidt D, Karthaus M, Einsele H, Guth S, et al.**
Treatment of fungal infections in hematology and oncology guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Oncology (DGHO).
Ann Hematol 2003;82(suppl2): S133-40.

42. **Eggimann P, Garbino J, Pittet D.**
Management of Candida species infections in critically ill patients.
Lancet Infect Dis 2003;3:772-85.

43. **Conférences SFAR, SPILF, SRLF**
Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte.
Paris. 13 mai 2004.

44. **Feuilhade de Chauvin M.**
Mycoses métropolitaines.
Encycl Med Chir (Elsevier, Paris) Dermatologie (1998) 12- 320-A-10, p 10.

45. **Lortholary O., Petitjeun O.**
Les antifongiques azolés systémiques.
La lettre de l'infectiologue 1995 10(8-9): 336-41.

46. **Patterson T.F, Revankar S.G, Kirkpatrick W.R, et al.**
Simple method for detecting fluconazole-resistant yeasts with chromogenic agar.
J Clin Microbiol (1996) 34: 1794-97.

47. **Allegrini J, Siméon de Bouchberg M, Maillolo H (1973).**
Émulsions d'huile essentielle, fabrication et application en microbiologie.
Travaux de la société de Montpellier 33: 73-85.

48. **Remmal A, Tantaoui-El Araki A, Bouchikhi T, et al.**
Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oil in Agar medium.
J Essenti Oils Res (1993) 5: 179-84.

49. **D. Ouraïni, A. Agoumi, M.I. Alaoui, K. Alaoui, Y. Cherrah, M. Benlemlih, M.Alaoui Belabbas et al.**
Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines.
Phytothérapie (2005) Numéro 1: 3-12.

50. **Manohar Shirugumbi Hanamanthagouda et al.**
Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities.
Food Chemistry (2010) Volume 118, Issue 3, Pages 836-839.

51. **T. Moon, J.M. Wilkinson H.M.A. Cavanagh**
Antibacterial activity of essential oils, hydrosols and plant extracts from Australian grown *Lavandula* spp.
International Journal of Aromatherapy 2006 page 9-4.

52. **Saban Kordali, Ahmet Cakir, Hakan Ozer , Ramazan Cakmakci, Memis Kesdek, Ebru Mete.**
Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and *p*-cymene.
Bioresource Technology 2008 Volume 99, Issue 18, Pages 8788-8795.

53. **Belma Aslim, Nihal Yucel.**
In vitro antimicrobial activity of essential oil from endemic Origanum minutiflorum on ciprofloxacin-resistant Campylobacter spp.
Food Chemistry (2008) Volume 107, Issue 2, Pages 602-606.

54. **LAHLOU N., et al.**
Étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle de Mentha pulegium : essais biologiques varies.
Les cahiers de la recherche, (2005) A (6), 7 16.

55. **OURAINI D., et al.**
Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes.
Phytothérapie, (2005) 4, 147-157.

56. **S. HMIRI, M. RAHOUTI, Z. HABIB, B. SATRANI, M. GHANMI, M.EL AJJOURI et al.**
Evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de mentha pulegium et d'eucalyptus camaldulensis dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation.
Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 80, 2011, p.824 - 836.

57. HAJLAOUI H., et al.
Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (Mentha longifolia and Mentha pulegium) used in the Tunisian folkloric medicine
World J. Microbiol. Biotechnol., (2009) 25, 2227-2238.

58. CHEBLI B., ACHOURI M., IDRISSI HASSANI L.M., and HMAMOUCHI M.
Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botrytis cinerea Pers: Fr
J. Ethnopharmacol., (2003) 89, 165-169.

59. Djenane et al.
Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with E. coli O157:H7 and S. aureus during storage at abuse refrigeration temperature.
Meat Science 92 (2012) 667-674.

60. Vishnu Agarwal, Priyanka Lal, Vikas PruthiR.
Effect of Plant Oils on Candida albicans
J Microbiol Immunol Infect 2010;43(5):447-451.

61. Shahidi Bonjar.
Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran
Journal of Ethnopharmacology 94 (2004) 301-305.

62. Amit K Tyagi, Anushree Malik.
Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against candida albicans: microscopic observations and chemical characterization of cymbopogon citratus.
Tyagi and Malik BMC Complementary and Alternative Medicine 2010, 10:65.

63. CASTELAO J.E., YUAN J.M., GAGO-DOMINGUEZ M., YU MC. ROSS R.H.
Non steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention.
Br. J. Cancer, 2000 Apr., 82 (7) : 1364-9.

64. Bachir Raho G , Benali M.
Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of Eucalyptus globulus against Escherichia coli and Staphylococcus aureus.
Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine (2012)739-742.

Rapport-Gratuit.com

65. SU Y., HO C., WANG E. I., and CHANG S.
Antifungal activities and chemical compositions of essential oils from leaves of four Eucalyptus
Taiwan J. For. Sci., (2006) 21(1), 49-61.

