

THESE

En vue de l'obtention du: **DOCTORAT**

Structure de Recherche: Equipe de Botanique et Valorisation des Ressources
Végétales et Fongiques

Discipline: Biotechnologies Végétale et Microbienne

Spécialité: Phytothérapie

Présentée et soutenue le 16/03/2019 par:

Hakim EL ALAMA

***Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles
essentielles de six plantes médicinales: Concept de synergie***

JURY

M. Youssef BAKRI	PES, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V,	Président
Mme Fatima Ezzahra EL ALAOUI-FARIS	PES, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V,	Directrice de thèse
Mme Aicha EL AISSAMI	PES, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V,	Co-Directrice
M. El houssine ZAID	PES, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V,	Rapporteur/Examinateur
M. Adnane BENMOUSSA	PES, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Casablanca, Université Hassan II,	Rapporteur
M. El Mokhtar ESSASSI	PES, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V,	Examinateur

Année Universitaire: 2018-2019

Hommage

On rend hommage souvent aux scientifiques qui nous ont précédés et on oublie les présents comme il y a un décalage ou un défaut de synchronisation, cependant ces gens doivent être honorés durant leur vie et en temps réel. Remercier ces personnes formidables au moins avec une belle expression ou une belle rose est plus formel que rédiger leurs biographies ou leur offrir un bouquet de fleur après leur mort.

Bien que rendre hommage à ces personnes ou écrire leurs biographies soit une reconnaissance de leurs efforts et une bonne initiative pour faire connaître ces gens exceptionnels ainsi de lier le présent au passé pour conjuguer au futur tout en motivant les jeunes chercheurs et tirer profit de leurs expériences, ceci reste insuffisant si on ne les honore pas durant leur vie.

Hakim El Alama

Dédicaces

*A mes chers **P**arents*

*A mes chers **F**rères et **S**œurs*

*A ma chère **F**amille*

*A mes chers **E**nseignants*

*A mes chers **A**mis*

*A la mémoire des **S**cientifiques qui ont
changé le monde et rendu la vie plus facile*

*A toute **P**ersonne qui aime la **S**cience et les
Scientifiques*

Avant-propos

Cette thèse est l'aboutissement de six ans de travail, de recherche scientifique, de réussite et d'expérience (il n'y a pas d'échec, ce mot je l'ai remplacé par expérience), de formation et d'apprentissage, de déplacement et d'engagement, durant lesquels j'étais accompagné par des personnes formidables sans elles ce projet n'aurait jamais pu aboutir.

En premier lieu, je tiens à exprimer mon respect à Monsieur le Professeur **Youssef BAKRI**, Chef du Département de Biologie à la Faculté des Sciences de Rabat, de l'honneur qui m'a fait en acceptant de présider le jury de ma thèse.

Je tiens particulièrement à exprimer ma gratitude et mes remerciements envers ma Directrice de thèse, Madame le Professeur **Fatima Ezzahra EL ALAOUI-FARIS** de m'avoir accueilli au sein de son honorable équipe en tant que Doctorant Chercheur et de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail. Je la remercie aussi pour sa gentillesse et sa disponibilité ainsi que pour ses conseils qu'elle m'a prodigués tout au long de ce projet. C'est un honneur pour moi d'être votre étudiant. Merci infiniment Professeur.

Je ne remercierai jamais assez Madame le Professeur **Aicha EL AISSAMI**, mon encadrante, pour m'avoir appuyé durant toutes les étapes de ce projet de recherche y compris la rédaction et la correction de ma thèse. J'ai énormément appris sur le plan professionnel et sur le plan humain à ses côtés. Je la remercie pour m'avoir rassuré et encouragé pendant les moments difficiles et aussi pour sa grande pédagogie, sa disponibilité malgré ses engagements et ses contraintes ainsi que pour la confiance qu'elle m'a accordée.

C'est un honneur pour moi d'être votre étudiant Professeur, et j'espère que j'ai pu apprendre au moins un peu de vos énormes qualités humaines et professionnelles. Permettez-moi, Professeur, d'exprimer ma gratitude, mon respect et mes remerciements. Toutes les pages du monde sont incapables d'enregistrer ma reconnaissance et mes remerciements ainsi que tous les plus beaux adjectifs que Larousse a définis restent incapables de décrire mon respect et ma gratitude.

Je remercie Monsieur le Professeur **El Houssine ZAID** et je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez fait en acceptant d'être rapporteur de ce travail. J'ai pour vous l'estime et le respect qu'imposent votre compétence, votre sérieux et votre richesse d'enseignement.

Veillez trouver, cher Professeur, dans ce modeste travail, l'expression de ma très haute considération et ma profonde gratitude.

Je suis très reconnaissant envers Monsieur le Professeur **Adnane BENMOUSSA**, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail, je le remercie aussi de m'avoir encadré durant les différentes étapes de ce projet de recherche. Je garde aussi un excellent souvenir de la qualité de l'enseignement qu'il m'a prodigué durant ma spécialité en Pharmacie Clinique. Grâce à vous Professeur, j'ai appris les techniques et la base de la Chimie Organique et Thérapeutique ainsi que celles de la Pharmacie Clinique. J'espère être digne de la confiance que vous avez placée en moi en tant que Pharmacien Clinicien et Chercheur.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur **El Mokhtar ESSASSI** de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner et de juger ce travail. Je vous suis très reconnaissant de la spontanéité et de l'amabilité avec lesquelles vous avez accepté de juger ma thèse. Veillez trouver, cher Professeur, à travers ce modeste travail la manifestation de ma plus haute estime et de mes sentiments les plus respectueux.

Je tiens aussi à remercier le Responsable de la Structure de Recherche Monsieur le Professeur **Mustapha ARAHOU** de m'avoir accueilli au sein de son équipe de Recherche: Botanique et Valorisation des Ressources Végétales et Fongiques.

Je remercie toute l'équipe de Botanique et Valorisation des Ressources Végétales et Fongiques, et du Laboratoire des Sciences des Médicaments, Recherche Biomédicale et Biotechnologique: Professeurs, Docteurs, Doctorants (tes), Assistants (tes), Techniciens (ennes), Préparateurs (trices), Réceptionnistes, Coursiers, ...

Je remercie Monsieur le Président de l'Université Mohammed V de Rabat, Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences de Rabat et Monsieur le Directeur du Centre d'Etudes Doctorales de la FSR. Merci à tous chers Professeurs.

J'exprime également toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude à tous mes enseignants quel que soit leur grade académique depuis la maternelle jusqu'à aujourd'hui.

Je ne serai enfin clore cette liste de remerciements sans avoir une pensée toute particulière pour ma famille et mes amis.

Résumé

L'objectif de ce travail, en plus de l'analyse phyto-chimique et physique des huiles essentielles (HE) de six plantes médicinales et qui sont: *Artemisia vulgaris* ; *Ocimum basilicum* ; *Syzygium aromaticum* ; *Thymus vulgaris* ; *Origanum vulgare* et *Rosmarinus officinalis*, est d'évaluer leur activité antibactérienne et antifongique ainsi que de corrélérer cette activité à leur composition phytochimique; aussi, de déceler d'éventuelles interactions (entre HE ou entre HE et médicaments antimicrobiens sélectionnés) et d'étudier leur cinétique.

Afin de répondre à ces objectifs, nous avons subdivisé ce travail en quatre parties. La première partie est un aperçu bibliographique consacré aux plantes médicinales et la phytothérapie, aux HE et aromathérapie, à la description botanique des plantes choisies, et une présentation des bactéries, des champignons microscopiques, des médicaments antibiotiques et antifongiques étudiés.

L'extraction et l'analyse phytochimique des HE des six plantes médicinales étudiées, dans la deuxième partie, permet de corrélérer l'activité antimicrobienne à la composition qualitative et quantitative en phytosubstances de ces HE. Les rendements étaient très performants et les HE répondaient aux normes internationales de qualité.

La troisième et la quatrième partie permettent d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des HE, d'étudier les différentes interactions entre les HE elles-mêmes et entre les HE et les médicaments antibiotiques et antifongiques sélectionnés. L'étude de la cinétique de ces interactions, donne une originalité à ce travail.

Plusieurs type d'interactions ont été décelées que ce soient des interactions synergiques, additives, indifférentes ou même antagonistes. La cinétique de ces interactions n'était pas linéaire. Ceci est prometteur de conception de nouveaux médicaments antimicrobiens à base d'HE seules, associées entre elles ou des associations fixes entre HE et antibiotiques ou antifongiques.

Mots clés: activité antimicrobienne; huile essentielle; indice de concentration fractionnaire inhibitrice/bactéricide/fongicide; synergie; cinétique.

Abstract

The objective of this work, in addition to the phyto-chemical and physical analysis of the essential oils (EO) of six medicinal plants and which are: *Artemisia vulgaris* ; *Ocimum basilicum* ; *Syzygium aromaticum* ; *Thymus vulgaris* ; *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis*, is to evaluate their antibacterial and antifungal activity as well as to correlate this activity with their phytochemical composition; also, to detect possible interactions (between EO or between EO and selected antimicrobial drugs) and to study their kinetics.

In order to meet these objectives, we have divided this work into four parts. The first part is a bibliographical overview devoted to medicinal plants and herbal medicine, EO and aromatherapy, to the botanical description of the chosen plants, and a presentation of bacteria, microscopic fungi, antibiotic and antifungal drugs studied.

The extraction and phytochemical analysis of the EOs of the six medicinal plants studied, in the second part, correlates the antimicrobial activity with the qualitative and quantitative phytochemical composition of these EOs. Yields were very good and EOs met international quality standards.

The third and fourth part allow to evaluate the antibacterial and antifungal activity of the EO, to study the different interactions between the EO itself and between the EO and the selected antibiotic and antifungal drugs. The study of the kinetics of these interactions gives an originality to this work.

Several types of interactions have been detected whether they are synergistic, additive, indifferent or even antagonistic interactions. The kinetics of these interactions was not linear. This is promising to design new antimicrobial drugs based on EO alone, associated with each other or fixed associations between EO and antibiotics or antifungals.

Keywords: antimicrobial activity; essential oil; fractional inhibitory / bactericidal / fungicidal concentration index; synergy; kinetic.

Liste des abréviations, acronymes et sigles

A. vulgaris ; A. v.: *Artemisia vulgaris*

AB: Antibiotique

ABR: *Acinetobacter baumannii* multirésistant (résistant à la ticarcilline)

ADH: Arginine dihydrolase

AF: Antifongique

AFNOR: Association française de normalisation

AJR: Apports journaliers recommandés

ANSM: Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

APP: Acide phényl-pyruvique

ATCC: American Type Culture Collection

C. albicans: *Candida albicans*

C. glabrata: *Candida glabrata*

C. krusei: *Candida krusei*

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CFB: Concentration fractionnaire bactéricide

CFF: Concentration fractionnaire fongicide

CFI: Concentration fractionnaire inhibitrice

CG/SM: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Cipro: Ciprofloxacine

CMB: Concentration minimale bactéricide

CMEB: Concentration minimale d'éradication du biofilm

CMF: Concentration minimale fongicide

CMI: Concentration minimale inhibitrice

CNPM: Collège National de Pharmacologie Médicale

Cxm: Céfuroxime

DMAC: Distillation par micro-onde à air comprimé

DO: Densité optique

E. coli: *Escherichia coli*

EACEP: Extraction assistée par champ électrique pulsé

EBLSE: Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu

ECEH: *Escherichia coli* entérohémorragique

ERV: Entérocoques résistants à la vancomycine
FID: Détecteur à ionisation de flamme
Fluc.: Fluconozole
HBP: Hyperplasie bénigne de la prostate
HE: Huile essentielle
ICFB: Indice de concentration fractionnaire bactéricide
ICFF: Indice de concentration fractionnaire fongicide
ICFI: Indice de concentration fractionnaire inhibitrice
ISO: International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation OIN)
LDC: Lysine décarboxylase
NNIS: National Nosocomial Infections Surveillance
O. basilicum ; O. b.: *Ocimum basilicum*
ODC: Ornithine décarboxylase
OMS: Organisation mondiale de la santé
ONPG: Ortho-Nitrophenyl- β -galactoside
Or. vulgare ; Or. vu.: *Origanum vulgare*
P. aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*
PAR: *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant
PLP: Protéines protéolipides
Qsp: Quantité suffisante pour
R. officinalis ; R. o.: *Rosmarinus officinalis*
S. aureus: *Staphylococcus aureus*
SARM: *Staphylococcus Aureus* Résistant à la méticilline
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
Sy. aromaticum ; Sy. ar.: *Syzygium aromaticum*
T. vulgaris ; T. v.: *Thymus vulgaris*
TDA: Tryptophane désaminase
Terb.: Terbinafine
UFC: Unité formant colonie
VP: Voges Proskauer

Liste des tableaux

Tableau 1: Moyennes des durées de distillation des plantes étudiées.....	51
Tableau 2: Composition phytochimique de l'HE d' <i>A. vulgaris</i>	53
Tableau 3: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en 1,8-cinéol de l'HE d' <i>A. vulgaris</i> avec d'autres travaux	56
Tableau 4: Composition phytochimique de l'HE d' <i>O. basilicum</i>	56
Tableau 5: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en linalool de l'HE d' <i>O. basilicum</i> avec d'autres travaux	58
Tableau 6: Composition phytochimique de l'HE du <i>Sy. aromaticum</i>	58
Tableau 7: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en eugénol de l'HE du <i>Sy. aromaticum</i> avec d'autres travaux	60
Tableau 8: Composition phytochimique de l'HE du <i>T. vulgaris</i>	60
Tableau 9: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en thymol de l'HE du <i>T. vulgaris</i> avec d'autres travaux.....	62
Tableau 10: Composition phytochimique de l'HE d' <i>Or. vulgare</i>	63
Tableau 11: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en carvacrol de l'HE du d' <i>Or. vulgare</i> avec d'autres travaux.....	64
Tableau 12: Composition phytochimique de l'HE du <i>R. officinalis</i>	64
Tableau 13: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en 1,8-cinéol de l'HE de <i>R. officinalis</i> avec d'autres travaux.....	67
Tableau 14: Interprétation des ICFI et ICFB.....	72
Tableau 15a: Effets des HE et de la céfuroxime sur <i>E. coli</i>	73
Tableau 15b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la céfuroxime sur <i>E. coli</i>	74
Tableau 16a: Effets des associations entre HE sur <i>E. coli</i>	75
Tableau 16b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et céfuroxime sur <i>E. coli</i>	75
Tableau 17a: Effets des associations entre les HE et la céfuroxime sur <i>E. coli</i>	76
Tableau 17b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et céfuroxime sur <i>E. coli</i>	77
Tableau 18: CMI et CMB des HE et de la céfuroxime efficaces contre <i>E. coli</i>	78
Tableau 19: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et céfuroxime contre <i>E. coli</i>	78
Tableau 20a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	85

Tableau 20b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	86
Tableau 21a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	87
Tableau 21b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	87
Tableau 22a: Effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	88
Tableau 22b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur <i>P. aeruginosa</i>	89
Tableau 23: CMI et CMB des HE et de la ciprofloxacine efficaces contre <i>P. aeruginosa</i>	90
Tableau 24: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et ciprofloxacine contre <i>P. aeruginosa</i>	90
Tableau 25a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>S. aureus</i>	96
Tableau 25b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur <i>S. aureus</i>	96
Tableau 26a: Effets des associations entre HE sur <i>S. aureus</i>	97
Tableau 26b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur <i>S. aureus</i>	98
Tableau 27a: Effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur <i>S. aureus</i>	99
Tableau 27b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur <i>S. aureus</i>	100
Tableau 28: CMI et CMB des HE et de la ciprofloxacine efficaces contre <i>S. aureus</i>	101
Tableau 29: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et ciprofloxacine contre <i>S. aureus</i>	101
Tableau 30: Familles et fonctions chimiques des quatre principaux constituants des HE analysées	108
Tableau 31: Lecture des résultats.....	118
Tableau 32a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et du fluconazole sur <i>C. albicans</i>	119
Tableau 32b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et du fluconazole sur <i>C. albicans</i>	119
Tableau 33a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. albicans</i>	120
Tableau 33b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. albicans</i>	120
Tableau 34a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre les HE et le fluconazole sur <i>C. albicans</i>	121

Tableau 34b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre les HE et le fluconazole sur <i>C. albicans</i>	122
Tableau 35a: Effets des huiles essentielles et du fluconazole sur <i>C. albicans</i>	123
Tableau 35b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et du fluconazole sur <i>C. albicans</i>	124
Tableau 36a: Effets des associations entre HE sur <i>C. albicans</i>	125
Tableau 36b: Analyse statistique comparative des effets des associations entre HE sur <i>C. albicans</i>	125
Tableau 37a: Effets des associations entre HE et fluconazole sur <i>C. albicans</i>	126
Tableau 37b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et fluconazole sur <i>C. albicans</i>	127
Tableau 38: CMI et CMF des HE et du fluconazole efficaces contre <i>C. albicans</i>	128
Tableau 39: Valeurs minimales des ICFI et ICFE des associations entre HE et fluconazole contre <i>C. albicans</i>	128
Tableau 40a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	134
Tableau 40b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	134
Tableau 41a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. glabrata</i>	135
Tableau 41b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. glabrata</i>	136
Tableau 42a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	137
Tableau 42b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	138
Tableau 43a: Effets des HE et de la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	139
Tableau 43b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	140
Tableau 44a: Effets des associations entre HE sur <i>C. glabrata</i>	141
Tableau 44b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur <i>C. glabrata</i>	141
Tableau 45a: Effets des associations entre HE et la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	142
Tableau 45b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et la terbinafine sur <i>C. glabrata</i>	143
Tableau 46: CMI et CMF des HE et de la terbinafine efficaces contre <i>C. glabrata</i>	144

Tableau 47: Valeurs minimales des ICFI et ICFF des associations entre HE et terbinafine contre <i>C. glabrata</i>	144
Tableau 48a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	149
Tableau 48b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	149
Tableau 49a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. krusei</i>	150
Tableau 49b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur <i>C. krusei</i>	150
Tableau 50a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	151
Tableau 50b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	152
Tableau 51a: Effets des HE et de l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	153
Tableau 51b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	154
Tableau 52a: Effets des associations entre HE sur <i>C. krusei</i>	155
Tableau 52b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur <i>C. krusei</i>	155
Tableau 53a: Effets des associations entre les HE et l'amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	156
Tableau 53b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et amphotéricine B sur <i>C. krusei</i>	157
Tableau 54: CMI et CMF des huiles essentielles et de l'amphotéricine B efficaces contre <i>C. krusei</i>	158
Tableau 55: Valeurs minimales des ICFI et ICFF des associations entre HE et amphotericine B contre <i>C. krusei</i>	158

Liste des figures

Figure 1a: Sommité fleurie d' <i>Artemisia vulgaris</i>	26
Figure 1b: Plante séchée d' <i>Artemisia vulgaris</i>	26
Figure 2a: Sommité fleurie d' <i>Ocimum basilicum</i> , variété à bractées vertes	28
Figure 2b: Sommité fleurie et plante séchée d' <i>Ocimum basilicum</i>	28
Figure 3a: Sommités fleuries d' <i>Origanum vulgare</i>	29
Figure 3b: Plante séchée est découpée d' <i>Origanum vulgare</i>	29
Figure 4a: Sommité fleurie de <i>Rosmarinus officinalis</i>	31
Figure 4b: Feuilles séchées de <i>Rosmarinus officinalis</i>	31
Figure 5a: Sommité fleurie de <i>Thymus vulgaris</i>	32
Figure 5b: Plante séchée de <i>Thymus vulgaris</i>	32
Figure 6a: Sommités avec boutons floraux de <i>Syzygium aromaticum</i>	34
Figure 6b: Boutons floraux séchés de <i>Syzygium aromaticum</i>	34
Figure 7: Zones d'inhibition produites chez <i>E. coli</i> sous l'effet des HE étudiées et de la céfuroxime à des concentrations de 100% (v/v)	73
Figure 8: Zones d'inhibition produites chez <i>E. coli</i> par association des HE étudiées	74
Figure 9: Zones d'inhibition produites chez <i>E. coli</i> sous l'effet des associations entre HE et céfuroxime	76
Figure 10: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas d' <i>E. coli</i>	79
Figure 11: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas d' <i>E. coli</i>	79
Figure 12: Zones d'inhibition produites chez <i>P. aeruginosa</i> sous l'effet des HE étudiées et de la ciprofloxacine à des concentrations 100% (v/v)	84
Figure 13: Zones d'inhibition produites chez <i>P. aeruginosa</i> par association des HE étudiées	86
Figure 14: Zones d'inhibition produites chez <i>P. aeruginosa</i> sous l'effet des associations entre HE et ciprofloxacine	88
Figure 15: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de <i>P. aeruginosa</i>	91
Figure 16: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de <i>P. aeruginosa</i>	91
Figure 17: Zones d'inhibition produites chez <i>S. aureus</i> sous l'effet des HE étudiées et de la ciprofloxacine à des concentrations de 100% (v/v).....	95
Figure 18: Zones d'inhibition produites chez <i>S. aureus</i> par association des HE étudiées	97

Figure 19: Zones d'inhibition produites chez <i>S. aureus</i> sous l'effet des associations entre HE et la ciprofloxacine	99
Figure 20: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de <i>S. aureus</i>	102
Figure 21: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de <i>S. aureus</i>	102
Figure 22: Zones d'inhibition produites chez <i>C. albicans</i> sous l'effet des HE et du fluconazole	123
Figure 23: Zones d'inhibition produites chez <i>C. albicans</i> par association des HE étudiées .	124
Figure 24: Zones d'inhibition produites chez <i>C. albicans</i> sous l'effet des associations entre HE et fluconazole	126
Figure 25: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. albicans</i>	129
Figure 26: Cinétique de la variation de l'ICFF en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. albicans</i>	129
Figure 27: Zones d'inhibition produites chez <i>C. glabrata</i> sous l'effet des HE et de la terbinafine	139
Figure 28: Zones d'inhibition produites chez <i>C. glabrata</i> par association des HE étudiées .	140
Figure 29: Zones d'inhibition produites chez <i>C. glabrata</i> sous l'effet des associations entre HE et terbinafine	142
Figure 30: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. glabrata</i>	145
Figure 31: Cinétique de la variation de l'ICFF en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. glabrata</i>	145
Figure 32: Zones d'inhibition produites chez <i>C. krusei</i> sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B	153
Figure 33: Zones d'inhibition produites chez <i>C. krusei</i> par association des HE étudiées	154
Figure 34: Zones d'inhibition produites chez <i>C. krusei</i> sous l'effet des associations entre HE et amphotéricine B	156
Figure 35: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. krusei</i>	160
Figure 36: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de <i>C. krusei</i>	160

Liste des annexes

Annexe 1: Structure et propriétés pharmacocinétiques de la ciprofloxacine

Annexe 2: Propriétés pharmacodynamiques de la ciprofloxacine

Annexe 3: Sensibilité des différentes souches bactériennes à la ciprofloxacine

Annexe 4: Classification des espèces en fonction de la sensibilité à la ciprofloxacine

Annexe 5: Structure et propriétés pharmacocinétiques de la céfuroxime

Annexe 6: Propriétés pharmacodynamiques de la céfuroxime

Annexe 7: Résumé des caractéristiques du fluconazole

Annexe 8: Résumé des caractéristiques de la terbinafine

Annexe 9: Résumé des caractéristiques de l'amphotéricine B

Annexe 10: Milieux de culture bactérienne

Annexe 11: Milieux de culture fongique

TABLE DES MATIERES

Dédicace	
Avant-propos	
Résumé en français	
Résumé en anglais	
Liste des abréviations, acronymes et sigles	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Table des matières	
Introduction générale	1

PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Plantes médicinales et Phytothérapie.....	7
1. Plantes médicinales	7
2. Phytothérapie	8
2.1 Définition.....	8
2.2 Historique	8
2.3 Intérêt et limites.....	8
II. Huiles essentielles et l'aromathérapie.....	10
1. Huiles essentielles	10
1.1 Définitions	10
1.2 Historique	11
1.3 Localisation des huiles essentielles	12
1.4 Synthèse et Stockage	13
1.5 Production et méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	13
1.5.1 Extraction conventionnelle.....	13
1.5.1.1 Distillation à la vapeur	13
1.5.1.2 Hydrodiffusion.....	13
1.5.1.3 Hydrodistillation	14
1.5.1.4 Cohobation	14
1.5.1.5 Combinaison de distillation d'eau et de vapeur.....	14
1.5.1.6 Distillation destructive	15

1.5.1.7	Expression à froid	15
1.5.1.8	Enfleurage.....	16
1.5.1.9	Extraction par solvant.....	16
1.5.2	Extraction verte avec des techniques innovantes	16
1.5.2.1	Turbo-distillation	17
1.5.2.2	Extraction assistée par ultrasons	17
1.5.2.3	Extraction assistée par micro-ondes	18
1.5.2.4	Technologie instantanée de perte de pression contrôlée.....	18
1.5.3	Autres techniques d'extraction verte émergentes	19
1.5.3.1	Extraction de distillation simultanée (EDS)	19
1.5.3.2	Extraction assistée par champ électrique pulsé (EACEP)	19
1.5.3.3	Extraction de fluide de CO2 supercritique	19
1.5.3.4	Extraction d'eau sous-critique.....	19
1.6	Conservation et stockage	19
1.7	Rôle biologique et propriétés pharmacologiques	20
1.8	Toxicité et tolérance	20
2.	Aromathérapie	21
2.1	Définition.....	21
2.2	Historique	21
2.3	Intérêts et limites	22
III.	Description des plantes étudiées.....	24
1.	Famille des <i>Asteraceae</i>.....	24
1.1	Genre <i>Artemisia</i>	25
1.1.1	<i>Artemisia vulgaris</i>	26
2.	Famille des <i>Lamiaceae</i>	27
2.1	Genre <i>Ocimum</i>	27
2.1.1	<i>Ocimum basilicum</i>	27
2.2	Genre <i>Origanum</i>	29
2.2.1	<i>Origanum vulgare</i>	29
2.3	Genre <i>Rosmarinus</i>	30
2.3.1	<i>Rosmarinus officinalis</i>	30
2.4	Genre <i>Thymus</i>	32
2.4.1	<i>Thymus vulgaris</i>	32
3.	Famille des <i>Myrtaceae</i>	33
3.1	Genre <i>Syzygium</i>	34
3.1.1	<i>Syzygium aromaticum</i>	34

IV. Description des bactéries étudiées	35
1. Famille des <i>Enterobacteriaceae</i>	35
1.1 Genre <i>Escherichia</i>	36
1.1.1 <i>Escherichia coli</i>	36
2. Famille des <i>Pseudomonadaceae</i>	36
2.1 Genre <i>Pseudomonas</i>	37
2.1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37
3. Famille des <i>Staphylococcaceae</i>	38
3.1 Genre <i>Staphylococcus</i>	38
3.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	38
V. Description des médicaments antibiotiques étudiés	39
1. Famille des quinolones	39
2. Famille des céphalosporines	40
VI. Description des champignons étudiés.....	42
1. Famille des <i>Saccharomycetaceae</i>	42
1.1 Genre <i>Candida</i>	42
1.1.1 <i>Candida albicans</i>	43
1.1.2 <i>Candida glabrata</i>	44
1.1.3 <i>Candida krusei</i>	46
VII. Description des médicaments antifongiques étudiés	47
1. Famille des triazolés	47
2. Famille des allylamines	47
3. Famille des macrolides polyènes	48

DEUXIEME PARTIE: PARTIE PRATIQUE

Chapitre I: Etude phyto-chimiques des huiles essentielles des six plantes médicinales étudiées

I. Introduction.....	50
II. Matériel et méthodes.....	50
1. Matériel végétal.....	50
2. Extraction des huiles essentielles	51
3. Rendement.....	51
4. Propriétés physico-chimiques	52

4.1	Caractères généraux.....	52
4.2	Indice de densité.....	52
4.3	Indice de réfraction.....	52
5.	Analyse chromatographique	52
III.	Résultats et Discussion	52
1.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'<i>Artemisia vulgaris</i>	52
1.1	Aspect physico-chimique et rendement	52
1.2	Composition phytochimique	52
1.3	Discussion.....	54
2.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'<i>Ocimum basilicum</i>.....	56
2.1	Aspect physico-chimique et rendement	56
2.2	Composition phytochimique	56
2.3	Discussion.....	57
3.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du <i>Syzygium aromaticum</i>	58
3.1	Aspect physico-chimique et rendement	58
3.2	Composition phytochimique	58
3.3	Discussion.....	59
4.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du <i>Thymus vulgaris</i>	60
4.1	Aspect physico-chimique et rendement	60
4.2	Composition phytochimique	60
4.3	Discussion.....	61
5.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'<i>Origanum vulgare</i>	62
5.1	Aspect physico-chimique et rendement	62
5.2	Composition phytochimique	62
5.3	Discussion.....	63
6.	Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i>	64
6.1	Aspect physico-chimique et rendement	64
6.2	Composition phytochimique	64
6.3	Discussion.....	65
IV.	Conclusion.....	67

Chapitre II: Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées et des médicaments antibiotiques sélectionnés

I. Introduction.....	69
II. Matériel et méthodes.....	69
1. Huiles essentielles	69
2. Souches bactériennes.....	70
3. Antibiotiques sélectionnés	70
4. Evaluation de l'activité antibactérienne	70
4.1 Milieux de culture	70
4.2 Aromatogramme	70
4.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	71
4.4 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	71
5. Etude des interactions entre les HE et les antibiotiques.....	72
6. Lecture des résultats et analyse statistique.....	72
III. Résultats et discussion	72
1. <i>Escherichia coli</i>.....	72
1.1 Aromatogramme	72
1.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) contre <i>E. coli</i>	77
1.3 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et bactéricide (ICFB) contre <i>E. coli</i>	78
1.4 Cinétique des ICFI et ICFB contre <i>E. coli</i>	78
1.5 Discussion	80
1.5.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	80
1.5.2 <i>Ocimum basilicum</i>	80
1.5.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	81
1.5.4 <i>Thymus vulgaris</i>	82
1.5.5 <i>Origanum vulgare</i>	83
1.5.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	83
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	84
2.1 Aromatogramme	84
2.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB).....	89
2.3 Indices de concentrations fractionnaires inhibitrices (ICFI) et bactéricides (ICFB)	90
2.4 Cinétique des ICFI et ICFB	90
2.5 Discussion.....	92
2.5.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	92

2.5.2 <i>Ocimum basilicum</i>	92
2.5.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	93
2.5.4 <i>Thymus vulgaris</i>	93
2.5.5 <i>Origanum vulgare</i>	94
2.5.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	94
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	95
3.1 Aromatogramme	95
3.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) contre <i>S. aureus</i>	100
3.3 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et bactéricide (ICFB)	101
3.4 Cinétique des ICFI et ICFB	101
3.5 Discussion.....	103
3.5.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	103
3.5.2 <i>Ocimum basilicum</i>	103
3.5.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	103
3.5.4 <i>Thymus vulgaris</i>	104
3.5.5 <i>Origanum vulgare</i>	105
3.5.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	105
4. Discussion sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles	106
IV. Conclusion	111

Chapitre III: Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et des médicaments antifongiques sélectionnés

I. Introduction.....	114
II. Matériel et méthodes	115
1. Huiles essentielles	115
2. Souches fongiques	116
3. Médicaments antifongiques	116
4. Evaluation de l'activité antifongique	116
4.1 Milieux de culture	116
4.2 Taux d'Inhibition antifongique	116
4.3 Aromatogramme	116
4.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)	117
4.5 Concentration minimale fongicide (CMF).....	117
5. Etude des interactions entre les huiles essentielles et les médicaments antifongiques	117

6. Analyse statistique.....	118
III. Résultats et discussion	118
1. <i>Candida albicans</i>	118
1.1 Taux d'inhibition fongique	118
1.2 Aromatogramme	122
1.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)	127
1.4 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF)	128
1.5 Cinétique des ICFI et ICFF.....	128
1.6 Discussion.....	130
1.6.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	130
1.6.2 <i>Ocimum basilicum</i>	130
1.6.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	131
1.6.4 <i>Thymus vulgaris</i>	131
1.6.5 <i>Origanum vulgare</i>	132
1.6.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	133
2. <i>Candida glabrata</i>.....	133
2.1 Taux d'inhibition fongique	133
2.2 Aromatogramme	138
2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)	143
2.4 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF)	144
2.5 Cinétique des ICFI et ICFF.....	144
2.6 Discussion.....	146
2.6.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	146
2.6.2 <i>Ocimum basilicum</i>	146
2.6.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	146
2.6.4 <i>Thymus vulgaris</i>	147
2.6.5 <i>Origanum vulgare</i>	147
2.6.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	148
3. <i>Candida krusei</i>	148
3.1 Taux d'inhibition fongique	148
3.2 Aromatogramme	152
3.3 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF).....	158
3.4 Indices de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF).....	158
3.5 Cinétique des ICFI et ICFF.....	159
3.6 Discussion.....	161
3.6.1 <i>Artemisia vulgaris</i>	161

3.6.2 <i>Ocimum basilicum</i>	161
3.6.3 <i>Syzygium aromaticum</i>	161
3.6.4 <i>Thymus vulgaris</i>	161
3.6.5 <i>Origanum vulgare</i>	162
3.6.6 <i>Rosmarinus officinalis</i>	162
4. Discussion sur l'activité antifongique des huiles essentielles.....	163
IV. Conclusion.....	164
Conclusion générale	166
Perspectives	175
Références bibliographiques	
Annexes	
Production scientifique	

Introduction générale

Les végétaux ont toujours été utilisés par l'Homme à des fins nutritives, cosmétiques, préventives et curatives.

