

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

Belkessa Wissam

Beneche Souhila

Daddi addoun Amina

Thème

**Evaluation du potentiel antifongique et anti-
enzymatique de l'huile essentielle d'*Origanum
glandulosum* contre *Candida albicans***

Soutenu publiquement le 29/06/2025

Jury:

Président: M^{me} Laaredj-Zazou Khalida

Encadrant: M^{lle} Benmessaoud Amel

Co-encadrant: M. Mekhloufi Amine Omar

Examineur 1: M^{lle} Bouteldja Rachida

Grade

MCA

Docteur

MCB

MCB

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Nous rendons grâce à Allah, le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la santé, la patience et la volonté nécessaires pour entreprendre et mener à bien ce mémoire.

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à **Dr. Benmessaoud Amel**, notre encadrante, pour son aide précieuse, sa disponibilité constante et son accompagnement attentif tout au long de ce travail. Sa rigueur scientifique, ses conseils éclairés et sa bienveillance ont été essentiels à la réalisation de ce projet dans les meilleures conditions.*

*Nos remerciements s'adressent également à **Dr. Makhloufi Amine Omar**, notre co-encadrant, pour son soutien indéfectible, ses remarques constructives et son implication active. Son expertise et ses encouragements nous ont grandement aidées à progresser et à surmonter les différentes étapes de ce travail.*

Leur encadrement respectif a contribué de manière significative à notre évolution, tant sur le plan scientifique que personnel. Nous leur sommes profondément reconnaissantes pour leur confiance et leur accompagnement.

*On remercie vivement les membres du jury **Dr Laaredj-Zazou Khalida** et **Dr. Bouteldja Rachida** pour l'honneur qu'ils nous ont fait en évaluant ce travail*

*Nous remercions enfin **Dr. Boudraa Abdellatif**, chef de spécialité, pour sa gestion efficace et son engagement dans le bon déroulement de notre formation. Son implication a largement contribué à la qualité de notre parcours académique.*

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah De m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire, avant tout,

*À ma mère **Zahia**, la lumière de ma vie, mon pilier inébranlable, celle dont l'amour dépasse les mots et dont les prières m'ont portée dans les moments les plus difficiles.*

Maman, tu es la source de ma force, le refuge de mon cœur, et la raison pour laquelle je n'ai jamais abandonné.

*À mon père **Nour Eddine**, pour sa sagesse, son appui constant et sa confiance inébranlable.*

*À mes frères **Rayane** et **Saoud**, pour leur énergie, leur affection et leur soutien discret mais précieux.*

À mes deux grands-mères, ces femmes au cœur immense, dont les bénédictions, l'affection et les souvenirs m'accompagnent chaque jour. Que Dieu vous protège et vous garde longtemps à mes côtés.

*À mes chères amies **Bicha**, **Sarah**, **Samah**, **Rania** et **Mokhtaria**,
Merci pour votre présence, vos éclats de rire, vos encouragements.*

*Et à mes collègues **Wissam** et **Amina**,
Pour votre soutien au quotidien, votre bienveillance, et cette belle complicité qui a rendu le travail plus doux et plus motivant.*

À Toute ma famille tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Ce mémoire est autant le fruit de vos encouragements que de mon travail. Merci du fond du cœur.

Souhila

Dédicace

Ce modeste travail représente bien plus qu'un aboutissement académique. Il est le fruit d'un long chemin parcouru avec le soutien, l'amour et la patience de ceux qui m'entourent. Je souhaite dédier ce mémoire à ceux qui ont été ma force tout au long de ce parcours.

*À mon cher père **Abed**, Il est difficile de trouver les mots justes pour exprimer toute ma reconnaissance envers toi. Tu es le pilier de ma vie, celui qui m'a toujours soutenue, encouragée. Merci pour les sacrifices silencieux, pour ton travail afin de m'offrir un avenir meilleur. Ta présence rassurante, tes conseils précieux et ton regard bienveillant ont toujours guidé mes pas. Si aujourd'hui j'ai pu avancer et grandir, c'est grâce à toi. Papa, je te dédie chaque réussite, chaque progrès. Merci d'être ce père exceptionnel. Je t'aime du plus profond de mon cœur.*

*À ma douce et précieuse maman **Samira**, Tu es le cœur de notre foyer, la source inépuisable de tendresse, de patience et de force. Merci pour tes bras toujours ouverts, pour tes paroles réconfortantes, pour ta foi en moi, même quand moi-même je doutais. Tu as été là à chaque étape, dans chaque larme, chaque sourire, chaque chute et chaque victoire. Maman. Que ce travail soit aussi le tien, car derrière chacun de mes pas, il y a ton amour. Je t'aime infiniment.*

*À mes chers frères **Mouhamed** et **Sami**, Votre présence dans ma vie est un trésor inestimable. Vous avez toujours été là pour moi, avec votre soutien, vos encouragements sincères, et vos gestes pleins d'amour. Merci pour votre manière unique de me faire sentir entourée, protégée et aimée.*

*Je tiens à remercier sincèrement mes deux binômes **Souhila** et **Amina**, pour leur soutien constant, leur patience et leur esprit d'équipe tout au long de ce travail.*

*A **Sara**, **samah**, **bicha**, **rania** et **mokhetaria**, ceux avec qui j'ai partagé rires, stress, nuits blanches et espoirs, Merci pour votre entraide, et ces souvenirs gravés à jamais.*

à tous ceux qui m'ont entourée de leurs prières, de leurs encouragements À ceux qui m'ont tendu la main, offert un mot gentil, ou cru en moi, je vous dédie ces pages avec une profonde reconnaissance et un amour sincère.

Wissam

Dédicace

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail :

À mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur confiance, leurs encouragements, leurs soutiens, leurs précieux conseils et leurs prières qui m'accompagnent depuis toujours. Que Dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes frères et sœurs bien-aimés, pour leur soutien constant, leur patience et leur précieuse présence dans ma vie.

À toute ma famille, que je remercie pour leur affection, leur soutien et leurs encouragements sincères.

Une pensée particulière à mes binômes Wissam et Souhila, avec qui j'ai partagé des efforts, des défis et de beaux souvenirs durant ce travail.

À mes amis proches, pour leur soutien moral, leur compréhension et les moments précieux partagés à mes côtés.

À tous ceux qui m'ont soutenue, de près ou de loin, dans la réalisation de ce travail.

Amina

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle extraite d'une plante médicinale locale, *Origanum glandulosum*, en tant qu'alternative naturelle aux antifongiques classiques. L'étude cible *Candida albicans*, un champignon opportuniste impliqué dans diverses infections humaines, et connu pour sa capacité à former des biofilms résistants aux traitements conventionnels.

Les essais ont été menés *in vitro*, en utilisant la méthode de dilution en milieu liquide pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), ainsi que des tests de viabilité cellulaire, d'inhibition de la formation de biofilm et d'évaluation de l'activité anti hémolytique.

L'aromatogramme a révélé une bonne sensibilité des deux souches testées, avec des zones d'inhibition moyennes de 66,7 mm pour la souche ATCC 10231 et de 58,3 mm pour ATCC 10237. La détermination des CMI a montré des valeurs très faibles (250 µg/ml et 125 µg/ml respectivement), traduisant une activité antifongique marquée. Cependant, les concentrations minimales fongicides étant supérieures à 4 µg/ml, l'huile essentielle présente un effet fongistatique.

L'huile essentielle a également démontré une forte activité inhibitrice sur la formation de biofilm, avec des concentrations minimales inhibitrices du biofilm de 250 µg/ml pour ATCC 10231 et de 250 µg/ml pour ATCC 10237. Par ailleurs, l'évaluation de l'activité anti-hémolytique a montré une réduction notable de la production d'hémolysine ; les indices Hz sont passés de 0,78 à 0,86 pour ATCC 10231, et de 0,69 à 0,90 pour ATCC 10237 après traitement à la CMI, indiquant une diminution de l'activité hémolytique.

L'ensemble de ces résultats confirme l'efficacité de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* contre *C. albicans*, notamment par son action inhibitrice sur la croissance, la formation de biofilm et la production de facteurs de virulence, ce qui en fait une candidate prometteuse dans la lutte contre les infections fongiques.

Mots clés : *Origanum glandulosum*, *Candida albicans*, Huile essentielle, Activité antifongique, Biofilm, Activité anti hémolytique.

Abstract

This study falls within the framework of evaluating the biological activity of an essential oil extracted from a local medicinal plant, *Origanum glandulosum*, as a natural alternative to conventional antifungal agents. The target organism is *Candida albicans*, an opportunistic fungus involved in various human infections and well-known for its ability to form biofilms that are resistant to standard treatments.

In vitro experiments were conducted using the broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), along with tests for cell viability, biofilm inhibition, and anti-hemolytic activity.

The aromatogram revealed high sensitivity of both tested strains, with average inhibition zones of 66.7 mm for strain ATCC 10231 and 58.3 mm for ATCC 10237. MIC values were very low (250 µg/ml and 125 µg/ml, respectively), indicating strong antifungal activity. However, since the minimum fungicidal concentrations exceeded 4 µg/ml, the essential oil exhibited a fungistatic effect.

The oil also showed strong inhibitory activity against biofilm formation, with minimum biofilm inhibitory concentrations (MBICs) of 250 µg/ml for ATCC 10231 and 250 µg/ml for ATCC 10237. Furthermore, anti-hemolytic activity assessment demonstrated a significant reduction in hemolysin production: Hz indices increased from 0.78 to 0.86 for ATCC 10231, and from 0.69 to 0.90 for ATCC 10237 after treatment with MIC, indicating a decrease in hemolytic activity.

These results confirm the effectiveness of *O. glandulosum* essential oil against *C. albicans*, particularly through its inhibitory action on fungal growth, biofilm formation, and virulence factor production, positioning it as a promising candidate in the fight against fungal infections.

Keywords: *Origanum glandulosum*, *Candida albicans*, Essential oil, Antifungal activity, Biofilm, Anti-hemolytic activity.

الملخص

يهدف هذا العمل إلى تقييم النشاط البيولوجي لزيت أساسي مستخلص من نبتة طبية محلية، *Origanum glandulosum*، كبديل طبيعي للمضادات الفطرية التقليدية. وقد تم التركيز في هذه الدراسة على الفطر الانتهازي *Candida albicans*، المعروف بتسببه في العديد من الالتهابات لدى الإنسان، وقدرته على تكوين الأغشية الحيوية المقاومة للعلاجات التقليدية. أجريت التجارب مخبرياً (*in vitro*) باستخدام طريقة التخفيف في الوسط السائل لتحديد التركيز المثبط الأدنى (CMI)، إلى جانب اختبارات تقييم حيوية الخلايا، تثبيط تكوين الأغشية الحيوية، والنشاط المضاد للهيموليزين. أظهر اختبار الأروماتوغرام حساسية جيدة لدى السلالتين المدروستين، حيث بلغ متوسط قطر مناطق التثبيط 66.7 ملم للسلالة ATCC 10231 و 58.3 ملم للسلالة ATCC 10237. كما أظهرت نتائج الـ CMI قيمة منخفضة جداً (250 ميكروغرام/مل و 125 ميكروغرام/مل على التوالي)، ما يدل على فعالية فطرية قوية. ومع ذلك، فإن القيم المرتفعة للتركيزات الفطرية القاتلة ($CMF < 4$ ميكروغرام/مل) تشير إلى أن الزيت يتمتع بتأثير فطري ثابت (Fongistatique) وأظهر الزيت الأساسي كذلك قدرة تثبيطية ملحوظة لتكوين الأغشية الحيوية، حيث بلغت قيمة التركيز المثبط الأدنى للأغشية الحيوية (CMIB) 250 ميكروغرام/مل للسلالة ATCC 10231 و 250 ميكروغرام/مل للسلالة ATCC 10237. كما بين تقييم النشاط المضاد للهيموليزين انخفاضاً ملحوظاً في إنتاج الهيموليزين، حيث ارتفع مؤشر Hz من 0.78 إلى 0.86 للسلالة ATCC 10231، ومن 0.69 إلى 0.90 للسلالة ATCC 10237 بعد المعالجة بـ CMI، ما يعكس تراجع النشاط الحال للكريات الحمراء. تؤكد هذه النتائج الفعالية العالية لزيت *O. glandulosum* الأساسي ضد *C. albicans*، لا سيما من خلال تأثيره المثبط للنمو، وتكوين الأغشية الحيوية، وإنتاج عوامل الضراوة، مما يجعله مرشحاً واعداً في مكافحة العدوى الفطرية.

الكلمات المفتاحية: *Origanum glandulosum*، *Candida albicans*، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للفطريات، الغشاء الحيوي، النشاط المضاد للهيموليزين.