66. SOMDA I., LETH V., SÉRÉMÉ P.
Antifungal effect of Cymbopogon citratus, Eucalyptus camaldulensis and Azadirachta indica oil extracts on sorghum seed-borne fungi Urologic Oncology: Asian Journal of Plant Sciences, (2007) 6 (8), 1182-1189.

67. FENG W. and ZHENG X.,
Essential oils to control Alternaria alternata in vitro and in vivo.
Food control, (2007)18, 1126-1130.

68. Usachev et al.
Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour
Journal of Aerosol Science 59 (2013) 22-30.

69. P. Pozzatti, É.S. Loreto, D.A. Nunes Mario, L. Rossato, J.M. Santurio, S.H. Alves.
Activities of essential oils in the inhibition of Candida albicans and Candida dubliniensis germ tube formation
Journal de mycologie médicale (2010) 20, 185-189.

70. Ponmurugan Karuppiah, Shyamkumar Rajaram.
Antibacterial effect of Allium sativum cloves and Zingiber officinale rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens.
Asian Pac J Trop Biomed 2012; 2(8): 597-601.

71. Raju Gautam, Arvind Saklani, Sanjay M. Jachak.
Indian medicinal plants as a source of antimycobacterial agents
Journal of Ethnopharmacology 110 (2007) 200-234.

72. Yasodha Sivasothy, Wong Keng Chong, Abdul Hamid, Ibrahim M. Eldeen, Shaida Fariza Sulaiman , Khalijah Awang.
Essential oils of Zingiber officinale var.rubrum Theilade and their antibacterial activities.
Food Chemistry 124 (2011) 514-517.

73. Jung San Chang , Kuo Chih Wang, Chia Feng Yeh, Den En Shieh, Lien Chai Chiang
Fresh ginger (Zingiber officinale) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines.
Journal of Ethnopharmacology 145 (2013) 146-151.

74. **A.R. Khosravi , H. Shokri , S. Kermani , M. Dakhili , M. Madani , S. Parsa.**
Antifungal properties of Artemisia sieberi and Origanum vulgare essential oils against Candida glabrata isolates obtained from patients with
vulvovaginal candidiasis
Journal de Mycologie Médicale (2011) 21, 93—99.

75. **K Maarif, M. Bouchrik, B. Elmimouni, Y. Bensouda**
Extraction, activité antifogique et approche galénique de cinq huiles essentielles.
Phytothérapie. Nature et santé. Official n°82.

76. **N. Hayder et al.**
Antimutagenic activity of Myrtus communis L. using the Salmonella microsome assay.
South African Journal of Botany 74 (2008) 121–125.

77. **Davod Yadegarinia et al.**
Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils
Phytochemistry 67 (2006) 1249–1255.

78. **Deriu et al.**
In vitro activity of essential oil of *Myrtus communis* L. against *Helicobacter pylori*.
International Journal of Antimicrobial Agents 30 (2007) 562–565.

79. **A. ZINEDINE (1), S. ELAKHDARI (2), M. FAID (3), M. BENLEMLIH.**
Activité antifongique et anti-aflatoxinogenique de l'algue brune *cystoseira tamariscifolia.*
J Mycol Med 2004 ; 14 : 201-205.

80. **N. Hayder et al.**
Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis.*
Mutation Research 564 (2004) 89–95.

81. **N. Hayder et al.**
Antimutagenic activity of *Myrtus communis* L. using the Salmonella microsome assay
South African Journal of Botany 74 (2008) 121–125.

82. **Gardeli Chryssavgi et al.,**
Essential oil composition of Pistacia lentiscus L. and Myrtus communis L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts.
Food Chemistry 107 (2008) 1120–1130.

Rapport-gratuit.com
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

83. **Wissem Aidi Wannes et al.**
Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (Myrtus communis var. italica L.) leaf, stem and flower.
Food and Chemical Toxicology 48 (2010) 1362-1370.

84. **Gülten Tiryaki Gündüz , Şahika Aktuğ Gönül, Mehmet Karapinar.**
Efficacy of myrtle oil against *Salmonella Typhimurium* on fresh produce.
International Journal of Food Microbiology 130 (2009) 147-150.

85. **Benabdelkader, et al.**
Essential oils from wild populations of Algerian Lavandula stoechas L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties..
Chem. Biodivers. (2011) 8, 937-953.

86. **Dadali oglu, I., Evrendilek, G.A.**
Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of turkish oregano (Origanum minutiflorum), bay laurel (Laurus nobilis), spanish lavender (Lavandula stoechas), and fennel (Foeniculum vulgare) on common foodborne pathogens.
J. Agric. Food Chem. 2004 52, 8255-8260.

87. **Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Desi, S., Cabras, P.**
Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of Lavandula stoechas L. ssp. Stoechas essential oils from stem/leaves and flowers..
J. Agric. Food Chem. 2006 54, 4364-4370.

88. **Messaoud, C., Chongrani, H., Boussaid, M.**
Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild Lavandula L. species.
Nat. Prod. Res. 2012 26, 1976-1984.