Les humains ont considéré les plantes comme outils thérapeutiques pendant de nombreux siècles. Pour certaines vieilles civilisations, le remède fourni par les plantes médicinales avait un élément magique et surnaturel. D'autres ont cru que ces plantes agissaient sur le «corps astral», produisant des phénomènes physiologiques et paranormaux (Alzugaray et Alzugaray, 1996). Les plantes médicinales avaient et ont toujours un sens magique-religieux pour certaines personnes (Rates, 2001; Cordeiro *et al.*, 2005).

En 1873, le "Ebers Papyrus", le plus ancien traité de médecine égyptienne - daté de 1600 av. J.-C., a été trouvé, prouvant l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques (Hallmann-Mikilajcak, 2004). Au cours de la Guerre de Troie (1200 av. J.-C.), la plante *Achillea millefolium* a été utilisée sur des soldats blessés afin d'arrêter les saignements et de cicatriser les plaies (Cáceres, 1999). L'utilisation du pavot remonte également à cette période (Croteau *et al.*, 2000).

En Grèce, Pedanius Dioscorides (25-90 ap. J.-C.) a écrit un traité sur les plantes appelé « À propos de la matière médicale », œuvre rédigée en grec mais plus connue sous le nom latin de « *De Materia Medica* », contribuant à la médecine thérapeutique. Au Moyen Âge, le médecin suédois Paracelso a été considéré comme le créateur des motifs de la médecine naturelle et de nombreuses substances utilisées actuellement, y compris l'opium. Au 18^{ème} siècle, la pharmacognosie a été créée. C'est la science appliquée traitant des matières premières et des substances à potentialité médicamenteuse d'origine biologique ou minérale (Bruneton, 2009).

C'est seulement au 19^{ème} siècle que la botanique se dissocie de la médecine, la phytothérapie étant essentielle à l'arsenal thérapeutique à l'époque. Au XX^{ème} siècle, il y a eu un excellent développement des processus industriels de fabrication et de synthèse de nombreux médicaments, laissant les plantes médicinales sur un plan secondaire. Cependant, en 1970, le nombre de nouveaux articles en phytothérapies dans les revues médicales a augmenté considérablement (Attisso, 1979).

Ainsi, il y a eu un grand progrès dans le domaine de la pharmacognosie, qui a accru l'utilisation des plantes médicinales par les professionnels de la santé et les praticiens de la

médecine traditionnelle. Ferreira *et al.* (2014) ont conclu qu'il existe de nombreuses potentialités thérapeutiques dans l'utilisation de médicaments à base de phytosubstances et de plantes médicinales entières. Ils ont également conclu que malgré le nombre croissant de publications sur le terrain chaque année, il y a encore un manque d'examens et de méta-analyses qui pourraient favoriser une meilleure intégration de ces vertus thérapeutiques. En outre, la recherche sur les interactions pharmacologiques et les études multidisciplinaires peut favoriser un processus plus rapide et plus sûr, depuis le banc de travail jusqu'aux essais cliniques (Ferreira *et al.*, 2014).

Face aux problèmes posés depuis plusieurs années par les infections microbiennes et les infestations parasitaires, la seule alternative fiable à l'usage des produits chimiques antimicrobiens et antiparasitaires semble être celle des huiles essentielles (HE). Connues de façon empirique depuis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro* et *in vivo* (Deng *et al.*, 2016; Meng *et al.*, 2016; Semeniuc *et al.*, 2016; Tofiño-Rivera *et al.*, 2016).

Les HE peuvent être présentes dans toutes les parties de la plante: au niveau des racines (vétiver), des rhizomes (gingembre, curcuma), de l'écorces (cannelier), du bois (bois de rose, santal) des sommités fleuries (lavande) du fruit (anis, badiane) ou des graines (muscade) (Bruneton, 1987).

Leur synthèse et leur stockage se fait par divers organes spécialisés, tels que des cellules sécrétrices comme chez les lauracées et les zingibéracées, des canaux lysigènes chez les conifères et les ombellifères, des poils glandulaires épidermiques chez les lamiacées et les géraniacées. Quant aux poches sécrétrices schizogènes, elles se rencontrent chez les astéracées, les rosacées, les rutacées, les myrtacées, etc. (Bruneton, 1987).

Les techniques d'extraction des HE sont nombreuses. Les plus utilisées sont: l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau ; l'extraction par hydrodistillation ; l'hydrodistillation sous pression ; le système de thermopompage ; la turbodistillation ; la distillation assistée par micro-ondes ; l'expression à froid (Lagunez Rivera, 2006).

Ces huiles essentielles sont très connues pour leurs vertus thérapeutiques et sont utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle pour leur propriétés curatives et préventives, ces propriétés leur y sont accordées par les coutumes et les traditions sans passer par des études précliniques surtout *in vitro*. Parmi leurs activités prononcées en aromathérapie, on note les deux principales et qui sont sujet de notre travail: l'activité antibactérienne et antifongique.

Ces activités peuvent être exploitées et perfectionnées en thérapeutique moderne afin de contrecarrer l'émergence de microorganismes résistants aux médicaments antiinfectieux.

L'émergence de la résistance microbienne aux multiples agents antimicrobiens est devenue une grande préoccupation mondiale. Les microorganismes résistants à plus de deux groupes d'antibiotiques sont considérés comme multirésistants (Ventola, 2015). La morbidité et la mortalité mondiale par des bactéries multirésistantes est en pleine croissance. Ceci implique une augmentation des coûts de traitement qui limitent l'efficacité des médicaments existants et de manière significative à cause de leur échec. La mauvaise réponse aux traitements antimicrobiens due au mésusage et à l'apparition de mutants résistants entraîne des effets négatifs sur la santé des patients et peut même les menacer de mort. En effet, les infections nosocomiales causées par des bactéries multirésistantes est un défi majeur pour les cliniciens. Elles peuvent créer d'énormes complications chez les personnes souffrant de maladies chroniques telles que les cancéreux et les sidatiques (Ventola, 2015).

Parmi les bactéries multirésistantes les plus répandues: *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE), Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), *Pseudomonas aeruginosa* multirésistants (PAR) et *Acinetobacter baumannii* multirésistant, résistant notamment à la ticarcilline (ABR) (Bruyère, 2016).

Bien que ciblant un petit groupe de patients par rapport aux homologues viraux ou bactériens, les infections fongiques sont souvent associées à des taux élevés de morbidité et de mortalité (Srinivasan *et al.*, 2014). Sur la base d'une étude menée par l'Institut National de la Santé aux États-Unis, seulement entre 1980 et 1997, le taux de mortalité dû aux mycoses invasives, dont les agents causaux les plus courants de ces mycoses opportunistes étaient *Candida albicans* (*C. albicans*), *Aspergillus fumigatus* et *Cryptococcus neoformans*, a augmenté de 320%. L'étude révèle également que l'incidence des infections fongiques a été parallèle à l'augmentation du nombre d'individus immunodéprimés, des greffes d'organes, des troubles auto-immuns et des carcinomes. La raison de la mortalité et de la morbidité élevées est le mauvais diagnostic, l'apparition de la résistance aux médicaments et le manque de thérapie antifongique efficace (Srinivasan *et al.*, 2014).

Certains champignons peuvent former des "biofilms" qui présentent une résistance élevée aux antifongiques les plus conventionnels. A l'instar des bactéries, les biofilms sont la principale cause d'infections fongiques résistantes chez les patients immunodéprimés porteurs de cathéters individuels, de valves cardiaques, de stimulateurs cardiaques ou d'autres dispositifs d'assistance biomédicale (Srinivasan *et al.*, 2014).

Le genre *Candida* est une levure responsable de la plupart des infections systémiques fongiques invasives chez l'Homme. L'incidence des infections systémiques à *Candida*, telle

que les infections sanguines nosocomiales (candidémie), ont considérablement augmenté au cours des dernières années, et le *Candida* reste le quatrième agent pathogène le plus souvent isolé dans les cultures de sang aux Etats-Unis. En Europe, il se classe parmi les dix agents pathogènes les plus fréquemment isolés. Dans un récent sondage de nombreuses unités de soins intensifs à travers le monde, la prévalence de la candidémie a été trouvée à 6,9 pour 1000 patients. Son incidence générale est en augmentation, probablement en raison d'un nombre croissant de patients atteints manifestant des facteurs de risque de comorbidités pour la candidose invasive (Badiee et Hashemizadeh, 2014).

Les candidémies et les candidoses généralisées sont des infections potentiellement mortelles à forte morbidité et mortalité. Bien que plus fréquemment rapportés autour de 30 à 40%, les taux bruts de mortalité pourraient être aussi élevés que 50 à 60% (Mikulska *et al.*, 2012).

Jusqu'en 2000, les *C. albicans* représentaient la majorité des infections. Les espèces non-*albicans*, qui peuvent être résistantes au fluconazole (*Candida krusei* (*C. krusei*) et *Candida glabrata* (*C. glabrata*)), sont de plus en plus fréquemment isolées. Les patients immunodéprimés, tels que ceux qui sont affectés par des tumeurs solides ou hématologiques malignes, ont plus de risque à développer une candidémie. D'autres groupes à risque s'ajoutent à ceux-là tels que les patients en soins intensifs, les nouveau-nés de faible poids ou les patients subissant une chirurgie intestinale répétée. Des patients à comorbidités multiples, tels que l'âge avancé, le besoin d'une nutrition parentérale ou des infections bactériennes, sont de plus en plus décrits comme étant à risque de candidose systémique (Richardson, 2005). Mikulska *et al.* (2010) ont montré que plus de 50% de candidémies se manifestent chez des patients hospitalisés en médecine interne.

Pour remédier à ces problèmes de contamination en milieu hospitalier, l'invention et l'innovation de nouvelles molécules permettant d'améliorer l'efficacité et la sécurité des anciennes pourrait être une solution qui reste complexe et limitée vue les différentes contraintes économiques et politiques. Ce n'est donc pas une solution d'urgence en raison du temps que nécessite l'invention et la commercialisation d'un nouveau traitement (Richardson, 2005).

L'action par la stratégie des interactions synergiques entre divers antibiotiques est également prometteuse. En effet, certaines associations montrent une grande efficacité dans la lutte contre les infections nosocomiales. Cependant, l'efficacité et la sécurité de la plupart des associations restent faibles. Ceci laisse penser à d'autres alternatives (Richardson, 2005).

Dans ce sens, les associations des antimicrobiens à certaines HE sont de plus en plus étudiées. Leur efficacité et leur sécurité ont été prouvées et jugées très favorables (Rodrigues, 2009; Langeveld *et al.*, 2014).

L'objectif de ce travail est une étude pluridisciplinaire des HE extraites de six plantes médicinales qui sont:

Artemisia vulgaris L. (*A. vulgaris*) ; *Ocimum basilicum* L. (*O. basilicum*) ; *Syzygium aromaticum* L. (*Sy. aromaticum*) ; *Thymus vulgaris* (*T. vulgaris*) ; *Origanum vulgare* L. (*Or. vulgare*) ; *Rosmarinus officinalis* L. (*R. officinalis*).

Cette étude ciblera:

- L'analyse phyto-chimique et physique des huiles essentielles des plantes médicinales étudiées
- L'évaluation de leurs activités antibactérienne et antifongique
- Le décelage de certaines interactions synergiques, additives ou antagonistes entre les HE, entre HE et certains antibiotiques ou bien entre HE et certains antifongiques
- L'étude cinétique de ces interactions
- La corrélation entre leur composition phytochimique et leur activité antimicrobienne

**PREMIERE PARTIE:
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

I. Plantes médicinales et Phytothérapie

1. Plantes médicinales

Les plantes médicinales sont définies par la pharmacopée comme étant des plantes dont au moins une partie possède des propriétés thérapeutiques ou médicamenteuses. Elles sont également appelée « drogue végétale » (Gazengel et Orecchioni 2013).

La plus ancienne preuve écrite de l'utilisation des plantes médicinales pour la préparation de médicaments a été trouvée sur une dalle d'argile sumérienne de Nagpur, d'environ 5000 ans. Il comprenait 12 préparations médicinales se rapportant à plus de 250 végétaux variés. Certaines de ces plantes contiennent des alcaloïdes comme le pavot, la jusquiame noire et la mandragore (Kelly, 2009; Petrovska, 2012).

Le livre chinois sur les racines et les graminées "Pen T'Sao", écrit par l'empereur Shen Nung vers 2500 av. J.-C., traite 365 médicaments (parties séchées de plantes médicinales), dont beaucoup sont utilisés, même actuellement. Citons à titre d'exemple: le camphrier, la grande gentiane jaune, le théier, Le Podophylle pelté, le ginseng, le jimson, l'écorce de cannelle et l'éphédra (Bottcher, 1965; Wiart, 2006; Petrovska, 2012).

Les livres saints indiens « Vedas » mentionnent le traitement avec les plantes, qui sont abondantes dans ce pays comme la noix de muscade, le poivre, le girofle, etc. Le « Papyrus Ebers », écrit vers 1550 av. J.-C., représente une collection de 800 prescriptions se rapportant à 700 espèces végétales et à des médicaments utilisés pour la thérapie tels que la grenade, l'huile de ricin, l'aloès, le senna, l'ail, l'oignon, la figue, le saule, la coriandre, le genévrier, etc. (Petrovska, 2012).

Les travaux d'Hippocrate (459-370 av. J.-C.) contiennent 300 plantes médicinales classées par action physiologique: l'absinthe et la centaurée commun ont été appliquées contre la fièvre; l'ail contre les parasites intestinaux; l'opium, la jusquiame noire, la mandragore et la morelle noire ont été utilisés comme narcotiques; l'hellébore odorante et le "haselwort" comme émétiques; L'oignon de mer, le céleri, le persil, les asperges et l'ail comme diurétiques; le chêne et la grenade comme astringents (Petrovska, 2012).

Les Arabes ont introduit de nombreuses plantes dans la pharmacothérapie. Les plantes utilisées sont l'aloès, la morelle mortelle, le haricot, le caféier, le gingembre, le strychnos, le safran, le curcuma, le poivre, la cannelle, la rhubarbe, le séné, etc. Ces plantes proviennent principalement de l'Inde (Petrovska, 2012).

2. Phytothérapie

2.1 Définition

La phytothérapie est l'utilisation de médicaments dérivés de plantes dans le traitement et la prévention de la maladie. C'est une pratique médicale scientifique qui se distingue des autres approches plus traditionnelles, comme l'herboristerie médicale. Cette dernière repose sur une appréciation empirique des herbes médicinales. Elle est souvent liée aux connaissances traditionnelles. L'approche d'un herboriste n'a généralement pas été évaluée dans des essais cliniques contrôlés ou dans des études biomédicales rigoureuses, alors que de nombreux essais et études pharmacologiques de préparations phytothérapeutiques spécifiques existent. L'interprétation et l'acceptation d'une telle preuve pour les pratiques phytothérapeutiques varie. Dans certains pays, il est jugé suffisant d'autoriser des produits phytothérapeutiques en tant que médicaments, alors que dans d'autres pays, la phytothérapie est considérée comme une forme de médecine traditionnelle (Heinrich, 2017).

2.2 Historique

Le concept de phytothérapie est né avec le médecin français Leclerc, qui a utilisé pour la première fois le terme en 1913 et qui a publié plusieurs éditions du Précis de phytothérapie, le premier en 1922. La phytothérapie est entrée dans la langue anglaise avec sa définition commune. Elle a été introduite en 1934 par Powell, praticien anglais de l'herboristerie et de l'homéopathie (Heinrich, 2016).

En 1960, Weiss, médecin et herboriste allemand, a publié le livre de phytothérapie, qui est devenu le manuel définitif allemand sur le sujet. Les approches de Leclerc et de Weiss ont toutes deux mis l'accent sur ce qui sera décrit plus tard comme une médecine fondée sur des preuves (Heinrich, 2016).

Un autre point de repère important dans l'histoire de la phytothérapie a été l'émergence en 1987 de la revue "*Phytotherapy Research*", édité par le pharmacographe britannique Evans. En 1997, le livre "*Rational Phytotherapy*" a été publié sous la direction du pharmacographe américain Tyler. Le travail était une traduction anglaise du livre allemand "*Phytothérapie Rationnelle*", écrit en 1996 par Schulz et Hänsel (Heinrich, 2016).

2.3 Intérêt et limites

La phytothérapie a des intérêts qui ont été démontrés par plusieurs études et travaux. En effet, elle est largement utilisée dans les pays asiatiques et occidentaux pour la prévention et la gestion des maladies, l'amélioration de la santé générale et l'anti-vieillessement. Plusieurs études ont été menées sur l'efficacité de la phytothérapie dans les maladies urologiques telles

que l'hyperplasie bénigne de la prostate (HBP), le dysfonctionnement érectile (DE), l'hypogonadisme de survenue tardive (HST) et l'infertilité chez les mâles (Kim, 2012).

Le palmier à scie, le prunier d'Afrique et les orties, font actuellement l'objet d'une recherche vigoureuse pour l'effet thérapeutique contre l'HBP. Aucune preuve solide démontrant une meilleure modalité de traitement pour le DE, que le placebo, n'a été trouvée pour la phytothérapie. La L-arginine, un puissant donneur de monoxyde d'azote, est en cours de recherche avec des résultats prometteurs. La phytothérapie est utilisée par un certain nombre de patients atteints de la maladie urologique. Ceci nécessite des connaissances précises sur la phytothérapie ainsi que la garde d'une approche prudente de la part des urologues. Ceci est en raison de l'intolérance des produits aromatiques, leurs effets secondaires ainsi que l'insuffisance des études agrées sur des échantillons de population représentatifs (Kim, 2012).

Un certain nombre de plantes sont censées être susceptibles de causer des effets indésirables. En outre, l'adultération, la formulation ou le manque de compréhension des interactions entre les plantes et les médicaments ont entraîné des réactions indésirables parfois mortelles. Bien que de nombreux consommateurs croient que les plantes médicinales sont sûres parce qu'elles sont «naturelles», les médicaments à base de plantes peuvent interagir avec des principes actifs de synthèse causant la toxicité pour le patient, ainsi ces plantes peuvent être contaminées par des microorganismes pathogènes ou par des substances toxiques, ou utilisées pour remplacer les médicaments sans preuves scientifiques (Elvin-Lewis, 2001).

L'éphédra (*Ephedra sinica*) a été connue pour avoir de nombreux effets secondaires, y compris des réactions cutanées sévères, une irritabilité, une nervosité, des étourdissements, des tremblements, des maux de tête, une insomnie, une transpiration abondante, une déshydratation, des démangeaisons du cuir chevelu et de la peau, des vomissements, une hyperthermie, un rythme cardiaque irrégulier, des convulsions, une crise cardiaque, ou la mort. Elle avait des usages médicaux légitimes, des utilisations illégales et des effets secondaires puissants. Connue et utilisée comme "thé Mormon" ou "thé indien", la plante contient des composés chimiques puissants qui sont l'éphédrine et la pseudoéphédrine. En plus d'être des précurseurs utilisés pour synthétiser la méthamphétamine, ils ont des effets directs sur le système nerveux central (SNC) (Elvin-Lewis, 2001).

La sécurité des suppléments diététiques contenant de l'éphédrine a été mise en doute par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis, le Centre national de santé complémentaire et intégrative et la communauté médicale à la suite de rapports d'effets secondaires graves et la mort liés à l'éphédra. Cependant, lorsqu'elle est utilisée de façon

appropriée, cette même plante est un décongestionnant efficace, un bronchodilatateur contre l'asthme et un adjuvant pour le rhume (Haller et Benowitz, 2000).

En France, les végétaux sont en cause dans environ 5% des cas donnant lieu à un appel à un centre antipoison et de toxicovigilance. Les intoxications par les plantes concernent principalement l'enfant et sont généralement bénignes. Chez l'adulte, elles sont rares et surviennent soit dans un contexte suicidaire, soit par confusion avec une plante comestible, soit par utilisation de la plante dans un but addictif ou thérapeutique. Ces intoxications peuvent être graves et mettre en jeu le pronostic vital (Flesch, 2012).

L'utilisation des plantes médicinales, tout comme les autres produits de santé, demande une extrême vigilance et l'avis de professionnels afin d'avoir plus d'efficacité et de sécurité.

II. Huiles essentielles et l'aromathérapie

1. Huiles essentielles

1.1 Définitions

L'HE est un produit résultant de la distillation à la vapeur d'eau (hydrodistillation) de l'essence végétale, sécrétion naturelle synthétisée par les plantes dites aromatiques, excrétée dans des organes spécifiques (poches à essence), et responsable de l'odeur de la partie de plante concernée (Valnet, 1984).

Selon l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM, 2008): l'HE est un « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». La Commission de la Pharmacopée Européenne (2008) propose la même définition.

L'Association Française de Normalisation (AFNOR) a proposé une définition correspondant à la norme ISO 9235 révisée en 2013, désignant ainsi les HE comme «des produits obtenus à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir du péricarpe du genre *Citrus*, fruit des agrumes, soit par distillation sèche, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques. L'HE peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (par exemple: filtration, décantation, centrifugation) ».

Selon l'AFNOR, il faut utiliser le terme d'essence alors que la Pharmacopée française et la Pharmacopée européenne utilisent le terme d'HE. Le terme d'HE a été retenu par les spécialistes en pharmacognosie (Bruneton, 2009).

1.2 Historique

Les huiles essentielles, ou les huiles aromatiques comme elles étaient autrefois appelés, ont été utilisées par de nombreuses cultures à travers le monde depuis des siècles. Leurs usages variaient entre les cultures à des fins religieuses et thérapeutiques. Il est difficile de déterminer exactement quand les huiles essentielles ont gagné la notoriété comme des agents de guérison efficaces, mais finalement la connaissance des huiles essentielles devient très répandue autour du globe (Keville, 2007; Lawless, 2013).

La première preuve de la connaissance humaine des propriétés curatives des plantes a été trouvée à Lascaux, situé en Dordogne en France. Là, les peintures rupestres suggèrent l'utilisation de plantes médicinales dans la vie quotidienne qui date dès 18 000 avant J.-C. (Keville, 2007; Lawless, 2013).

Les Egyptiens utilisaient des huiles aromatiques dès 4500 avant JC. Ils sont devenus célèbres pour leurs connaissances de la cosmétologie, des onguents et des huiles aromatiques. Le plus célèbre de leurs préparations à base de plantes "Kyphi" était un mélange de 16 ingrédients qui pourraient être utilisés comme encens, parfum ou médicament (Keville, 2007; Lawless, 2013). En Chine, l'utilisation d'huiles aromatiques a été enregistrée pour la première fois en Chine entre 2697 et 2597 avant J.-C. pendant le règne de Huang Ti, le légendaire Empereur Jaune. Son livre célèbre "Livre de l'Empereur Jaune de médecine interne" contient des utilisations pour plusieurs aromatiques et est toujours considéré comme un classique utile par les praticiens de la médecine orientale (Keville, 2007; Lawless, 2013).

En Inde, la médecine indienne traditionnelle incorporait les huiles essentielles dans leurs potions de guérison il y a de plus de 3000 ans. La littérature védique répertorie plus de 700 substances, dont la cannelle, le gingembre, la myrrhe et le bois de santal; comme des remèdes efficaces (Keville, 2007; Lawless, 2013).

En Grèce, entre 500 et 400 avant J.-C., les Grecs ont enregistré la connaissance des huiles essentielles adoptées des Egyptiens. Un onguent de myrrhe a été utilisé par des soldats dans des batailles pour contrer les infections (Keville, 2007; Lawless, 2013).

Le médecin grec Hippocrate (460-377 avant JC.), connu comme le «père de la médecine» a documenté les effets de quelque 300 plantes, y compris le thym, le safran, la marjolaine, le cumin et la menthe poivrée (Keville, 2007; Lawless, 2013).

Les Romains étaient connus pour l'application somptueuse de l'huile parfumée à leur corps, leur literie et leurs vêtements. Il était également coutumier pour eux d'utiliser des huiles dans les massages et les bains. Les médecins romains ont apporté avec eux des livres écrits par Galien et Hippocrate pendant qu'ils fuyaient lors de la chute de l'Empire romain. Ces textes ont ensuite été traduits en persan, en arabe et dans d'autres langues (Keville, 2007; Lawless, 2013).

En Iran, Ibn Sina (communément connu sous le nom d'Avicenne) a vécu de 980 à 1037, était un enfant prodige et est devenu un médecin bien éduqué à l'âge de 12 ans. Il a écrit des livres sur les propriétés de 800 plantes et leurs effets sur le corps humain. Il est également crédité d'être la première personne à découvrir et à enregistrer la méthode de distillation des huiles essentielles. Ses méthodes sont toujours en usage (Keville, 2007; Lawless, 2013).

En Europe, pendant les Croisades, les Chevaliers et leurs armées ont été chargés de transmettre la connaissance des médicaments à base de plantes qu'ils ont appris au Moyen-Orient, dans toute l'Europe occidentale. Ils ont acquis la connaissance de la distillation et ont porté des parfums avec eux (Keville, 2007; Lawless, 2013).

L'encens et le pin ont été brûlés dans les rues pour écarter les «mauvais esprits» pendant la peste bubonique du 14ème siècle. Il a été noté que moins de personnes sont mortes de la peste dans les zones où cela a été fait (Keville, 2007; Lawless, 2013).

En 1653, Culpeper écrivit son livre «The Complete Herbal» qui reste une référence précieuse. Son livre décrit de nombreux états pathologiques et leurs remèdes qui sont encore appropriés de nos jours (Keville, 2007; Lawless, 2013).

Le chimiste français Gattefossé a inventé le terme «Aromathérapie» tout en étudiant les propriétés antiseptiques des huiles essentielles. Son livre "Aromathérapie" dans lequel il détaille les types d'huiles essentielles et leurs capacités de guérison a été publié en 1937. Cette référence a été influente dans les pratiques médicales en France (Gattefossé, 1937).