Table des matières

Liste des Figures.....	i
Liste des Tableaux.....	ii
Liste des Abreviations	iii
<i>Introduction</i>	1
<i>Partie Bibliographique</i>	
Chapitre 01	2
<i>Candida albicans</i>	2
I.1 Généralités	2
I.2 Taxonomie	2
I.3 Morphologie et reproduction	2
I.4 Reproduction asexuée de <i>C. albicans</i>	3
I.5 Reproduction sexuée de <i>C. albicans</i>	3
I. 6 Structure cellulaire	3
I.7 Caractères physiologiques de <i>C. albicans</i>	4
I.7.1 Milieu de vie	4
I.7.2 pH.....	4
I.7.3 Température	4
I.7.4 Nutrition.....	4
I.8 Mécanismes de pathogénicité	4
I.8.1 Adhérence et colonisation.....	5
I.8.2 Invasion tissulaire	5
I.8.3 Multiplication et survie dans l'hôte	5
I.9 Les candidoses	6
I.9.1 Les candidoses superficielles mucocutanées	6
I.9.2 Candidose oropharyngée	6
I.9.3 Les candidoses œso-gastro- intestinales	6
I.9.4 Candidoses vaginales.....	7
I.9.5 Les candidoses systémiques	7
I.10 Les facteurs de virulence	7
I.10.1 Capacité d'adhérence	7
I.10.2 Transition phénotypique ou «switch».....	8

I.10.3 Formation du biofilm.....	8
I.10.4 Enzymes.....	9
I.10.5 Interférence avec la phagocytose.....	9
I.10.6 Interférence avec le complément.....	9
I.11 Les antifongiques et leurs mécanismes d'action.....	9
I.12 Mécanismes de résistance aux différents agents antimicrobiens.....	9
Chapitre 02.....	11
Les plantes médicinales.....	11
II.1 Les plantes médicinales.....	11
II.2 La phytothérapie.....	11
II.3 Le contrôle des plantes médicinales.....	11
II.3.1 Contrôle d'identification.....	11
II.3.2 Contrôle botanique.....	11
II.3.3 Contrôle chimique.....	12
II.3.4 Contrôle de qualité.....	12
II.4 Définition des plantes médicinales.....	12
II.5 Plantes médicinales locales.....	12
II.6 Les principes actifs des plantes médicinales.....	13
II.6.1 Les métabolites primaires.....	13
II.6.2 Les métabolites secondaires.....	13
II.7 Types et origine des métabolites secondaires.....	13
II.7.1 Les terpènes.....	14
II.7.2 Composés phénoliques.....	14
II.7.3 Composés azotés ou alcaloïdes.....	14
II.8 Définition et origine des huiles essentielles.....	14
II.9 Fonctions physiologiques et écologiques.....	15
II.10 Effet antimicrobien.....	15
II.11 Effet antifongique.....	16
II.12 Toxicité et limites d'utilisation des huiles essentielles.....	16
II.13 Procédés d'obtention.....	16
II.13.1 Expression à froid.....	16
II.14 La distillation.....	17
II.14.1 hydrodistillation.....	17
II.15 Autres méthodes.....	17

II.15.1 Extraction par micro-ondes	17
II.15.2 Hydro diffusion pulsée	17
II.16 Monographie de la plante choisie : <i>Origanum glandulosum</i>	18
II.16.1 Origine et aspect botanique	18
II.17 Classification botanique de l'Origan.....	18
II.18 Description botanique de <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Lets.	18
II.19 Composition phytochimique des huiles essentielles d'Origan	19
II.20 Composition phénolique	19
II.21 Activités biologiques	20
II.21.1 Activité antibactérienne	20
II.21.2 Activité antifongique	20
II.21.3 Activité antiparasitaire.....	20

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

I. Matériel et méthodes.....	21
I.1 Objectif et lieu d'étude.....	21
I.2 Matériel végétal	21
I.3 Extraction de l'huile essentielle	22
I.3.1 Calcul du rendement	22
I.4 Evaluation de l'activité antifongique	22
I.4.1 Matériel fongique	22
I.4.2 Aromatogramme	23
I.4.3 Détermination de la concentration minimal inhibitrice	24
I.4.4 Détermination de la concentration minimal bactéricide.....	25
I.4.5 Détermination de l'activité antibiofilm	25
I.4.6 Évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle.....	26

Résultats et discussion

I. Résultats et discussion	27
II.1 Rendement et caractérisation sensorielle de l'huile essentielle.....	27
II.2 Activité antifongique	27
II.2.1 Confirmation de la pureté de souches testées.....	28
II.2.2 Aromatogramme.....	28
II.2.3 Détermination des CMI et CMF	29

II.2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des biofilms	30
II.2.5 Détermination de l'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle.....	31
<i>Conclusion</i>	33
<i>Annexe</i>	34
<i>Référence</i>	35

Liste des Figures

Figure 1: Morphologie de <i>C. albicans</i> .	3
Figure 2: Principaux stratagèmes des mécanismes de résistance contre les différents agents antifongiques d'après	10
Figure 3: Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation.	17
Figure 4: Rameau de l' <i>O. vulgare</i> L. Ssp <i>glandulosum</i> (Desf.) Letswaart.	19
Figure 5: <i>Origanum glandulosum</i>	21
Figure 6: Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger	22
Figure 7: Pré enrichissement des souches.	23
Figure 8: Détermination de la CMI par microdilution.	25
Figure 9: Préparation du milieu pour l'activité hémolytique.	26
Figure 10: Huile Essentielle d' <i>O. glandulosum</i>	27
Figure 11: Colonies de <i>C. albicans</i> sur milieu Sabouraud.	28
Figure 12: Diamètre des zones d'inhibition de l'huiles vis-à-vis <i>C. albicans</i> .	28
Figure 13: Détermination des CMI.	29
Figure 14: détermination des CMI des biofilms	31
Figure 15: Activité hémolytique de <i>C. albicans</i> en absence (b) et en présence de l'huile essentielle (a)	32

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification botanique de l' <i>O. glandulosum</i>	18
Tableau 2 : Rendement et caractères sensorielles	27
Tableau 3 : Diamètre des zones d'inhibition obtenues après l'aromatogramme.	28
Tableau 4 : CMI et CMF obtenues après microdilution.	29
Tableau 5 : les CMI des biofilm de l'huile essentielle.	30
Tableau 6 : détermination de l'indice Hz de l'huile essentielle sur <i>C. albicans</i> .	32

Liste des Abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

C. albicans: *Candida albicans*

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMF: Concentration minimale fongicide

CMI: Concentration inhibitrice minimale

DZI: Diamètre des zones d'inhibition.

HE : Huile essentielle

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

Sp.: Espèces

Spp.: Plusieurs espèces

TTC: Chlorure de 2, 3, 5- triphényl-tétrazolium

VIH: Virus de l'immunodéficience humaine

YPD : Yeast peptone dextrose

Introduction

Les champignons, ou mycètes, constituent un règne à part entière du vivant. Ce sont des organismes eucaryotes, uni ou pluricellulaires, dont certaines espèces microscopiques, telles que les levures, peuvent devenir pathogènes chez l'être humain. *Candida albicans*, levure opportuniste par excellence, en est un exemple emblématique. Naturellement présent au sein du microbiote humain, ce microorganisme peut devenir pathogène en cas de déséquilibre de l'écosystème hôte, provoquant des candidoses parfois sévères, en particulier chez les individus immunodéprimés (Mayer et al., 2013).

La capacité de *C. albicans* à former des biofilms complexes et à développer des résistances aux antifongiques conventionnels rend sa prise en charge thérapeutique de plus en plus difficile, posant ainsi un véritable enjeu de santé publique (Ramage et al., 2012 ; Perlin et al., 2017). Face à l'émergence croissante de résistances aux traitements antifongiques classiques, l'exploration d'alternatives naturelles devient une priorité.

Les plantes médicinales, riches en métabolites secondaires dotés de multiples propriétés biologiques, représentent une voie prometteuse dans la recherche de nouvelles substances actives. Parmi elles, le genre *Origanum*, largement utilisé en médecine traditionnelle dans les pays du Maghreb, suscite un intérêt particulier en raison de ses propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires bien documentées (Dorman & Deans, 2000 ; Bounatirou et al., 2007).

L'Algérie, de par sa biodiversité remarquable et son riche patrimoine ethnobotanique, abrite de nombreuses espèces endémiques aux vertus thérapeutiques encore peu exploitées (Benhouhou & Bouzid, 2019). *Origanum glandulosum*, plante aromatique du terroir algérien, fait partie de ces ressources naturelles prometteuses. Son huile essentielle est reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, notamment les phénols, susceptibles d'exercer une activité antifongique significative (Ait Ouakrouch et al., 2022)..

Dans ce contexte, notre travail vise à évaluer le potentiel antifongique de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* contre *C. albicans*, en déterminant notamment sa concentration minimale inhibitrice (CMI). L'étude s'intéresse également à son effet sur certains facteurs de virulence de la levure, tels que la formation de biofilms et l'activité hémolytique. Ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation des plantes médicinales locales, en vue de leur éventuelle application à des fins thérapeutiques.

Partie Bibliographique

Chapitre 01

Candida albicans

I.1 Généralités

C. albicans, une levure naturellement présente chez l'être humain, est à l'origine de multiples infections (Thierry, 2009). *Candida* appartient à la classe des Deutéromycètes. Sur les 200 espèces de *Candida* identifiées, seulement une vingtaine est à l'origine d'infections chez l'homme, colonisant des sites tels que les voies génitales, le tube digestif, la bouche et la peau (Pfaller et al., 2007). Elle peut devenir un pathogène opportuniste majeur chez les individus immunodéprimés, comme ceux souffrant de diabète, de cancer, ayant subi une greffe d'organe ou étant infectés par le VIH. Elle est notamment à l'origine de plus de 70 % des infections vaginales affectant la majorité des femmes au moins une fois dans leur existence (Thierry, 2009). Cette levure est dimorphique, se présentant soit sous forme de blastospore (levure), soit sous forme de filaments (hyphes).

I.2 Taxonomie

La classification taxonomique de *C. albicans* selon (McManus & Coleman, 2014) est indiquée comme suit :

- **Règne:** Fungi
- **Division:** Ascomycota
- **Classe:** Saccharomycetes
- **Ordre:** Saccharomycetales
- **Famille:** *Saccharomycetaceae*
- **Genre:** *Candida*
- **Espèce:** *Candida albicans*

I.3 Morphologie et reproduction

Les espèces du genre *Candida* apparaissent sous forme de blastospores (blastoconidies). Il s'agit de petites cellules mesurant de 2 à 5 µm sur 3 à 7 µm, ayant une forme globulaire, ovoïde ou cylindrique. Sur le plan macroscopique, elles se présentent sous la forme de colonies blanches à crémeuses mesurant entre 1 et 3 mm. Elles peuvent avoir une texture pâteuse, lustrée, brillante, avec des bords réguliers (Cardinale, 2018). *C. albicans* peut produire d'importantes spores, circulaires ou ovales, avec une paroi épaisse et mesurant entre 6 et 12 µm de diamètre : ce sont les chlamydospores (Odds, 1985).

I.4 Reproduction asexuée de *C. albicans*

C. albicans se multiplie principalement de manière asexuée par bourgeonnement. Ce processus commence par la formation d'une blastospore à un pôle spécifique de la cellule mère. Après une mitose et une séparation cellulaire, une blastospore fille se détache sous certaines conditions (température, pH, composition du milieu).

Dans certains cas, les cellules restent attachées et forment un pseudo-mycélium, qui peut évoluer en mycélium vrai. Ce dernier se développe par croissance apicale, débutant par la formation d'un tube germinatif qui s'allonge en un filament mycélien. Ce filament est composé de cellules cylindriques à noyau unique, séparées par des septa incomplets, laissant un pore central maintenant la continuité cytoplasmique (Gow, 2002).

I.5 Reproduction sexuée de *C. albicans*

Longtemps considéré comme un champignon diploïde asexué, *C. albicans* a révélé un potentiel de reproduction sexuée grâce à la découverte du Mating Type Locus (MTL). Son cycle repose sur un processus para-sexuel, où la reproduction et la réduction du génome se produisent sans méiose (Johnson, 2003).

Une réduction chromatique, résultant d'une perte aléatoire de chromosomes sans recombinaison génétique, permet ensuite de revenir à l'état diploïde (Miller et Johnson, 2002).

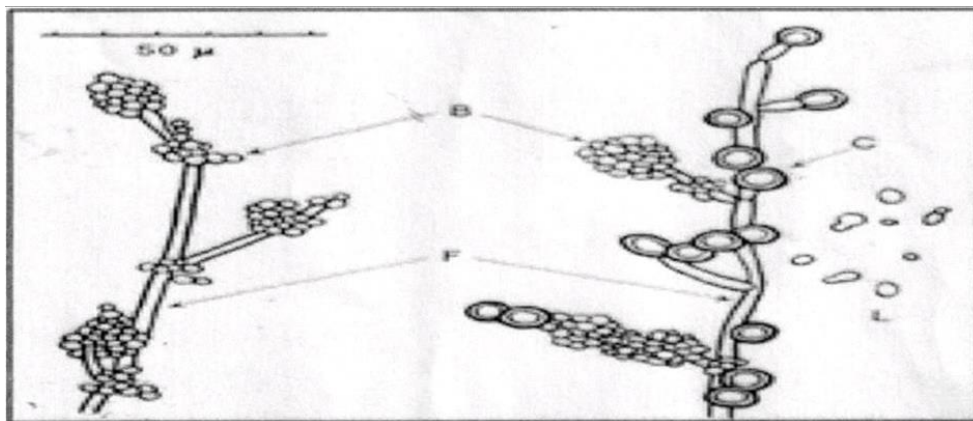


Figure 1: Morphologie de *C. albicans*.

I. 6 Structure cellulaire

C. albicans est un eucaryote unicellulaire dépourvu de chlorophylle, possédant un noyau, une double membrane nucléaire, des chromosomes, des mitochondries et des inclusions lipidiques. La membrane plasmique est composée principalement de lipides, y compris l'ergostérol, et elle est dotée d'une paroi qui confère à la levure sa forme ainsi que sa stabilité mécanique. Elle constitue également une interface entre la cellule et son

environnement, et sa structure est susceptible de changer en fonction de l'âge et du stade morphologique de la levure (Casson et Strippoli, 1973).

I.7 Caractères physiologiques de *C. albicans*

C. albicans peut passer de l'état saprophyte à l'état pathogène sous l'influence de divers facteurs environnementaux (Euzeby J, 2001).

I.7.1 Milieu de vie

Toutes les espèces appartenant au genre *Candida* sont des organismes aérobies. Bien qu'elles résident principalement au niveau des surfaces muqueuses, certaines peuvent également survivre dans l'environnement extérieur (Euzeby, 1994).