89. **M. Zuzarte et al.**
Antifungal and anti-inflammatory potential of Lavandula stoechas and Thymus herba-barona essential oils.
Industrial Crops and Products 44 (2013) 97- 103.

90. **Nawal M Al-Musayeib et al.**
In vitro antiplasmodial, antileishmanial and antitrypanosomal activities of selected medicinal plants used in the traditional Arabian Peninsular region
BMC Complementary and Alternative Medicine 2012, 12:49.

91. **Abdel-Sattar E, Maes L, Salama MM**
In Vitro Activities of Plant Extracts from Saudi Arabia against Malaria, Leishmaniasis, Sleeping Sickness and Chagas Disease.
Phytother Res2010,24:1322-1328.

92. **M. Zuzarte et al.**
Lavandula luisieri essential oil as a source of antifungal drugs
j.foodchem.2012.05.090.

93. **M. Viuda-Martos et al.**
In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants
Food Control 22 (2011) 1715e1722.

94. **EL ARCH M., SATRANI B., FARAH A, BENNANI L., BORIKY D., FECHTAL M., BLAGHEN M, TALBI M et al.**
Composition chimique et activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de Mentha rotundifolia du Maroc
Acta Bot. Gallica, (2003) 150 (3), 267-274.

95. **SATRANI B.**
Valorisation des plantes aromatiques et médicinales du Maroc.
Éditions Universitaires Européennes, (2010) ISBN : 978-613-1-51855-3, 153P.

96. **VILELA G. et al.**
Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from Eucalyptus globulus Labill., against the storage fungi Aspergillus flavus Link and Aspergillus parasiticus Speare
J. Stored Prod. 2009 Res., 45, 108-111.

97. **Alderman GG, Marth EH.**
Inhibitory of growth and aflatoxine production of Aspergillus parasiticus by citrus oils.
Z lebensm unters forsch (1976), pp 353-58.

98. **Franchome P.**
Note préliminaire sur la complexité biochimique et les potentialités thérapeutiques des huiles essentielles
Phytomédecine 1981 1-2: 13-23

99. **Kurita N, Miyaji M, Kurane R, et al.**
Antifungal activity and molecular orbital energies of aldehyde compounds from oils of higher plants.
Agric Biol Chem (1979) 43: 2365-71.

100. **R. Aly.**
Ecology and epidemiology of dermatophyte infections
J Am Acad Dermatol (1994) 31: S21-5.

101. **M. Hmamouchi.**
Les plantes médicinales et aromatiques marocaines.
Edition Fédala 1999.

102. **Bellakhdar J.**
La pharmacopée marocaine traditionnelle.
ibis Press, Paris ; 1997.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم أن أراقبَ اللّه في مِهنَتِي.

وأن أصُون حياة الإنسان في كآفّةِ أطوَارهَا في كل الظروف والأحَوال بَاذِلاً

وسْعِي في استنقاذها مِن الهَلاكِ والمرَضِ والألَم والقَلق.

وأن أَحفَظ لِلنّاسِ كرَامَتهُم، وأسْتر عَوْرَتهُم، وأكتمَ سِرَّهُمْ.

وأن أكون عَلى الدوَام من وسائِل رحمة الله، باذلا رِعَايَتي الطبية للقريب

والبعيد، للصالح والطالح، والصديق و العدو.

وأن أثابر على طلب العلم، أُسَخِره لنفع الإنسَان .لا لأذَاه.

وأن أُوَقّر مَن عَلَّمَني، وأُعَلّمَ مَن يَصْغرَني، وأكون أخاً لِكُلّ زَميلٍ في المِهنَةِ الطُبّيّة

مُتعَاونِينَ عَلى البرِّ والتقوى.

وأن تكون حياتي مِصْدَاق إيمَاني في سِرّي وَعَلانيَتي، نَقيّةً مِمّا يُشينهَا تجَاهَ الله وَرَسُولِهِ وَالمؤمِنين

والله على ما أقول شهيد

جامعة القاضي عياض
كلية الطب و الصيدلة
مراكش

سنة 2013 أطروحة رقم 98

بحث و تقييم النشاط المضاد للفطريات من خلاصات النباتات الطبية

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم ...\... \2013

من طرف

السيد خالد المنصوري
المزداد في 26 دجنبر 1985 بمراكش

لنيل شهادة الدكتورة في الطب

الكلمات الأساسية :
نشاط مضاد للفطريات – الزيوت الأساسية – مبيضات.

اللجنة

السيدة	ل.شابعى أستاذة في الكيمياء الإحيائية	الرئيس
السيد	ر.متاج أستاذ في علم الطفيليات	المشرف
السيد	خ. الكولالي الادريسي أستاذ مبرز في جراحة العظام والمفاصل	الحكام
السيد	ل. مهمال أستاذ في أمراض الدم	
السيد	ب. أدمو أستاذ مبرز في علم المناعة	
السيد	م. شكور أستاذ مبرز في أمراض الدم	