1.3 Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Selon Bruneton (2009), il existe 17 500 espèces aromatiques. Les familles concernées sont les: *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Piperaceae*, *Poaceae*, *Rutaceae*, *Zingiberaceae*, etc. (Bruneton, 2009).

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans toutes les parties de la plante. Citons à titre d'exemple: le bois (bois de rose, santal), l'écorce (cannelier), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma), les sommités fleuries (lavande), les fruits (anis, badiane) et les graines (muscade) (Bruneton, 1987).

1.4 Synthèse et Stockage

La synthèse et le stockage des huiles essentielles se fait par des organes spécialisés, qui sont:

- Les cellules sécrétrices chez les Lauracées, les Zingibéracées, etc.
- Les canaux glandulaires lysigènes chez les Conifères, les Ombellifères, etc.
- Les poils glandulaires épidermiques chez Lamiacées, les Géraniacées, etc.
- Les poches sphériques schizogènes se rencontrent chez les Astéracées, les Rosacées, les Rutacées, les Myrtacées, etc. (Bruneton, 1987).

1.5 Production et méthodes d'extraction des huiles essentielles

1.5.1 Extraction conventionnelle

Les techniques d'extraction classiques peuvent générer la perte et la dégradation de certains composés insaturés par des effets thermiques ou par hydrolyse. Ces inconvénients ont attiré l'attention des chercheurs et stimulé l'intensification, l'optimisation et l'amélioration des techniques d'extraction "vertes" existantes et nouvelles. Toutes ces techniques sont appliquées de manière appropriée en examinant attentivement les organes des plantes et la qualité des produits finaux. En outre, la composition analytique des HE extraites du même organe végétal peut être très différente selon la technique utilisée. Ces techniques d'extraction classiques peuvent généralement extraire 0,005 à 10% des HE provenant de plantes, ce qui est influencé par la durée de distillation, la température, la pression de fonctionnement et, surtout, le type et la qualité des matières premières végétales (Li *et al.*, 2014).

1.5.1.1 Distillation à la vapeur

La distillation à la vapeur est l'une des méthodes anciennes et officielles approuvées pour l'isolement des HE à partir de matériaux végétaux. Les matières végétales chargées dans l'alambic sont soumises à la vapeur sans macération dans l'eau. La vapeur injectée traverse les plantes de la base de l'alambic vers son sommet. La vapeur chargée d'huiles essentielles s'écoule dans une colonne "col de cygne" et est ensuite condensée avant la décantation et la collecte dans un flacon florentin. Les HE qui sont plus légers ou plus lourds que l'eau forment deux phases immiscibles et peuvent être facilement séparés. Le principe de cette technique est que la pression de vapeur combinée est égale à la pression ambiante à environ 100°C de sorte que les composants volatils avec les points d'ébullition allant de 150 à 300°C peuvent être évaporés à une température proche de celle de l'eau. En outre, cette technique peut également être effectuée sous pression en fonction de la difficulté d'extraction des HE (Li *et al.*, 2014).

1.5.1.2 Hydrodiffusion

Contrairement à la distillation à la vapeur, la vapeur injectée dans ce système est dirigée du haut de l'alambic vers le fond. Le mélange de vapeur avec HE est directement condensé sous

le support de la plante par un plateau perforé. La façon de séparer les HE est la même que dans d'autres méthodes de distillation. Cette méthode peut réduire la consommation de vapeur et le temps de distillation, tandis qu'un meilleur rendement peut être obtenu par rapport à la distillation à la vapeur (Li *et al.*, 2014).

1.5.1.3 Hydrodistillation

Hydrodistillation (HD) est une variante de la distillation à la vapeur, recommandée par la Pharmacopée française pour l'extraction d'HE à partir d'épices séchées afin de contrôler la qualité des HE au laboratoire. Au lieu de faire entrer de la vapeur d'eau, les matériaux végétaux en hydrodistillation sont directement immergés dans l'eau. Ce mélange solide-liquide est ensuite chauffé jusqu'à ébullition sous pression atmosphérique dans un alambic, où la chaleur permet la libération de molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces composés aromatiques volatils et l'eau forment un mélange azéotropique. Ils peuvent être évaporés ensemble à la même pression et ensuite condensés et séparés dans un ballon florentin en raison de leur immiscibilité et de leur différence de densité. En outre, un système de cohobation peut recycler l'eau distillée à travers un siphon afin d'améliorer le rendement et la qualité des HE. Il est important de mentionner que les HE récupérées sont différentes de l'essence originale en raison de la longue durée de traitement (Li *et al.*, 2014).

1.5.1.4 Cohobation

La cohobation est une procédure qui ne peut être utilisée que pendant l'hydrodistillation ou la distillation à l'eau et à la vapeur. Elle utilise la pratique consistant à renvoyer l'eau distillée à l'alambic après l'extraction de l'huile afin qu'elle puisse être rebouillie et cela dans le but de minimiser les pertes de composants oxygénés, en particulier les phénols qui se dissolvent dans l'eau distillée. Pour la plupart des huiles, ce niveau de perte par solution dans l'eau est inférieur à 0,2%, alors que pour les huiles riches en phénol, la quantité d'huile dissoute dans l'eau distillée est de 0,2 à 0,7% (Handa, 2008).

En conséquence, la pratique de la cohobation n'est pas recommandée, sauf si la température à laquelle les constituants oxygénés dans le distillat sont exposés n'est pas supérieure à 100°C (Handa, 2008).

1.5.1.5 Combinaison de distillation d'eau et de vapeur

Ce processus est fondamentalement un mariage entre la distillation d'eau normale et celle de la distillation à la vapeur. Dans la distillation à l'eau et à la vapeur, la vapeur peut être générée soit dans une chaudière satellite, soit dans l'eau, bien que séparée du matériau végétal. Comme la distillation à l'eau, la distillation à l'eau et à la vapeur est largement utilisée dans les zones rurales. En outre, il ne nécessite pas beaucoup plus de dépenses que la distillation à

l'eau. En outre, l'équipement utilisé est généralement similaire à celui utilisé dans la distillation à l'eau, mais le matériel végétal est supporté au-dessus de l'eau bouillante sur une grille perforée (Handa, 2008).

1.5.1.6 Distillation destructive

Cette technique n'est appliquée que sur le bouleau (*Betula lenta* ou *Betula alba*) et le cade (*Juniperus oxycedrus*). Les parties les plus dures de ces bois (par exemple écorces, branches, racines, etc.) sont exposées à une distillation sèche à travers un goudron après avoir subi un processus destructeur sous une chaleur intense. Une huile typique, coriace et empyreumatique est ensuite obtenue après condensation, décantation et séparation (Li *et al.*, 2014).

1.5.1.7 Expression à froid

Cette technique est une extraction sans chauffage pour les HE de la famille des agrumes (Rutaceae). Le principe de ce processus mécanique est basé sur la forte pression exercée par des machines perfectionnées et ce à température ambiante pour la libération d'HE contenues dans les petites glandes de leur écorce (zestes). L'essence est ensuite isolée par décantation ou centrifugation. Bien que cette méthode conserve une forte valeur d'odeur d'agrumes, la consommation élevée d'eau peut affecter la qualité des HE à la suite de l'hydrolyse et de la dissolution des composés oxygénés (Li *et al.*, 2014). Ainsi on distingue deux méthodes:

➤ **Méthode pelatrice**

Dans la méthode pelatrice, les agrumes sont alimentés à partir d'une trémie dans la coque abrasive de la machine. Les fruits sont tournés contre la coquille abrasive par une vis archimédienne à mouvements lents dont la surface râpe les écorces des fruits provoquant l'éclatement et la libération de leur émulsion huile-eau contenue dans des cavités riches en huiles essentielles. Cette vis transporte davantage le fruit dans une trémie dans laquelle les rouleaux recouverts de pointes abrasives éclatent les cavités d'huiles restantes. L'émulsion d'huile et d'eau est éliminée du fruit par une pulvérisation d'eau. Elle passe ensuite par un séparateur où des solides sont enlevés, après quoi elle traverse deux séparateurs centrifuges en série pour donner l'huile pure. La plupart de l'huile de bergamote et de l'huile de citron sont produites de cette façon en Italie (Handa, 2008).

➤ **Méthode sfumatrice**

L'équipement de la méthode sfumatrice se compose d'une chaîne métallique qui est dessinée par deux rouleaux à nervures horizontales. Les pelures sont transportées à travers ces rouleaux au niveau desquels elles sont pressées pour libérer leur huile. Comme dans la méthode pelatrice, l'huile est lavée dans des rouleaux par des pulvérisations d'eau. Elle est d'abord passée à travers un séparateur avant d'être envoyée à deux centrifugeuses en série, de sorte

que l'huile purifiée peut être produite. La méthode sfumatrice était le procédé le plus populaire pour l'isolement des huiles d'agrumes en Italie; cependant, actuellement, la méthode pelatrice apparaît plus populaire (Handa, 2008).

1.5.1.8 Enfleurage

L'enfleurage pourrait être comparé à certains aspects employés dans la macération, mais il est fait d'une manière légèrement différente. Le principe d'enfleurage est simple. Certaines fleurs (par exemple la tubéreuse et le jasmin) continuent de développer leurs activités physiologiques et de dégager du parfum même après la cueillette. La graisse possède une grande puissance d'absorption et, lorsqu'elle est mise en contact avec des fleurs parfumées, elle absorbe facilement le parfum émis. Ce principe, méthodiquement appliqué à grande échelle, constitue l'enfleurage. Pendant toute la période de récolte, qui dure de huit à dix semaines, les fleurs fraîchement cueillies sont parsemées sur la surface d'une base grasse spécialement préparée (corps) et laissées pendant 24 h dans le cas du jasmin et plus longtemps dans le cas de la tubéreuse. Elles sont ensuite remplacées par des fleurs fraîches. A la fin de la récolte, la graisse, qui n'est pas renouvelée pendant le processus, est saturée d'huile de fleur. Par la suite, l'huile est extraite de la graisse avec de l'alcool puis isolée (Handa, 2008).

1.5.1.9 Extraction par solvant

Les huiles essentielles peuvent être extraites à l'aide de solvants tels que le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou l'hexane. Ils sont souvent utilisés sur des matériaux fragiles tels que le narcisse, la jacinthe, le jasmin qui ne seraient pas capables de supporter la chaleur de la distillation à la vapeur. Les principes aromatiques gras, les pigments, les cires, les résines de la plante fraîche sont dissouts dans un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique: la concrète.

Cette concrète, purifiée par l'alcool absolu, donne l'absolue, qui n'est pas stricto sensu une huile essentielle mais s'en rapproche beaucoup. On appelle résinoïde l'homologue de la concrète obtenu à partir de plante sèche. Certains rapports signalent un résidu de solvant de 6 à 20% encore présent dans l'extraction terminée (Duraffourd et Lapraz, 2002).

1.5.2 Extraction verte avec des techniques innovantes

Étant donné que l'économie, la compétitivité, l'écologie, la durabilité, la haute efficacité et la bonne qualité deviennent des mots-clés de la production industrielle moderne, le développement des techniques d'extraction des HE n'a jamais été interrompu. Les techniques conventionnelles ne sont pas le seul moyen d'extraire des HE. Les nouvelles techniques respectant le concept et les principes de l'extraction verte ont constamment émergé ces dernières années pour l'obtention d'extraits naturels avec une qualité similaire ou meilleure à

celle des méthodes officielles tout en réduisant les unités opérationnelles, la consommation d'énergie, les émissions de CO₂ et les co-extraits nocifs dans des cas spécifiques. Les principes de l'extraction verte peuvent être généralisés comme la découverte et la conception des procédés d'extraction qui pourraient réduire la consommation d'énergie et permettre l'utilisation de solvants alternatifs innovants et de ressources végétales renouvelables afin d'éliminer les solvants à base de pétrole et assurer une qualité sûre et élevée des extraits ou des produits (Li *et al.*, 2014).

1.5.2.1 Turbo-distillation

Cette technique est développée pour réduire la consommation d'énergie et d'eau pendant l'ébullition et le refroidissement dans l'hydro-distillation. L'extraction par turbo permet une agitation et un mélange importants avec un cisaillement et un effet destructif sur les matériaux végétaux afin de raccourcir le temps de distillation d'un facteur de 2 ou de 3. En outre, il s'agit d'une alternative pour l'extraction d'HE à partir d'épices ou de bois, qui sont relativement difficiles à distiller. Un prototype d'éco-évaporateur pourrait être ajouté avec l'aspect de la récupération et la réutilisation de l'énergie transférée pendant la condensation pour le chauffage de l'eau dans la vapeur (Li *et al.*, 2014).

1.5.2.2 Extraction assistée par ultrasons

Dans le but d'obtenir des rendements d'extraction plus élevés et une consommation d'énergie plus faible, l'extraction par ultrasons a été développée pour améliorer l'efficacité et réduire le temps d'extraction. L'effondrement des bulles de cavitation générées lors de l'ultrasonication donne lieu à des micro-jets pour détruire les glandes d'HE afin de faciliter le transfert de masse et la libération des HE de la plante. Cet effet de cavitation dépend fortement des paramètres de fonctionnement (par exemple, la fréquence et l'intensité ultrasonores, la température, le temps de traitement, etc.) qui sont cruciaux dans une conception et un fonctionnement efficaces des sono-réacteurs (Li *et al.*, 2014).

En plus de l'amélioration du rendement, les HE obtenues par extraction assistée par ultrasons ont montré moins de dégradation thermique avec une qualité élevée et une bonne saveur. Cependant, le choix de la sonotrode devrait être prudent en raison de la contamination métallique qui peut accélérer l'oxydation et réduire ultérieurement la stabilité des HE. Cette technique a déjà prouvé sa puissance, ce qui montre 44% de l'augmentation du rendement d'extraction des HE provenant des agrumes japonais par rapport aux méthodes traditionnelles (Li *et al.*, 2014).

1.5.2.3 Extraction assistée par micro-ondes

La micro-onde est une source de chaleur sans contact qui permet d'obtenir un chauffage plus efficace et plus sélectif. Avec l'aide de micro-onde, la distillation peut ainsi être accomplie en quelques minutes au lieu de plusieurs heures. Les avantages sont variés. Ils correspondent aux principes de chimie et d'extraction verte. Dans cette méthode, les matières végétales sont extraites dans un réacteur à micro-ondes avec ou sans solvants organiques ou avec de l'eau dans différentes conditions selon le protocole expérimental. La première extraction par micro-assistance des HE a été proposée comme distillation par micro-onde à air comprimé (DMAC) (Craveiro *et al.*, 1989). Sur la base du principe de la distillation à la vapeur, l'air comprimé est injecté en continu dans l'extracteur où les matrices végétales sont immergées dans l'eau et chauffées par micro-ondes. L'eau et les HE sont condensées et séparées à l'extérieur du réacteur à micro-ondes. La DMAC peut être complétée en seulement 5 minutes et il n'y a aucune différence dans les résultats quantitatifs et qualitatifs entre les extraits de la DMAC et l'extraction conventionnelle de 90 minutes à l'aide de la distillation à la vapeur. Afin d'obtenir des HE de haute qualité, l'hydro-distillation par micro-ondes sous vide a été conçue pour éviter l'hydrolyse (Mengal *et al.*, 1993). Les matières végétales fraîches ont été exposées à une irradiation par micro-ondes pour libérer les extraits. La réduction de la pression à 100-200 mbars permet d'évaporer le mélange azéotropique eau/huile à une température inférieure à 100°C. Cette opération peut être répétée plusieurs fois avec une puissance constante de micro-ondes, ce qui dépend du rendement désiré (Li *et al.*, 2014).

1.5.2.4 Technologie instantanée de perte de pression contrôlée

Il s'agit d'une technique directe de séparation-extraction, qui n'est pas comme la diffusion moléculaire dans les techniques conventionnelles. Elle permet d'éliminer les composés volatils à la fois par évaporation pendant une courte période à haute température (180°C) et à haute pression (10 bars) et à l'auto-vaporisation à partir de structures végétales alvéolées résultant d'une chute de pression instantanée multi-cycles (Rezzoug *et al.*, 2005; Besombes *et al.*, 2010). Ce procédé exempt de solvant présente une amélioration significative, que ce soit dans l'efficacité ou dans la consommation d'énergie et un temps de chauffage très court dans chaque cycle ce qui élimine la dégradation thermique. On obtient ainsi le même rendement ou même plus élevé d'HE avec une qualité supérieure à celle des méthodes classiques concernant leurs composés plus oxygénés et des hydrocarbures inférieurs à sesquiterpène. En outre, le temps de chauffage et le nombre de cycles en particulier influent sur l'efficacité d'extraction (Li *et al.*, 2014).

1.5.3 Autres techniques d'extraction verte émergentes

A l'exception des techniques décrites ci-dessus, il existe d'autres techniques émergentes pour l'extraction des HE qui sont bien établies au début de l'innovation. Il est difficile d'ignorer que toutes ces techniques ont été appliquées avec succès à l'échelle industrielle (Li *et al.*, 2014).

1.5.3.1 Extraction de distillation simultanée (EDS)

Ce procédé permet l'extraction de composés volatiles à partir d'un milieu aqueux vers un milieu solvant organique non miscible à l'eau, sans qu'il n'y ait de contact entre le solvant organique et l'échantillon traité. Ainsi, le système évite d'extraire des substances indésirables du milieu traité, telles que, les lipides, les pigments ou autre substances ne faisant pas partie de la fraction volatile désirée, ce qui pourrait se produire dans le cas d'un contact direct avec le solvant (Chaintreau *et al.*, 1997).

1.5.3.2 Extraction assistée par champ électrique pulsé (EACEP)

Cette technique applique des impulsions courtes à haute tension afin de créer une électro-compression, ce qui provoque la déchirure et la perforation des cellules végétales. La chambre de traitement dans l'EACEP se compose d'au moins deux électrodes avec une région isolante entre les deux, où se produit le traitement des matières végétales (Li *et al.*, 2014).

1.5.3.3 Extraction de fluide de CO₂ supercritique

Le matériel végétal est placé dans un extracteur avec le flux de CO₂ supercritique. Dans sa phase supercritique (au-dessus de 74 bars et 31°C), le CO₂ présente l'avantage d'être un solvant lipophile "vert" totalement neutre, non inflammable, non polluant et non toxique, avec une forte diffusivité ce qui lui confère une bonne capacité de diffusion et une densité élevée allant de gaz-like au liquide à la capacité de transport et d'extraction majeure. Les fluides transportant des extraits de plantes traversent la phase gazeuse. Les extraits sont ensuite séparés et collectés dans un séparateur (Li *et al.*, 2014).

1.5.3.4 Extraction d'eau sous-critique

L'eau chaude est utilisée à des températures entre l'ébullition (100°C) et le point critique (374,1°C) d'eau. L'eau est maintenue sous sa forme liquide sous l'effet de haute pression. Dans ces conditions, la polarité de l'eau diminue, ce qui permet l'extraction de molécules moyennement polaires et non polaires sans utiliser de solvants organiques (Li *et al.*, 2014).

1.6 Conservation et stockage

Les HE sont des produits instables ce qui implique des précautions particulières pour leur conservation (Norme NF 75-002, 1996; ANSM, 2008). La dégradation des HE peut se faire par plusieurs facteurs. Cette dégradation peut être mise en évidence par la mesure d'indices chimiques (indice de peroxyde, indice d'acide, etc.), par la détermination de grandeurs

physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, densité, etc.) et/ou par l'analyse chromatographique (norme NF 75-002, 1996; ANSM, 2008). Les conséquences sont multiples, citons à titre d'exemples, la photoisomérisation, la photocyclisation, la coupure oxydative, la peroxydation et la décomposition en cétones et en alcools, la thermo-isomérisation, l'hydrolyse et la transestérification (Norme NF 75-002, 1996; ANSM, 2008).

Une bonne conservation nécessite l'utilisation de flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte), puis le stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière. Un antioxydant approprié peut être ajouté à l'huile essentielle et doit être mentionné dans la composition. Les matières plastiques sont un vrai problème d'incompatibilités physicochimiques. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des HE ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996; ANSM, 2008).

1.7 Rôle biologique et propriétés pharmacologiques

Beaucoup d'hypothèses se sont développées autour du rôle biologique exact des huiles essentielles dans la plante, mais ce rôle n'est pas bien élucidé ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation (Richard, 1992). Ces hypothèses supposent que les huiles ont un rôle de défense contre les prédateurs (animaux et microorganismes), de modérateur des réactions d'oxydation intramoléculaire de producteur d'énergie, de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique et de messenger chimique (Figueredo, 2007).

Les huiles essentielles sont considérées par certains auteurs comme des signaux chimiques intervenant dans le contrôle ou la régulation de l'environnement des plantes. Elles jouent un rôle attractif vis à vis des insectes pollinisateurs. Elles interviennent également dans la défense contre les microorganismes pathogènes. Ainsi, des quantités énormes en huiles essentielles jouent un rôle répulsif vis-à-vis des herbivores, en plus d'un rôle dans les interactions végétal-végétal (inhibition de la germination et de la croissance) (Richter, 1993).

Les huiles essentielles sont de vraies mines thérapeutiques, leurs effets bénéfiques sont nombreux. Elles peuvent avoir des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, ovicides, anti-oxydantes, anti-cancérogènes, anti-acétylcholinestérase, hypoglycémiantes et anti-hépatotoxique (Johnson, 2015; Lawless, 2016).

1.8 Toxicité et tolérance

Les huiles essentielles ne sont pas toujours bien tolérées par l'organisme surtout lorsqu'elles sont utilisées pures. Elles sont connues par les effets secondaires: allergisant, hépatotoxique,

irritant, néphrotoxique, neurotoxique, photosensibilisant, vésicant et nécrosant (Ernst et Pittler, 2005; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013; Quattrocchi, 2016).

2. Aromathérapie

2.1 Définition

L'aromathérapie est l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles aromatiques dérivées de plantes pour promouvoir le bien-être physique et psychologique. Elle est parfois utilisée en combinaison avec le massage et d'autres techniques thérapeutiques dans le cadre d'une approche de traitement holistique (Krapp et Longe, 2001).

L'aromathérapie offre divers avantages physiques et psychologiques, en fonction de l'huile essentielle ou de la combinaison d'huile et la méthode d'application utilisée. Certaines propriétés médicinales courantes des huiles essentielles utilisées dans l'aromathérapie incluent: analgésique, antimicrobien, antiseptique, anti-inflammatoire, astringent, sédatif, antispasmodique, expectorant, diurétique et sédatif (Krapp et Longe, 2001).

Elle peut être prescrite comme une thérapie complémentaire ou, plus controversée, comme une forme de médecine alternative. Une thérapie complémentaire peut être offerte en même temps que le traitement standard, tandis que la médecine alternative remplace les traitements conventionnels basés sur des preuves (Kuriyama *et al.*, 2005).

2.2 Historique

Bien que le terme aromathérapie soit d'utilisation récente (20^{ème} siècle), ses fondements remontent à des milliers d'années. Son historique est très lié à celui des huiles essentielles (Krapp et Longe, 2001).

Le médecin français Valnet a utilisé les plantes aromatiques comme traitement de base pour les soldats blessés pendant la Seconde Guerre Mondiale. Son ouvrage « Aromathérapie », est une synthèse des traitements des maladies par les essences des plantes, publié en 1964, qui a popularisé l'utilisation des huiles essentielles pour les traitements médicaux et psychiatriques dans toute la France. Dans les années cinquante, la biochimiste française Maury a popularisé les avantages cosmétiques des huiles essentielles et en 1977, Tisserand a écrit le premier livre, Art de l'aromathérapie, en langue anglaise sur le sujet, qui a introduit le massage comme un traitement complémentaire à l'aromathérapie et a déclenché sa popularité aux Royaume-Uni (Krapp et Longe, 2001).

En aromathérapie, les huiles essentielles sont soigneusement sélectionnées pour leurs propriétés médicinales. Comme elles sont absorbées par l'application sur la peau ou par inhalation, elles passent dans la circulation sanguine, leurs composants actifs déclenchent

certaines effets pharmacologiques comme le soulagement de la douleur (Krapp et Longe, 2001).

En plus des avantages physiques, l'aromathérapie a de puissants avantages psychologiques. On pense que la volatilité d'une huile, ou la vitesse à laquelle elle s'évapore en plein air, est liée à son effet psychologique spécifique. En règle générale, les huiles qui s'évaporent rapidement sont considérées comme ayant des effets émotionnels élevés, tandis que les huiles qui s'évaporent lentement sont censées avoir un effet calmant (Krapp et Longe, 2001).

2.3 Intérêts et limites

Depuis des siècles, l'aromathérapie a trouvé son importance comme méthode curative et préventive. L'aromathérapie est utilisée dans plusieurs domaines tels que :

➤ Aromathérapie cosmétique

Cette thérapie utilise certaines huiles essentielles à des fins cosmétiques pour la peau, le corps, le visage et les cheveux. Ces produits sont utilisés pour leurs divers effets tels que le nettoyage, l'hydratation, le séchage et la tonification. Quelques gouttes d'huile appropriée procurent une expérience rajeunissante et revitalisante (Ali et *al.*, 2015).

➤ Massothérapie

C'est l'une des anciennes thérapies contre les douleurs musculaires et articulaires. Il a été démontré que l'utilisation des huiles essentielles dans de l'huile végétale pure pendant le massage avait des effets remarquables. Ceci est également connu comme touche de guérison de la massothérapie (Ali et *al.*, 2015).

➤ Aromathérapie médicale

Le fondateur de l'aromathérapie moderne, Gattefosse, a utilisé les huiles essentielles pour masser les patients au cours d'une intervention chirurgicale ainsi pour traiter certaines pathologies. L'utilisation de l'aromathérapie dans le domaine médicale se base sur les effets pharmacologiques des HE, qui sont en général antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, antivirales, antimycosiques, antiinflammatoires, antispasmodiques, antioxydantes, anticancéreuses, cardiotoniques, etc. (Ali et *al.*, 2015).

➤ Aromathérapie olfactive

L'inhalation d'huiles essentielles a donné lieu à l'aromathérapie olfactive, où une simple inhalation a amélioré le bien-être émotionnel induisant du calme, une relaxation ou un rajeunissement du corps humain. Le relâchement des contraintes est soudé avec des senteurs agréables qui permettent de débloquent les souvenirs d'odeurs. Les huiles essentielles sont complétées par un traitement médical et ne peuvent en aucun cas être remplacées, il s'agit donc d'un traitement complémentaire et non pas alternatif (Ali et *al.*, 2015).

➤ Psycho-aromathérapie

En psycho-aromathérapie, certains états d'humeur et d'émotions peuvent être obtenus par ces huiles donnant le plaisir de la relaxation, de la revigoration ou d'un souvenir agréable. L'inhalation des huiles dans cette thérapie est directe par la perfusion dans la chambre des patients. L'aromacologie étudie les effets de l'arôme, qu'il soit naturel ou synthétique, tandis que la psycho-aromathérapie se limite à l'étude des huiles essentielles naturelles (Ali et *al.*, 2015).

Les huiles essentielles sont généralement sans danger avec un minimum d'effets indésirables. Plusieurs types d'HE ont été approuvés comme additifs alimentaires et entrent dans la catégorie des produits généralement reconnus comme sûrs par la FDA (US Food and Drug Administration). Les effets indésirables les plus courants sont l'irritation et la sensibilisation des yeux, des muqueuses et de la peau, en particulier avec les huiles contenant des aldéhydes et des phénols. Une photo-toxicité des HE contenant des furocoumarines, comme celle du *Citrus bergamia*, a été également rapportée. La sensibilisation par contact est plus susceptible de se produire en raison de l'oxydation des monoterpènes, souvent en raison des conditions de stockage inappropriées. Une sensibilisation croisée à d'autres huiles essentielles et aliments est également possible. Une allergie aux huiles essentielles inhalées peut survenir. Cependant, les données et les rapports sur les niveaux d'exposition sont limités et concernent les parfums plutôt que les huiles essentielles d'aromathérapie. Un cas exceptionnel de dermatite de contact d'origine aérienne n'a été signalé qu'une seule fois dans le contexte de l'aromathérapie sans massage. L'aromathérapie utilise des mélanges non définis de ces huiles essentielles sans révéler leurs sources végétales. Des réactions allergiques ont été rapportées dans quelques cas, en particulier lors d'une administration topique. Des réactions d'oxydation et des changements de leur composition chimique peuvent parvenir suite à une longue période de stockage. Une gynécomastie pré-pubère réversible a été rapportée dans une étude d'exposition répétée à des huiles de lavande et d'arbre à thé par administration topique. Il y a toujours une grande controverse qui survient lorsque la sécurité de ces éléments essentiels est discutée. Aucune étude bien définie n'a prouvé que ces huiles essentielles seraient nocives. L'aromathérapie reste une discipline thérapeutique sûre à condition que les normes en vigueur soient respectées (Ali et *al.*, 2015).

III. Description des plantes étudiées

Nos espèces choisies pour cette étude proviennent toutes d'une culture biologique relevant d'une coopérative de la région de Chtouka Ait Baha (sud du Maroc), elles appartiennent à trois familles qui sont:

Famille des *Asteraceae*: *Artemisia vulgaris* L. (*A. vulgaris*) (Armoise commune) ("Chih") ; Famille des *Lamiaceae*: *Ocimum basilicum* L. (*O. basilicum*) (basilic) ("Lahbak"), *Origanum vulgare* L. (*Or. vulgare*) (origan ou origan commun) ("Zaatar" ou "Za`tar"), *Rosmarinus officinalis* L. (*R. officinalis*) (romarin ou romarin officinal) ("Azir") et *Thymus vulgaris* L. (*T. vulgaris*) (Thym commun) ("Z`itra") ; Famille des *Myrtaceae*: *Syzygium aromaticum* L. (*Sy. aromaticum*) (girofler ou girofle) ("Qronfol").