I.7.2 pH

Elle peut croître dans un pH compris entre 3 et 7. En revanche, en milieu alcalin, l'assimilation des nutriments par les *Candida* est inhibée (Chabasse et al., 2009).

I.7.3 Température

La plupart des espèces de levures se développent de manière optimale entre 20 °C et 30 °C. Toutefois, les souches pathogènes, responsables d'infections humaines, sont capables de croître à 37 °C (Euzeby, 1994).

I.7.4 Nutrition

Les *Candida* sont des organismes hétérotrophes, c'est à dire qu'ils sont incapables de synthétiser leurs molécules carbonées à partir du dioxyde de carbone atmosphérique. Ils vivent donc aux dépens de la matière organique préformée (Koenigh., 1995).

C. albicans se nourrit de diverses substances organiques telles que les glucides, les acides aminés et les lipides. Il possède une grande capacité d'adaptation métabolique, lui permettant de modifier son métabolisme en fonction des conditions environnementales.

I.8 Mécanismes de pathogénicité

C. albicans se présente initialement sous forme de blastospores, considérées comme une forme saprophyte coexistant en équilibre avec l'hôte. Toutefois, lorsque cet équilibre fragile entre la forme commensale et les mécanismes de défense immunitaire est rompu, la relation symbiotique se transforme en parasitisme, aboutissant à une pathologie infectieuse appelée candidose.

L'installation de *C. albicans* chez l'hôte suit trois étapes principales (Hoyer et al., 2001) :

I.8.1 Adhérence et colonisation

L'adhésion représente le premier pas vers l'infection, permettant à *C. albicans* de s'attacher aux cellules de l'hôte ainsi qu'aux surfaces abiotiques. Ce processus d'adhésion est facilité par des protéines en surface, telles que les agglutinines (Als) et les intégrines fongiques, qui se lient aux récepteurs présents sur les cellules de l'hôte (Mayer et al., 2013).

Une fois attaché, *C. albicans* commence sa colonisation en développant un biofilm, une structure complexe multi-cellulaire qui accrue sa résistance face aux antifongiques ainsi qu'aux réponses immunitaires. Plusieurs éléments environnementaux favorisent cette colonisation.

I.8.2 Invasion tissulaire

Dès que la colonisation a pris place, *C. albicans* a la capacité d'envahir les tissus de l'hôte en adoptant une forme filamenteuse (hyphes et pseudohyphes), ce qui facilite son infiltration dans les structures cellulaires et sa propagation.

L'invasion est facilitée par l'émission d'enzymes hydrolytiques telles que les protéinases (Sap), les phospholipases et les lipases, qui détruisent les barrières épithéliales et extracellulaires (Fu, 1997 ; Calderone & Fonzi, 2001). Par ailleurs, *C. albicans* détient des mécanismes d'évasion immunitaire, comme la modification de ses antigènes et la réduction de l'activité phagocytaire des macrophages ainsi que des neutrophiles (Czechowicz, et al., 2022).

I.8.3 Multiplication et survie dans l'hôte

Pour garantir sa survie et sa multiplication dans l'hôte, *C. albicans* utilise différentes stratégies:

- Acquisition de nutriments : Elle prélève du fer et d'autres micronutriments essentiels à sa croissance, notamment par la création de sidérophores et de transporteurs spécifiques.
- Évasion des défenses immunitaires : Elle génère une matrice extracellulaire au sein du biofilm, limite l'accès aux cellules immunitaires et aux antifongiques. En outre, sa capacité à moduler la réponse immunitaire lui permet de persistance dans l'hôte (Czechowicz et al., 2022).
- Production de toxines : Certaines souches de *C. albicans* libèrent des toxines cytolytiques, comme la candidalysine, qui provoquent des dommages aux cellules de l'hôte et favorisent la diffusion du pathogène (Wilson & Hube, 2016).

I.9 Les candidoses

La candidose résulte d'une perturbation de l'équilibre entre la virulence du champignon et les systèmes de défense de l'hôte. Cette perturbation peut être causée par divers facteurs tels que la malnutrition, une infection bactérienne ou virale, ou encore par des modifications de la microflore dues à la prise de médicaments, qui affectent les bactéries commensales aérobies et anaérobies.

Il existe 2 formes cliniques de candidoses: les candidoses superficielles mucocutanées et les candidoses systémiques (Pfaller et al., 2007 ; Lu, 2021).

I.9.1 Les candidoses superficielles mucocutanées

L'altération de l'intégrité cutanée favorise le développement des infections à *Candida*. Ces infections peuvent être déclenchées par des contacts répétés avec l'eau, ou encore par des traumatismes mécaniques ou chimiques. Les atteintes de la cuticule, en particulier, peuvent conduire à des candidoses unguéales, également appelées onychomycoses, causées dans environ 90 % des cas par *C. albicans* (Hay et al., 1988). Par ailleurs, *C. albicans* est impliqué dans les intertrigos, localisés au niveau des grands plis (abdominaux, sous-mammaires, axillaires, interfessiers) et des petits plis (interdigitaux), où l'humidité et la macération créent un environnement favorable à sa prolifération.

I.9.2 Candidose oropharyngée

Également désignée sous le terme de muguet, cette pathologie se manifeste par des taches blanches sur une muqueuse rougeâtre dans la cavité buccale, accompagnées de petites zones ayant un aspect semblable à du « lait caillé ». Les modes d'infection varient selon l'âge :

- Un nourrisson pourrait être infecté en passant par le canal génital d'une mère souffrant de candidose vaginale (Rangel -Frausto et al., 1999).
- Un jeune enfant peut également développer le muguet en étant en contact avec des ustensiles de garde d'enfants et des jouets contaminés par *C. albicans*.
- Les personnes âgées dont les défenses immunitaires sont affaiblies.

I.9.3 Les candidoses œso-gastro- intestinales

Elles sont généralement associées à l'utilisation prolongée d'antibiotiques qui éliminent la flore intestinale bactérienne et favorisent la prolifération de *C. albicans*. Ces candidoses présentent des pseudomembranes blanches adhérent à la muqueuse enflammée, parfois ulcérée, semblable au muguet buccal, on peut les retrouver sur diverses parties du système digestif (œsophage, estomac, intestin). Il est fréquent de retrouver de la levure dans les

excréments (Flattery et al., 1996). Cette infection est généralement liée à un déficit immunitaire sévère (SIDA, agents immunosuppresseurs).

I.9.4 Candidoses vaginales

Les infections vaginales à *Candida* touchent un grand nombre de femmes en bonne santé, en particulier celles en âge de procréer. Parmi les infections fongiques, elles occupent une place particulière : environ 75 % des femmes présentent au moins un épisode de vaginite au cours de leur vie, dont 5 à 10 % développent des formes récidivantes (Mohammed et al., 2017).

Les signes cliniques caractéristiques incluent des démangeaisons, un écoulement vaginal blanchâtre, ainsi qu'une muqueuse érythémateuse recouverte d'une pseudomembrane blanche

De manière générale, les infections superficielles à *Candida* surviennent chez des individus immunodéprimés. Toutefois, cette corrélation ne s'applique pas systématiquement à la vaginite à *Candida*. Celle-ci est souvent associée à l'usage prolongé d'antibiotiques, lesquels entraînent une réduction de la population de lactobacilles constituant la flore vaginale normale. Ce déséquilibre modifie le pH vaginal et crée un environnement propice à la prolifération de *C. albicans* (Czechowicz et al., 2022 ; Fang et al., 2021 ; Lu, 2021).

I.9.5 Les candidoses systémiques

Le terme candidose systémique fait référence à l'implication de plusieurs zones non adjacents, souvent due à une dissémination par voie sanguine à partir de dispositifs intraveineux ou de solutions intraveineuses, ou à une transmission par contact (Sardi et al., 2013).

Cependant, les changements dans la flore digestive causés par la prise d'antibiotiques favorisent le développement rapide de *Candida*, qui envahit les surfaces des muqueuses (Pappu-katikaneni et al., 1990). *Candida* peut alors s'infiltrer dans la zone sous-muqueuse lorsque l'intégrité des barrières est altérée (Kennedy et Volz, 1985).

I.10 Les facteurs de virulence

I.10.1 Capacité d'adhérence

L'adhérence aux tissus de l'hôte est probablement l'étape la plus cruciale dans le développement d'une infection à *Candida*. En effet, une forte adhérence permet au microorganisme de coloniser et d'infecter les tissus de l'hôte, tout en évitant d'être éliminé. Les différentes espèces de *Candida* peuvent adhérer à diverses surfaces, notamment les cellules épithéliales buccales, vaginales et gastro-intestinales (Wilson et al., 2016).

I.10.2 Transition phénotypique ou «switch»

La virulence de *C. albicans* pourrait en effet être liée à sa capacité à passer de la forme blastospore (levure) à la forme hyphe (filamenteuse), une transition phénotypique connue sous le nom de « switch ». Ce phénomène joue un rôle clé dans la capacité de l'organisme à pénétrer dans les tissus hôtes. Après avoir adhéré à l'épithélium, les cellules de *C. albicans* commencent à produire des hyphes, qui se ramifient et libèrent des blastospores, facilitant ainsi l'invasion des tissus. Des études ont démontré que l'adhérence des formes hyphales est supérieure à celle des blastospores (Anderson et Odds, 1985).

I.10.3 Formation du biofilm

Les biofilms sont des communautés de micro-organismes organisées dans un espace tridimensionnel, et sont entourées d'une matrice extracellulaire qui les protège des agents antimicrobiens. Cette caractéristique rend les infections associées aux biofilms particulièrement difficiles à traiter. *C. albicans* peut adhérer à des surfaces biotiques (comme les couches épithéliales muqueuses dans la cavité buccale ou le vagin) et à des surfaces abiotiques (comme les dispositifs prosthétiques ou les matériaux de prothèse dentaire).

Ces biofilms se forment à travers quatre étapes distinctes.

Le processus commence par l'adhérence des cellules de levure sphériques à une surface solide. Une culture de *C. albicans* est déposée sur cette surface pour commencer la phase d'adhésion, qui dure entre 60 et 90 minutes. Ensuite, les cellules qui ne se sont pas fixées ou qui sont à peine liées sont éliminées par un lavage, laissant derrière elles une première couche de cellules solidement ancrées. Ce processus est désigné comme "ensemencement" et est crucial pour un développement adéquat du biofilm.

La deuxième étape implique la multiplication des cellules et le début de la filiation des cellules déjà adhérentes. Par la suite, le biofilm évolue, créant un réseau élaboré formé de plusieurs couches de cellules variées, incluant des cellules hyphales, des cellules pseudohyphales et des cellules levuriformes rondes. Ces cellules sont entourées d'une matrice extracellulaire, donnant au biofilm une structure dense et ordonnée, tout en offrant une protection contre des agressions chimiques et mécaniques (Mayer et al., 2013). Un biofilm mature nécessite généralement environ 24 heures pour se former, apparaissant comme une surface trouble à l'œil nu.

Tout au long de ces phases de développement, le milieu de culture est maintenu en agitation constante pour éviter que les cellules libres ne se déposent sur la surface, ou il est soumis à un flux continu, imitant les conditions que l'on trouve dans les cathéters.

La dernière phase du développement du biofilm est désignée comme "dispersion". À ce moment-là, certaines cellules de levure se détachent du biofilm pour envahir de nouveaux emplacements (Mayer et al., 2013).

I.10.4 Enzymes

La sécrétion d'enzyme hydrolytique au cours de l'infection favorise la virulence en dégradant les surfaces des muqueuses de l'hôte ainsi que ses défenses immunitaires. Ces enzymes sont des aspartyl protéinases (Saps), des phospholipases et des lipases (Fu, 1997).

I.10.5 Interférence avec la phagocytose

C. albicans est capable de produire des peptides acides pouvant inhiber la liaison aux phagocytes et le métabolisme oxydatif. De plus, la levure peut induire l'apoptose des macrophages et des neutrophiles échappant ainsi aux cellules du système immunitaire (Rotstein et Parodo, 2000).

I.10.6 Interférence avec le complément

Les adhésines fongiques (mannoprotéines), apparentées au récepteur CR3 des lymphocytes, peuvent être affines pour certains composants matriciels plasmatiques tels que la fibronectine, mais aussi la fraction C3bi du complément, perturbant ainsi la phagocytose de la levure (Ibata-Ombetta et Idziorek, 2003).

I.11 Les antifongiques et leurs mécanismes d'action

Les antifongiques sont des médicaments utilisés pour traiter les infections fongiques en ciblant spécifiquement la structure et le métabolisme des champignons.

Leur utilisation repose sur plusieurs aspects :

- Le mode d'action.
- Le spectre d'activité.
- Les principaux effets indésirables dans les infections fongiques invasives (Ben-Ami, 2018).

I.12 Mécanismes de résistance aux différents agents antimicrobiens

Un germe est dit résistant à un agent antimicrobien quand la CMI de celui-ci est supérieure à la concentration sanguine maximale médicamenteuse à une posologie standard. Cette résistance peut être naturelle ou acquise. On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à l'antibiotique parce que la cible d'action de celui-ci est absente ou inaccessible. La résistance est dite acquise quand une certaine proportion (parfois très élevée) des souches d'une espèce normalement sensible à

l'antibiotique devient résistante à son action. Pour ce dernier type de résistance, 3 stratégies principales sont connues chez les bactéries, les virus et les champignons : le brouillage, le blindage et le camouflage.

On parle de brouillage quand le germe synthétise des protéines qui peuvent dégrader l'antibiotique et le rendre inefficace par complexation. Il s'agit de camouflage lorsque le germe peut modifier la cible de l'antibiotique si bien que celle-ci n'est pas reconnue, ce qui rend la cellule insensible à cet antibiotique.