1. Famille des *Asteraceae*

Les astéracées (*Asteraceae*) sont une grande famille de plantes dicotylédones, appelées aussi composées (*Compositae*) ou, plus rarement des composacées. Il s'agit de plantes herbacées ou ligneuses, parfois laticifères, avec des feuilles astipulées basales et/ou caulinaires, alternées rarement opposées, à limbe simple (entier ou découpé), rarement composé. Inflorescence de base est un capitule. Ce dernier possède un réceptacle d'inflorescence, de forme variable (plan, concave ou convexe) et de surface lisse ou alvéolée avec ou sans paillettes (équivalent de bractées florales). Ce réceptacle porte de nombreuses fleurs sessiles protégées par des bractées stériles (involucre) dont la forme, le nombre et la consistance sont spécifiques (Fennane *et al.*, 2014).

Aussi le capitule peut être homogame (toutes les fleurs de même sexe) ou hétérogame (présence de fleurs femelles et fleurs hermaphrodites); il peut être discoïde (fleurs toutes de même symétrie: soit toutes actinomorphes (fleurons), soit toutes zygomorphes (ligules ou fleurs ligulées)) ou radié (ligules périphériques et fleurons au centre); enfin, il peut être concolore (toutes les fleurs de même couleur) ou discolore (fleurs de couleur différente). Les fleurs du capitule peuvent être actinomorphes (fleurons) ou zygomorphes (ligules), ou les deux types de fleurs sont présentes. Calice absent ou présent, le fructifère (pappus) sous forme de soies, de couronne membraneuse, de languette ou d'écailles. Corolle à 5 pétales soudés soit tubuleuse à 5 lobes ou en forme de languette à 3 ou 5 dents. Androcée des fleurs hermaphrodites est à 5 étamines dont les filets sont libres et soudés à la corolle, tandis que les anthères sont soudés entre elles (d'où l'autre appellation de la famille: Synanthérées). Gynécée à 2 carpelles soudés, ovaire infère uniloculaire à 1 ovule (ovaire fonctionnel aboutissant à la formation de fruit) ou sans aucun ovule (loge vide, cas d'un ovaire non fonctionnel

n'aboutissant pas à la formation de fruit). Ovaire surmonté de 2 styles soudés et 2 stigmates libres (ovaire fonctionnel) ou soudés (ovaire non fonctionnel). Fruit est un akène chauve (calice absent) ou à pappus (calice présent), de forme variable, glabre ou poilu, ailé ou aptère côtelé, strié, tuberculé ou lisse, atténué ou non au sommet (Fennane *et al.*, 2014).

C'est la famille la plus vaste dans toutes les flores du monde. A l'échelle de notre planète, la famille occupe le premier rang avec 20 000 espèces (Fennane et Ibn Tattou, 2012).

Au Maroc, la famille des *Asteraceae* compte environ 128 genres, 550 espèces et sous-espèces, 126 sous-espèces additionnelles et 47 sous-espèces types. Elle occupe donc la première place parmi la flore vasculaire marocaine. Le premier genre est *Centaurea* (50 espèces et 19 sous-espèces additionnelles), viennent ensuite plusieurs genres comme *Artemisia*, *Carduus* et *Leontodon* qui comptent entre 10 et 20 espèces. Environ 50 genres sont monospécifiques. 131 espèces sont endémiques, le taux d'endémisme est de 24% (Fennane et Ibn Tattou, 2012).

1.1 Genre *Artemisia*

Artemisia est l'un des plus grands genres de la famille des *Asteraceae* ou *Compositae*, elle-même la plus grande famille des plantes à fleurs. Il comprend environ 600 taxons, présents sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique, principalement répartis dans l'hémisphère nord, avec 25 taxons dans l'hémisphère sud. Le genre présente une grande plasticité écologique. Certaines espèces sont cosmopolites, tandis que d'autres sont endémiques et ont une aire de répartition assez restreinte. De nombreuses espèces du genre ont des utilisations variables (médicales, industrielles, culinaire, etc.) (Vallès *et al.*, 2011). Les plantes appartenant à ce genre sont en général suffrutescentes, cespiteuses, aromatiques. La plupart des espèces sont densément velues à poils glanduleux sécréteurs et poils tecteurs ramifiés. Les akènes sont obovés, brunâtres, finement striés longitudinalement, lisses ou pourvus de lamelles longitudinales; le pappus est absent (Fennane *et al.*, 2014).

Le genre *Artemisia* est très riche en espèces au Maroc. Les espèces, sous-espèces ou variétés de ce genre appartenant à la flore marocaine sont:

A. absinthium L., *A. alba* Turra subsp. *chitachensis* Maire, *A. arborescens* (Vaill.) L., *A. atlantica* Coss. & Dur var. *maroccana* Maire, *A. barrelieri* Besser, *A. caerulescens* L., *A. campestris* L subsp. *glutinosa* (Besser) Batt, *A. herba-alba* s. l. *herba-alba* Asso, *A. huguetii* Caball, *A. ifranensis* J. Didier, *A. inculta* Delile, *A. judaica* L. subsp. *sahariensis* (L. Cheval) Maire, *A. mesatlantica* Maire, *A. negrei* Ouyahya, *A. oranensis* Filatova, *A. ramosa* Buch, *A. reptans* Buch, *A. saharae* Pomel, *A. verlotiorum* Lamotte (Fennane *et al.*, 2014).

1.1.1 *Artemisia vulgaris*

Les feuilles d'*A. vulgaris* sont alternées, pennatiséquées, à segments ultimes linéaires filiformes; le pétiole est décroissant de la base au sommet de la plante. Les capitules sont en général très nombreux, petits (diamètre < 5mm), discoïdes (les fleurs sont toutes tubuleuses), homogames ou hétérogames; fleurons du centre fertiles ou à ovaire stérile. L'involucre à bractées imbriquées et à marges scarieuses, les externes sont plus courtes que les internes. Le réceptacle est nu ou plus ou moins poilu (figures 1a et 1b) (Fennane *et al.*, 2014).



Figure 1a: Sommité fleurie d'*Artemisia vulgaris*, barre = 1cm



Figure 1b: Plante séchée d'*Artemisia vulgaris*

✓ Répartition géographique

A. vulgaris est originaire de l'Europe tempérée, l'Asie, Afrique septentrional et de l'Alaska. Elle est naturalisée en Amérique du Nord, où elle est considérée souvent comme une mauvaise herbe. C'est une plante très commune poussant sur les sols azotés, comme les zones herbeuses et incultes (USDA, 2017).

✓ Propriétés médicinales

A. vulgaris est destinée à stimuler les sécrétions gastriques chez les patients présentant un manque d'appétit. Elle est utilisée aussi contre les flatulences, les distensions, les coliques, la diarrhée, la constipation, les crampes, les infestations de vers, l'hystérie, l'épilepsie, les vomissements, les troubles menstruels, les périodes irrégulières, pour favoriser la circulation et comme sédative. La racine a des usages différents, comme un tonique, pour les psychonévroses, la neurasthénie, la dépression, les névroses autonomes, l'irritabilité, l'agitation, l'insomnie et l'anxiété. Elle est décrite également comme abortive (Gaea et Shandor, 1999; Hershoff et Rotelli, 2001; Hoffmann, 2003; Lesley, 2003).

L'huile essentielle de l'armoise est indiquée comme: antimicrobien, antiparasitaire, antiépileptique, antihystérique, emménagogue, régulateur et stimulant digestif, stimulant

nerveux, diurétique, stimulant hormonal et préventif contre l'ulcère et le cancer de l'utérus (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young, 2013).

2. Famille des *Lamiaceae*

Les *Lamiaceae* ou *Labiatae*, communément appelées Lamiacées, Labiacées ou Labiées, forment une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 210 genres et près de 6 000 espèces et sous-espèces. Dans la flore marocaine la famille des Lamiacées ou Labiées compte 207 espèces (dont plus de 70 taxons endémiques). Elle occupe ainsi le 5ème rang après les Caryophyllacées. Le genre le plus riche est *Teucrium*; il compte 45 espèces et sous-espèces dont 23 endémiques (Fennane *et al.*, 2007).

Il s'agit de plantes herbacées, buissonnantes ou arbustives aromatiques (poils et/ou glandes sécréteurs). Feuilles non stipulées, opposées décussées, simples ou composées pennées. Les jeunes rameaux sont habituellement tétragones. Fleurs pentamères, hermaphrodites et zygomorphes, groupées en verticillastres (petites cymes, en faux verticilles denses), avec bractées et préfeuilles. Périanthe double à corolle bilabée. Androcée à 2 ou 4 étamines portées par la corolle. Gynécée à 2 carpelles, ovaire supère à 2 loges divisées en 2 logettes par une fausse cloison, un ovule par logette; style gynobasique, bifide. Ovaire porté par un disque nectarifère bien développé. Fruit de type tétrakène ou tétranucule, rarement tétradrupe (Fennane *et al.*, 2007).

2.1 Genre *Ocimum*

Le genre *Ocimum* compte, à l'échelle mondiale, environ 150 espèces annuelles ou vivaces à tige quadrangulaire; feuilles pétiolées. Fleurs en cymes avec bractées. Fleurs bilabées à 4 étamines didynames. Fruit composé de 4 nucules finement verruqueuses (Hiltunen et Holm, 2003).

2.1.1 *Ocimum basilicum*

O. basilicum, n'existe pas à l'état spontané au Maroc. Il est originaire d'Asie de Sud ou d'Afrique centrale. Plantes très répandue à travers le monde à usages condimentaire et aromatique. C'est une espèce qui peut être considérée comme vivace sous climat tropical, ou annuelle sous climat plus doux. Plante haute de 20 à 60cm. Les tiges sont quadrangulaires, en général ligneuses à leur base et très ramifiées. Les feuilles, vert foncé ou pourpre violet, pétiolées, opposées, ovales-lancéolées, à marges entières ou serratées. L'inflorescence terminale à bractées florales vertes ou violacées. Le calice est ovoïde ou campanulé, bilabé. La corolle bilabée à lèvre supérieure découpée en 4 lobes. Les 4 étamines sont réparties en deux paires de longueur inégale, déclinantes, saillantes. Le gynécée à ovaire supère à 4 logettes. Le fruit à 4 nucules, oblongues et noires (figures 2a et 2b) (Hiltunen et Holm, 2003).



Figure 2a: Sommité fleurie d'*Ocimum basilicum*, variété à bractées vertes, barre = 0,5cm



Figure 2b: En haut, sommité fleurie d'*Ocimum basilicum*, variété à bractées violacées, barre = 1cm. En bas, plante séchée d'*O. basilicum*



✓ Répartition géographique

O. basilicum est cultivée pendant au moins 3000 ans par les Européens et les Asiatiques pour des usages traditionnels et les rituels religieux. Elle s'est établie partout où ils ont migré. Elle est cultivés et distillés pour son huile en France, en Italie, en Bulgarie, en Egypte, en Hongrie, en Amérique du Sud, au Comores, en République Malgache, en Thaïlande, en Inde, à Haïti et au Guatemala (Skaria, 2007) et au Maroc (Belkamel et *al.*, 2008).

✓ Propriétés médicinales

Le basilic contient de nombreux composés chimiques qui sont connus pour avoir des effets curatifs et préventifs contre plusieurs maladies.

Il est utilisé comme: anticancéreux, radioprotecteur, antiinflammatoire, antiseptique et antibactérien, antidiabétique, immunomodulateur, antipyrétique, adaptogénique et antistress, antiarthrosique, antioxydant, tonique cardiaque (Ambrose *et al.*, 2016) .

Son huile essentielle est indiquée comme: antibactérien, carminatif, analgésique et antispasmodique, améliorant de l'acuité visuel et régulateur de la pression oculaire (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

2.2 Genre *Origanum*

Le genre *Origanum* regroupe environ 42 espèces et 18 hybrides de plantes herbacées ou de sous-arbrisseaux vivaces et aromatiques largement distribués en Eurasie et en Afrique du Nord (Ambrose, 2016). Dans la flore marocaine, le genre compte 5 espèces comme l'*Origanum majorana* « Merdeddouch » dont 3 sont endémiques telle que *Origanum compactum*, origan ; « Zaatar ». Le genre regroupe des plantes herbacées vivaces, à feuilles simples, à marge entière. Fleurs en épis à bractées souvent colorées. Corolle blanche ou rosée. Androcée à 4 étamines fertiles (Fennane et al., 2007).

2.2.1 *Origanum vulgare*

L'*Or. vulgare* est un sous-arbrisseau vivace aromatique haut de 30 à 80cm de haut, les feuilles sont simples, opposées, décussées et brièvement pétiolées. D'une largeur de 1 à 2cm, elles sont ovales et finement denticulées. Le limbe est vert foncé et on peut observer la présence de nombreuses glandes sécrétrices, notamment sur l'épiderme inférieur. Les bourgeons sont axillaires et se développent en rameaux très courts (Caillaud, 2013).

Les inflorescences sont disposées en épis tétraonaux, puis regroupées en petits panicules. Les fleurs, allant du rose pâle au rouge-violet, se trouvent à l'aisselle de bractées glabres violacées larges, elliptiques et dépassant le calice. Calice actinomorphe, à 5 dents subégales. La corolle, plus grande que le calice, est quant à elle bilabée, à tube saillant à la base et gamopétale. L'androcée est formé de quatre étamines didynames. Il est inséré sur le tube de la corolle. Ses étamines sont droites et divergentes dès la base. Le gynécée bicarpellaire repose sur un disque nectarifère. L'ovaire est supère à 4 logettes libres (figures 3a et 3b) (Caillaud, 2013).



Figure 3a: Sommités fleuries d'*Origanum vulgare*, barre = 0,5cm



Figure 3b: Plante séchée et découpée d'*Origanum vulgare*

✓ Répartition géographique

O. vulgare est une plante pérenne, connue sous le nom de *Jungali Tulsi* ou la marjolaine de l'Himalaya. Il est largement reparti dans les régions méditerranéennes et l'Afrique du Nord. C'est la seule espèce du genre *Origanum* qui existe en Inde. Il se trouve dans l'Himalaya tempéré du Cachemire à Sikkim à une altitude de 1500 à 3600m (Ambrose, 2016).

✓ Propriétés médicinales

La plante est connue pour ses propriétés médicinales, elle est souvent utilisée comme: carminatif, diaphorétique, expectorant et antitussif, emménagogue, stimulant, stomachique, tonique, antalgique et régulateur du cycle menstruel (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

L'huile essentielle est indiquée également comme: antibactérien, antiviral, antifongique, antiparasitaire, antioxydant, anti-inflammatoire, stimulant digestif, emménagogue et antiallergique (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

2.3 Genre *Rosmarinus*

Le genre *Rosmarinus* est un sous-arbrisseau odorant, les feuilles linéaires, verdâtres dessus, hispides dessous; et à marge révoluée. Inflorescence peu dense en cymes courtes et à bractées florales squamiformes. Fleurs à calice camparulé, bilabié à lèvre supérieure concave et tridentée, l'inférieure étant bifide. La corolle est bilabiée, bleu pâle à lèvre supérieure légèrement émarginée, celle inférieure trilobée. Androcée à 2 étamines stériles (staminodes) et 2 fertiles dont l'anthere réduite à une loge et portée par un long connectif. Ovaire surmonté d'un style long, incurvé, bifide. Le fruit est un tétranucules (Fennane *et al.*, 2007).

Dans la flore marocaine, le genre est représenté par 2 espèces: *R. officinalis* et *R. eriocalyx*, et un hybride *R. x lavandulaceus* (Fennane *et al.*, 2007).

2.3.1 *Rosmarinus officinalis*

C'est une plante aromatique pouvant atteindre 2m de haut, à branches brunes dressées vers le haut ou rarement courbées vers le bas. Les feuilles sessiles de 15 à 40mm de long sur 1,2 à 3,5mm de large, droites, coriaces, à marge révoluée, d'un vert brillant sur la face supérieure, blanches et velues sur la face inférieure. Pédoncule velu; calice de 3 à 4mm, vert ou violacé et quelque fois velu lorsqu'il est jeune; calice de 5 à 7mm, glabre et veiné plus tardivement. Corolle de 10 à 12mm, bleu pâle (rarement rose ou blanche). Le Fruit est un tétranucule brun. Présent sur sol sec (figures 4a et 4b) (Hoefler, 1994).



Figure 4a: Sommité fleurie de *Rosmarinus officinalis*, barre = 0,5cm



Figure 4b: Feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis*

✓ Répartition géographique

Le R. officinalis est présent sur sol sec. D'origine méditerranéenne étendue au Portugal et au nord-ouest de l'Espagne; cultivé dans d'autres pays pour l'ornement et pour son huile essentielle. Présent et indigène au Portugal, en Espagne (îles Baléares), en France (Corse), à Malte, en Italie (Sardaigne et Sicile), en Croatie, en Grèce, dans les îles de l'Egée orientale, en Turquie d'Asie, à Chypre, en Libye, en Tunisie, en Algérie et au Maroc. Importé et cultivé en Albanie, aux Açores, en Bulgarie, en Suisse et en Russie (Crimée). Non détecté en Israël, en Jordanie, en Egypte et dans le Sinaï (Hoefer, 1994).

Il est très polymorphe. Il existe plusieurs chémotypes selon l'origine géographique (Elhassan et Osman, 2014):

- Chémotype à 1,8-cineole (Maroc, Algérie, Autriche)
- Chémotype à α -pinène (Espagne, Italie, France, Iran, Roumanie)
- Chémotype à myrcène (Argentine, Portugal)
- Chémotype à camphre (Cuba, Inde)

✓ Propriétés médicinales

Le romarin a des vertus thérapeutiques démontrées. Il est très utilisé en médecine traditionnelle ainsi que comme condiment en usage culinaire. Il favorise la digestion, régule le taux des lipides, améliore la cholagogue, accélère la pousse des cheveux. Il agit également comme diurétique, antispasmodique, antirhumatismal, antioxydant, antistress et antifatigue.

D'autres effets s'ajoutent à tous ce qui précède comme ses actions antimycosique et antibactérienne (Hussain *et al.*, 2010).

L'huile essentielle est indiquée comme: antibactérien, antiseptique et désinfectant, antiprolifératif, anti-inflammatoire, carminative, analgésique et stimulant la croissance des cheveux (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

2.4 Genre *Thymus*

Thymus est regroupé des plantes couramment appelées thym ou serpolet, appartenant à la famille des Lamiacées. Le genre se compose d'environ 350 espèces d'herbes vivaces, aromatiques et originaires d'Europe et d'Afrique du Nord (Fedorov, 2000).

Les fleurs dans les verticillasters de la disiaque courte, habituellement en capsule, essorent moins souvent les inflorescences terminales. Le calice est tubulaire ou tubulaire-campanule, la lèvre inférieure avec des lobes linéaires lancéolés couverts sur les côtés avec deux rangées de cils. Lèvre supérieure large, généralement à trois dents. La corolle avec tube droit, bilobée indistinctement. Sa lèvre supérieure abaisse les trois lobes (Fedorov, 2000).

2.4.1 *Thymus vulgaris*

Au Maroc, le thym commun (*T. vulgaris*) est cultivé comme condiment. C'est un sous-arbrisseau vivace de 10 à 30cm, d'un vert blanchâtre ou grisâtre, très aromatique, les tiges ligneuses, dressées ou ascendantes, non radicales, tortueuses, formant un petit buisson très serré. Les feuilles lancéolées-rhomboidales ou linéaires, obtuses, enroulées sur les bords, couvertes en dessous d'un tomentum dense et court. Les fleurs rosées ou blanchâtres, en têtes globuleuses ou en épis à verticilles inférieurs écartés. Le calice est velu, à tube un peu bossu en avant à la base (figures 5a et 5b) (Julve, 2016).



Figure 5a: Sommité fleurie de *Thymus vulgaris*, barre = 1cm



Figure 5b: Plante séchée de *Thymus vulgaris*

✓ Répartition géographique

T. vulgaris est originaire du sud de l'Europe (Espagne et Italie), cependant il est couramment cultivé (Peter, 2004). C'est une espèce héliophile qui vit souvent sur des roches ou des pierres ou sur les sols bien drainés. La production élevée d'huiles essentielles peut également être une caractéristique adaptative pour le climat sec, car les substances volatiles s'évaporent et produisent une atmosphère saturée autour de la plante qui rend la perte d'eau plus difficile (Stahl-Biskup et Sáez, 2003).

✓ Propriétés médicinales

Le thym a longtemps été utilisé dans la médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies telles que: les maladies respiratoires (coqueluche, bronchite et asthme), le durcissement des artères en préventif, le mal de dents, les infections des voies urinaires et de la dyspepsie. Il est connu pour les propriétés suivantes: antibactérien, antifongique, antiparasitaire, analgésique et antipyrétique, orexigène, anxiolytique, hypnotique, antioxydant et anthelminthique (Javed, 2013).

L'huile essentielle est indiquée comme: antiseptique, bactéricide, insecticide, vermifuge, antispasmodique, antirhumatismal, béchique, tonique cardiaque, carminatif, cicatrisant, diurétique, emménagogue et expectorant (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

3. Famille des *Myrtaceae*

La famille des Myrtacées regroupe des plantes riches en HE, elle comprend environ trois mille espèces d'arbres et d'arbustes, réparties en 48 à 134 genres. Au Maroc la famille compte une espèce spontanée: *Myrtus communis*, le myrte et plusieurs espèces introduites appartenant au genre *Eucalyptus* (Fennane *et al.*, 2007).

C'est une famille de plantes dicotylédones appartenant à l'ordre des myrtales. Le myrte ("Rihane"), le pohutukawa, la baie de rhum, le girofle, la goyave, l'acca (feijoa), l'aspic et l'*Eucalyptus* sont tous des membres de ce groupe. Toutes les espèces sont arborescentes, riches en HE. Les feuilles sont persistantes, alternées ou opposée, simples, à marge entière. Les fleurs souvent solitaires ou groupées, hermaphrodites et actinomorphes. Calice à 4-5 sépales libres ou soudés; corolle à 4-5 pétales libres ou soudés. Androcée à étamines nombreuses et libres. Gynécée à 2-5 carpelles soudés, et ovaire infère ou supère. Fruit est une capsule ou baie (Orwa, 2009).

3.1 Genre *Syzygium*

Le genre compte environ 500 espèces largement présentes dans les régions tropicales et subtropicales. Il regroupe des arbres à feuillage persistant. Plusieurs espèces sont cultivées pour leur feuillage comme plantes d'ornement (Craven et Biffin, 2010).

3.1.1 *Syzygium aromaticum*

Sy. aromaticum est un arbre à feuilles persistantes de petite taille, de 8 à 10m de hauteur. Branches semi-dressées et nombreuses. Feuilles glabres, limbe blanc avec de nombreuses glandes huileuses sur la surface inférieure. Fleurs pourpre pale, en corymbe. Calice à 4 sépales soudés en un tube d'environ 1cm de long incluant le pédoncule floral surmonté de 4 lobes. Corolle à 4 pétales blanc rosé (Orwa, 2009).

La plupart des pièces de la plante sont aromatiques (écorces, feuilles et fleurs). Les boutons floraux séchés au soleil prennent une couleur brun foncé s'appellent des clous de girofle. Le nom générique est dérivé des *syzygios* grecs (appariés), en raison des brindilles des feuilles qui, dans plusieurs espèces, poussent au même point. Les fleurs sont hermaphrodites (Orwa, 2009).

L'arbre mûrit entre 8-10 ans après la plantation. Les fruits arrivent à maturité environ 9 mois après l'initiation de la fleur et sont considérés comme physiologiquement matures lorsque l'exocarpe devient rouge-violet (Orwa, 2009).

La floraison varie selon les régions. En Inde, la floraison est de février à mai, à Zanzibar (Tanzanie) de juillet à septembre puis d'octobre à janvier. La fructification se produit généralement 5-6 mois après la floraison (figures 6a et 6b) (Orwa, 2009).



Figure 6a: Sommités avec boutons floraux de *Syzygium aromaticum*, barre = 1cm



Figure 6b: Boutons floraux séchés de *Syzygium aromaticum*

✓ Répartition géographique et habitat

Originaire des îles Moluques en Indonésie, il est maintenant cultivé dans de nombreuses régions telles qu'Haïti, Brésil, Inde, Kenya, Madagascar, Malaisie, Maurice, Mexique, Seychelles, Sri Lanka, Tanzanie. En Inde, il est cultivé au Tamil Nadu. Au Maroc, dans le Jardin d'Essai Botaniques de Rabat on rencontre quelques spécimens de *Sy. aromaticum* en ornement. Le clou de girofle montre des variations dans le rendement, la couleur, la forme et la dimension des clous de girofle (Orwa, 2009; Lim, 2014).

✓ Propriétés médicinales

Sy. aromaticum est très connu pour ses propriétés médicinales, il est utilisé comme: antifongique, antibactérien, stimulant, anti-rhume et antitussif, antalgique, antiinflammatoire, antispasmodique, cicatrisant et antioxydant (Duke, 2000).

L'huile essentielle est indiquée comme: antimicrobien, antifongique, antiseptique, antiviral, aphrodisiaque et tonique (Rose, 1999; Peace Rhind et Pirie, 2012; Kinai, 2013; Tisserand et Young 2013).

IV. Description des bactéries étudiées

Nos souches bactériennes ont été sélectionnées suite à leur pouvoir pathogène et leur disponibilité. Il s'agit de deux bacilles Gram- appartenant à deux familles: la famille des *Enterobacteriaceae* représentée par *Escherichia coli* (*E. coli*) et la famille des *Pseudomonadaceae* représentée par *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*); et d'un Coccus Gram+ appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* représentée par *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*).

1. Famille des *Enterobacteriaceae*

On définit classiquement les entérobactéries par 7 critères. Certains genres, ne répondant pas forcément à tous ces critères, font actuellement partie de cette famille. Ces critères sont:

1. Bacilles Gram- de dimension moyenne
2. Aéro-anaérobies facultatifs
3. Immobiles ou mobiles par des ciliatures péritriches (très rares exceptions: *Plesiomonas* qui a des ciliatures polaires)
4. Cultivant sur gélose ordinaire
5. Fermentant le glucose
6. Nitrate réductase + (capables de réduire les nitrates en nitrites)
7. Oxydase négative (Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014)

Les genres les plus communs sont: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* et *Yersinia* (Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

1.1 Genre *Escherichia*

Ce sont des bactéries Gram-, non sporulées, anaérobies facultatives, en forme de bâtonnet ou de tige. Les espèces du genre peuvent synthétiser, au niveau du gros intestin de leur hôte, la vitamine K2, mais pas la vitamine K1. Un certain nombre d'espèces d'*Escherichia* sont pathogènes. Le genre est nommé "*Escherich*" d'après Escherichen, le découvreur d'*E. coli* en 1885 (Blattner *et al.*, 1997; Donnenberg, 2002; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

Les espèces de ce genre sont de l'ordre de 21 espèces. Citons à titre d'exemples: *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* et *E. blattae* (Glover *et al.*, 2017).

1.1.1 *Escherichia coli*

Ces bactéries sont généralement en forme de tige, d'environ 2,0micromètres (μm) de longueur et de 0,25 à 1 μm de diamètre, avec un volume de cellule de 0,6 à 0,7 μm^3 . *E. coli* est Gram-. La membrane externe entourant la paroi cellulaire constitue une barrière à certains antibiotiques comme la pénicilline et elle n'est pas endommagée par ce dernier. Les souches qui possèdent des ciliatures péritriches sont motiles (Blattner *et al.*, 1997; Donnenberg, 2002; Yup Lee *et al.*, 2009; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

✓ Résistance

Deux types de résistances sont notés chez cette bactérie:

a- Résistance naturelle: Malgré la présence d'une "céphalosporinase" chromosomique d'espèce de classe C, selon la classification des bêta-lactamases, qui est exprimée à très bas niveau, les différentes souches d'*E. coli* restent sensibles à toutes les bêta-lactamines (Prescott *et al.*, 2003; Amábile-Cuevas, 2007; Williams *et al.*, 2010; Khan et Zarrilli, 2012).

b- Résistance acquise: Elle se fait à l'aide de plusieurs facteurs qui sont la bêta-lactamase de classe A haut niveau (pénicillinase), la bêta-lactamase de classe A TRI (pénicillinase TRI), la Bêta-lactamase de classe A à spectre étendu, l'hyperproducteur de bêta-lactamase de classe C (céphalosporinase) et l'acquisition d'une carbapénémase (Prescott *et al.*, 2003; Amábile-Cuevas, 2007; Williams *et al.*, 2010; Khan et Zarrilli, 2012).

2. Famille des *Pseudomonadaceae*

Ce sont des bacilles Gram-, à caractéristiques particulières: oxydase positif et non fermentatif. Nombreuses espèces métabolisent le glucose par la 6-phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase et l'aldolase. Les flagelles sont polaires. Certaines espèces produisent des dérivés du pigment fluorescent pyoverdine. La présence d'oxydase et des flagelles polaires et l'impossibilité de

procéder à la fermentation différencient les *Pseudomonadaceae* des *Enterobacteriaceae* (Prescott *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2010).

2.1 Genre *Pseudomonas*

Pseudomonas est un genre de la famille des *Pseudomonadaceae* contenant 191 espèces. Les membres du genre montrent une grande diversité métabolique et par conséquent sont capables de coloniser une large gamme de milieux. Leur facilité de culture *in vitro* et la disponibilité d'un nombre croissant de séquences de génomes de souches de *Pseudomonas* ont fait du genre un excellent point de départ pour la recherche scientifique. Les espèces les mieux étudiées incluent *P. aeruginosa* dans son rôle d'agent pathogène humain opportuniste, un pathogène des plantes: *P. syringae* et certaines bactéries du sol; *P. putida* et *P. fluorescens* favorisant la croissance des plantes qualifiée de PGPR (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) (Rahme *et al.*, 1995; Prescott *et al.*, 2003; Meghdas *et al.*, 2004; Walker *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

2.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est une bactérie Gram-, asporogène en forme de bacille monoflagellé. Elle est d'environ 1-5µm de long et 0,5-1µm de large. Elle présente une grande souplesse nutritionnelle (Chups, 2017).

Etant donné que *P. aeruginosa* est une bactérie Gram-, elle possède une membrane externe qui contient une protéine de type F. Cette protéine fonctionne comme la porine, ce qui permet à certains molécules et ions de rentrer dans les bactéries, en tant que protéine de structure et maintiennent la forme de la cellule bactérienne. La protéine F de *P. aeruginosa* diminue la perméabilité de la membrane externe, car elle réduirait la consommation des substances nocives dans la bactérie et lui donnerait une résistance élevée aux antibiotiques (Chups, 2017).

✓ Résistance

P. aeruginosa comme *E. coli*, présente elle aussi deux types de résistances:

a. Résistance naturelle: *Pseudomonas* est naturellement résistant à un grand nombre d'antibiotiques en raison de la production d'une bêta-lactamase chromosomique inductible de classe C (Chups, 2017).

b. Résistance acquise: Elle est généralement liée à des mutations conduisant à une hyperexpression de la bêta-lactamase chromosomique de classe C et à une diminution de la perméabilité membranaire (Chups, 2017).

Nombreuses sont les natures de la résistance acquise de cette bactérie:

b.1 Bêta-lactamases de type BLSE

- **Enzymatique:** liée à la production de métallo-bêta-lactamases de classe B
- **Non enzymatique:** résulte alors de la perte de la porine D2 associée à une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique (Chups, 2017).

b.2 Résistance par modification des protéines protéolipides (PLPs)

Il s'agit des PLP3 et PLP4 (Chups, 2017).

b.3 Résistance par mécanisme d'efflux

Une augmentation du niveau d'expression des protéines du système d'efflux (MexAB-OprM), qui permet l'export de molécules substrats du périplasma vers le milieu extérieur, peut entraîner une diminution de la sensibilité aux bêta-lactamines (Chups, 2017).

3. Famille des *Staphylococcaceae*

Les *Staphylococcaceae* sont une famille de bactéries Gram+ qui comprend le genre *Staphylococcus*, noté pour englober plusieurs pathogènes médicalement significatifs (Le Loir et Gantier, 2009).

Les cinq genres *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus*, *Nosocomiicoccus*, *Salinicoccus* et *Staphylococcus* se sont montrés monophylétiques, tandis que *Gemella* semble être polyphylétique (Rahme *et al.*, 1995; Prescott *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014; Liu, 2015).

3.1 Genre *Staphylococcus*

Le *Staphylococcus* est un genre de bactéries Gram+. Elles sont rondes (cocci), groupées en amas, rappelant la forme de grappes de raisin (Rahme *et al.*, 1995; Harris *et al.*, 2002; Prescott *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

Le genre *Staphylococcus* regroupe environ 40 taxons répartis en 15-20 espèces. La plupart sont inoffensives et résident normalement sur la peau et les muqueuses des humains et d'autres organismes vivants. Aussi elles font parties de la flore microbienne du sol (Rahme *et al.*, 1995; Harris *et al.*, 2002; Prescott *et al.*, 2003; Walker *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2010; Delarras, 2014).

3.1.1 *Staphylococcus aureus*

C'est une bactérie Gram+, immobile, sphérique de diamètre d'environ 0,5-1µm, asporulée et facultativement anaérobique (sauf *S. aureus* subsp. *anaerobius*). Les colonies formées par *S. aureus* sont jaunes (d'où le nom *aureus*, l'or en latin) (Kluytmans *et al.*, 1997).

✓ Résistance

L'émergence de souches résistantes aux antibiotiques de *S. aureus* telles que celles résistantes à la méthicilline (SARM) est un problème mondial en médecine clinique (Chups, 2017).

La résistance aux différents antibiotiques se fait selon les mécanismes suivants: production de bêta-lactamases, diminution de la synthèse et/ou de l'affinité d'une des protéines liant la pénicilline (PLP) et production de méticillinase (Chups, 2017).

V. Description des médicaments antibiotiques étudiés

Les deux antibiotiques étudiés appartiennent à deux familles différentes, la famille des quinolones représentée par la ciprofloxacine (Cipro) et la famille des céphalosporines représentée par la céfuroxime (Cxm). Les choix de ces deux antibiotiques a été fait en fonction des propriétés pharmacodynamiques et de la disponibilité.

1. Famille des quinolones

Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides rapides à large spectre antibactérien, concentration-dépendants, et très largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Ces molécules présentent une très bonne biodisponibilité par voie orale avec une distribution très large. Leur utilisation doit être rationnelle afin d'éviter l'émergence de souches résistantes.

Les quinolones exercent leur effet antibactérien en empêchant l'ADN bactérien de se dérouler et de se dupliquer. La majorité des quinolones, en usage clinique, sont les fluoroquinolones qui ont un atome de fluor attaché au système cyclique central, en position 6 (Lacy, 2006; Ronald et Low, 2012; Vidal, 2014; Thériaque, 2017).

L'ajout de l'atome de fluor dans les années 1970 a permis d'augmenter fortement la pénétration des molécules quinolones dans les cellules jusqu'à 200 fois plus (Colle, 2010). La plupart de ces molécules ont un nom portant le suffixe "oxacine". Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché (Cattoir, 2012; CNPM, 2016):

➤ **Quinolones de première génération:** essentiellement entérobactéries, ne sont pas actives

sur *P. aeruginosa*

- Acide nalidixique
- Fluméquine
- Acide pipémidique

- **Fluoroquinolones (2^{ème} génération):** élargissement vers SASM, pyo, intracellulaires
 - **Fluoroquinolones urinaires**
 - Enoxacine
 - Loméfloxacine
 - Norfloxacine
 - **Fluoroquinolones systémiques**
 - Ciprofloxacine
 - Ofloxacine
 - Péfloxacine
- **Fluoroquinolones anti-pneumococciques (3^{ème} et 4^{ème} génération):** élargissement vers streptocoques et anaérobies
 - **3^{ème} génération:**
 - Levofloxacine
 - Sparfloxacine
 - **4^{ème} génération:**
 - Gémifloxacine
 - Moxifloxacine
 - ✓ **Ciprofloxacine**

C'est une quinolone appartenant à la sous-famille des fluoroquinolones. Son activité bactéricide résulte de l'inhibition de la topo-isomérase de type II (ADN-gyrase) et de la topo-isomérase IV, nécessaires à la réplication, la transcription, la réparation et la recombinaison de l'ADN bactérien. Les caractéristiques de cet antibiotique sont répertoriées dans les annexes 1, 2, 3 et 4 (Lacy, 2006; Ronald et Low, 2012; Vidal, 2014; Thériaque, 2017).

2. Famille des céphalosporines

Les céphalosporines sont une famille d'antibiotiques β -lactamines dérivés à l'origine du champignon *Cephalosporium acremonium* (Le Loir et Gantier, 2009).

Avec les céphamycines, elles constituent un sous-groupe d'antibiotiques β -lactamines appelés céphèmes. Les céphalosporines ont été découvertes en 1945 par le pharmacologue italien Giuseppe Brotzu et ont été vendues pour la première fois en 1964 (Lacy, 2006; Ronald et Low, 2012; Vidal, 2014; Thériaque, 2017).

Les céphalosporines sont bactéricides et ont le même mode d'action que d'autres antibiotiques β -lactamines (comme les pénicillines), mais ils sont moins sensibles aux β -lactamases (Bayot Faron, 2014). Elles perturbent la synthèse de la couche de peptidoglycane formant la paroi

cellulaire bactérienne. Cette couche est importante pour l'intégrité structurale de la paroi bactérienne (Lacy, 2006; Ronald et Low, 2012; Vidal, 2014; Thériaque, 2017).

Ces molécules sont généralement classées en générations en fonction de leur spectre d'activité et de leur date de mise sur le marché (CBIP, 2017):

- **Céphalosporine de première génération:** sont actives sur les streptocoques, mais moins que la pénicilline G
 - Céfadroxil
 - Céfalexine
 - Céfazoline
- **Céphalosporines de deuxième génération:** sont en général moins actives que les céphalosporines de première génération sur les streptocoques et les staphylocoques
 - Céfuroxime
- **Céphalosporines de troisième génération:** sont beaucoup moins sensibles aux β -lactamases que les céphalosporines de première et deuxième génération
 - Céfotaxime
 - Ceftazidime
 - Ceftriaxone
- **Céphalosporines de quatrième génération:** sont moins sensibles à un certain nombre de β -lactamases que les céphalosporines de troisième génération, et possèdent une meilleure activité vis-à-vis des staphylocoques méticillino-sensibles.
 - Céfépime
- **Céphalosporines de cinquième génération:** Le spectre est similaire à celui du céfotaxime, mais sont toutefois actives sur les *Staphylococcus aureus* méticillino-résistants (MRSA) et les souches de *Streptococcus pneumoniae* résistantes à la pénicilline
 - Ceftaroline
 - ✓ **Céfuroxime**

La céfuroxime est un antibiotique de la famille des bêta-lactamines, classé parmi les céphalosporines, dites de deuxième génération (Lacy, 2006; Ronald et Low, 2012; Vidal, 2014; Thériaque, 2017). Les caractéristiques de cet antibiotique sont répertoriées dans les annexes 5 et 6.

VI. Description des champignons étudiés

Les champignons étudiés ont été sélectionnés suite à une étude exhaustive en fonction de leur disponibilité et leur pouvoir pathogène. Il s'agit de trois espèces du même genre *Candida* (*C. albicans*, *C. glabrata* et *C. krusei*) appartenant à la famille des *Saccharomycetaceae* (Mayer *et al.*, 2013; Sardi *et al.*, 2013).

1. Famille des *Saccharomycetaceae*

Les *Saccharomycetaceae* sont une famille de levures dans l'ordre des Saccharomycetales qui se reproduisent par bourgeonnement. Les espèces de la famille ont une distribution cosmopolite. Elles sont présentes dans une grande variété d'habitats, particulièrement ceux avec une provision abondante de sources de glucides (Cannon et Kirk, 2007).

1.1 Genre *Candida*

Candida est un genre de levures responsable de plusieurs infections fongiques. Beaucoup d'espèces sont inoffensives commensales ou endosymbiotes d'hôtes y compris les humains. Cependant, lorsque les muqueuses sont perturbées ou le système immunitaire est compromis, elles peuvent envahir le corps de l'hôte et causer des maladies. *C. albicans* est l'espèce la plus souvent isolée, et peut causer des infections (candidose ou grive) chez les humains et les animaux (Manolakaki *et al.*, 2010; Kourkoumpetis *et al.*, 2011).

De nombreuses espèces sont présentes dans la flore intestinale, y compris *C. albicans* chez les mammifères, alors que d'autres vivent sous forme d'endosymbiotes chez les insectes. Les infections de la circulation sanguine et de certains organes (candidémie ou candidose invasive), en particulier chez les patients immunodéprimés, touchent plus de 90 000 personnes par an aux États-Unis. Le génome de plusieurs espèces de *Candida* a été séquencé (Bougnoux *et al.*, 2007).

Les antibiotiques favorisent les infections à levures, y compris la prolifération gastro-intestinale de *Candida* et la pénétration de la muqueuse gastro-intestinale (Kennedy *et al.*, 1987). Si les femmes sont plus sensibles aux infections génitales de levures, les hommes peuvent aussi être infectés. Certains facteurs, tels que l'utilisation prolongée d'antibiotiques, augmentent le risque d'infection pour l'Homme. Les personnes atteintes de diabète ou ayant un système immunitaire affaibli, comme celles VIH-positives, sont plus sensibles aux infections à levures (Million, 2002).

Parmi les espèces de *Candida*, *C. albicans*, qui est un constituant normal de la flore humaine, un commensal de la peau et des voies gastro-intestinales et génito-urinaires, est responsable de la majorité des infections à candidose du *Candida*. Cependant, il existe une incidence

croissante d'infections causées par *C. glabrata* et *C. rugosa*, ce qui pourrait être dû au fait qu'elles sont souvent moins sensibles aux antifongiques azoïques actuellement utilisés (Pfaller *et al.*, 2006).

1.1.1 *Candida albicans*

C. albicans est un champignon dimorphe, il peut être sous forme de levure et de mycélium. C'est l'une des espèces du genre *Candida* pathogène chez l'Homme (agent de candidose). *C. albicans* est responsable de 50 à 90% de tous les cas de candidose chez l'Homme (Martins *et al.*, 2014). Les infections fongiques systémiques, y compris celles au *C. albicans* responsables de fortes morbidité et de mortalité chez les patients immunodéprimés (Sida et chimiothérapie du cancer) (Bodey *et al.*, 2002; Lucaccioni *et al.*, 2012). Aussi, les biofilms de *C. albicans* peuvent se former sur la surface des dispositifs médicaux implantables. En outre, les infections nosocomiales par *C. albicans* sont devenues une cause de problèmes de santé majeurs. 85-95% des cas d'infections vaginales sont responsables de consultations gynécologiques chaque année (Tortora, 2010).

✓ Structure, métabolisme et cycle de vie

C. albicans est une levure diploïde (8 chromosomes) de 3-15µm non capsulée, non pigmentée, et aérobie. Elle se reproduit de façon asexuée par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule mère (le blastospore), et forme ainsi des colonies blanches crémeuses. L'existence d'un cycle sexuel hautement contrôlé chez *C. albicans*, qui était considéré comme asexué, n'a été découvert qu'en 2000 (Vandeputte, 2008). Cependant, l'aspect morphologique que peut prendre *Candida albicans* peut être influencé par certains paramètres tels que le pH, la température ou encore la richesse du milieu de culture. Ainsi, quatre aspects morphologiques peuvent être rencontrés (Lagane, 2007):

- la forme blastospore, ronde ou ovale, mesurant de 2 à 4µm de longueur avec parfois un bourgeon de formation ;
- la forme pseudomycélium, de 500 à 600µm de longueur et de 3 à 5µm de largeur, est composée d'un assemblage de cellules mises bout à bout pour simuler un filament mycélien. Chaque compartiment cellulaire est identique en longueur. Il contient la même quantité de matériel génétique, mais diffère du précédent au niveau de son cytoplasme et de ces constituants ;
- la forme mycélium vrai, champignon filamenteux, spécifique de l'espèce *C. albicans*, où la conversion d'une levure en filament mycélien passe par l'intermédiaire d'une structure appelée le tube germinatif. Cette forme favorise l'invasion des tissus et des organes de l'hôte.

- *C. albicans* peut aussi former des chlamydospores sous certaines conditions environnementales extrêmes en termes de milieu et de température. Les chlamydospores sont des structures terminales ou latérales arrondies formées par épaissement du thalle, mesurant deux fois la taille du blastospore et possédant une paroi plus épaisse. Il s'agit de la forme de résistance de *Candida albicans* et participant ainsi à l'identification du champignon *in-vitro* mais rarement mises en évidence *in vivo* (Lagane, 2007).

✓ **Ecologie et pathogénèse**

C. albicans est un commensal des muqueuses chez l'Homme et les animaux à sang chaud, faisant partie intégrante de la flore microbienne. La levure se présente sous forme de blastospores au niveau des muqueuses digestives et vaginales. Il s'agit de la forme saprophyte qui vit en symbiose avec l'organisme hôte qui peut se transformer en parasitisme donnant ainsi des candidoses. Au niveau des tissus infectés, *C. albicans* est retrouvé simultanément sous les formes de blastospores et de mycéliums. La forme mycélienne est capable de pénétrer les muqueuses alors que la forme blastospore reste non-invasive. *Candida albicans* est un champignon cosmopolite dont les fréquences d'isolement montrent que chez des sujets sains la levure se répartit différemment en fonction des sites de prélèvement: jéjunum et iléon (41%), estomac et duodénum (36%), cavité buccale (18%), tractus ano-rectal (15%), vagin (13%) et peau (3%). Le réservoir principal est donc le tube digestif où la fréquence de portage varie selon les sujets (Lagane, 2007).

1.1.2 *Candida glabrata*

Autrefois nommé *Torulopsis glabrata*, mais actuellement le nom admis est *C. glabrata*. L'espèce a été décrite pour la première fois en 1895 par Berlese qui l'avait alors appelée *Cryptococcus glabratus*, à l'aube de la découverte des champignons microscopiques en tant qu'organismes. Ce nom a été repris en 1917 par Anderson jusqu'à ce qu'en 1938, Lodder et De Vries la renomment *Torulopsis glabrata*, en référence au genre *Torulopsis* dont les espèces sont caractérisées par l'absence de production de filaments mycéliens. Puis, en 1970, une polémique s'est installée au sein de la communauté scientifique à propos du statut du genre *Torulopsis* vis-à-vis du genre *Candida* et finalement, en 1978, les genres *Torulopsis* et *Candida* se sont tombés en synonymie et l'espèce *glabrata* du genre *Torulopsis* s'est reclassée au sein du genre *Candida* (Vandeputte, 2008).

✓ **Structure, métabolisme et cycle de vie**

C. glabrata se présente sur milieu standard sous forme de colonies lisses et brillantes de couleur blanche ou crème. Il s'agit uniquement de levure produisant de petites blastospores ovoïdes de 1 à 4µm de diamètre, se multipliant par bourgeonnement. L'absence de filaments

mycéliens est caractéristique de cette espèce. Toutefois, *C. glabrata* est capable de produire de courts pseudohyphes. L'addition de sulfate de cuivre dans le milieu de culture induit un changement réversible de la coloration et de la morphologie des colonies de *C. glabrata*. Son génome est totalement séquencé. Contrairement aux autres levures du genre *Candida*, et en dépit de la présence de gènes impliqués dans la reproduction sexuée, la principale particularité du génome de *C. glabrata* est d'être haploïde (13 chromosomes nucléaires) (Vandeputte, 2008).

Il n'y a pas de cycle sexuel connu chez *C. glabrata*, des travaux ont révélé la présence de trois loci sexuels particulièrement semblables à ceux de *Saccharomyces cerevisiae*, qui, lui, est capable de reproduction sexuée (Srikantha *et al.*, 2003). D'autres auteurs suggèrent l'existence d'un cycle sexuel chez *C. glabrata* (Cormack et Falkow, 1999; Dodgson *et al.*, 2005).

✓ **Ecologie et pathogène**

C. glabrata a été considérée comme un constituant naturel de la flore microbienne des muqueuses des mammifères et n'est en revanche pas retrouvée libre dans l'environnement. Considérée à l'origine comme non pathogène, elle est devenue aujourd'hui la deuxième espèce en fréquence dans les candidoses, après *C. albicans*. En outre, les candidoses à *C. glabrata* sont associées à un taux de mortalité particulièrement élevé dans les formes systémiques (Vandeputte, 2008).

Les candidoses à *C. glabrata* peuvent être réparties en deux grandes catégories:

- Les candidoses superficielles: touchent les muqueuses des patients présentant un terrain favorisant le développement de la levure. Les formes cliniques les plus fréquentes sont les candidoses oropharyngées, les œsophagiennes, les vulvo-vaginales et les urinaires (Vandeputte, 2008).

Les candidoses oropharyngées: sont particulièrement fréquentes chez les patients atteints du SIDA puisqu'on estime à environ 80% la proportion de ces patients qui développeront ce type d'infection. Cette infection est souvent un signe d'entrée dans la phase clinique du SIDA. *C. glabrata* est également responsable de plus de 20% des infections urinaires (Vandeputte, 2008).

- Les candidoses profondes: peuvent toucher tous les organes, et il n'existe pas de signes cliniques propres à ces infections. Elles s'accompagnent d'une dégradation de l'état de santé du patient et vont d'une simple fièvre modérée à un choc septique brutal. De même, les candidoses systémiques à *C. glabrata* ne présentent pas de manifestations particulières, mais sont caractérisées par une plus grande mortalité et par une résistance aux antifongiques azolés (Vandeputte, 2008).

1.1.3 *Candida krusei*

C. krusei est une levure qui ne produit pas de spores, qui se rencontre habituellement solitaire ou en pseudohyphes (Samaranayake Y.H et Samaranayake L.P, 1994). Les cellules de *C. krusei* sont rondes ou allongées et peuvent être facilement séparées, tandis que dans les pseudohyphes, où les cellules sont plus allongées et attachées aux cellules voisines et sont difficilement séparables (Samaranayake Y.H *et al.*, 1998). Ce champignon est considéré comme un pathogène humain opportuniste à émergence relativement rare (Hendriks *et al.*, 1991).

Il infecte principalement des patients immunodéprimés, en particulier ceux qui présentent une certaine forme de leucémie ou d'autres leucopénies (Abbas *et al.*, 2000).

C. krusei est bien reconnu actuellement, car il s'agit d'un agent pathogène résistant aux médicaments multiples en raison de sa capacité à s'adapter rapidement aux traitements antifongiques et à son profil de susceptibilité complexe (Samaranayake Y.H *et al.*, 1994).

✓ **Structure, métabolisme et cycle de vie**

C. krusei se rencontre généralement dans l'une des deux morphologies de base, levure ou pseudohyphes. Cependant, les deux formes sont habituellement présentes en même temps (Samaranayake Y.H et Samaranayake L.P 1994). Contrairement à la plupart des espèces du genre *Candida*, *C. krusei* ne prend jamais la forme ovale. Les formes allongées ressemblent étroitement aux grains de riz longs. Cette morphologie cellulaire est partagée uniquement avec *C. keijyr* dans le genre *Candida* (Samaranayake Y.H et Samaranayake L.P 1994). D'autre part, dans la morphologie de pseudohyphes, les cellules sont allongées et attachées aux cellules voisines (Samaranayake Y.H et Samaranayake L.P 1994). *C. krusei* est un mésophile, elle pousse à des températures allant jusqu'à 45°C, et c'est l'une des espèces de *Candida* qui peuvent pousser dans des milieux qui ne contiennent pas de vitamines (Samaranayake Y.H et Samaranayake L.P 1994). Comme beaucoup d'autres levures, c'est un fermenteur (Nakayama *et al.*, 2008).

✓ **Ecologie et pathogénèse**

C. krusei se trouve dans de nombreuses régions du monde. Ses souches ont été isolées en Amérique, en Europe et dans la région Asie-Pacifique à partir d'échantillons de patients provenant de plus de 142 hôpitaux (Pfaller *et al.*, 2008). En Europe, la prévalence de *C. krusei* est la plus élevée parmi les régions géographiques du monde avec des isolats de *C. krusei* les plus courants en République tchèque, en Pologne et en Slovaquie. En revanche, *C. Krusei* est plus rare en Asie-Pacifique et en Amérique latine. Le plus souvent elle est trouvée chez les

patients atteints de cancers hématologiques et les receveurs de sang et de transplantation de moelle osseuse (Pfaller *et al.*, 2008).

C. krusei est sensible au voriconazole, un antifongique fort, cependant sa sensibilité à cet antifongique varie en fonction de la nature et l'origine du prélèvement (Pfaller *et al.*, 2008).

VII. Description des médicaments antifongiques étudiés

1. Famille des triazolés

Les imidazolés sont historiquement les premiers antifongiques azolés utilisés. Du fait de leur mauvaise absorption digestive et de leur hépatotoxicité, leur utilisation se fait principalement par voie locale au niveau des muqueuses (CNPM, 2016).

Les triazolés de première génération (fluconazole, itraconazole) avec un spectre d'activité élargi, ont succédé aux imidazolés, puis les triazolés de deuxième génération avec le voriconazole, antifongique de choix des aspergilloses invasives sévères (CNPM, 2016).

Les dérivés azolés présentent un profil d'effets indésirables comparable (hépatotoxicité rare mais grave, effets allergiques). Ce sont des inhibiteurs du cytochrome P450 3A4 (CYP3A4) d'où la nécessité de prendre en compte les nombreuses interactions médicamenteuses à prendre en compte (CNPM, 2016).

✓ Fluconazole

C'est un antifongique à usage curatif et préventif. Les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont prises, telles quelles sans modifications (Vidal, 2014; Thériaque, 2017). Des résumés de caractéristiques du fluconazole sont répertoriés au niveau de l'annexe 7.

2. Famille des allylamines

Les allylamines sont des molécules synthétiques à spectre relativement large inhibent la squalène époxydase, enzyme de la conversion du squalène en squalène-2,3-époxyde, première étape de la biosynthèse de l'ergostérol, ce qui provoque une accumulation intracellulaire du squalène (Favre et Ryder, 1997).

Les molécules de cette classe peuvent être fongistatiques (par déficit en ergostérol qui provoque l'arrêt de la croissance fongique) et fongicide par accumulation de squalène dans la cellule sous formes de vésicules lipidiques qui entraîne une rupture des membranes cellulaires (Brennan et Leyden, 1997).

Les trois allylamines, la mono-, di- et triallylamine, sont produites par le chlorure d'allyle traité avec de l'ammoniac, suivie d'une distillation. Des échantillons purs peuvent être

préparés par hydrolyse de l'isothiocyanate d'allyle. La polymérisation peut être utilisée pour préparer l'homopolymère (polyallylamine) ou des copolymères (CNPM, 2016).

✓ **Terbinafine**

La terbinafine est un antimycosique utilisé dans le traitement des dermatophytoses, et notamment des onychomycoses (mycoses des ongles), Les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont prises, telles quelles sans modifications (Vidal, 2014; Thériaque 2017). Des résumés de caractéristiques de la terbinafine sont répertoriés au niveau de l'annexe 8.

3. Famille des macrolides polyènes

Les antimycosiques polyéniques, parfois appelés antibiotiques polyéniques, sont une famille de composés polyéniques antimicrobiens ciblant les champignons. Ces antimycotiques polyéniques sont typiquement obtenus à partir de certaines espèces de bactéries *Streptomyces*. L'amphotéricine B, la nystatine et la natamycine sont des exemples d'antimycotiques polyéniques. Ils sont un sous-groupe de macrolides (CNPM, 2016).

✓ **Amphotéricine B**

L'amphotéricine B est un antifongique à large spectre administré par voie parentérale. Les divers agents (produits d'amphotéricine B) ont une efficacité comparable, même si dans certains milieux cliniques, les produits lipidiques peuvent être avantageux dans l'usage de fortes doses par poids corporel unitaire tout en préservant la fonction rénale (Allen, 2010). Les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques sont prises, telles quelles sans modifications (Vidal, 2014; Thériaque 2017). Des résumés de caractéristiques de l'amphotéricine B sont répertoriés au niveau de l'annexe 9.

**DEUXIEME PARTIE:
PARTIE PRATIQUE**

Chapitre I: Etude phyto-chimique des huiles essentielles des six plantes médicinales étudiées

I. Introduction

Plusieurs études analytiques ont été réalisées sur la composition phytochimique des huiles essentielles, cependant celles-ci ont montré une différence remarquable au niveau de leur composition, d'où la notion du chémotype (Cazin *et al.*, 1985; Brada *et al.*, 2007; Merghache *et al.*, 2009; Ghanmi *et al.*, 2010).

Le chémotype, un mot dérivé de chimiotype signifiant « type chimique » ou encore « race chimique », désigne une entité chimique distincte au sein d'une même espèce de plantes ou de microorganismes. En effet certaines espèces présentent des variations chimiques de leurs métabolites secondaires. Ces variations sont en rapport de leur écologie (altitude, humidité, ensoleillement, biotope, etc.), alors que leur morphologie voire leur génétique ne sont pas substantiellement transformées (Flaymond, 2005).

Jouault (2012), a rapporté une différence significative dans la composition de l'HE de *Cinnamomum camphora*, d'*Ocimum basilicum*, d'*Eucalyptus citriodora*, de provenances variées. Ce même auteur a rapporté 5 chémotypes de thym (à thymol, à linalool, à thuyanol, à géraniol et à carvacrol), 3 chémotypes de romarin (à 1,8-cinéol, à camphre et à verbenone).

Les rendements en HE peuvent être également différents. En effet, Chericoni *et al.* (2004) ont montré que le rendement d'*Artemisia verlotiorum* est maximal au mois d'avril (0,6%) et minimal au mois de janvier (0,1%).

La date de récolte des plantes a aussi un retentissement sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des HE (Ghanmi *et al.*, 2010).

Ces données citées ci-dessus nous ont incités à étudier la composition phytochimique des HE de nos échantillons. Il s'agit des HE extraites des six plantes médicinales choisies en vue de déterminer leurs propriétés physico-chimiques, de calculer leurs rendements et d'analyser leurs compositions phyto-chimiques afin de les corrélérer aux activités antimicrobiennes.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Les plantes ont été récoltées durant le mois de mars et proviennent d'une culture biologique relevant d'une coopérative de la région de Chtouka Ait Baha (sud du Maroc). Les parties

utilisées ont été choisies selon les recommandations de l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM, 2016) et qui sont les suivantes:

- *Artemisia vulgaris* = *A. vulgaris*: Feuilles, bourgeons et sommités fleuries.
- *Ocimum basilicum* = *O. basilicum*: Feuille et sommités fleuries.
- *Syzygium aromaticum* = *Sy. aromaticum*: Fleurs jeunes = clous de girofle.
- *Thymus vulgaris* = *T. vulgaris*: Feuilles et sommités fleuries.
- *Origanum vulgare* = *Or. vulgare*: Feuilles et sommités fleuries.
- *Rosmarinus officinalis* = *R. officinalis*: Feuilles et sommités fleuries.

2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'HE a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. 200g du matériel végétal trempées dans 1 litre d'eau distillée, puis portées à ébullition pendant des durées différentes (tableau 1).