Enfin, quand le germe empêche l'accès de l'antibiotique aux cibles intracellulaires soit par modification de la perméabilité membranaire, soit par mise en place d'un système d'expulsion de l'antibiotique via une pompe membranaire qui refoule ce dernier, on parle de blindage.

Le traitement des infections par *C. albicans* reste délicat à cause du phénomène de résistance qui apparaît à la suite d'utilisation prolongée d'agents antifongiques.

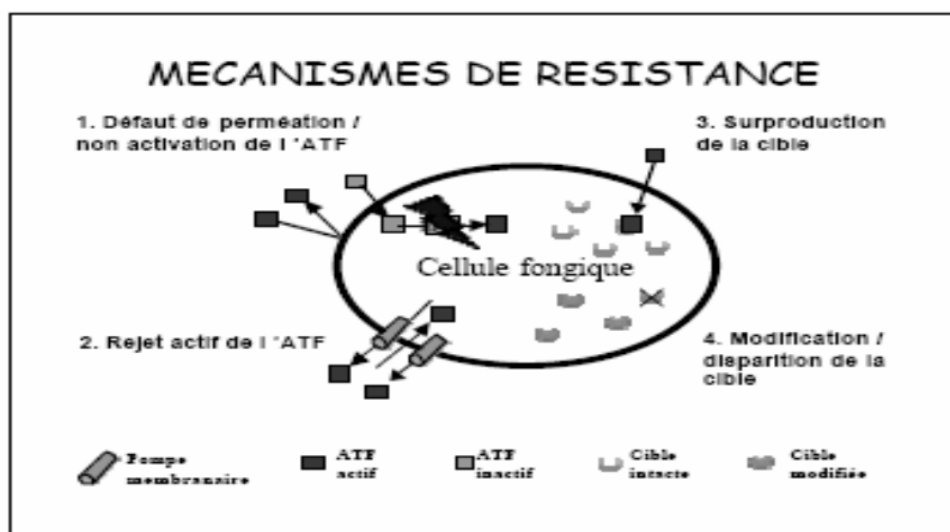


Figure 2: Principaux stratagèmes des mécanismes de résistance contre les différents agents antifongiques d'après (Grillot, 1999)

Chapitre 02

Les plantes médicinales

II.1 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales représentent une source précieuse dans le domaine de la santé, en raison de leur concentration élevée en composés bioactifs aux effets thérapeutiques divers. Depuis des temps anciens, elles sont employées pour prévenir et soigner une variété de maladies, allant des infections légères aux maladies chroniques. Actuellement, l'augmentation des recherches scientifiques permet d'explorer leur potentiel en matière de médicaments et de découvrir de nouvelles molécules aux effets positifs. Cette démarche aide non seulement à mettre en avant les pratiques médicinales traditionnelles, mais également à développer des alternatives aux traitements chimiques, offrant ainsi des opportunités prometteuses pour une approche médicale plus naturelle et durable (Benarba, 2016 ; Sardi et al., 2013)..

II.2 La phytothérapie

La phytothérapie est une méthode de traitement utilisant les plantes (Bruneton, 1993). Elle fait partie de la médecine allopathique et vise à prévenir ou traiter certains troubles fonctionnels et pathologies en employant des végétaux, leurs parties ou des préparations dérivées, que ce soit par ingestion ou application externe (Sticher, 2008).

II.3 Le contrôle des plantes médicinales

Le contrôle des plantes médicinales s'effectue à différents niveaux, en particulier lorsqu'il s'agit de plantes récoltées à l'état sauvage. Ce processus vise à garantir la qualité, l'authenticité et l'innocuité des matières végétales utilisées, tout en permettant la détection d'éventuelles fraudes ou confusions pouvant compromettre leur efficacité ou leur sécurité (Vercauteren, 2012).

II.3.1 Contrôle d'identification

L'identification botanique constitue la première étape essentielle du contrôle. Elle vise à s'assurer de la conformité de la plante, en écartant toute possibilité d'erreur ou de falsification, qu'elle soit involontaire (confusion d'espèces) ou délibérée (adjonction de substances étrangères).

II.3.2 Contrôle botanique

Ce contrôle repose sur une double approche :

- Analyse macroscopique : elle consiste en l'observation des caractères morphologiques et organoleptiques (couleur, odeur, goût, texture) de la plante à l'œil nu.
- Analyse microscopique : elle permet de visualiser des structures cellulaires spécifiques, utiles pour confirmer l'identité de l'espèce.

- Une fois l'espèce authentifiée, sa dénomination se fait selon la nomenclature binomiale latine. Bien que les sens humains soient sollicités dans l'analyse sensorielle, des examens microscopiques s'avèrent indispensables pour renforcer la fiabilité du diagnostic botanique.

II.3.3 Contrôle chimique

Ce contrôle a pour objectif d'évaluer la composition chimique des drogues végétales, notamment en détectant les métabolites secondaires responsables de l'activité pharmacologique. L'attention est portée sur le principe actif ou, à défaut, sur un principe traceur, substance sans effet thérapeutique direct mais représentative de l'identité chimique de la plante (Bruneton, 1993).

II.3.4 Contrôle de qualité

La qualité globale des plantes médicinales dépend de plusieurs facteurs : conditions de culture ou de cueillette, techniques de séchage, modalités de stockage et respect des délais de conservation. Toute négligence à ces niveaux peut altérer la composition chimique de la plante, réduisant ainsi son efficacité thérapeutique. Une récolte mal conduite, un séchage incomplet, un entreposage inadapté ou encore l'utilisation de plantes dégradées sont autant de causes possibles de détérioration de la qualité (Ríos, 2015).

II.4 Définition des plantes médicinales

Utilisées en médecine traditionnelle, les plantes médicinales sont reconnues pour les propriétés thérapeutiques que certaines d'entre elles possèdent. Leur efficacité est attribuée à la présence de composés bioactifs, qu'il s'agisse de métabolites primaires ou secondaires, ou encore à la synergie entre ces différents constituants (Vercauteren, 2012).

Ces plantes sont sélectionnées pour leurs vertus spécifiques, bénéfiques à la santé humaine, et peuvent être administrées sous diverses formes telles que la décoction, l'infusion ou la macération. Selon l'usage, différentes parties de la plante : racines, feuilles ou fleurs, peuvent être utilisées (Dutertre, 2011).

II.5 Plantes médicinales locales

L'Algérie se distingue par sa grande superficie, étant le plus grand pays du bassin méditerranéen, d'Afrique et du monde arabe, avec une étendue d'environ 2,4 millions de km² et un littoral s'étendant sur 1 600 km. La diversité de ses climats favorise une richesse floristique remarquable, contribuant à une biodiversité exceptionnelle (Benarba, 2016).

La diversité de la flore médicinale algérienne est remarquable, avec plus de trois mille espèces utilisées en médecine traditionnelle et moderne. Peu après l'indépendance, le pays comptait déjà plus de six cents espèces de plantes médicinales et aromatiques. Le massif du Hoggar, qui s'étend sur environ 480 km², abrite une flore de trois cents espèces, dont plus d'un quart sont employées en médecine traditionnelle, tandis qu'environ quatre-vingts présentent un potentiel d'utilisation alimentaire (Ararem et Bensaada, 2020).

Les plantes médicinales et aromatiques d'Algérie sont réparties géographiquement, avec une concentration principale dans les régions de la Mitidja, de l'Atlas tellien, des Hauts plateaux et du Sahara (Ararem et Bensaada, 2020).

II.6 Les principes actifs des plantes médicinales

Les principes actifs des plantes médicinales sont des composés biochimiques naturels auxquels sont attribuées leurs propriétés thérapeutiques. Présents en quantités variables selon l'organe végétal utilisé (feuilles, racines, fleurs, etc.), ces substances exercent des effets spécifiques sur l'organisme. Leur origine réside dans le métabolisme de la plante, qui produit deux grandes catégories de molécules :

II.6.1 Les métabolites primaires

Il s'agit de molécules organiques indispensables au bon fonctionnement des cellules végétales. Ils interviennent dans les processus fondamentaux de croissance, de développement et de reproduction de la plante. Parmi ces composés figurent les glucides, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (Chaachouay, 2020).

II.6.2 Les métabolites secondaires

Ce sont des molécules complexes issues des métabolites primaires ou de leurs produits intermédiaires. Bien qu'ils ne soient pas directement impliqués dans les fonctions vitales de la plante, ils jouent un rôle clé dans sa défense et sont responsables de ses propriétés thérapeutiques (Li et al., 2020 ; Singh, 2015).

II.7 Types et origine des métabolites secondaires

Ces métabolites secondaires se caractérisent généralement par leur présence en faibles concentrations dans les tissus végétaux (habituellement quelques pourcentages du carbone total, à l'exception de la lignine) et leur accumulation est souvent réalisée dans des cellules ou organes spécialisés.

Il est possible de distinguer trois catégories de métabolites secondaires :

II.7.1 Les terpènes

Avec plus de 25000 variantes, les terpènes représentent la catégorie la plus significative de métabolites secondaires. Produits naturellement par les plantes, ils se distinguent par leur volatilité et leur forte odeur. Ils donnent aux fleurs les parfums qui les caractérisent. En outre, ils jouent de nombreux autres rôles dans des processus comme la photosynthèse (en tant que composants de la chlorophylle) et la photoprotection (caroténoïdes).

II.7.2 Composés phénoliques

Les phénols forment un groupe varié et omniprésent de métabolites secondaires. Plus de 10000 composés différents font partie de cette catégorie et sont largement répandus dans le règne végétal. La variété des composés phénoliques va d'entités simples (flavonoïdes, acides phénoliques, phénylpropanoïdes) à des molécules très polymérisées (lignine, tanins, mélanines). Les composés phénoliques sont synthétisés en réponse à différents stress abiotiques ou biotiques. Ils sont souvent produits en réaction à des attaques de pathogènes et d'insectes, à des températures élevées ou à une exposition excessive à des longueurs d'onde de lumière nuisibles (Kabera et al., 2014).

II.7.3 Composés azotés ou alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés naturels contenant de l'azote, basiques et présentant une forte activité biologique, et sont souvent toxiques. Ils sont principalement extraits de plantes à fleurs (représentant 8,7% des Phanérogames et Dicotylédones). Les alcaloïdes sont fréquemment localisés dans une zone précise de la plante : par exemple, la réserpine de *Rauwolfia* se trouve dans la racine, la quinine du *Cinchona* est extraite de l'écorce.

II.8 Définition et origine des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatils et hydrophobes, appréciés depuis l'Antiquité pour leurs multiples propriétés. Elles sont utilisées à des fins médicales, cosmétiques, antiseptiques, anti-inflammatoires, sédatives ou encore comme anesthésiques locaux. Elles trouvent également des applications en parfumerie, dans la conservation des aliments, ainsi que dans des approches modernes de bio-contrôle (Ríos, 2015).

Selon la *Pharmacopée Européenne (VI^e édition)*, une huile essentielle est définie comme « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, distillation

sèche ou un procédé mécanique sans chauffage, et séparé de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de modification significative de sa composition ».

Ces extraits sont issus de plus de 17 500 espèces de plantes aromatiques, appartenant principalement aux familles des *Lamiaceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Zingiberaceae* et *Asteraceae* (Zabka & Pavela, 2018). Les huiles essentielles sont produites dans différentes parties des plantes : fleurs (jasmin, rose), bourgeons (girofle), feuilles (thym, eucalyptus), fruits (anis, badiane), écorce (cannelle), zestes (agrumes), graines (cardamome), bois (santal), rhizomes et racines (gingembre) (Ríos, 2015 ; Bruneton, 1993).

La biosynthèse des huiles essentielles s'effectue dans des structures végétales spécialisées appelées tissus sécrétoires. Ces structures peuvent être :

- **Externes**, comme les *trichomes glandulaires* ou *papilles épidermiques* (notamment chez les *Lamiaceae*) ;
- **Internes**, comme les *canaux sécrétoires* (fréquents chez les *Apiaceae*), les *poches schizogènes* où les huiles s'accumulent dans les espaces intercellulaires ;
- Ou encore des *cellules à sécrétion intracellulaire* où elles sont stockées dans les vacuoles.

II.9 Fonctions physiologiques et écologiques

Le rôle physiologique des huiles essentielles dans la plante reste encore partiellement élucidé. Néanmoins, plusieurs études suggèrent qu'elles participent activement à la défense de la plante contre les agressions biotiques et abiotiques. Elles peuvent moduler le comportement des prédateurs, inhiber la germination ou la croissance de plantes concurrentes par effet allélopathique, et protéger les tissus végétaux contre les stress oxydatifs (Bakkali et al., 2008)

Par ailleurs, certaines huiles essentielles jouent un rôle écologique important, en attirant les insectes pollinisateurs, en favorisant la dispersion des graines ou en repoussant les herbivores (Dudareva et al., 2013). Leur biosynthèse est localisée dans des structures végétales spécifiques, dont la nature varie selon l'espèce aromatique concernée.

II.10 Effet antimicrobien

L'effet antimicrobien des huiles essentielles est bien documenté depuis les premières recherches de Gattefossé en 1919, qui a montré l'efficacité d'une émulsion d'HE de pin contre le bacille de Koch. Depuis, d'autres études ont confirmé l'activité antimicrobienne des HE, notamment contre les germes résistants aux antibiotiques, avec un large spectre d'action, couvrant les bactéries, levures, moisissures et même certains virus (Beylier-Maurel, 1976). Ces propriétés confèrent aux huiles essentielles un potentiel thérapeutique important pour lutter contre diverses infections microbiennes.