Tableau 1: Moyennes des durées de distillation des plantes étudiées

Plantes	Durée moyenne de distillation	Références
<i>A. vulgaris</i>	2h	Govindaraj et Kumari (2013) ; Sharifian <i>et al.</i> (2013)
<i>O. basilicum</i>	3h30	Omidbaigi <i>et al.</i> (2007) ; Bayala <i>et al.</i> (2014)
<i>Sy. aromaticum</i>	3h30	Bhuiyan <i>et al.</i> (2010) ; Hossain <i>et al.</i> (2012)
<i>T. vulgaris</i>	2h30	Fachini-Queiroz <i>et al.</i> (2012) ; Bouguerra <i>et al.</i> (2017)
<i>Or. Vulgare</i>	4 h	Cleff <i>et al.</i> (2010) ; Çetin <i>et al.</i> (2011)
<i>R. officinalis</i>	2h30	Hussain <i>et al.</i> (2010) ; Khia <i>et al.</i> (2014)

Le distillat contient deux phases: l'HE et l'hydrolat. L'HE essentielle a été récupéré par une simple décantation. L'hydrolat contenait des traces d'HE. Il a été traité par 10g de NaCl dans une ampoule à décanter pour récupérer l'HE. L'ensemble d'HE a été traité par du sulfate de magnésium anhydre (MgSO₄) en raison de son fort pouvoir desséchant et enfin stocké dans des flacons teintés à l'obscurité et à 4°C. Ensuite, elle a été diluée dans du méthanol (1% v/v) avant de procéder aux opérations d'analyses par CG et CG/SM selon la norme (AFNOR, 2000) (Bencheqroun *et al.*, 2012).

3. Rendement

Le rendement en HE a été calculé en fonction de la matière sèche. C'est le rapport entre la masse de l'HE et la masse du matériel végétal utilisée, il est exprimé en pourcentage.

$$\text{Rendement (\%)} = (\text{Masse de l'HE} / \text{Masse du matériel végétal}) \times 100$$

4. Propriétés physico-chimiques

4.1 Caractères généraux

L'aspect, la couleur, l'odeur, le point d'ébullition, la solubilité dans l'eau et dans deux solvants organiques, l'éthanol 95° et l'éther, sont déterminés pour chaque HE étudiée.

4.2 Indice de densité

La densité relative a été mesurée à 20°C avec un pycnomètre (flacon dont on se sert pour déterminer la densité des liquides ou des solubles).

La densité relative à 20°C d'une HE est le rapport de la masse d'un volume d'HE à 25°C à la masse égale du volume d'eau distillée à 20°C (Boukhobza et Goetz, 2014).

4.3 Indice de réfraction

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une HE est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'HE maintenue à une température constante. Cet indice peut être mesuré par un réfractomètre (Boukhobza et Goetz, 2014).

5. Analyse chromatographique

L'analyse qualitative et quantitative des composants des HE a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le changeur d'échantillons est automatique, le volume injecté est de 1µl, le gaz porteur est l'hélium. La colonne utilisée est de type Elite-5ms, dont la longueur est de 30m et un diamètre de 0,25µm. La température d'injection est de 250°C et celle de la ligne de transfert est de 200°C, le potentiel d'ionisation est de 70eV, la température de la source est de 200°C.

III. Résultats et Discussion

1. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'*Artemisia vulgaris*

1.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est fluide de couleur jaune pâle avec une odeur fraîche herbacée et camphrée, insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 0,912 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,480 à 20°C. Le rendement par rapport à la matière végétale sèche est de 0,5%.

1.2 Composition phytochimique

L'analyse chromatographique a permis de déceler 66 composés (tableau 2) représentant 95,15% de l'HE. Il s'agit d'un chémotype à camphre (15,32%), les composés majoritaires après le camphre sont l' α -thuyone (10,92%), cis-carvéol (10,32%) et le camphène (6,82%).

Tableau 2: Composition phytochimique de l'HE d'*A. vulgaris*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	Camphre	15,32
2	α -thuyone	10,92
3	Cis-carvéol	10,32
4	Camphène	6,82
5	Germacrène	6,52
6	α -fenchène	4,91
7	β -caryophyllène	4,36
8	Bornéol	4,13
9	β -thuyone	3,65
10	1,8-cinéol	3,02
11	Sabinène	2,76
12	δ -cadinène	1,32
13	Davanone	1,13
14	Acétate de lavandulyle	0,96
15	Chrysanthénone	0,94
16	α -humulène	0,92
17	Trans-pinocarvéol	0,91
18	α -gurjunène	0,90
19	Myrténal	0,86
20	Néo-iso-thujanol	0,82
21	Isoborneol	0,79
22	β -pinène	0,73
23	α -pinène	0,72
24	4-terpinéol	0,72
25	α -copaène	0,62
26	Bicyclogermacrène	0,62
27	Oxyde de caryophyllène	0,62
28	Cis-sabinène hydrate	0,52
29	Thujanol	0,46
30	Tricyclène	0,45
31	β -sélinène	0,38
32	Trans- hydrate de sabinène	0,36
33	Allo-aromadendrène	0,36
34	β -cubébène	0,35
35	γ -cadinène	0,35
36	Linalool	0,32
37	Verbénone	0,30
38	1,8-dehydrocinéole	0,28
39	p-cymène	0,27
40	Péridaldéhyde	0,24
41	α -murolène	0,23

Tableau 2: Composition phytochimique de l'HE d'*A. vulgaris* (suite et fin)

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
42	Artemisia cétone	0,21
43	Cis-p-menth-2-en-1-ol	0,21
44	Trans-carvéol	0,21
45	Silphiperfol-4,7(14)-diène	0,21
46	γ -curcumène	0,21
47	T-cadinol	0,20
48	Limonène	0,19
49	Trans-muurolo-4(14)5-diène	0,19
50	Oxyde d'humulène	0,18
51	β -eudesmol	0,18
52	α -eudesmol	0,16
53	Santolina triène	0,15
54	Carvone	0,15
55	α -cadinène	0,15
56	(E)- β -ocimène	0,14
57	γ -terpinène	0,13
58	β -bourbonène	0,13
59	Aromadéndrène	0,13
60	Longibornéol	0,13
61	T-murolol	0,13
62	α -terpinène	0,12
63	Cumin aldéhyde	0,12
64	β -élémente	0,12
65	Thuj-3-en-10-al	0,11
66	Caryophylla-4(14), 8 (15)-dien-5-ol	0,11
Total		95,15

1.3 Discussion

Le rendement obtenu (0,5%) est très performant par rapport à ceux trouvés par Pino *et al.* (1999) (0,1%) (échantillon d'origine cubaine) et par Bamoniri *et al.* (2010) (0,25%) (échantillon d'origine iranienne), le rendement en huile essentielle d'*A. vulgaris* varie entre 0,1 et 1,4% selon Anwar *et al.* (2016).

Ghanmi *et al.* (2010) ont démontré que le rendement en HE par rapport à la matière végétale sèche est fonction de la période de récolte en postulant que la production de chaque constituant est gérée par des mécanismes de formations biogénétiques et par conséquent l'existence d'une telle communication dépend ainsi que de leur présence-absence, de la présence et de la concentration des précurseurs endogènes des isoprénoïdes.

L'analyse phytochimique de l'HE *A. vulgaris* a permis de déduire que c'est un chémotype à camphre (15,32%), les cétones (camphre, α et β -thuyone et autres) représentent plus de 30% comme décrit par Govindaraj *et al.* (2008). Les sesquiterpènes (humulène, cadinène, caryophyllène, etc.) sont représentés à plus de 25%, c'est une classe de terpènes formée de trois unités isopréniques. Les monoterpènes (limonène, p-cymène, sabinène, cis-sabinène

hydrate, β -pinène) représentent plus de 20%. Les monoterpénols (thujanol, néoisothujanol, 4-terpinéol, bornéol, linalool) sont représentés à plus de 10%.

Ghanmi *et al.* (2010) ont également montrée que la formation du chrysanthénone et du camphre se fait à partir des pinènes et de leurs dérivés, tandis que la cyclisation du cation néryle conduit à la formation du terpinéol, terpin-4-ol, terpin-7-al, etc. Il paraît selon les mêmes auteurs qu'au cours des mois d'avril et juin, qui correspondent à la période de floraison de la plante, les deux voies de biosynthèse de camphre et de chrysanthénone sont simultanément favorisées avec la prépondérance de ce dernier. Cependant, au cours de la période de septembre qui coïncide avec des conditions de stress biotique et abiotique, la biosynthèse est orientée vers la formation du camphre et du terpin-7-al (Ghanmi *et al.*, 2010).

Mucciarelli *et al.* (1995) ont rapporté la composition majoritaire suivante: camphre 48%, camphène 9%, verbénone 9%, trans-verbénol 7% et β -caryophyllène 4%. La comparaison d'HE d'*A. vulgaris* avec d'autres espèces telles que *A. capilaris*, *A. rehan*, *A. annua* et *A. arbuscula* montre une grande variabilité des constituants. Les composés majoritaires d'*A. capilaris* sont le ϵ -cadinène (0-46%), α -thuyone (0-40%) et bornéol (0-15%), ceux de l'*A. rehan* sont le davanone (44%), trans-éthylcinnamate (3%), acétate de bornyl (2%), pour l'espèce *petrosa*, on trouve le 1,8-cénéole, β -pinène, bornéol, l'HE *A. annua* est composée de camphre (7-44%), artemisia-cétone (6-26%), germacrène-D (14-24%), β -caryophyllène (5-15%), celle d'*A. arbuscula* est composée d'artemiséol (29%), santolinate de méthyl (15%), 1,8-cinéol (15%) et camphre (7%) (Mucciarelli *et al.*, 1995).

L'HE d'*Artemisia herba-alba* est constituée principalement d' α -thuyone (43,85%), trans-acétate de sabinyle (17,46%) et β -thuyone (10,10%), accompagné de faible quantité de 1,8-cinéol (3,30%), chrysanthénone (2,32%) et acétate de chrysanthényle (3,93%).

Les différents pourcentages en rendements et en 1,8-cinéol de l'huile essentielle d'*A. vulgaris* que nous avons obtenus et ceux rapportés par la littérature sont répertoriés dans le tableau 3.

Tableau 3: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en 1,8-cinéol de l'huile essentielle d'*A. vulgaris* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
Rendement	0,5	Rendement obtenu
	0,1	Pino <i>et al.</i> (1999)
	0,25	Bamoniri <i>et al.</i> (2010)
	1.4	Alizadehl <i>et al.</i> (2012)
	0,1 à 1,4	Anwar <i>et al.</i> (2016)
1,8-cinéol	3,02	Pourcentage obtenu
	28,9	Blagojević <i>et al.</i> (2006)
	16,7 à 17,6	Asta et Juste (2006)
	18,64	Bamoniri <i>et al.</i> (2010)
	2,85	Alizadehl <i>et al.</i> (2012)
	32	Williams <i>et al.</i> (2012)

2. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum*

2.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est un liquide mobile limpide, de couleur jaune pâle avec une odeur fraîche, épicée et anisée, insoluble dans l'eau et soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 0,962 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,512 à 20°C. Le rendement par rapport à la matière végétale sèche est de 0,6%.

2.2 Composition phytochimique

L'analyse chromatographique a permis de déceler 23 composés représentant 88,94% de l'HE. Il s'agit d'un chémotype à linalool (44,07%), les composés majoritaires après le linalool sont l'eugénol (13,65%) et le méthyl-eugénol (6,63%) (tableau 4).

Tableau 4: Composition phytochimique de l'HE d'*O. basilicum*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	Linalool	44,07
2	Eugénol	13,65
3	Méthyl-eugénol	6,63
4	Alcool fenchyle	3,24
5	Estragole	2,86
6	Caryophyllène	2,77
7	Isoeugénol	2,06
8	Méthyl cinnamate	2,03
9	α -terpinéol	2,02
10	1,8-cinéol	2,01
11	Géranol	1,65
12	Citronellol	1,63
13	Terpinen-4-01	1,57
14	Cis-ocimène	1,02

Tableau 4: Composition phytochimique de l'HE d'*O. basilicum* (suite et fin)

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
15	γ -terpinène	0,51
16	Limonène	0,31
17	β -pinène	0,28
18	Acétate de fenchyle	0,16
19	α -pinène	0,13
20	Camphre	0,12
21	p-cymène	0,11
22	Camphène	0,07
23	Acétate d' α -terpinyl	0,04
Total		88,94

2.3 Discussion

Le rendement obtenu de 0,6% est proche de celui rapporté par Akgül (1989) qui a trouvé un rendement de 0,5% pour un échantillon d'origine turque.

Le rendement et la composition chimique des HE d'*O. canum* d'après Yayi-Ladekan *et al.* (2012) varient selon le temps et l'ensoleillement. Abondant le matin à 7 heures ($1,71 \pm 0,01\%$), le rendement décroît progressivement avec l'augmentation des rayons solaires, jusqu'à son minimum à 13 heures ($1,35 \pm 0,01\%$) quand le soleil est au zénith, avant de croître à nouveau à sa valeur la plus élevée ($1,78 \pm 0,02\%$) à 19 heures au coucher du soleil. Cette variation périodiques du chémotype observée sur le même site au cours de la journée peut s'expliquer par l'interconversion d'un terpène en un autre terpène sous l'effet des rayons solaires (Yayi-Ladekan *et al.*, 2012)

La composition de l'HE diffère selon le chémotype d'après Nebie *et al.* (2002). Le chémotype européen est en général plus riche en linalool (40%) et en méthyle chavicol (25%). Il vient après, le chémotype de l'Ile de la Réunion avec une teneur élevée en méthyle chavicol (plus de 85%) et des traces de linalool, tandis que le chémotype des échantillons provenant de Bulgarie, Sicile, Egypte, Inde et Haïti est pauvre (traces) en (E)-cinnamate de méthyle, en méthyl cinnamate, en linalool et en méthyle chavicol. Le chémotype à linalool et à eugénol est rencontré au Maroc et aux Iles Seychelles (Nebie *et al.*, 2002).

Rodrigues *et al.* (2016) ont trouvé, pour un échantillon d'origine brésilienne, une composition de 60,96% en estragole, suivie de 27,27% en linalool et 4,07% en 1,8-cinéol.

Les principaux composés trouvés par Gradinariu *et al.* (2015), pour un échantillon d'origine roumaine, sont le linalool 31%, le camphre, β -élémane, α -bergamotène et bornyle-acétate, estragole 15,57%, l'eugénol 2,64% et le 1,8-cinéol 3,29%.

Les différents pourcentages en rendements et en linalool de l'huile essentielle d'*O. basilicum* selon la littérature sont répertoriés dans le tableau 5.

Tableau 5: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en linalool de l'huile essentielle d'*O. basilicum* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
Rendement	0,6	Rendement obtenu
	0,5	Akgül (1989)
	0,28	Khatri <i>et al.</i> (1995)
	0,17	Vituro <i>et al.</i> (1999)
	0,27 à 0,29	Yassin Nabri (2008)
	0,07 à 1,92	Zheljazkov <i>et al.</i> (2008)
	0,21	Joshi (2014)
Linalool	44,07	Pourcentage obtenu
	5,4	Khatri <i>et al.</i> (1995)
	60 à 70	Chalchat <i>et al.</i> (1999)
	69	Keita <i>et al.</i> (2000)
	83 à 87,1	Yassin Nabri (2008)
	19 à 73	Zheljazkov <i>et al.</i> (2008)

3. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du *Syzygium aromaticum*

3.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est un liquide plus ou moins visqueux, de couleur jaune clair avec une odeur épicée, typique de l'eugénol, insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 1,045 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,530 à 20°C. Le rendement par rapport à la matière végétale sèche est de 12,5%.

3.2 Composition phytochimique

L'analyse chromatographique a permis de déceler 13 composés représentant 98,71% de l'HE dont 9 composés sont à l'état de traces (tableau 6). Il s'agit d'un chémotype à eugénol (80,92%), les composés majoritaires après l'eugénol sont l'acétate d'eugényle (10,11%) et le β -élémane (5,32%).

Tableau 6: Composition phytochimique de l'HE du *Sy. aromaticum*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	Eugénol	80,92
2	Acétate d'eugényle	10,11
3	β -élémane	5,32
4	β -Caryophyllène	2,36
5	α -thujène	Tr
6	β -pinène	Tr
7	γ -terpinène	Tr
8	Linalool	Tr
9	Terpinén-4-ol	Tr
10	α -terpinéol	Tr

Tableau 6: Composition phytochimique de l'HE du *Sy. aromaticum* (suite et fin)

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
11	δ -cadinène	Tr
12	Acide myristique	Tr
13	Acide oléique	Tr
Total		98,71

(Tr: traces)

3.3 Discussion

Le rendement obtenu (12,5%) est inférieur à celui rapporté par De Mello *et al.* (2014) qui est de 15% pour les clous. Razafimamonjison *et al.* (2016) ont démontré que le rendement en HE de la feuille suivant les quatre phases de développement était en ordre de: 5,1% (jeunes feuilles), 4,5% (feuilles déployées 1), 4,1% (feuilles déployées 2) et 3,8% (feuilles matures). Lee *et al.* (2009) ont rapporté un faible rendement de 3% pour un échantillon d'origine malaisienne.

La composition chimique de l'HE étudiée montre une forte teneur en eugénol (80,92%), 10,11% en acétate d'eugényle, et 5,32% en β -élémyène. Lee *et al.* (2009) ont trouvé un total de neuf composés chimiques, avec 49,0% d'eugénol et 7,5% de caryophyllène comme principaux composés.

Razafimamonjison *et al.* (2016) ont démontré que lorsque l'eugénol atteint ses plus hauts pourcentages pour le stade des feuilles expansées (84,00 à 90,48%) et celui des feuilles matures (88,32 à 90,22%), l'acétate d'eugényle atteint les taux les plus bas avec respectivement (0,96 à 7,16% et 0,36 à 1,64%). Toutefois, quand l'acétate d'eugényle atteint un pourcentage maximal au stade des feuilles jeunes (61,44 à 65,52%), l'eugénol atteint un minimum de 25,43 à 30,38% (Razafimamonjison *et al.*, 2016).

Farag *et al.* (1989), Bauer *et al.* (2001) et Kong *et al.* (2004) ont affirmé que l'eugénol est le principal composé de l'HE de *S. aromaticum* avec 75 à 85% d'eugénol pour les premiers auteurs dont l'origine est inconnue, 85% pour les deuxièmes pour un échantillon d'origine égyptienne et 68% d'eugénol pour les derniers pour un échantillon d'origine allemande.

Les différents pourcentages en rendements et en eugénol de l'huile essentielle du *Sy. aromaticum* selon la littérature sont répertoriés dans le tableau 7.

Tableau 7: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en eugénole de l'huile essentielle du *Sy. aromaticum* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
Rendement	12,5	Rendement obtenu
	3	Lee <i>et al.</i> (2009)
	15	De Mello <i>et al.</i> (2014)
	3,8 à 5,1	Razafimamonjison <i>et al.</i> (2016)
Eugénole	80,92	Pourcentage obtenu
	85	Farag <i>et al.</i> (1989)
	75 à 85	Bauer <i>et al.</i> (2001)
	68	Kong <i>et al.</i> (2004)
	49	Lee <i>et al.</i> (2009)
	25,43 à 90,48	Razafimamonjison <i>et al.</i> (2016)

4. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du *Thymus vulgaris*

4.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est un liquide plus ou moins visqueux, de couleur jaune clair avec une odeur puissante, épicée et herbacée, insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 0,925 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,502 à 20°C. Le rendement par rapport à la matière végétale sèche est de 1,9%.

4.2 Composition phytochimique

Il ressort de nos résultats que l'HE renferme 25 composés représentant 98,83%. Il s'agit d'un chémotype à thymol (45,12%). Les composés majoritaires sont la p-cymène (18,02%) et la γ -terpinène (10,05%) (tableau 8).

Tableau 8: Composition phytochimique de l'HE du *T. vulgaris*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	Thymol	45,12
2	p-cymène	18,02
3	γ -terpinène	10,05
4	Linalool	3,72
5	Carvacrol	3,26
6	α -terpinène	3,16
7	α -pinène	1,52
8	Myrcène	1,49
9	4-terpinéol	1,42
10	Caryophyllène	1,13
11	α -thujène	1,09
12	Thymol méthyl éther	1,09
13	α -pinène	1,02
14	2-isopropyl-4-méthylanisole	0,85
15	2-éthyl-2-hexen-1-ol	0,76

Tableau 8: Composition phytochimique de l'HE du *T. vulgaris* (suite et fin)

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
16	Isothymol	0,73
17	Bornéol	0,69
18	Germacrène D	0,69
19	α -phellandrène	0,62
20	p-menth-2-en-1-ol	0,62
21	Camphre	0,61
22	Camphène	0,41
23	Sabinène	0,36
24	Terpinolène	0,25
25	2-Méthylbutanoate de méthyle	0,15
Total		98,83

4.3 Discussion

Le rendement obtenu (1,9%) est très performant par rapport à celui rapporté par El-Akhal *et al.* (2015) (1%) pour un échantillon cultivé au Maroc (différentes stations de la région du centre du Maroc). Ce même rendement (1%) a été trouvé par Imelouane *et al.* (2009) pour un échantillon aussi d'origine marocaine (orient du Maroc). Quant aux Dob *et al.* (2006), El Ajjouri *et al.* (2010) et Cheurfa *et al.* (2013), ils ont trouvé respectivement des rendements d'environ 2%, 1,75 à 2,05% et 0,9%.

Le rendement en huiles essentielles de *T. zygis* obtenu par Moldão-Martins *et al.* (2002) varie en fonction de la période de floraison (croissance végétative, pré-floraison, floraison, post-floraison et dormance), le nombre de jours au cours de chaque période et la méthode d'extraction. Ces auteurs ont rapporté par exemple des rendements de 0,95%, à 75 jours de la période de floraison, et cela suivant la méthode d'entraînement à la vapeur et de 1,43% par l'hydrodistillation au dispositif Clevenger et des rendements respectifs pour les mêmes méthodes à 90 jours de la période de floraison de 0,90% et de 1,20%. Ce rendement est minimum pendant la période de dormance (0,15%) (Moldão-Martins *et al.*, 1999).

Les rendements obtenus pour les espèces *T. algeriensis*, *T. bleicherianus* et *T. zygis* selon Zayyad *et al.* (2014) étaient respectivement de 2,96%, 1,80% et 0,30%.

L'HE de *T. vulgaris* étudiée est un chémotype à thymol (45,12%), qui est le principal constituant des monoterpènes oxygénés. Ce chémotype est faible en carvacrol (3,26%) contrairement au chémotype à carvacrol obtenu par Boukhatem *et al.* (2014) et qui est de 83,8%.

Un chémotype à carvacrol décrit par Cheurfa *et al.* (2013) révélant une teneur de 34,62% en carvacrol et 27,43% en thymol. Deletre *et al.* (2015) ont rapporté une teneur de 30,5% en thymol, 23,7% en p-cymène et 13,6 en carvacrol pour un chémotype à thymol. El-Akhal *et al.*

(2015) ont trouvé une HE composée de 41,39% en thymol et 2,06% en carvacrol, Pino *et al.* (1997), Roman (2009), Tchoumboungang *et al.* (2009) et Naguib *et al.* (2002) ont trouvé respectivement une teneur en thymol de 40,1%, 60,3%, 34,6%, 36,6% et 44,77%.

Les différents pourcentages en rendements et en thymol de l'huile essentielle du *T. vulgaris* selon la littérature sont répertoriés dans le tableau 9.

Tableau 9: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en thymol de l'huile essentielle du *T. vulgaris* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
Rendement	1,9	Rendement obtenu
	0,9	Dob <i>et al.</i> (2006)
	1	Imelouane <i>et al.</i> (2009)
	1,75 à 2,05	El Ajjouri <i>et al.</i> (2010)
	2	Cheurfa <i>et al.</i> (2013)
	1	El-Akhal <i>et al.</i> (2015)
Thymol	45,12	Pourcentage obtenu
	34,6	Pino <i>et al.</i> (1997)
	36,6	Naguib (2002)
	44,77	Alexandre <i>et al.</i> (2008)
	60,3	Roman (2009)
	40,1	Tchoumboungang <i>et al.</i> (2009)
	27,43	Cheurfa <i>et al.</i> (2013)
	30,5	Deletre <i>et al.</i> (2015)
	41,39	El-Akhal <i>et al.</i> (2015)

5. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

5.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est un liquide mobile, limpide, de couleur jaune pâle avec une odeur herbacée et phénolée, insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 0,950 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,510 à 20°C. Le rendement en HE par rapport à la matière végétale sèche est de 2,5%.

5.2 Composition phytochimique

14 composés (tableau 10) représentant 98,97% de l'HE sont décelés par l'analyse chromatographique. Il s'agit d'un chémotype à carvacrol (62,23%), les composés majoritaires après le carvacrol sont le γ -terpinène (11,02%) et le p-cymène (9,06%).

Tableau 10: Composition phytochimique de l'HE d'*Or. vulgare*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	Carvacrol	62,23
2	γ -terpinène	11,02
3	p-cymène	9,06
4	Thymol	3,26
5	Linalool	2,43
6	Myrcène	2,32
7	Carvacrol méthyl-éther	1,82
8	α -terpinène	1,62
9	α -thujène	1,23
10	α -pinène	1,12
11	Cis-sabinène hydrate	1,01
12	Limonène	0,72
13	β -bisabolène	0,62
14	β -caryophyllène	0,51
Total		98,97

5.3 Discussion

Le rendement obtenu (2,5%) est faible par rapport à celui trouvé par Kaniyas *et al.* (1998) (8,8%). Selon ces derniers, 19 de leurs 31 échantillons analysés provenant de différentes régions de la Grèce ont un rendement en HE variant de 8 à 16,6%. Les données de la littérature, selon Kaniyas *et al.* (1998), n'ont jamais montré un rendement supérieur à 8,2% en HE du genre *Origanum*. Voici quelques exemples de rendement en HE chez le genre *Origanum*: 3,7%, 1,3-6,5%, 1,1-2,5% et 0,36-1,68% respectivement pour *O. syriacum*, *O. vulgare*, *O. minutijolium* et *O. sipyleum* (Vokou *et al.*, 1988; Baser *et al.*, 1992; Baser *et al.*, 1993).

L'HE d'*Or. vulgare* obtenue est composée de 62,23% de carvacrol, 11,02% de γ -terpinène, 9,06% de p-cymène, 3,26% de thymol et 2,43% de linalool. Chatzifragkou *et al.* (2011) ont trouvé des proportions de 56,3% en carvacrol et de 16,4% en thymol. Raina et Singh Negi (2012) ont trouvé une composition riche en thymol 33,92% et relativement pauvre en carvacrol 6,90% pour un échantillon provenant de l'Inde.

Veres *et al.* (2003) ont étudié deux sous-espèces d'*Or. vulgare* cultivées en Hongrie: *Or. vu.* subsp *hirtum* et *Or. vu.* subsp. *vulgare*. L'HE de la première sous-espèce est constituée principalement de 76,4% de carvacrol, de 6,6% de γ -terpinène, et de 4,7% de p-cymène, alors que les principaux composés de la deuxième sous-espèce étaient le p-cymène (22,3%), l'oxyde de caryophyllène (10,2%), le sabinène (7,9%), le γ -terpinène (5,1%), et le spathuléol (4,8%). Cependant le carvacrol n'a pas été retrouvé chez cette deuxième sous-espèce même pas en état de traces, alors que les deux espèces contiennent du p-cymène, ce dernier est plus représenté chez la sous-espèce *vulgare*.

Les différents pourcentages en rendements et en carvacrol de l'huile essentielle d'*Or. vulgare* selon la littérature sont répertoriés dans le tableau 11.

Tableau 11: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en carvacrol de l'huile essentielle du d'*Or. vulgare* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
	Rendement	2,5
8,8		Kanias <i>et al.</i> (1998)
4,3		Azizi <i>et al.</i> (2009)
0,42		Nurzyńska-Wierdak (2009)
2		Cheurfa <i>et al.</i> (2013)
Carvacrol	62,23	Pourcentage obtenu
	95	Kokkini et Vokou (1989)
	3 à 68	Bernáth (1997)
	76,4	Veres <i>et al.</i> (2003)
	70 à 77,4	Azizi <i>et al.</i> (2009)
	0.57 à 2,73	Nurzyńska-Wierdak (2009)

6. Aspect physico-chimique, rendement et composition de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

6.1 Aspect physico-chimique et rendement

L'HE obtenue est un liquide mobile limpide, de couleur jaune pâle avec une odeur fraîche, plus ou moins camphrée, insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 95° et dans l'éther, de densité 0,925 à 20°C. L'indice de réfraction est de 1,475 à 20°C. Le rendement par rapport à la matière végétale sèche est de 2,9%.

6.2 Composition phytochimique

Les résultats ont montré que *R. officinalis* renferme 31 composés (tableau 12) représentant 99,94% de son HE. Il s'agit d'un chémotype à 1,8-cinéol (41,04%), les composés majoritaires après le 1,8-cinéol sont le camphre (14,35%), l' α -pinène (12,89%) et le β -pinène (8,36%).

Tableau 12: Composition phytochimique de l'HE du *R. officinalis*

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
1	1,8-cinéol	41,04
2	Camphre	14,35
3	α -pinène	12,89
4	β -pinène	8,36
5	Camphène	4,32
6	Limonène	2,92
7	β -trans-terpinéol	2,13
8	E-caryophyllène	1,95
9	Myrcène	1,73

Tableau 12: Composition phytochimique de l'HE du *R. officinalis* (suite et fin)

Numéro	Constituant	Pourcentage (%)
10	α -terpinène	1,53
11	α -terpinéol	1,27
12	Terpin-4-ol	0,92
13	α -terpinen-7-al	0,91
14	Linalool	0,82
15	E- β -ocymène	0,69
16	α -humulène	0,46
17	Oxyde de caryophyllène	0,43
18	1,4-cinéol	0,41
19	Vérbenone	0,39
20	Terpinolène	0,36
21	γ -terpinène	0,31
22	3-octanone	0,24
23	α -thujène	0,23
24	α -phellandrène	0,23
25	Tricyclène	0,21
26	δ -cadinène	0,21
27	2- β -ocymène	0,16
28	α -campholénol	0,15
29	Thuja-2,4-(10)-diène	0,12
30	Sabinène	0,11
31	δ -3-carène	0,09
Total		99,94

6.3 Discussion

Le rendement obtenu (2,9%) est très performant par rapport à ceux trouvés par Khia *et al.* (2014) qui ont démontré une variabilité des valeurs en fonction de la région. Les échantillons de Rchida (orient du Maroc) ont donné un meilleur rendement en HE (2,21%) par rapport à ceux de Berkine (orient du Maroc) et d'Aknoul (Nord-est du Maroc) avec respectivement des teneurs de 1,87% et 1,29%.

Fechtal *et al.* (2011; 2005) ont indiqué que les rendements en HE de deux provenances de la région de l'oriental au Maroc (El Ayat et Debdou) variaient de 0,5 à 2,9%. De même, des rendements en HE de trois provenances tunisiennes sont de l'ordre de: 1,25%, 1,27% et 1,35% (Ayadi *et al.*, 2011).

Soliman *et al.* (1994) ont trouvé des rendements de 0,14% et 0,4% pour deux échantillons provenant respectivement de Sinaï et Giza.

Il ressort de nos résultats que l'HE de *R. officinalis* est composée en particulier du 1,8-cinéol (41,04%), du camphre (14,35%), d' α -pinène (12,89%), de β -pinène (8,36%) et du camphène (4,32%).

Khia *et al.* (2014) ont signalé une teneur en 1,8-cinéol de 50,80%, 44,75% et 42,73% pour trois échantillons provenant respectivement de Berkine, Rchida et Aknoul. Ceci concorde

avec les normes AFNOR / NF ISO 4730 (Khia *et al.*, 2014) rapportant une teneur en 1,8-cinéol variant entre 38 et 55%.

Les travaux de Khia *et al.* (2014) ont rapporté également une teneur en camphre de 7,36%, 11,66% et 11,94% pour les trois régions citées ci-dessus, les normes AFNOR / NF ISO 4730 exigent des valeurs de 5 et 15% en camphre, une teneur en α -pinène de 6,72%, 9,58% et 13,83% pour les mêmes trois régions, les normes AFNOR / NF ISO 4730 exigent des valeurs entre 9 et 14% en α -pinène et une teneur en camphène de 3,13%, 3,89% et 5,57% pour les trois régions, les normes AFNOR / NF ISO 4730 exigent des valeurs de 2,5 et 6% en camphène (Khia *et al.*, 2014).

Soliman *et al.* (1994) ont étudié la composition de deux échantillons provenant de Sinaï et de Giza. Celle de Sinaï avait une teneur en verbénone de 12,3%, en camphre de 11,3%, en acétate de bornyle de 7,6% et en limonène de 7,1%. Alors qu'au Giza, la verbénone et le limonène font défaut, cette HE est composé de 14,9% de camphre, de 9,3% d' α -pinène et de 9% de 1,8-cinéol.

Quant à Touafek *et al.* (2004) qui ont travaillé également sur *R. officinalis* mais provenant du Sahara algérien, ils ont trouvé une teneur de 29,5% en 1,8-cinéol, de 12% en 2-éthyl-4,5-Diméthylphénol et de 11,5% en camphre.

Salehi *et al.* (2007) ont démontré l'efficacité de la « hydrodistillation-headspace solvent microextraction » (HD-HSME), deux méthodes à chaude et l'autre à froide) ont été étudiées et comparées avec l'hydrodistillation comme méthode de référence. Le procédé à froid a été jugé supérieur à la méthode à chaud. Suite à cette étude, 32 composés ont été identifiés, dont les principaux sont: l' α -pinène (48,7%), le camphène (13,7%), le 1,8-cinéol (13,7%), le myrcène (4,5%) et le camphre (2,7%). Les résultats étaient en corrélation avec celles obtenues par le procédé d'hydrodistillation (Salehi *et al.*, 2007).

Les différents pourcentages en rendements et en carvacrol de l'huile essentielle de *R. officinalis* selon la littérature sont répertoriés dans le tableau 13.

Tableau 13: Comparaison de nos résultats concernant le rendement et la teneur en 1,8-cinéol de l'huile essentielle de *R. officinalis* avec d'autres travaux

	Pourcentage (%)	Auteurs
Rendement	2,9	Rendement obtenu
	0,14 à 0,4	Soliman <i>et al.</i> (1994)
	0,5 à 2,9	Fechtal <i>et al.</i> (2005; 2011)
	1,25 à 1,35	Ayadi <i>et al.</i> (2011)
	1,29 à 2,21	Khia <i>et al.</i> (2014)
1,8-cinéol	41,04	Pourcentage obtenu
	29,5	Touafek <i>et al.</i> (2004)
	13,7	Salehi <i>et al.</i> (2007)
	42,73 à 50,80	Khia <i>et al.</i> (2014)
	38 à 55	Pharmacopée européenne 9ème édition (2016), réf: 01/2008:1846

IV. Conclusion

L'analyse phyto-chimique des huiles essentielles étudiées a montré une grande diversité et une richesse en substances phyto-chimiques. Ces substances auraient fort probablement une certaine activité selon leur teneur et leur combinaison qui s'ajoutent aux autres constituants phytochimiques de chaque échantillon analysé. Nos résultats concernant la composition qualitative et quantitative ainsi que les caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles ne sont pas toujours concordants avec ceux d'autres auteurs. Ceci est dû à plusieurs facteurs tels que l'espèce végétale, son écologie, le type de chémotype, la saison de récolte, le matériel et les techniques d'extraction employés, etc.

Selon Boutamani (2013), le temps d'extraction a un retentissement direct sur le rendement et la composition phytochimique d'une huile essentielle, pour cette raison certains composés apparaissent au début de l'extraction et disparaissent à la fin du processus d'extraction, c'est le cas de l' α -terpinéol, du γ -terpinène ou de l' α -zingiberène à titre d'exemple, alors que d'autres apparaissent au milieu ou à la fin du processus d'extraction tels que le menthol, le terpillyl acétate ou la verbénone). Tandis qu'une troisième catégorie de composés apparaît à des temps précis de l'extraction et disparaît dans d'autres comme l'exemple du β -ocimène, de l'eugénol et de l' α -thujène.

Pour cela, le temps optimal de distillation doit être respecté. Une distillation rapide présente le risque de ne pas extraire certains constituants (les queues de distillation), tandis qu'une distillation trop lente présente une menace de dégradation de certains composés.

Orav *et al.* (2001) ont montré que le pourcentage en monoterpènes d'une HE est inversement proportionnel au temps de l'hydrodistillation (0,5; 1; 2 et 3 heures). Cependant le pourcentage

en monoterpènes oxygénés reste invariable, alors que le pourcentage en chamazulène augmente 3 fois plus en passant de 0,5 à 3 heures d'hydrodistillation.

Boukhatem *et al.* (2010) ont pu dresser une synthèse des facteurs justifiant les fluctuations des rendements en HE et de leur composition chimique:

- Le désherbage, permet de limiter le développement des adventices, ou mauvaises herbes, qui empêchent le végétal de vivre pleinement.
- L'amendement minéral permet un enrichissement en azote du sol et ainsi augmente le rendement en HE.
- Le temps de séchage, le meilleur rendement en HE est obtenu pour des extractions après séchage court (1-2 jours).
- La technique et le solvant d'extraction, favorisent ou défavorisent le rendement en HE ainsi que sa composition chimique.

L'hydrodistillation reste un moyen quantitatif d'extraction des HE. Cependant l'extraction de celles-ci doit être orientée vers une technique qualitative permettant d'obtenir des composés phytochimiques précis en respectant les cycles et le temps de chaque extraction. Car on peut avoir deux constituants au sein de la même plante, l'un augmente avec le temps de distillation alors que l'autre diminue.

En ce qui concerne la comparaison des HE en fonction de la classification botanique, bien que des composés minoritaires tels que l' α -pinène, le γ -terpinène ou le p-cymène se trouvent chez certaines espèces des Lamiacées à des proportions variables, ceci ne permet pas de faire une corrélation entre la composition et la famille, puisque ces composés se trouvent aussi chez les espèces appartenant à d'autres familles.

Chapitre II: Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées et des médicaments antibiotiques sélectionnés

I. Introduction

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles. De nouvelles applications ont été développées dans le domaine de la conservation alimentaire, de la pharmacie et de l'agroalimentaire, d'industrie des parfums et des cosmétiques (Bencheqroun *et al.*, 2012).

Les huiles essentielles sont connues pour leur pouvoir antibactérien, des études ont été faites dans ce domaine en vue de trouver de nouveaux remèdes afin de résoudre la croissance exponentielle de la résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques commercialisés (Bencheqroun *et al.*, 2012; Deng *et al.*, 2016; Meng *et al.*, 2016; Semeniuc *et al.*, 2016; Tofiño-Rivera *et al.*, 2016). Ces études sont basées sur la taille des diamètres d'inhibition et les concentrations minimales inhibitrices et bactéricides. Cependant, le phénomène de synergie entre huiles essentielles ou entre HE et antibiotiques est une donnée importante à inclure et manque très souvent en littérature. En effet, ce phénomène de synergie a été évalué par des études modestes sur un nombre limité d'HE, de médicaments et de souches bactériennes, sans jamais comprendre la cinétique de ces interactions (Mahboubi *et al.*, 2007; Khan et Ahmad, 2011; Lv *et al.*, 2011; Nguefack *et al.*, 2012; Rapper *et al.*, 2013).

Dans ce travail nous avons tenu compte à la fois d'évaluer l'activité antibactérienne des HE étudiées et de déceler certaines interactions surtout de type synergique entre les HE elles-mêmes et les HE et certains médicaments antibiotiques commercialisés ainsi que d'étudier la cinétique de ces interactions.

II. Matériel et méthodes

1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles étudiées sont celles décrites dans le premier chapitre à savoir: huile essentielle d'*A. vulgaris*, d'*O. basilicum*, de *Sy. aromaticum*, de *T. vulgaris*, d'*Or. vulgare* et de *R. officinalis*.

2. Souches bactériennes

Les souches bactériennes étudiées sont des souches ATCC (American Type Culture Collection) et qui sont:

- ✓ *Escherichia coli* (ATCC® 25922™)
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853™)
- ✓ *Staphylococcus aureus* (ATCC® 29213™)

3. Antibiotiques sélectionnés

Les antibiotiques sélectionnés pour notre étude sont la ciprofloxacine et la céfuroxime.

Ils se présentent soit en forme de disque ou bien en solutions préparées à partir de la substance pure. Les charges des disques en antibiotiques sont les suivantes:

- ✓ Ciprofloxacine: 5µg
- ✓ Céfuroxime: 30µg

4. Evaluation de l'activité antibactérienne

4.1 Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont:

- ✓ **Le bouillon nutritif:** Milieu liquide, complexe utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants.
- ✓ **Le bouillon Mueller-Hinton:** Milieu polyvalent non sélectif pour la culture de très nombreux microorganismes de diverses origines.
- ✓ **La gélose de Mueller-Hinton:** Milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides.

Les milieux de culture ont été stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 15 mn et conservés à une température de 4°C. Les compositions qualitatives et quantitatives sont signalées en annexe 10.

4.2 Aromatogramme

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles. Il a les mêmes propriétés qu'un antibiogramme où les HE remplacent les antimicrobiens (antibiotiques et antifongiques) avec la même interprétation (Schroeder et Messing, 1949; Belaiche, 1979).

Les souches ont été rajeunies et la turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland ce qui correspond à une suspension bactérienne de 10⁸UFC/ml. Les boîtes de Pétri ont été inondées avec 100µl de cette suspension bactérienne (10⁸UFC/ml) de chaque bactérie préparée avec de l'eau physiologique stérile. Les boîtes ont été séchées sous hotte à flux laminaire. Une série de dilutions a été effectuée en utilisant une solution d'agar à 0,2% favorisant ainsi une meilleure

diffusion vue que les HE ne sont pas miscibles à l'eau (Remmal *et al.*, 1993; Satrani *et al.*, 2001; Zayyad *et al.*, 2014).

Des disques stériles en papier Whatman de 6 mm de diamètre ont été imprégnés de 10µl HE et ont été ensuite déposés sur la gélose. L'incubation s'est faite à l'étuve pendant 24 h à 37°C. Un disque imprégné de 10µl de solution d'agar 0,2% a été utilisé comme témoin (contrôle négatif). Trois tests ont été réalisés pour chaque concentration. La zone d'inhibition a été mesurée et exprimée en mm en tenant compte du diamètre du disque (Remmal *et al.*, 1993; Satrani *et al.*, 2001; Zayyad *et al.*, 2014).

4.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après incubation selon le germe (24 heures de culture à 37°C dans notre étude). Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. La technique utilisée dans notre étude est la technique de macrodilution en milieu liquide (Remmal *et al.*, 1993; Satrani *et al.*, 2001; Zayyad *et al.*, 2014).

✓ Technique de macrodilution en milieu liquide

Une gamme de concentrations a été préparée à partir d'une solution mère des huiles essentielles, des antibiotiques et du mélange HE/HE et HE/antibiotique, une solution d'agar 0,2% et du milieu de culture, de manière à obtenir des concentrations comprises entre 16µl/ml et 0,015625µl/ml. 13µl d'un inoculum bactérien, de densité équivalente à 10⁸UFC/ml, ont été placés dans chacun des tubes qui ont été ensuite incubés, sous agitation, pendant 24h à 37°C. La solution d'agar 0,2% sert de témoin négatif (Guinoiseau, 2010).

L'homogénéisation s'est faite à l'aide du Vortex. La concentration minimale inhibitrice (CMI) correspond au tube qui n'a pas représenté de croissance bactérienne visible (Remmal *et al.*, 1993; Satrani *et al.*, 2001; Zayyad *et al.*, 2014).

4.4 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB est la plus faible concentration d'huile essentielle, d'antibiotique ou du mélange (HE/HE et HE/antibiotique) pour laquelle l'effet bactéricide souhaité est plus de 99,99% (soit moins de 0,01% de microorganismes survivants).

Les prélèvements ont été effectués à partir du tube témoin et des tubes qui n'ont pas présenté des troubles visibles (tube représentant la CMI et les tubes qui le succèdent). Ils ont été ensuite déposés en stries sur milieu solide en fonction du germe étudié. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h (Guinoiseau, 2010).

La CMB correspond à la concentration du produit déposé dans la boîte de pétri qui n'a présenté aucune croissance bactérienne visible (Guinoiseau, 2010).

5. Etude des interactions entre les HE et les antibiotiques

Les interactions HE/HE et HE/antibiotique ont été étudiées en fonction des concentrations du mélange des deux produits. Les concentrations HE/HE et HE/antibiotique ont été de l'ordre de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 et 90%.

La nature des interactions entre HE/HE et HE/antibiotique est déterminée à l'aide des indices de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et bactéricide (ICFB) qui sont calculés à partir des concentrations fractionnaires inhibitrices (CFI) et bactéricides (CFB) selon les formules suivantes (Rosato *et al.*, 2007):

$$\text{CFI} = \text{CMI du produit en association} / \text{CMI du produit seul}$$

$$\text{ICFI} = \text{La somme des CFI des deux produits associés}$$

$$\text{CFB} = \text{CMB du produit en association} / \text{CMB du produit seul}$$

$$\text{ICFB} = \text{La somme des CFB des deux produits associés}$$

Les interprétations en fonction des valeurs des ICFI et ICFB sont mentionnées dans le tableau 14.

Tableau 14: Interprétation des ICFI et ICFB (Otrębska-Machaj *et al.*, 2016)

Valeur de l'ICFI ou ICFB	Interprétation
$\text{ICFI ou ICFB} \leq 0,5$	Synergie potentialisatrice
$0,5 < \text{ICFI ou ICFB} \leq 1$	Effet additif
$1 < \text{ICFI ou ICFB} \leq 2$	Indifférent
$\text{ICFI ou ICFB} > 2$	Antagonisme

6. Lecture des résultats et analyse statistique

L'analyse statistique des effets antibactériens des différentes substances étudiées a été faite à l'aide de l'IBM SPSS Statistics 20.0. Le test utilisé est celui de Student (t-Student), une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

III. Résultats et discussion

1. *Escherichia coli*

1.1 Aromatogramme

a- Effet des HE et du de la céfuroxime à différentes concentrations

Les HE étudiées ont montré une grande efficacité contre *E. coli* traduite par de larges zones d'inhibition (figure 7). L'HE de *T. vulgaris* s'est montrée plus efficace que les autres huiles même plus que la céfuroxime avec un diamètre d'inhibition de 28,81mm.

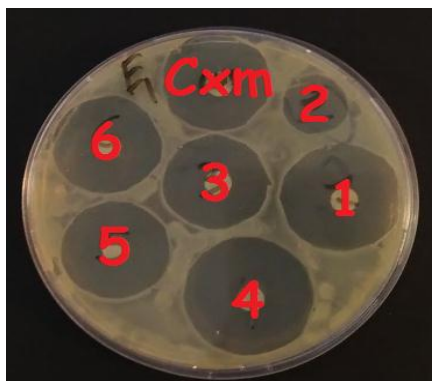


Figure 7: Zones d'inhibition produites chez *E. coli* sous l'effet des HE étudiées et de la céfuroxime à des concentrations de 100% (v/v)

(1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; Cxm= Céfuroxime)

Les HE ont montré une forte activité antibactérienne et ce en fonction de la concentration. On a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci. En effet, la classification des HE en fonction de l'activité antibactérienne et des concentrations n'a pas été toujours la même pour toutes les gammes de concentrations. L'effet de l'HE d'*Or. vulgare* (17,83mm) à 25% était supérieur à celui d'*A. vulgaris* (14,32mm), par contre à 100%, c'est l'HE d'*A. vulgaris* qui était plus efficace avec 25,09mm contre 22,42mm (tableau 15a).

La classification des HE et de l'antibiotique étudié à des concentrations de 100% (v/v) en fonction du diamètre d'inhibition était la suivante: *T. vulgaris* > *A. vulgaris* > Céfuroxime > *Sy. aromaticum* > *Or. vulgare* > *R. officinalis* > *O. basilicum*.

Le diamètre d'inhibition est en général strictement proportionnel à la concentration des produits (tableau 15a).

Tableau 15a: Effets des HE et de la céfuroxime sur *E. coli*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	14,32 ± 0,98	20,25 ± 0,96	23,12 ± 1,05	25,09 ± 1,32
<i>O. basilicum</i>	6,38 ± 0,12	8,64 ± 0,56	9,15 ± 1,16	11,32 ± 1,15
<i>Sy. aromaticum</i>	18,13 ± 0,36	19,04 ± 1,02	20,24 ± 1,95	22,64 ± 1,62
<i>T. vulgaris</i>	19,19 ± 0,45	22,98 ± 0,65	24,17 ± 0,84	28,81 ± 0,67
<i>Or. vulgare</i>	17,83 ± 0,85	18,21 ± 1,12	21,71 ± 1,07	22,42 ± 1,34
<i>R. officinalis</i>	7,22 ± 0,11	9,61 ± 0,08	12,36 ± 0,92	13,26 ± 1,11
Céfuroxime	18,51 ± 0,13	19,59 ± 0,18	22,60 ± 0,97	24,87 ± 1,95

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des HE et de la céfuroxime contre *E. coli* a montré qu'il y a une différence significative dans 77% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et de la céfuroxime et ce à différentes concentrations (tableau 15b).

Tableau 15b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la céfuroxime sur *E. coli*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cxm
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% NS 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS 50% S 75% S 100% S

B- Effet des associations HE/HE sur *E. coli*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations entre huiles essentielles les plus efficaces sont *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 30% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 24,13mm dépassant significativement celui d'*O. basilicum* utilisé seul, *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,12mm et *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,77mm, supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls (différence statistiquement significative). La plus faible association est *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 10% (v/v) avec un diamètre de 8,39mm (figure 8 et tableau 16a).



Figure 8: Zones d'inhibition produites chez *E. coli* par association des HE étudiées
(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 30% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 80% (v/v))

Tableau 16a: Effets des associations entre HE sur *E. coli*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	21,41 ± 0,32	22,36 ± 0,12	24,13 ± 0,39	13,63 ± 0,78	15,93 ± 1,17	21,08 ± 0,91	17,21 ± 0,15	12,32 ± 0,09	11,54 ± 1,03
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	8,39 ± 0,21	12,10 ± 0,12	17,84 ± 0,36	18,27 ± 0,21	16,64 ± 1,31	12,86 ± 1,12	25,45 ± 0,98	29,71 ± 0,75	31,12 ± 0,34
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	10,63 ± 0,18	9,39 ± 1,34	10,42 ± 1,02	12,80 ± 1,13	18,14 ± 0,91	17,43 ± 1,08	28,19 ± 0,31	30,77 ± 0,51	15,09 ± 0,11

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student) des diamètres d'inhibition des associations entre HE à différentes concentrations et les HE seules et céfuroxime à 100% contre *E. coli* a montré qu'il y a une différence significative dans 84% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou Cxm et ce à différentes concentrations (tableau 16b).

Tableau 16b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et céfuroxime sur *E. coli*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cxm
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10%NS	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30%NS	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% S	30%NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40%NS	40%NS	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60%NS	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30%NS	30%NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40%NS
	50% S	50% S	50% S	50%NS	50% S	50% S	50% S
	60% S	60%NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet des associations des HE au céfuroxime sur *E. coli*

Les associations de chacune des HE étudiée au céfuroxime ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces étaient entre *T. vulgaris* et céfuroxime à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,26mm, *A. vulgaris* et céfuroxime à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,33mm suivi par *Sy. aromaticum* et céfuroxime à 40% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,09mm. Notons que dans tous ces cas les diamètres d'inhibition

sont significativement supérieurs à ceux des produits utilisés seuls. L'association la plus faible était celle entre *O. basilicum* et céfuroxime à 10% (v/v) avec un diamètre de 9,47mm (figure 9 et tableau 17a).

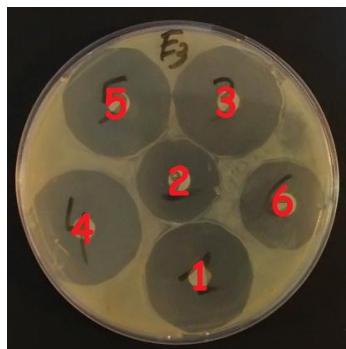


Figure 9: Zones d'inhibition produites chez *E. coli* sous l'effet des associations entre HE et céfuroxime
(1= *A. vulgaris* + Cxm à 70% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + Cxm à 40% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + Cxm à 40% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + Cxm à 70% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + Cxm à 90% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + Cxm à 20% (v/v))

Tableau 17a: Effets des associations entre les HE et la céfuroxime sur *E. coli*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + Cxm	16,62 ± 0,36	12,31 ± 0,25	12,28 ± 0,12	15,53 ± 0,13	17,35 ± 0,17	18,37 ± 0,23	29,33 ± 1,11	20,85 ± 1,36	19,36 ± 2,02
<i>O. b.</i> + Cxm	9,47 ± 0,39	16,53 ± 1,10	19,08 ± 0,52	21,32 ± 0,17	13,24 ± 1,12	19,31 ± 0,95	14,52 ± 1,13	12,93 ± 0,75	10,32 ± 1,15
<i>Sy. ar.</i> + Cxm	26,32 ± 0,12	27,58 ± 0,78	26,29 ± 0,95	29,09 ± 1,01	27,84 ± 0,02	12,23 ± 0,65	15,41 ± 0,77	19,38 ± 0,19	18,23 ± 0,21
<i>T. v.</i> + Cxm	21,60 ± 0,91	20,92 ± 0,37	22,15 ± 1,32	19,66 ± 0,19	21,19 ± 0,95	28,33 ± 0,45	30,26 ± 1,22	21,79 ± 2,03	19,58 ± 0,97
<i>Or. vu.</i> + Cxm	22,01 ± 0,75	23,01 ± 1,33	19,34 ± 1,32	19,94 ± 0,52	24,13 ± 0,94	22,65 ± 1,49	21,37 ± 0,88	20,84 ± 0,67	29,17 ± 1,13
<i>R. o.</i> + Cxm	20,67 ± 0,15	21,39 ± 1,37	19,08 ± 0,95	12,78 ± 1,67	10,03 ± 1,16	11,71 ± 0,66	12,19 ± 0,34	16,98 ± 1,56	13,70 ± 1,08

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition obtenus suite à l'action des associations entre les HE et la céfuroxime à différentes concentrations et les HE seules et la céfuroxime à 100% sur *E. coli* a montré qu'il y a une différence significative dans 72% des cas entre l'effet des associations HE/Cxm et HE seule ou Cxm et ce à différentes concentrations (tableau 17b).

Tableau 17b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et céfuroxime sur *E. coli*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cxm
<i>A. vulgaris</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Cxm	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% NS
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

1.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) contre *E. coli*

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) a montré que *E. coli* était très sensible aux HE étudiées ainsi qu'à la céfuroxime (figure 6). Les rapports CMB/CMI, pour tous les produits, ont été inférieurs ou égaux à 4, ce qui permet de les qualifier comme bactéricides (tableau 18).

Tableau 18: CMI et CMB des HE et de la céfuroxime efficaces contre *E. coli*

Produit	CMI*	CMB*
<i>A. vulgaris</i>	1	4
<i>O. basilicum</i>	1	4
<i>Sy. aromaticum</i>	0,25	0,5
<i>T. vulgaris</i>	0,125	0,25
<i>Or. vulgare</i>	0,25	0,5
<i>R. officinalis</i>	0,75	2
Cxm	4	8

*Les CMI et CMB des HE sont exprimées en µl/ml et celles de la céfuroxime en µg/ml

1.3 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et bactéricide (ICFB) contre *E. coli*

L'étude des ICFI et ICFB a permis de déceler plusieurs interactions de type synergique potentialisateur, additif ou indifférent. L'association entre *O. basilicum* + Cxm s'est montrée antagoniste avec un ICFI de 2,452.

L'ICFI et l'ICFB les plus faibles ont été obtenus pour l'association entre *T. vulgaris* + Cxm avec des valeurs respectives de 0,465 et 0,498. Les valeurs représentées dans le tableau 19 sont les valeurs minimales.

Tableau 19: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et céfuroxime contre *E. coli*

Association	ICFI	Interprétation	ICFB	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	1,213	Indifférent	1,452	Indifférent
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	0,492	Synergie potentialisatrice	0,953	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	0,797	Effet additif	0,956	Effet additif
<i>A. vulgaris</i> + Cxm	0,495	Synergie potentialisatrice	0,745	Effet additif
<i>O. basilicum</i> + Cxm	2,452	Antagonisme	3,458	Antagonisme
<i>Sy. aromaticum</i> + Cxm	0,931	Effet additif	1,002	Indifférent
<i>T. vulgaris</i> + Cxm	0,465	Synergie potentialisatrice	0,498	Synergie potentialisatrice
<i>Or. vulgare</i> + Cxm	0,821	Effet additif	1,239	Indifférent
<i>R. officinalis</i> + Cxm	1,985	Indifférent	2,982	Antagonisme

1.4 Cinétique des ICFI et ICFB contre *E. coli*

L'analyse des valeurs des ICFI et ICFB a montré qu'elles suivent une cinétique non linéaire en fonction des rapports HE/HE et HE/Cxm (figures 10 et 11). La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFB n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. Les ICFI et les ICFB les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *T. vulgaris* + Cxm à 70% (v/v) (0,465) et à 80% (v/v) (0,498). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *Or. vulgare* + Cxm, pour l'effet inhibiteur, à 10% a montré un effet antagoniste, à 80% un effet indifférent et à 90% un effet additif. Pour l'effet bactéricide, l'association *T. vulgaris* + Cxm à 10% a montré un effet antagoniste, à 40% un effet indifférent, à 60% un effet additif et à 80% un effet synergique.