II.11 Effet antifongique

De nombreuses huiles essentielles ont été testées *in vitro* sur différentes souches de levures, et la plupart ont révélé une activité antifongique efficace à des concentrations exploitables en clinique. Par exemple, l'HE d'*Origanum vulgare* présente une action antifongique contre les dermatophytes à des concentrations aussi faibles. Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles pourraient être utilisées de manière avantageuse pour traiter des mycoses cutanées (Benziane et al., 2023 ; Ermenlieva et al., 2022)..

II.12 Toxicité et limites d'utilisation des huiles essentielles

Bien que les huiles essentielles soient souvent perçues comme des produits naturels, elles peuvent présenter des risques de toxicité. En tant que molécules actives, elles peuvent provoquer des effets secondaires graves, telles que des réactions allergiques ou de l'hypersensibilité. Certaines huiles essentielles peuvent être neurotoxiques en raison des cétones, néphrotoxiques à cause des terpènes, ou hépatotoxiques à cause des phénols (Larbi et al., 2014). Elles peuvent également entraîner des intoxications aiguës, en particulier chez les jeunes enfants, en cas d'ingestion excessive (Laib, 2011). Il est donc essentiel de respecter scrupuleusement la posologie et la durée d'utilisation pour minimiser ces risques.

Les huiles essentielles présentent également certaines limitations liées à leur composition chimique. L'exposition à l'oxygène peut entraîner l'oxydation de certains composés, tels que les alcènes, produisant des substances allergènes comme le β -myrcène oxydé. De plus, l'exposition à la chaleur peut accélérer des réactions chimiques endothermiques, tandis que la lumière, et plus particulièrement les UV, favorise la formation de radicaux libres d'oxygène. Ces radicaux peuvent dégrader l'huile essentielle. (Tisserand et Young, 2014).

II.13 Procédés d'obtention

II.13.1 Expression à froid

L'expression à froid désigne une méthode mécanique qui n'implique aucune source de chaleur, généralement utilisée pour les fruits d'agrumes. Une pression est appliquée sur le fruit, provoquant l'éclatement des cellules et la libération de l'huile essentielle présente dans la peau ou le zeste. L'huile essentielle qui est libérée est entraînée par un flux d'eau, ce qui crée une émulsion. L'extraction de l'essence se réalise par un processus de décantation simple

II.14 La distillation

II.14.1 hydrodistillation

Dans un premier récipient, la matière végétale et l'eau sont chauffées ensemble, ce qui permet à la vapeur et aux extraits de plantes d'être refroidis dans un condenseur à eau, et ils sont finalement collectés dans un récipient à décanter. Le contact direct entre l'eau et les plantes pendant le processus de chauffage favorise la modification des substances aromatiques, en particulier des esters (Roohinejad et al., 2017).

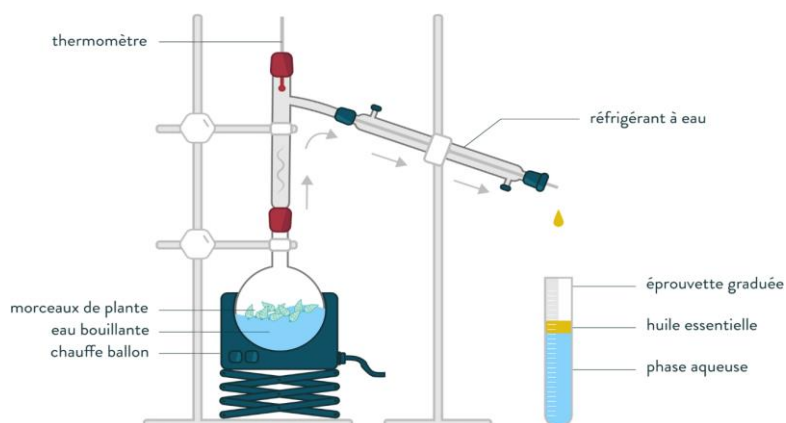


Figure 3: Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation.

II.15 Autres méthodes

II.15.1 Extraction par micro-ondes

Au début des années 1990, une méthode innovante a vu le jour, connue sous le nom d'hydrodistillation par micro-ondes sous vide. Dans cette méthode, la matière végétale est soumise à un chauffage par micro-ondes dans une enceinte close où la pression est progressivement abaissée. Les éléments volatils sont entraînés par la vapeur d'eau générée par l'eau pure présente dans la plante. Par la suite, ils sont recueillis à l'aide des techniques traditionnelles de condensation, de refroidissement et de décantation (Roohinejad et al., 2017).

II.15.2 Hydro diffusion pulsée

Semblable à la méthode de distillation utilisant de la vapeur d'eau, ce processus exploite également la vapeur d'eau pour extraire les composés d'intérêt. Cependant, contrairement à la distillation, la vapeur est injectée de haut en bas, sous une pression faible, à travers la matière végétale. Cela conduit à l'extraction de certains éléments non volatils, ce qui fait que le produit obtenu ne peut pas être qualifié d'huile essentielle, mais plutôt d'«

essence de percolation ». L'hydrodiffusion permet une extraction plus rapide et moins coûteuse en énergies, bien que cela puisse nuire à la qualité du produit final.

II.16 Monographie de la plante choisie : *Origanum glandulosum*

II.16.1 Origine et aspect botanique

Le genre *Origanum* (famille des *Lamiaceae*) comprend environ 38 espèces réparties dans les régions méditerranéennes, euro-sibériennes et irano-sibériennes. Cependant, près de 75 % de ces espèces se concentrent principalement autour du bassin méditerranéen, en particulier dans sa partie orientale (Şahin et al., 2004). Le nom "origan" provient des mots grecs *oros* et *genos*, signifiant "éclat des montagnes" (Meddour et al., 2011). Parmi ces espèces, *O. vulgare* ssp. *glandulosum* (Desf.), également connu sous le synonyme *O. glandulosum* Desf., est une plante endémique d'Afrique du Nord, que l'on trouve en Algérie et en Tunisie (Ietswaart, 1980).

II.17 Classification botanique de l'Origan

Selon la flore de Quezel et Santa, la classification botanique d'*Origanum* est la suivante :

Tableau 1 : Classification botanique de l'*O. glandulosum*

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées (anciennement Labiées)
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum glandulosum</i> Desf. (ou <i>Origanum vulgare</i> L. ssp. <i>glandulosum</i> (Desf.) Lets.)

II.18 Description botanique de *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) Lets.

O. vulgare L. ssp. *glandulosum* (Desf.) Lets. est une plante vivace et sarmenteuse (Figure 4), à port sous-arbustif. Elle forme des touffes d'un diamètre de quelques centimètres et atteint une hauteur comprise entre 30 et 60 cm. Les caractéristiques permettant de reconnaître cette plante sont les suivantes : les tiges sont dressées, avec des épis denses, et les fleurs restent contiguës après la floraison. Le calice est tubuleux, avec cinq dents courtes, bilabiées ou non.

La corolle est blanche ou rosée, avec une lèvre supérieure émarginée et une lèvre inférieure trilobée, nettement plus longue que la lèvre supérieure (Quézel & Santa 1962).

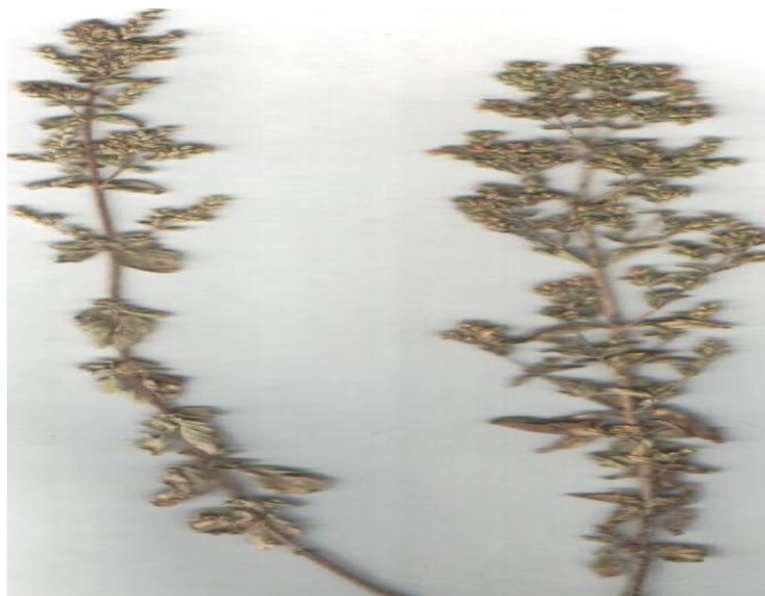


Figure 4: Rameau de l'*O. vulgare* L. Ssp *glandulosum* (Desf.) Letswaart.

II.19 Composition phytochimique des huiles essentielles d'Origan

L'origan produit une huile essentielle (au moins 25 ml/kg), principalement riche en thymol et/ou en carvacrol. La composition chimique de cette huile varie en fonction du chémotype et de la période de récolte. Le carvacrol est généralement le composé majoritaire, représentant entre 40 et 70 % de l'huile essentielle. Il est accompagné d'autres composés tels que l' α -terpinène (8-10 %), le p-cymène (5-10 %), ainsi que le myrcène, le limonène, l'ocimène, le caryophyllène, le β -bisabolène, le germacrène, l' α -pinène, le camphène, le γ -terpinène et le β -phellandrène (Mockute et al., 2001).

II.20 Composition phénolique

Les composés phénoliques se caractérisent par la présence d'au moins un noyau benzénique lié à un groupe hydroxyle, sous forme libre ou lié à d'autres fonctions (éther, ester, hétéroside) (Bruneton, 1993). Cinq composés phénoliques ont été identifiés dans les extraits d'origan, à savoir : l'Acide 2,5-dihydroxybenzoïque, l'Acide 3,4-dihydroxybenzoïque, l'Acide rosmarinique, l'Origanoside et le Maltol 60-O-(5-O-pcoumaroyl)- β -D-apiofuranosyl- β -D-glucopyranoside (Zhang et al., 2014).

II.21 Activités biologiques

II.21.1 Activité antibactérienne

L'huile essentielle d'*O. glandulosum* a démontré une activité antibactérienne notable, notamment contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Elle s'est révélée plus efficace contre *E. coli*, en particulier lorsqu'elle est riche en thymol. L'action contre *S. aureus* est moins marquée. Cette activité est principalement attribuée aux composés phénoliques présents dans l'huile essentielle (Kaloustian et al., 2008).

II.21.2 Activité antifongique

À une concentration de 0,25 mg/mL, l'huile essentielle inhibe complètement la croissance de *C. albicans in vitro*, en bloquant à la fois la croissance mycélienne et la formation des tubes germinatifs. Le carvacrol, un de ses constituants majeurs, présente une activité antifongique similaire. In vivo, chez la souris, l'huile essentielle s'est révélée 100 fois plus efficace que l'acide caprylique contre *C. albicans* (Khosravi et al., 2011).

II.21.3 Activité antiparasitaire

L'administration orale de 600 mg d'huile essentielle en émulsion a permis l'élimination complète de certains parasites intestinaux (Goetz et Ghedira, 2012).

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

I. Matériel et méthodes

I.1 Objectif et lieu d'étude

Ce travail a été réalisé dans le but d'extraire l'huile essentielle d'une plante médicinale sélectionnée, puis d'évaluer son effet antifongique, antibiofilm et anti-enzymatique sur deux souches de référence de *Candida albicans*. L'étude a été conduite au sein du Laboratoire de microbiologie de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, sur une période d'un mois allant du 8 avril au 15 mai 2025.

I.2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) de la plante *Origanum glandulosum* (Figure 5), une espèce endémique de la région méditerranéenne algérienne. Les échantillons ont été récoltés manuellement par notre encadrante Dr. Benmessaoud Amel, en pleine floraison, entre juin et juillet 2024, dans la région de la Grande Kabylie (Wilaya de Tizi-Ouzou), au nord de l'Algérie, plus précisément dans la localité de Tikidount (commune de Ouassif), reconnue pour la richesse de sa flore aromatique et médicinale.

Les parties aériennes de la plante ont été récoltées une seule fois au cours de la période de floraison. Après la cueillette, les échantillons ont été transportés dans des sacs en papier, puis laissés à sécher à l'ombre, dans un endroit sec, aéré et à température ambiante, afin de préserver leurs principes actifs. Une fois séchée, la plante a été conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'étape d'extraction.



Figure 5: *Origanum glandulosum*

I.3 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure 6). Pour chaque extraction, 100 g de plante sèche ont été introduits dans un ballon de distillation, avec l'ajout de 1000 ml d'eau distillée. L'ensemble a été porté à ébullition douce pendant 3 h (Khosravi et al., 2011). La vapeur d'eau entraînant les composés volatils a été dirigée vers un réfrigérant, où elle s'est condensée. L'huile essentielle a ensuite été récupérée dans la partie supérieure du récepteur Clevenger, selon le principe de la décantation naturelle, l'huile étant moins dense que l'eau.

L'huile obtenue a été soigneusement récupérée à l'aide d'une pipette Pasteur, puis séchée sur un agent déshydratant, le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), afin d'éliminer toute trace d'eau résiduelle. Elle a ensuite été stockée dans des flacons en verre ambré, hermétiquement fermés, et conservée à une température de 4 °C, à l'abri de la lumière, jusqu'à son utilisation dans les analyses antifongiques et antibiofilm (Ed-Dra et al., 2019).

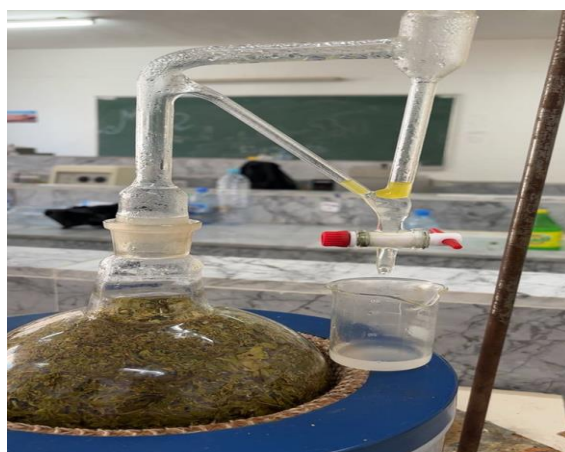


Figure 6: Dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger

I.3.1 Calcul du rendement

Le rendement de l'huile essentielle a été exprimé en pourcentage volumique par rapport à la masse de matière végétale sèche (Selles et al., 2020):

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Volume de l'huile essentielle (ml)} / \text{Masse de plante sèche (g)}) \times 100$$

I.4 Evaluation de l'activité antifongique

I.4.1 Matériel fongique

Deux souches de référence de *C. albicans*, ATCC 10231 et ATCC 10237, ont été utilisées dans cette étude. Ces souches ont été conservées à -20 °C dans un cryotube

contenant un mélange de glycérol stérile et de bouillon Sabouraud, assurant leur viabilité à long terme.

Avant chaque expérimentation, un pré-enrichissement a été réalisé afin d'activer la croissance cellulaire. Pour cela, une aliquote de la souche conservée a été inoculée dans un milieu liquide nutritif (bouillon Sabouraud) et incubée à 37 °C pendant 24 h (Figure 7). Cette étape permet d'optimiser la reprise métabolique et d'assurer une culture active avant l'ensemencement sur des milieux solides ou la réalisation des tests.

Un contrôle de pureté a ensuite été effectué. Les colonies obtenues sur gélose Sabouraud ont été observées à l'œil nu pour évaluer leur aspect macroscopique, puis examinées au microscope optique après une coloration au bleu de méthylène.

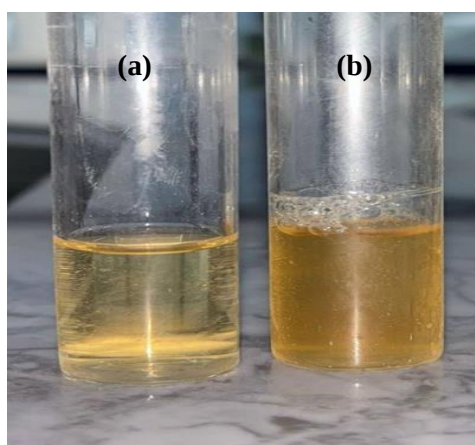


Figure 7: Pré enrichissement des souches.

(a) : avant incubation ; (b) : après 24h d'incubation

I.4.2 Aromatogramme

L'activité antifongique de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* a été évaluée *in vitro* à l'aide de la méthode de diffusion sur disque en milieu solide.

Le milieu de culture utilisé était la gélose Sabouraud additionnée de dextrose (Sabouraud Dextrose Agar, SDA), préparée conformément aux recommandations du fabricant, puis distribuée aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles (20 ml par boîte). Après solidification, la surface du milieu a étéensemencée de manière homogène à l'aide d'un écouvillon stérile, préalablement imprégné d'une suspension jeune de *C. albicans*, ajustée à une turbidité de 0.5 McFarland. Après ensemencement, des disques de papier filtre stériles (Whatman, diamètre 6 mm) ont été imprégnés de 5 µl d'huile essentielle pure, puis déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24h (Benziane et al., 2023).

L'activité antifongique de l'huile essentielle a été évaluée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition formées autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse. L'apparition d'une zone claire dépourvue de croissance fongique traduit une action inhibitrice de l'huile essentielle sur la souche testée.

I.4.3 Détermination de la concentration minimal inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle d'*O. glandulosum* vis-à-vis de *C. albicans* a été déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide, conformément au protocole décrit par El-Baz et al. (2021), avec quelques modifications. Des solutions mères d'huile essentielle ont été préparées à une concentration de 8 mg/ml dans un bouillon YPD (Yeast Peptone Dextrose), complété par 0,5 % (v/v) de Tween 80 afin de favoriser la solubilisation de l'huile dans le milieu. Des dilutions de 1/2 successives ont été réalisées directement dans des microplaques stériles à 96 puits (Figure 8), afin d'obtenir une gamme de concentrations finales allant de 4 à 4000 µg/ml.

Une suspension de levures a été préparée à partir des colonies fraîches, et la turbidité ajustée à une concentration de 10^6 UFC/ml, puis diluée au 1/100 dans le bouillon YPD afin d'obtenir une concentration finale de 10^4 UFC/ml. À chaque puits de la microplaque, 100 µl de la suspension fongique diluée ont été ajoutés à chaque dilution de l'huile essentielle. Les plaques ont été ensuite incubées à 37 °C.

Après 22 h d'incubation, 40 µl d'une solution de chlorure de triphenyltetrazolium (TTC) (2 mg/ml) ont été ajoutés à chaque puits, suivis d'une incubation supplémentaire de 2 h. Le TTC est un indicateur redox incolore à l'état oxydé, qui est réduit en formazan rouge en présence de cellules métaboliquement actives. Ainsi, l'apparition d'une coloration rouge indique la présence de cellules viables, tandis que l'absence de coloration traduit une inhibition de la croissance (Lakhdar et al., 2017).

La CMI a été déterminée comme étant la plus faible concentration de l'extrait pour laquelle aucun changement de couleur (absence de rouge) n'a été observé.

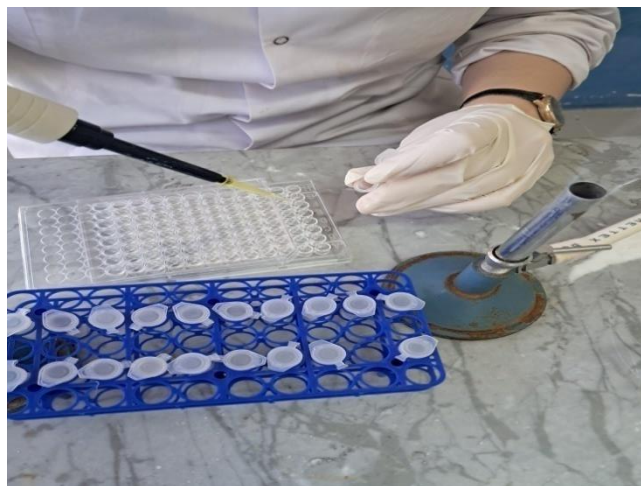


Figure 8: Détermination de la CMI par microdilution.

I.4.4 Détermination de la concentration minimal bactéricide

Les concentrations minimales fongicides (CMF) ont été déterminées après la mesure de la CMI. Les puits ne montrant aucune croissance visible ont été prélevés aseptiquement, puis repiqués sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Sabouraud Dextrose. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h. La CMF est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle ne permettant aucune croissance fongique sur gélose (Hsu et al., 2013).

I.4.5 Détermination de l'activité antibiofilm

L'activité antibiofilm des huiles essentielles a été évaluée à l'aide de la méthode de microdilution en milieu liquide. Des volumes de 100 µl d'huiles essentielles à des concentrations allant de $CMI \times \frac{1}{2}$ à $CMI \times 8$, ont été ajoutés dans les puits d'une microplaque contenant 100 µl d'une suspension de *C. albicans*. Les plaques ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 48 h (El-Baz et al., 2021).

Pour quantifier les biofilms un mélange de 100 µl de milieu YPD et de 20 µl d'une solution de résazurine à 0,01 % (p/v) a été ajouté dans chaque puits de la microplaque. Les plaques ont ensuite été couvertes d'une feuille d'aluminium et incubées à 37 °C pendant 24 h.

La concentration minimale inhibitrice du biofilm (CMIB) correspond à la plus faible concentration de l'huile essentielle empêchant la réduction de la résazurine (bleue) en résorufine (rose), ce qui indique une inhibition de l'activité métabolique des cellules formant le biofilm (Benziane et al., 2023).

I.4.6 Évaluation de l'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle

Pour évaluer l'effet inhibiteur de l'huile essentielle d'*O. gludulosum* sur la production d'hémolysine par *C. albicans*, le milieu Sabouraud agar supplémentés avec 5 % de sang de mouton a été préparé (Figure 9) (Annexe). Une suspension standardisée de *C. albicans* a été préincubée pendant 1 h avec l'huile essentielle à une concentration sub-inhibitrice (CMI, CMI x ½). Ensuite, un volume de 5 µl de ce mélange a été inoculé au centre de la boîte. Après incubation à 37 °C pendant 48 à 72 h, l'activité hémolytique a été évaluée par la présence d'une zone claire autour de la colonie. L'indice Hz a été calculé en divisant le diamètre de la colonie par le diamètre total de la zone d'hémolyse.

L'interprétation des résultats s'est basée sur une échelle contractuelle selon laquelle une valeur de Hz égale à 1 indique une absence d'activité hémolytique. Des valeurs comprises entre 0,90 et 0,99 traduisent une activité très faible, entre 0,80 et 0,89 une activité faible, entre 0,70 et 0,79 une activité modérée, entre 0,60 et 0,69 une activité forte, et inférieures à 0,59 une activité très forte (Hekmatpanah et al., 2022).



Figure 9: Préparation du milieu pour l'activité hémolytique.

Résultats et discussion

I. Résultats et discussion

II.1 Rendement et caractérisation sensorielle de l'huile essentielle

Le Tableau 2 montre que l'huile essentielle obtenue est de couleur jaune pâle, avec une odeur forte, aromatique et légèrement piquante, typique des huiles riches en carvacrol, thymol et autres composés phénoliques à activité biologique élevée.

Le rendement obtenu est relativement élevé, avec une moyenne de $4,16 \% \pm 0,59$, ce qui témoigne d'une bonne richesse en composés volatils. Le taux d'extraction varie considérablement d'un échantillon à un autre. Cette variabilité du rendement est influencée par divers facteurs naturels ou expérimentaux (Lakhrissi et al., 2016; Messaoudi et al., 2022; Selles et al., 2020).

Tableau 2 : Rendement et caractères sensorielles.

Huile essentielle	<i>O. glandulosum</i>
Couleur	Jaune foncé
Odeur	Aromatique forte
Rendement (%)	4.16 ± 0.59

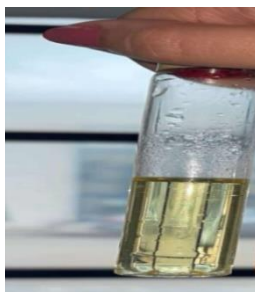


Figure 10: Huile Essentielle d'*O. glandulosum*

Ce taux de rendement dans notre étude dépasse largement les valeurs généralement rapportées dans la littérature pour cette espèce. Selon Benmalek et al. (2018), un rendement compris entre 0,8 % et 2,1 % est considéré comme satisfaisant.

Comparativement, Mahfouf (2018) a rapporté un rendement de seulement 1,15 % pour l'origan d'Algérie, ce qui met en évidence la richesse particulière de notre échantillon en composés volatils. De plus, l'étude menée par Mechergui et al. (2010) sur des populations d'*O. vulgare* de Tunisie indique des rendements nettement inférieurs, oscillant entre 0,1 % et 0,7 %.

II.2 Activité antifongique

II.2.1 Confirmation de la pureté de souches testées

Après incubation, des colonies caractéristiques de *C. albicans* ont été observées sur milieu sabouraud ; crémeuses, bombées, opaques et de couleur blanc cassé à beige, bien séparées les unes des autres, permettant ainsi une confirmation visuelle de la pureté et de la viabilité des cultures (Figure 11).



Figure 11: Colonies de *C. albicans* sur milieu Sabouraud.

II.2.2 Aromatogramme

L'huile essentielle d'*O. glandulosum* a montré une bonne activité antifongique contre les souches de *C. albicans*. Une zone claire d'inhibition a été observée autour des disques, indiquant une inhibition de la croissance du champignon (Tableau 3 et Figure 12). Pour la souche ATCC 10231, le diamètre moyen de la zone d'inhibition était de $66,7 \pm 0,58$ mm, et pour la souche ATCC 10237, il était de $58,3 \pm 0,29$ mm. Ces résultats, obtenus après trois répétitions, montrent que l'huile essentielle est efficace, avec peu de variation entre les deux souches.

Tableau 3 : Diamètre des zones d'inhibition obtenues après l'aromatogramme.

<i>C. albicans</i>	DZI (mm)
ATCC 10231	66.7 ± 0.58
ATCC 10237	58.3 ± 0.29

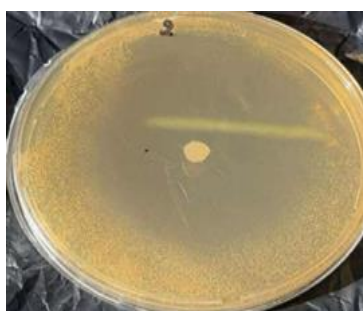


Figure 12: Diamètre des zones d'inhibition de l'huiles vis-à-vis *C. albicans*.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux antérieurs. En effet, Mutai et al. (2009) ont rapporté une forte efficacité antifongique, avec des zones d'inhibition atteignant jusqu'à 69 mm. Ces résultats confirment le fort potentiel inhibiteur de cette huile essentielle vis-à-vis de levures pathogènes.

Cependant, d'autres études ont observé des valeurs plus modestes. Benziane et al. (2023) ont, par exemple, rapporté des zones d'inhibition comprises entre 21 et 37 mm, selon les souches cliniques testées. De même, Bhat et al. (2018) ont obtenu une zone d'inhibition moyenne de 30 ± 3 mm. Ces différences peuvent être dues à la composition chimique de l'huile essentielle, à la concentration utilisée ou encore aux caractéristiques propres à chaque souche de *C. albicans* (Mekki et al., 2019).

II.2.3 Détermination des CMI et CMF

L'huile essentielle d'*O. glandulosum* a montré une forte activité antifongique contre les deux souches de *C. albicans* testées (Tableau 4).

Les résultats indiquent que la CMI est de 250 µg/ml pour la souche ATCC 10231 et de 125 µg/ml pour la souche ATCC 10237. Ces faibles valeurs montrent que de petites quantités d'huile essentielle suffisent à inhiber complètement la croissance fongique, traduisant ainsi une grande efficacité antifongique. Cependant, les CMF étant supérieures à 4 µg/ml indiquent un effet fongistatique sur les deux souches testées.

Tableau 4 : CMI et CMF obtenues après microdilution.

<i>C. albicans</i>	CMI (µg/ml)	CMF (µg/ml)	Interpretation
ATCC 10231	250	> 4000	Fongistatique
ATCC 10237	125	> 4000	Fongistatique

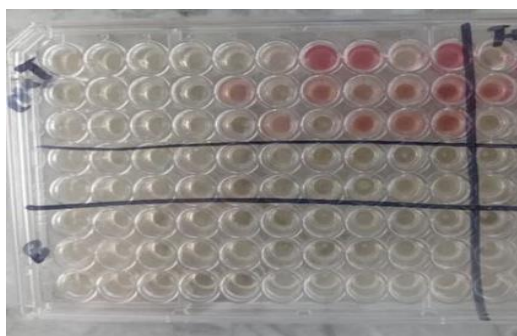


Figure 13: Détermination des CMI.

Les résultats indiquent que les deux souches testées ont réagi favorablement à l'huile essentielle, entraînant une inhibition totale de leur croissance à de faibles concentrations. D'autres études ont démontré que l'huile d'*O. glandulosum* présente une activité antifongique marquée, principalement en raison de sa concentration élevée en composés phénoliques comme le carvacrol et le thymol, qui influencent sur la perméabilité des membranes des cellules fongiques. Ces conclusions sont en accord avec celles de Bounatirou et ses collègues (2007), qui ont noté une inhibition significative de la croissance de *C. albicans* grâce à cette huile. La réaction des souches de référence ATCC 10231 et ATCC 10237 face à de faibles niveaux d'huile montre un potentiel inhibiteur élevé, corroborant ainsi les recherches de Razzaghi-Abyaneh et al. (2011), mettant en avant l'intérêt thérapeutique des huiles essentielles pour combattre les infections fongiques. Cependant, les niveaux élevés de concentration minimale fongicide (CMF), supérieurs à 4000 µg/ml, suggèrent que l'huile ne peut pas éliminer totalement les levures, agissant plutôt de manière fongistatique. Cette observation est cruciale, surtout dans un cadre clinique, où une activité létale est souvent nécessaire pour traiter les infections systémiques chez les patients ayant un système immunitaire affaibli.

II.2.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des biofilms

L'huile essentielle d'*O. glandulosum* a démontré une activité inhibitrice marquée sur le biofilm de *C. albicans*, comme l'indiquent les faibles valeurs de CMIB obtenues (Tableau 5, Figure 14). La concentration minimale inhibitrice sur biofilm est de 250 µg/ml pour la souche ATCC 10231 et de 250 µg/ml pour la souche ATCC 10237. Ces résultats révèlent une efficacité antifongique significative de l'huile essentielle, même à très faibles concentrations, contre des structures fongiques organisées en biofilm.

Tableau 5 : les CMI des biofilm de l'huile essentielle.

<i>C. albicans</i>	CMIB (µg/ml)
ATCC 10231	250
ATCC 10237	250

CMIB : Concentration minimale inhibitrice des biofilms.



Figure 14: détermination des CMI des biofilms

Les données obtenues montrent que l'huile essentielle d'*O. glandulosum* possède une activité antifongique remarquable contre les biofilms de *C. albicans*. Les CMIB ont été estimées à 250 µg/ml pour les deux souches testées, ATCC 10231 et ATCC 10237. Ces résultats confirment l'efficacité de cette huile même contre les formes organisées et résistantes que sont les biofilms. Par comparaison, Benziane et al. ont rapporté des CMIB de 500 µg/ml, ce qui suggère que l'huile d'*O. glandulosum* utilisée dans notre étude est plus active. Cette différence pourrait être liée à une variation dans la composition chimique de l'huile essentielle ou aux souches testées.

Il convient de noter que les biofilms représentent une importante forme de résistance aux traitements antifongiques, en raison de leur capacité à capturer les agents antimicrobiens et à protéger les cellules fongiques internes. Le fait que l'huile essentielle soit efficace à des concentrations très faibles contre ces structures indique une pénétration élevée et/ou une action ciblée sur les mécanismes de survie du biofilm, tels que la perturbation de la membrane, la dégradation de la matrice extracellulaire ou l'inhibition de voies métaboliques cruciales (Sardi et al., 2013).

II.2.5 Détermination de l'activité anti-hémolytique de l'huile essentielle

Les résultats de l'indice Hz montrent que l'huile essentielle d'*O. glandulosum* a un effet inhibiteur sur la production d'hémolysine par *C. albicans*. En absence d'huile essentielle, les souches ATCC 10231 et ATCC 10237 présentent respectivement une activité hémolytique modérée (Hz = 0,78) et forte (Hz = 0,69), indiquant une production significative d'hémolysine. Après traitement avec l'huile essentielle à la CMI, l'activité hémolytique diminue nettement, comme en témoignent les valeurs d'Hz qui augmentent à 0,86 et 0,90. Ces valeurs traduisent une réduction de la zone d'hémolyse et donc une activité hémolytique faible.

Tableau 6 : Détermination de l'indice Hz de l'huile essentielle sur *C. albicans* à la concentration CMI.

<i>C. albicans</i>	Hz sans HE	Activité hémolytique	Hz avec HE	Activité hémolytique
ATCC 10231	0.78	Modérée	0.86	Faible
ATCC 10237	0,69	Forte	0,90	Faible

HE : Huile Essentielle.

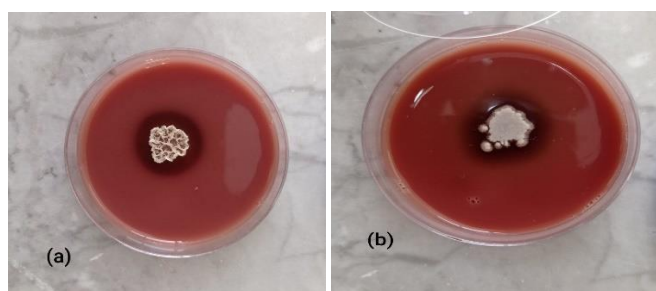


Figure 15: Activité hémolytique de *C. albicans* en présence de l'huile essentielle (a) et en absence (b)

Les données de l'indice Hz montrent une inhibition claire de l'activité hémolytique de *C. albicans* grâce à l'huile essentielle d'*O. glandulosum*, à la concentration minimale inhibitrice. En l'absence de traitement, les souches ATCC 10231 et ATCC 10237 affichent une hémolyse d'intensité modérée à élevée, avec des indices Hz de 0,78 et 0,69 respectivement. L'application de l'huile essentielle provoque une hausse significative de ces indices (0,86 et 0,90), indiquant une diminution marquée de la zone d'hémolyse autour des colonies, ce qui signifie une inhibition dans la production d'hémolysine. Ces résultats sont en ligne avec les recherches de Tampieri et al. (2020), qui ont constaté une inhibition en fonction de la dose de l'activité hémolytique des souches cliniques de *C. albicans* par plusieurs huiles essentielles. Les auteurs attribuent cet effet à l'interaction des composés bioactifs, en particulier les phénols tels que le carvacrol et le thymol, avec la régulation des enzymes extracellulaires libérées par la levure.

Conclusion

Dans un contexte marqué par la montée des résistances aux antifongiques conventionnels, ce travail s'est inscrit dans une démarche d'exploration de solutions naturelles, en s'intéressant à l'huile essentielle d'*O. glandulosum*, reconnue pour sa richesse en composés bioactifs. L'étude a porté sur *C. albicans*, une levure pathogène impliquée dans de nombreuses mycoses humaines, dont la prise en charge est souvent compliquée par la formation de biofilms.

Grâce à une approche expérimentale *in vitro*, les résultats ont mis en évidence une activité antifongique notable de l'huile essentielle testée. Celle-ci a permis d'inhiber efficacement la croissance fongique à faibles concentrations, de réduire significativement la formation de biofilms, et de diminuer de manière constante, bien que modérée, l'activité hémolytique de *C. albicans*.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle d'*O. glandulosum* agit non seulement par un effet fongistatique, mais également en perturbant les facteurs de virulence et de persistance de la levure. Elle se positionne ainsi comme une candidate prometteuse dans le développement d'agents antifongiques naturels. Toutefois, des études complémentaires, incluant des essais *in vivo*, des évaluations de toxicité, et le développement de formulations adaptées, restent nécessaires pour valider son potentiel en usage thérapeutique. Cette étude contribue ainsi à valoriser les ressources végétales locales et à ouvrir de nouvelles perspectives pour la phytothérapie antifongique.

ANNEXE

1. Produits chimiques et milieux de culture

- **Solvants et réactifs :**
 - Tween 80 (émulsifiant)
 - Diméthylsulfoxyde (DMSO)
 - NaCl (solution saline)
 - PBS (phosphate-buffered saline)
 - Résazurine (indicateur redox pour la viabilité cellulaire)
- **Milieux de culture :**
 - Sabouraud Dextrose Agar (SDA)
 - Sabouraud Dextrose Broth (SDB)
 - Mueller-Hinton Agar (MHA)
 - Brain Heart Infusion (BHI)
 - Sang de mouton défibriné (pour test hémolytique)

4. Verrerie et petit matériel

- Tubes à essai
- Boîtes de Pétri stériles
- Micropipettes et embouts stériles
- Microplaques 96 puits
- Lames et lamelles
- Cylindres gradués
- Flacons d'Erlenmeyer

5. Appareils et équipements

- Autoclave (stérilisation)
- Hotte à flux laminaire
- Incubateur à 37 °C
- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre (lecture à 600 nm pour la densité optique)
- Agitateur magnétique
- Balance analytique
- Appareil Clevenger pour extraction des huiles essentielles

Référence

Reference

1. Ait Ouakrouch, A., et al. (2022). Efficacy of endemic Algerian essential oils against single and mixed biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Journal of Herbal Medicine*, 34, 100581.
2. Ararem, A., & Bensaada, R. (2020). Biodiversité des plantes médicinales et aromatiques en Algérie : Répartition géographique et enjeux de valorisation. *Revue des Bioressources*, 10(2), 45–57.
3. Anderson, J. M., & Odds, F. C. (1985). Adhesion of yeast-form and germ-tube-form cells of *Candida albicans* to plastic tissue-culture plates: correlation of morphogenesis and adherence. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 23(4), 307–316
4. Ben-Ami, R. (2018). Treatment of invasive candidiasis: A narrative review. *Journal of Fungi*, 4(3). <https://doi.org/10.3390/jof4030097>
5. Bakkali F, Averbek S, Averbek D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446–75. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.
6. Benarba, B. (2016). Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: An ethnobotanical study. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(4), 320–330. <https://doi.org/10.5455/jice.20160814115725>
7. Benhouhou, S., & Bouzid, S. (2019). Plantes médicinales d'Algérie : Biodiversité et valorisation. Éditions ANRH.
8. Benmalek, Y., Yahia, A., Belkebir, A., & Ayat, M. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and its chemical composition. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(2), 452–462. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1485183>
9. Benziane, M. Y., Bendahou, M., Benbelaïd, F., Khadir, A., Belhadeh, H., Benaïssa, A., Ouslimani, S., Mahdi, F., & Muselli, A. (2023). Efficacy of endemic Algerian essential oils against single and mixed biofilms of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Archives of Oral Biology*, 145(November 2022), 105584. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105584>
10. Beylier-Maurel, M. (1976). Aromathérapie : les huiles essentielles, leur emploi thérapeutique par voie interne (2^e éd.). Paris, France :Maloine.
11. Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M. G., Faleiro, M. L., Rejeb, M. N., Neffati, M., Costa, M. M., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2007). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian aromatic plants. *Food Chemistry*, 105(1), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.059>
12. Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants* (Tec et Doc (ed.); 2nd ed.).

13. Chaachouay, N. (2020). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région du Haut Atlasoriental, Maroc (Thèse de doctorat, Université Mohammed Premier - Oujda).
14. Calderone, R. A., & Fonzi, W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 9(7), 327–335. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(01\)02094-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(01)02094-7)
15. Cardinale, V. (2018). Les candidoses vaginales récidivantes à *Candida albicans* To cite this version : HAL Id : hal-01732305 soutenance et mis à disposition de l ' ensemble de la Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr.
16. Cassone, A., & Strippoli, V. (1973). Ultrastructural and biochemical aspects of yeast cell wall: A comparative study of *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of General Microbiology*, 76, 101–109. <https://doi.org/10.1099/00221287-76-1-101>
17. Chabasse, D., Bories, C., & Grollier, G. (2009). Mycologie médicale. Paris : Éditions Ellipses.
18. Czechowicz, P., Nowicka, J., & Gościński, G. (2022). Virulence Factors of *Candida* spp. and Host Immune Response Important in the Pathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 1/21. <https://doi.org/10.3390/ijms23115895>
19. Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobialagents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308–316.
20. Dudareva N, Klempien A, Muhlemann JK, Kaplan I. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytol.* 2013;198(1):16–32. doi:10.1111/nph.12145.
21. Dutertre, J. (2011). Les plantesmédicinales : Connaissances et usages traditionnels. Paris, France :Éditions Médicis.
22. Ed-Dra, A., Rhazi Filali, F., Lo Presti, V., Zekkori, B., Nalbone, L., Bentayeb, A., Giuffrida, A., & Giarratana, F. (2019). Evaluation of Chemical Composition, Antioxidant and Anti *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* Activity of the Essential Oil of *Mentha pulegium* and *Mentha suaveolens* Collected in Morocco. *Preprints*, May, 1–15. www.preprints.org
23. El-Baz, A. M., Mosbah, R. A., Goda, R. M., Mansour, B., Sultana, T., Dahms, T. E. S., & El-Ganiny, A. M. (2021). Back to Nature: Combating *Candida albicans* Biofilm, Phospholipase and Hemolysin Using Plant Essential Oils. *Antibiotics*, 10(1), 81. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010081>
24. Ermenlieva, N., Georgieva, E., Mihaylova, S., Stamova, S., Laleva, K., Tsankova, G., & Tsvetkova, A. (2022). Synergistic Interaction Between *Lamiaceae* Essential Oils and Antifungal Drugs Against *Candida albicans* Atcc 10231. *Farmacia*, 70(4), 720–725. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.4.18>

25. Euzéby, J. (1994). Les levures pathogènes pour l'homme et les animaux. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 67(3), 245–259.
26. Euzéby, J. (2001). Évolution et rôle pathogène des levures opportunistes. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 20(3), 849–856.
27. Fang, J., Huang, B., & Ding, Z. (2021). Efficacy of antifungal drugs in the treatment of oral candidiasis: A Bayesian network meta-analysis. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 125(2), 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2019.12.025>
28. Flattery, A. M., Ghannoum, M. A., & Perfect, J. R. (1996). Opportunistic fungal infections: Candidiasis, aspergillosis and zygomycosis. In D. Armstrong & J. Cohen (Eds.), *Infectious Diseases* (pp. 1725–1740). Mosby.
29. Fu, Y. (1997). Characterization of secreted aspartyl proteinases in *Candida albicans*. *Infection and Immunity*, 65(5), 1818–1824.
30. Gatte fossé, R. (1919). Aromathérapie: Les huiles essentielles hormones végétales. Paris: Société française d'éditions scientifiques.
31. Goetz, P., ; Ghedira, K. (2012). Phytothérapie de A à Z : Guide pratique pour le médecin. Paris, France : Editions Doin.
32. Gow, N. A. R. (2002). Budding, cell cycle and morphogenesis in *Candida albicans*. *Current Opinion in Microbiology*, 5(6), 731–736. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(02\)00384-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(02)00384-6)
33. Hay, R. J., Baran, R. ; Dawber, R. P. R. (1988). Onychomycosis: a proposed revision of the clinical classification. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 26(6), 329–336.
34. Hekmatpanah, A., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Abbaszadeh, S., & Nikaein, D. (2022). Efficacy of *Syzygium aromaticum* essential oil on the growth and enzymatic activity of pathogenic *Candida albicans* strains. *Current Medical Mycology*, 8(1), 12–19. <https://doi.org/10.18502/cmm.8.1.9209>
35. Hoyer, L. L., Green, C. B., Oh, S. H.; Zhao, X. (2008). Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family – a sticky pursuit. *Medical Mycology*, 46(1), 1–15. <https://doi.org/10.1080/13693780701435325>
36. Hsu, C. C., Lai, W. L., Chuang, K. C., Lee, M. H., & Tsai, Y. C. (2013). The inhibitory activity of linalool against the filamentous growth and biofilm formation in *Candida albicans*. *Medical Mycology*, 51(5), 473–482. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.743051>
37. Iyata-Ombetta, S., & Idziorek, T. (2003). Fungal adhesins interfere with complement receptor 3-mediated phagocytosis: implications for immune evasion. *Journal of Immunology*, 170(5).
38. Ietswaart, J. H. (1980). A taxonomic revision of the Genus *Origanum* [Vrije Universiteit, Amsterdam 1980]. In *Netherlands Organization for the Advancement of Pure Research*. <https://doi.org/10.2307/4107984>

39. Johnson, A. D. (2003). The biology of mating in *Candida albicans*. *Nature Reviews Microbiology*, 1(2), 106–114. <https://doi.org/10.1038/nrmicro751>
40. Kabera, Edmond, S., Ally, M., & Xin, H. (2014). Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(January), 377–392.
41. Kaloustian, J., Makris, D. P., Mourtzinou, I., & Kefalas, P. (2008). Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 6(4), 215–220. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0336-0>
42. Kennedy, M. J., & Volz, P. A. (1985). Effect of various environmental conditions on *Candida albicans* adherence to epithelial cells. *Journal of General Microbiology*, 131(2), 363–370.
43. Khosravi, A. R., Shokri, H., Kermani, S., Dakhili, M., Madani, M., & Parsa, S. (2011). Antifungal properties of *Artemisia sieberi* and *Origanum vulgare* essential oils against *Candida glabrata* isolates obtained from patients with vulvovaginal candidiasis. *Journal de Mycologie Médicale*, 21(2), 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2011.01.006>
44. Koenig, H. (1995). Fungal Nutrition. In Esser, K., & Lemke, P. A. (Eds.), *The Mycota III: Biochemistry and Molecular Biology* (pp. 85–102). Springer-Verlag.
45. Laib, M. (2011). Risques toxiques des huiles essentielles chez l'enfant : aspects cliniques et prévention (Thèse de doctorat en médecine, Université de Constantine).
46. Larbi, K., Bentahar, F., & Oukil, N. (2014). Toxicité des huiles essentielles : risques et précautions d'emploi. *Revue de Phytothérapie Appliquée*, 7(2), 12–18.
47. Lakhdar, L., Farah, A., Lahlou, I., Rida, S., Bouziane, A., & Ennibi, O. (2017). antibacterial effectiveness of selected moroccan essential oils against the highly virulent jp2 clone of aggregatibacter actinomycetemcomitans. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 47. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i2.13406>
48. Lakhrissi, B., Boukhraz, A., Barrahi, M., Hartiti, H. EL, & Ouhssine, M. (2016). Antifungal Activity of Essential Oil of Oregano (*Origanum Vulgare*), Marjoram (*Origanum Majorana*) and Synergy of Two Essential Oils against *Candida albicans*. *Online, International Journal of Research Studies in Science, Engineering and Technology*, 3(12), 14–17.
49. Li, Y., Kong, D., Fu, Y., Sussman, M. R., & Wu, H. (2020). The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148(December 2019), 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
50. Lu, S. Y. (2021). Oral candidosis: Pathophysiology and best practice for diagnosis, classification, and successful management. *Journal of Fungi*, 7(7). <https://doi.org/10.3390/jof7070555>
51. Mahfouf, N. (2018). Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Botanique. Mémoire de master, Université Chadli Benjedid - El Tarf, Algérie.
52. Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms.

- Virulence*, 4(2), 119–128. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
53. Mekki, M., Chebbi, A., Khouja, M. L., & Boussaid, M. (2019). Variability of antifungal activity of essential oils from different accessions of medicinal plants: Impact of genetic and environmental factors. *Industrial Crops and Products*, 130, 201–208.
 54. Mechergui, K., Coelho, J., Serra, M., Lamine, S., Boukhchina, S., ; Khouja, M. L. (2009). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Glandulosum* (Desf.) Ietswaart from Tunisia: Chemical composition and antioxidant activity.
 55. McManus, B. A., & Coleman, D. C. (2014). Molecular epidemiology, phylogeny and evolution of *Candida albicans*. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 166–178. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.11.008>
 56. Meddour, R., Meddour, O., & Derridj, A. (2011). Medicinal plants and their traditional uses in Kabylia (Algeria): an ethnobotanical survey. *Planta Medica*, 77(12). <https://doi.org/10.1055/s-0031-1282417>
 57. Messaoudi, M., Rebiai, A., Sawicka, B., Atanassova, M., Ouakouak, H., Larkem, I., Egbuna, C., Awuchi, C. G., Boubekour, S., Ferhat, M. A., Begaa, S., & Benchikha, N. (2022). Effect of extraction methods on polyphenols, flavonoids, mineral elements, and biological activities of essential oil and extracts of mentha pulegium l. *Molecules*, 27(1). <https://doi.org/10.3390/molecules27010011>
 58. Miara, M. D., Bendif, H., Rebbas, K., Rabah, B., Hammou, M. A., & Maggi, F. (2019). Medicinal plants and their traditional uses in the highland region of Bordj Bou Arreridj (Northeast Algeria). *Journal of Herbal Medicine*, 16(March 2017), 100262.
 59. Miller, M. G; Johnson, A. D. (2002). White–opaque switching in *Candida albicans* is controlled by mating-type locus homeodomain proteins and allows efficient mating. *Cell*, 110(3), 293–302. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00837-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00837-1)
 60. Mockutė, D., Bernotienė, G., & Judžentienė, A. (2001). The essential oil composition of *Origanum vulgare* L. growing wild in Vilnius district (Lithuania). *Chemija*, 12(4), 213–216.
 61. Mohammed, A. N., Abdulbaqi, J. N., & Ajah, A. H. (2017). Epidemiological Study of *Candida* Species among Vaginal and Oral Candidiasis from different clinical states. *International Journal of ChemTech Research*, 10(5), 844–857.
 62. Mutai, C., Bii, C., Vagias, C., Abatis, D., & Roussis, V. (2009). Antimicrobial activity of *Acacia mellifera* extracts and lupane triterpenes. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 143–148.
 63. Odds, F. C. (1985). Morphogenesis in *Candida albicans*. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 12(1), 45–93. doi:10.3109/10408418509104425
 64. Pappu-Katikaneni, D., Barson, W. J., & Schreiber, J. R. (1990). Neonatal candidiasis: Clinical manifestations and management. *Clinical Pediatrics*, 29(10), 575–580.
 65. Perlin, D. S., Rautemaa-Richardson, R., & Alastruey-Izquierdo, A. (2017). The global

- problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(12), e383–e392.
66. Pfaller, M. A., Diekema, D. J., & Procop, G. W. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133–163. <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-06>
 67. Quézel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Vol. 2, CN).
 68. Ramage, G., Rajendran, R., Sherry, L., & Williams, C. (2012). Fungal biofilm resistance. *International Journal of Microbiology*, 2012, 528521.
 69. Rangel-Frausto, M. S., Wiblin, T., Blumberg, H. M., Saiman, L., Patterson, J., Rinaldi and Edwards, J. E. (1999). National epidemiology of mycoses survey: A multicenter study of fungal infections in intensive care unit patients. *Clinical Infectious Diseases*, 29(3), 623–629.
 70. Razzaghi- Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., & Rezaee, M. B. (2011). Antifungal activities of Iranian plants. *Springer*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7199-3>
 71. Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7(3), 275–297. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9099-2>
 72. Ríos, J. L. (2015). Essential Oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00001-8>
 73. Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Leong, S. Y., Khelfa, A., Greiner, R., & Chemat, F. (2017). Extraction Methods of Essential Oils From Herbs and Spices. In *Essential Oils in Food Processing* (pp. 21–55). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119149392.ch2>
 74. Rotstein, O. D., & Parodo, J. (2000). *Candida albicans*-derived peptides impair phagocytic function. *Infection and Immunity*, 68(7), 3988–3995.
 75. Sardi, J. C. O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A. M., & Mendes Giannini, M. J. S. (2013). *Candida* species: Current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62(PART1), 10–24. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.045054-0>
 76. Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., & Ait Amrane, A. (2020). Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(4), 2352–2358. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00482-5>
 77. Singh, R. (2015). Medicinal plants : A review. *Journal of Plant Sciences*, 3(1–1), 50–55. <https://doi.org/10.11648/j.jps.s.2015030101.18>
 78. Sticher, O. (2008). Natural product isolation. In *Natural Product Reports* (Vol. 25, Issue 3). <https://doi.org/10.1039/b700306b>
 79. Şahin, F., Karaman, I., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., & Adıgüzel, A. (2004).

- Evaluation of antimicrobial activities of *Origanum vulgare* subspecies. *Food Control*, 15(7), 447–452. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00114-8)
80. Tampieri, M. P., Galuppi, R., Macchioni, F., Carelle, M. S., Falcioni, L., Cioni, P. L., & Morelli, I. (2020). The inhibition of *Candida albicans* hemolytic activity by essential oils: Role of phenolic compounds. *Journal of Essential Oil Research*, 32(3), 235–243. <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1719123>
 81. Thierry, F. (2009). *Candida albicans* : levure commensale et pathogène opportuniste. In : Les agents pathogènes opportunistes. Paris : Éditions Ellipses.
 82. Tisserand, R., & Young, R. (2014). Essential oil safety: A guide for health care professionals (2nd ed.). Edinburgh, UK: Churchill Livingstone/Elsevier.
 83. Vercauteren, J. (2012). *Plan, Formules et illustrations du cours*.
 84. Vinaya Bhat, S. M., Sharma, C. S., Shetty, V., Shastry, C., Rao, V., Shenoy, S., Saha, S., & Balaji, S. (2018). Caractérisation de l'agent antifongique à base de plantes, *Origanum vulgare*, contre *Candida* spp. isolées de patients souffrant de stomatite dentaire associée à *Candida*. *Candida-Associated Denture Stomatitis: Une étude in vitro*, 9(Suppl. 1), Juin.
 85. Wilson, D., Naglik, J. R., & Hube, B. (2016). The Missing Link between *Candida albicans* Hyphal Morphogenesis and Host Cell Damage. *PLoS Pathogens*, 12(10). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005867>
 86. Zabka, M., & Pavela, R. (2018). Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant human pathogens. *Fungal Biology*, 122(4), 369–375. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.11.008>
 87. Zhang, Y., Smail, I., Wang, J., Chen, X., Regnault-Roger, C., & Boutekedjiret, C. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity of *Origanum glandulosum* extracts. *Natural Product Communications*, 9(3), 377–380. <https://doi.org/10.1177/1934578X1400900316>