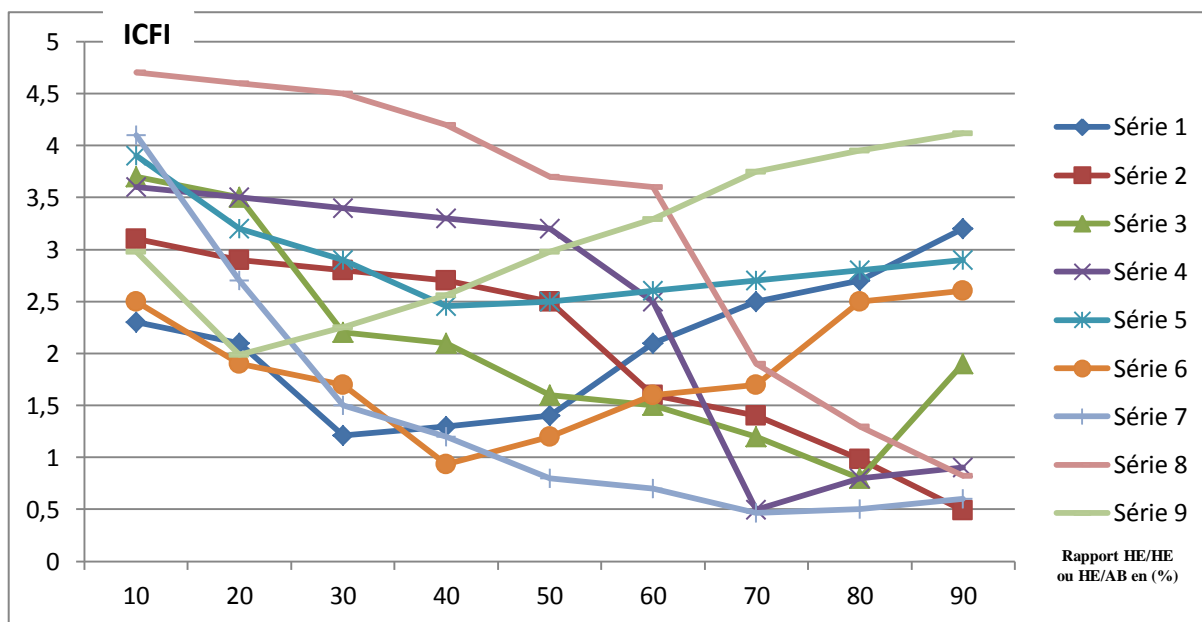


Figure 10: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas d'*E. coli*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Céfuroxime ; Série 5= *O. basilicum*/Céfuroxime ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Céfuroxime ; Série 7= *T. vulgaris*/Céfuroxime ; Série 8= *Or. vulgare*/Céfuroxime ; Série 9= *R. officinalis*/Céfuroxime ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

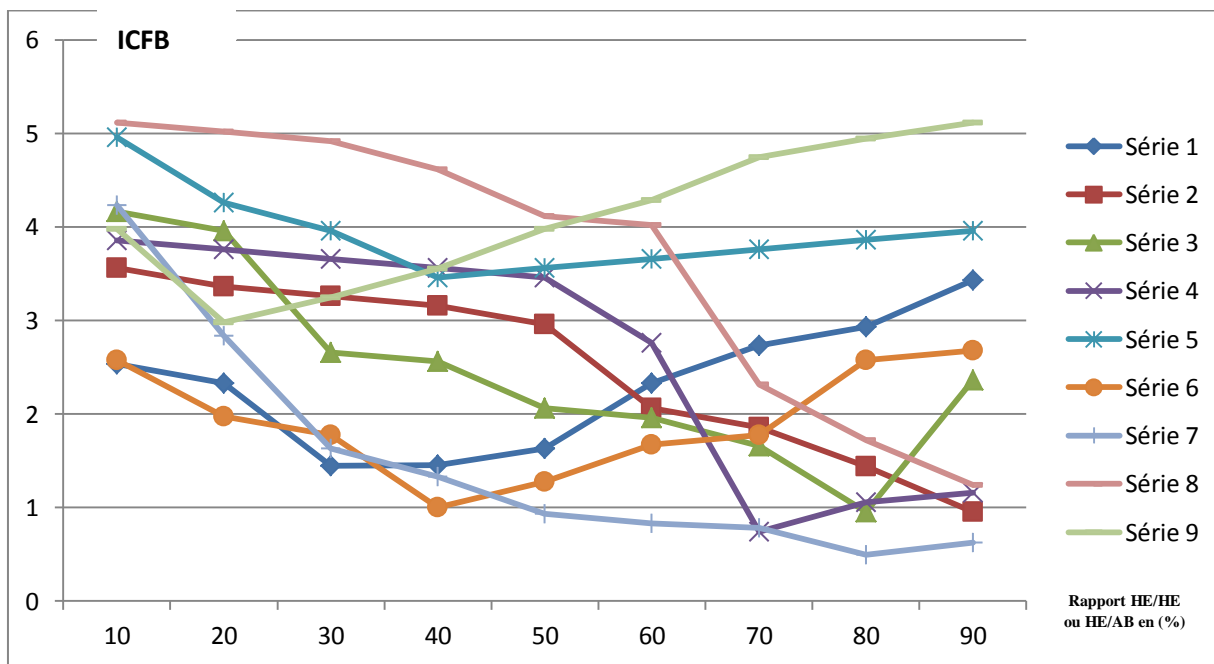


Figure 11: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas d'*E. coli*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Céfuroxime ; Série 5= *O. basilicum*/Céfuroxime ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Céfuroxime ; Série 7= *T. vulgaris*/Céfuroxime ; Série 8= *Or. vulgare*/Céfuroxime ; Série 9= *R. officinalis*/Céfuroxime ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

1.5 Discussion

1.5.1 *Artemisia vulgaris*

Nos tests ont montré que l'HE d'*A. vulgaris* a donné une zone d'inhibition de 25,09mm chez *E. coli* ATCC 25922, valeur légèrement supérieure à celle obtenue sous l'effet de la céfuroxime, une CMI de 1µl/ml et une CMB de 4µl/ml. Les valeurs pour la céfuroxime étaient respectivement 24,87mm, 4µg/ml et 8µg/ml.

Concernant l'effet de cette HE, nos résultats sont plus performants que ceux d'Erel *et al.* (2012), qui ont testé l'activité antibactérienne de l'HE d'*A. vulgaris* (56,13% d' α -thuyone) sur deux souches d'*E. coli* (*E. coli* ATCC 29998 et *E. coli* ATCC 11230), et qui ont obtenu un diamètre d'inhibition qui ne dépasse pas les 11mm. La différence entre nos résultats peut être due à la nature de la souche bactérienne, à la qualité et au chémotype de l'espèce végétale étudiée (Oyedeji *et al.*, 2005; Abdul Hammid et Ahmad, 2015).

Plusieurs autres auteurs ont testé cette HE sur cet agent pathogène. Citons à titre d'exemple Raj Singh *et al.* (2012) qui ont testé l'activité antibactérienne de l'HE d'*A. vulgaris* sur 125 souches d'*E. coli* provenant de différentes origines (humaine et animale) dont trois souches seulement étaient sensibles à cette HE.

Judzentiene et Buzelyte (2006) ont également démontré l'activité anti-*E. coli* de l'HE d'*A. vulgaris*. Silva *et al.* (1996) ainsi que Blagojević *et al.* (2006) ont attribué cette forte activité antimicrobienne au 1,8-cinéol, α -thuyone et au camphène. Hiremath *et al.* (2011) ont démontré que le diamètre d'inhibition de différents extraits d'*A. vulgaris* variait de 8 à 20mm; les extraits alcooliques étaient plus efficaces avec 20mm contre 15mm de diamètre pour l'extrait aqueux, 8mm pour l'extrait à l'éther de pétrole et 8mm pour l'extrait benzénique.

A partir de notre travail, *A. vulgaris* apparaît un excellent antimicrobien. Ceci concorde avec plusieurs études qui ont rapporté l'efficacité des HE de différentes espèces du genre *Artemisia* sur plusieurs microbes (Bora et Sharma, 2011; José Abad *et al.*, 2012; Guetat *et al.*, 2017).

1.5.2 *Ocimum basilicum*

Concernant l'HE de la deuxième plante médicinale étudiée *O. basilicum*, elle s'est montrée moins efficace contre *E. coli* ATCC 25922 que les autres HE étudiées ainsi que la céfuroxime. Elle n'a manifesté qu'un diamètre d'inhibition de 11,32mm, une CMI de 1µl/ml et une CMB de 4µl/ml.

Daneshian Moghaddam *et al.* (2011) ont montré une variabilité de l'efficacité de cette HE selon le mois de la collecte de la plante (juillet ou aout). Le diamètre d'inhibition de l'échantillon du mois de juillet était de 21,60mm, celui du mois d'aout était de 23,58mm. Les CMI des deux collectes ont été respectivement 9 et 18µg/ml. La différence entre nos résultats

serait due au chémotype de la plante qui est originaire d'Iran, ainsi qu'à la souche d'*E. coli* utilisée (*E. coli* PTCC 1535).

Selon ces résultats, on déduit que l'échantillon étudié par Daneshian Moghaddam *et al.* (2011) est très actif sur la souche PTCC 1535, bien que ces résultats soient plus performant que les nôtres, on ne peut en aucun cas les comparer, car on ne connaît pas le degré de virulence de cette souche.

Stefan *et al.* (2013) ont affirmé que la zone d'inhibition était proportionnelle à la concentration ainsi pour des concentrations croissantes de 45, 90 et 180mg/ml, les diamètres d'inhibition étaient respectivement 8, 11 et 12mm. Les CMI et CMB étaient 0,364mg/ml et 0,728mg/ml. L'HE de l'étude menée par Stefan *et al.* (2013) était un chémotype riche en linalool (65,38%) contre 44,07% pour notre échantillon.

Les HE d'*O. basilicum* présentent des composés chimiques variables, en fonction de l'origine de provenance des plantes, du matériel végétal utilisé (feuilles ou fleurs), (Da-Silva *et al.*, 2003). Plusieurs études suggèrent que linalool est le principal agent actif responsable de l'activité antibactérienne (Ravid *et al.*, 1997). D'autres études suggèrent que cette plante est adaptée pour lutter contre certaines bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp.*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et *Salmonella sp.*) responsables d'empoisonnement des produits alimentaires (Mazzanti *et al.*, 1998; Politeo *et al.*, 2007). Ceci renforce clairement nos résultats et inspire l'espoir que nos HE peuvent être utilisés comme agents conservateurs antimicrobiens d'aliments.

1.5.3 *Syzygium aromaticum*

L'HE du *Sy. aromaticum* était efficace contre *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre d'inhibition de 22,64mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMB de 0,5µl/ml.

Fu *et al.* (2007) ont signalé dans leur travail des valeurs différentes: un diamètre d'inhibition de 16,3mm pour *E. coli* ATCC 8739, des CMI et CMB de 0,125% (v/v). Cependant, les CMI et CMB de l'HE du clou de girofle trouvées dans notre étude étaient similaires à celles rapportées par Hili *et al.* (1997) et Del Campo *et al.* (2000).

Hussein *et al.* (2014) ont rapporté un diamètre d'inhibition de 16,3mm et une CMI de 7,81µl/ml. L'effet de la température sur l'activité antibactérienne des extraits du clou de girofle contre *E. coli* a été étudié par Abed Karkosh (2012). L'activité antibactérienne de l'HE était presque la même à toutes les températures appliquées (4°C, 25°C, 37°C, 50°C, 75°C et 100°C). Les diamètres d'inhibition respectifs étaient de 9 ; 11 ; 11,3 ; 9,2 ; 8,8 et 8mm. Ce résultat a été convenu avec celui de Mahfuzul Hoque *et al.* (2008). Ceci suggère que les

composantes actives de l'HE n'ont pas été détruites par les températures élevées, même avec le traitement de 100°C durant 30 minutes (Abed Karkosh sus-cité).

1.5.4 *Thymus vulgaris*

L'HE de *T. vulgaris* était efficace contre *E. coli* ATCC 25922 avec un diamètre d'inhibition de 28,81mm pour une concentration de 100% en huile essentielle, une CMI de 0,125µl/ml et une CMB de 0,25µl/ml.

Millezi *et al.* (2012) ont travaillé sur la même souche d'*E. coli* ATCC 25922 à différentes concentrations allant de 0,5 à 50% pour chémotype à 1,8-cinéol. Seule la concentration de 50% a engendré une inhibition de 6,5mm sans tenir compte du diamètre des disques, tandis que les autres concentrations étaient inefficaces et la CMI était de l'ordre de 500µl/ml. En comparaison à nos résultats obtenus, il apparaît que le chémotype à thymol est plus efficace contre *E. coli* que le chémotype à 1,8-cinéol.

Selon Fournomiti *et al.* (2015), l'HE de thym présentait une forte activité antimicrobienne contre *E. coli*, leurs résultats montrent que l'HE extraite des plantes de thym irriguées avait une CMI moyenne de 24,81µg/ml contre *E. coli* comparable à celles de certaines antibiotiques testés d'après la même étude, ces résultats ont été parmi les plus faibles par rapport à d'autres rapports publiés également en utilisant la microdilution comme méthode de choix pour l'évaluation de l'activité antibactérienne selon les mêmes auteurs. Burt et Reinders (2003), ont eu une valeur CMI de 0,625µl/ml et de CMB de 1,250µl/ml pour *E. coli*. Al-Bayati (2008) a rapporté des valeurs de 62,5µg/ml contre *E. coli*. Pei *et al.* (2009) ont trouvé une CMI de 400µg/l proche de celle retrouvé par Ivanovic *et al.* (2012) qui était de l'ordre de 640µg/ml. Castilho *et al.* (2012) ont également signalé une action antibactérienne accrue de l'HE de thym avec des valeurs de CMI entre 0,28 et 3,35µg/ml contre *E. coli*.

Selon l'étude réalisée par Fournomiti *et al.* (2015), il y avait une différence entre l'HE de thym irrigué et celui non irrigué avec des CMI respectives de 24,81 et 28,56µg/ml.

Santurio *et al.* (2014) ont testé l'HE du thym et le thymol seul sur *E. coli*, l'HE du thym a donné une CMI de 990,2µg/ml et une CMB de 627,7µg/ml, le thymol a présenté une CMI de 2540µg/ml et une CMB de 2786µg/ml. Selon ces résultats, les composés de l'HE du thym agiraient probablement en synergie et l'HE entière serait plus efficace que les composés isolés.

Cette activité antibactérienne de l'HE du *T. vulgaris* a été attribuée à la forte concentration en thymol (Ivanovic *et al.*, 2012). D'autres études ont également signalé une activité antimicrobienne de l'HE du thym contre *E. coli* à 5%. Un rôle important de l'activité bactériostatique et bactéricide des HE de thym et d'origan contre *E. coli* O157: H7 isolé à

partir des fèces de bovins a également été observé (Santurio *et al.*, 2014). Cette forte activité est souvent liée à la forte teneur en composés phénoliques comme le thymol ou le carvacrol selon le chémotype (Santurio *et al.*, 2014).

1.5.5 *Origanum vulgare*

L'HE d'*Or. vulgare* était efficace contre *E. coli* ATCC 25922 avec une zone d'inhibition de 22,42mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMB de 0,5µl/ml.

Fournomiti *et al.* (2015) ont évalué l'activité antibactérienne de deux variétés d'HE d'*Or. vulgare*, une irriguée et une non irriguée, sur 27 souches d'*E. coli*. La CMI pour les deux variétés était de 8mg/ml.

Cette valeur dépasse largement 0,25mg/ml, la CMI que nous avons obtenue. Ceci peut être dû à la différence au niveau de la composition totale des deux huiles essentielles et à la nature de la souche d'*E. coli* utilisée.

Da Costa *et al.* (2009) ont testé l'HE d'*Or. vulgare* d'origine brésilienne sur quatre souches multirésistantes d'*E. coli* isolées chez des patients ayant une infection nosocomiale. Les CMI étaient inférieures à 1,25mg/ml et la CMB était de 5mg/ml, ces valeurs dépassent encore une fois celles trouvées dans notre travail. Busatta *et al.* (2007) ont testé l'HE d'*Or. vulgare* à terpinène-4-ol (21,43%) sur une souche ATCC 25922, la zone d'inhibition était de 17,3mm, la CMI était de 0,460mg/ml.

Si *et al.* (2008) ont étudié l'effet antibactérien de l'HE d'origan contre *E. coli* producteur de β-lactamase, la CMI était de 0,5µl/ml. Amrouni *et al.* (2014) ont trouvé un diamètre d'inhibition de 34,1mm et une CMI de 0,46mg/ml pour la même souche d'*E. coli* de notre étude ATCC 25922, pour une HE d'*Or. vulgare* à 33,85% de carvacrol et à 23,64% de thymol. Les CMI obtenues par Busatta *et al.* (2007), Si *et al.* (2008) et Amrouni *et al.* (2014) sont proches de 0,5µl/ml si on tient compte de la densité de l'HE d'*Or. vulgare* et qui sont le double de ce que nous avons trouvé (0,25µl/ml), ceci est dû à la différence de la composition totale entre les huiles essentielles de ces auteurs et la nôtre.

1.5.6 *Rosmarinus officinalis*

L'HE de *R. officinalis* est moins efficace contre *E. coli* ATCC 25922 par rapport aux autres HE étudiées et la céfuroxime, avec un diamètre d'inhibition de 13,26mm, une CMI de 0,75µl/ml et une CMB de 2µl/ml.

Sienkiewicz *et al.* (2013) ont étudié l'activité de l'HE de *R. officinalis* à 46,40% de 1,8-cinéol sur différentes souches d'*E. coli* productrices ou non de bêta-lactamases à spectre élargi.

Les souches d'*E. coli* BLSE (+) ont été isolées soit de la cavité abdominale, des bronches, de plaies, du sang, des urines et des cathéters, tandis que celle d'*E. coli* BLSE (-) ont été isolées à

partir de cathéters. Les deux types de souches d'*E. coli*; BLSE (+) et BLSE (-), ont été sensibles à l'huile de romarin, à des CMI de 18,0µl/ml à 19,25µl/ml pour les BLSE (+) et à des de CMI similaires de 18,25 à 19,75 µl/ml pour les BLSE (-) (Sienkiewicz *et al.*, 2013).

Bien que l'HE étudiée par Sienkiewicz *et al.* (2013) soit un chémotype à 1,8-cinéol (46,40%) proche de la nôtre (41,04%), leurs CMI sont largement supérieurs aux nôtres (0,75µl/ml), ce qui confirme que l'activité antibactérienne des HE n'est pas due toujours à l'activité du composé majoritaire, mais à la synergie entre tous les constituants.

Mouchid *et al.* (2005) ont trouvé des CMI de 65µl/ml pour la souche CIP 54127 et une CMI de 70µl/ml pour des souches cliniques isolées des urines. Rashid (2010) a testé l'HE à camphre (20,54%) à différentes concentrations 8, 16, 32, 64, 128, 256 et 512µl/ml, les diamètres d'inhibition étaient respectivement de 0, 0, 17, 19, 22, 25 et 26mm. La CMI était de 32µg/ml.

Les CMI obtenues par les autres auteurs sont largement supérieures à ce que nous avons trouvé, ceci est dû à la nature de la souche bactérienne et à la composition totale des huiles étudiées sachant que notre échantillon est un chémotype à 1,8-cinéol (41,04%).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.1 Aromatogramme

a-Effet des HE et de la ciprofloxacine

Les HE étudiées ont montré une grande efficacité contre *P. aeruginosa*. Les zones d'inhibition sont bien visibles (figure 12). L'HE de *T. vulgaris* s'est montrée plus efficace que les autres huiles avec une zone d'inhibition proche de celle provoquée par la ciprofloxacine (29,98mm pour le *T. vulgaris* contre 30,67mm pour la ciprofloxacine).

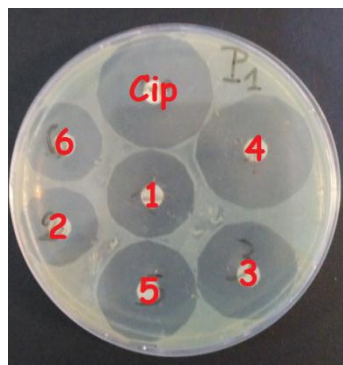


Figure 12: Zones d'inhibition produites chez *P. aeruginosa* sous l'effet des HE étudiées et de la ciprofloxacine à des concentrations 100% (v/v)

(1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; Cip= Ciprofloxacine)

Les HE ont montré une forte activité antibactérienne et ce en fonction de la concentration. On a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci. En effet, la classification des HE en

fonction de l'activité antibactérienne et des concentrations n'a pas été toujours la même pour toutes les gammes de concentrations. L'effet de l'HE d'*Or. vulgare* (16,37mm) à 25% était inférieur à celui d'*A. vulgaris* (18,52mm), par contre à 100%, c'est l'HE d'*Or. vulgare* qui était plus efficace avec 25,34mm contre 22,03mm pour *A. vulgaris*. L'HE de *R. officinalis* était la moins efficace contre *P. aeruginosa* à toutes les concentrations (tableau 20a).

La classification des HE et de l'antibiotique étudié à des concentrations de 100% (v/v) en fonction du diamètre d'inhibition était la suivante: Ciprofloxacine > *T. vulgaris* > *Sy. aromaticum* > *Or. vulgare* > *A. vulgaris* > *R. officinalis* > *O. basilicum*.

Le diamètre d'inhibition était en général strictement proportionnel à la concentration des produits (tableau 20a).

Tableau 20a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	18,52 ± 0,12	18,34 ± 0,54	19,95 ± 0,57	22,03 ± 0,67
<i>O. basilicum</i>	12,67 ± 0,65	14,12 ± 0,75	17,51 ± 0,16	19,39 ± 0,71
<i>Sy. aromaticum</i>	17,38 ± 0,13	18,08 ± 0,13	19,37 ± 0,13	26,08 ± 0,26
<i>T. vulgaris</i>	17,64 ± 0,16	19,13 ± 0,19	27,14 ± 0,74	29,98 ± 0,37
<i>Or. vulgare</i>	16,37 ± 0,13	18,12 ± 0,12	19,82 ± 0,45	25,34 ± 0,31
<i>R. officinalis</i>	10,32 ± 0,37	11,54 ± 0,61	16,91 ± 1,01	19,08 ± 0,35
Cipro	17,33 ± 0,66	18,84 ± 0,39	23,03 ± 0,49	30,67 ± 0,33

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des HE et de la ciprofloxacine à différentes concentrations contre *P. aeruginosa* a montré qu'il y a une différence significative dans 76% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et de la ciprofloxacine et ce à différentes concentrations (tableau 20b).

Tableau 20b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i>		25% S	25% S	25% S	25% NS	25% S	25% NS
		50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
		75% S	75% S	75% S	75% S	75% S	75% S
		100% S	100% S	100% S	100% S	100% S	100% S
<i>O. basilicum</i>			25% NS	25% NS	25% S	25% NS	25% NS
			50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
			75% S	75% S	75% S	75% S	75% S
			100% S	100% NS	100% NS	100% S	100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S	25% S	25% S	25% NS
				50% S	50% S	50% S	50% S
				75% NS	75% S	75% S	75% S
				100% S	100% S	100% NS	100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S	25% S	25% NS
					50% NS	50% S	50% S
					75% NS	75% S	75% S
					100% NS	100% S	100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS	25% NS
						50% S	50% NS
						75% S	75% S
						100% S	100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS
							50% S
							75% S
							100% S

b- Effet des associations HE/HE sur *P. aeruginosa*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations des HE les plus efficaces étaient entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,25mm, *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,08mm. Les effets de ces deux associations sont supérieurs significativement à ceux de chacun des deux produits utilisés seuls. L'association *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* à 10% (v/v) était également efficace avec un diamètre d'inhibition de 29,34mm supérieur à celui du *Sy. aromaticum* seul (différence statistiquement significative). L'association la plus faible était entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 10% (v/v) (10,31mm) (Figure 13 et tableau 21a).



Figure 13: Zones d'inhibition produites chez *P. aeruginosa* par association des HE étudiées

(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 10% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 90% (v/v))

Tableau 21a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	10,31 ± 0,32	13,18 ± 0,16	15,33 ± 0,31	15,77 ± 0,34	16,98 ± 0,94	19,82 ± 0,39	21,05 ± 0,91	23,71 ± 0,53	29,25 ± 0,98
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	29,34 ± 0,65	28,73 ± 0,37	25,62 ± 0,16	22,81 ± 0,75	19,05 ± 0,36	16,37 ± 0,38	16,92 ± 1,02	19,01 ± 0,52	15,42 ± 0,11
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	19,70 ± 1,13	22,45 ± 0,13	23,22 ± 0,32	24,32 ± 0,37	23,81 ± 0,17	26,46 ± 1,03	27,87 ± 0,52	28,13 ± 1,13	30,08 ± 0,50

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des associations entre les HE à différentes concentrations et les HE seules et la ciprofloxacine à 100% contre *P. aeruginosa* a montré qu'il y a une différence significative dans 73% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou ciprofloxacine et ce à différentes concentrations (tableau 21b).

Tableau 21b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Les associations des HE à la ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

Les associations des HE à la ciprofloxacine ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces contre *P. aeruginosa* étaient *A. vulgaris* + Cipro à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,32mm supérieur significativement à ceux des deux produits

utilisés seuls, *O. basilicum* + Cipro à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 22,35mm et *Sy. aromaticum* + Cipro à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 28,42mm. Les effets de ces deux dernières associations sont supérieurs à ceux de l'HE seul (différence non significative statistiquement). *Or. vulgare* + Cipro à 80% (v/v) a induit un diamètre d'inhibition de 29,66mm supérieur à celui d'*Or. vulgare* seul (différence non significative statistiquement). L'association la plus faible était entre *O. basilicum* et Ciprofloxacine à 10% (10,84mm) (Figure 14 et tableau 22a).

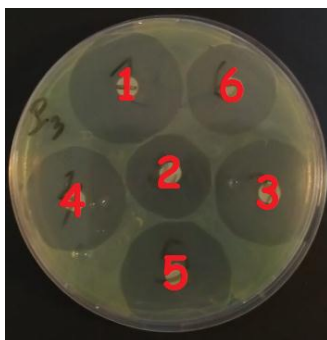


Figure 14: Zones d'inhibition produites chez *P. aeruginosa* sous l'effet des associations entre HE et ciprofloxacine

(1= *A. vulgaris* + Cipro à 90% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + Cipro à 80% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + Cipro à 80% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + Cipro à 70% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + Cipro à 80% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + Cipro à 60% (v/v))

Tableau 22a: Effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + Cipro	19,81 ± 0,12	18,34 ± 0,57	20,05 ± 0,65	16,51 ± 0,34	22,74 ± 0,63	23,12 ± 1,19	27,92 ± 0,91	28,94 ± 1,03	31,32 ± 0,37
<i>O. b.</i> + Cipro	10,84 ± 0,95	15,73 ± 0,56	12,61 ± 0,95	16,08 ± 0,59	17,33 ± 0,65	18,92 ± 0,75	19,04 ± 0,45	22,35 ± 0,45	21,07 ± 1,37
<i>Sy. ar.</i> + Cipro	16,39 ± 0,67	19,02 ± 0,32	21,22 ± 0,84	22,37 ± 0,67	23,15 ± 0,98	24,72 ± 0,38	26,08 ± 1,30	28,42 ± 0,52	27,96 ± 1,13
<i>T. v.</i> + Cipro	19,16 ± 0,75	22,41 ± 1,17	23,08 ± 0,84	25,99 ± 0,35	26,18 ± 0,78	27,13 ± 1,34	28,08 ± 0,43	26,53 ± 0,19	22,84 ± 0,76
<i>Or. vu.</i> + Cipro	16,22 ± 0,32	18,84 ± 0,64	13,07 ± 0,95	19,63 ± 0,52	22,76 ± 0,67	26,02 ± 0,93	28,75 ± 0,84	29,66 ± 0,19	29,03 ± 0,17
<i>R. o.</i> + Cipro	18,21 ± 0,71	22,30 ± 0,53	22,42 ± 0,54	21,19 ± 0,03	24,49 ± 0,31	24,67 ± 0,19	23,34 ± 0,73	22,72 ± 0,74	19,07 ± 0,68

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des associations entre les HE et la ciprofloxacine à différentes concentrations et les HE seules et ciprofloxacine à 100% contre *P. aeruginosa* a montré qu'il y a une différence significative dans 75% des cas entre l'effet des associations HE/Cipro et HE seule ou ciprofloxacine et ce à différentes concentrations (tableau 22b).

Tableau 22b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur *P. aeruginosa*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

2.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB)

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) a montré que *P. aeruginosa* était très sensible aux HE étudiées ainsi qu'à la ciprofloxacine (figure 12). Les rapports CMB/CMI, pour tous les produits, ont été inférieurs ou égaux à 4 ce qui a permis de les qualifier comme bactéricides (tableau 23).

Tableau 23: CMI et CMB des HE et de la ciprofloxacine efficaces contre *P. aeruginosa*

Produit	CMI*	CMB*
<i>A. vulgaris</i>	0,75	1
<i>O. basilicum</i>	1	2
<i>Sy. aromaticum</i>	0,75	1
<i>T. vulgaris</i>	0,125	0,5
<i>Or. vulgare</i>	0,75	1
<i>R. officinalis</i>	1	2
Cipro	0,5	1

*Les CMI et CMB des HE sont exprimées en µl/ml et celles de la ciprofloxacine en µg/ml

2.3 Indices de concentrations fractionnaires inhibitrices (ICFI) et bactéricides (ICFB)

L'étude des ICFI et ICFB a permis de déceler des interactions de type synergique potentialisatrices, additives ou indifférentes. La seule interaction de type synergique était entre *T. vulgaris* et ciprofloxacine pour l'effet inhibiteur. Cependant, aucune association ne s'est montrée antagoniste. Les ICFI et ICFB les plus faibles ont été obtenus pour l'association entre *T. vulgaris* et ciprofloxacine avec un ICFI de 0,432 et un ICFB de 0,756. Les valeurs représentées dans le tableau 24 correspondent aux valeurs minimales.

Tableau 24: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et ciprofloxacine contre *P. aeruginosa*

Association	ICFI	Interprétation	ICFB	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	0,678	Effet additif	1,223	Indifférent
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	1,021	Indifférent	1,546	Indifférent
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	1,364	Indifférent	1,354	Indifférent
<i>A. vulgaris</i> + Cipro	0,983	Effet additif	1,651	Indifférent
<i>O. basilicum</i> + Cipro	1,112	Indifférent	1,984	Indifférent
<i>Sy. aromaticum</i> + Cipro	0,639	Effet additif	0,956	Effet additif
<i>T. vulgaris</i> + Cipro	0,432	Synergie potentialisatrice	0,756	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + Cipro	0,502	Effet additif	0,927	Effet additif
<i>R. officinalis</i> + Cipro	0,623	Effet additif	0,988	Effet additif

2.4 Cinétique des ICFI et ICFB

L'analyse des valeurs des ICFI et ICFB a montré qu'elles suivent une cinétique non linéaire en fonction des rapports HE/HE et HE/Cipro (Figures 15 et 16). La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFB n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. Les ICFI et les ICFB les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *T. vulgaris* + Ciprofloxacine à 70% (v/v) (0,432 et 0,756). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *R. officinalis* + Ciprofloxacine, pour l'effet inhibiteur, à 10% a montré un effet antagoniste, à 40% un effet indifférent et à 60% un effet additif. Pour l'effet bactéricide, l'association *R. officinalis* + Ciprofloxacine à 10% a montré un effet antagoniste, à 40% un effet indifférent et à 60% un effet additif.

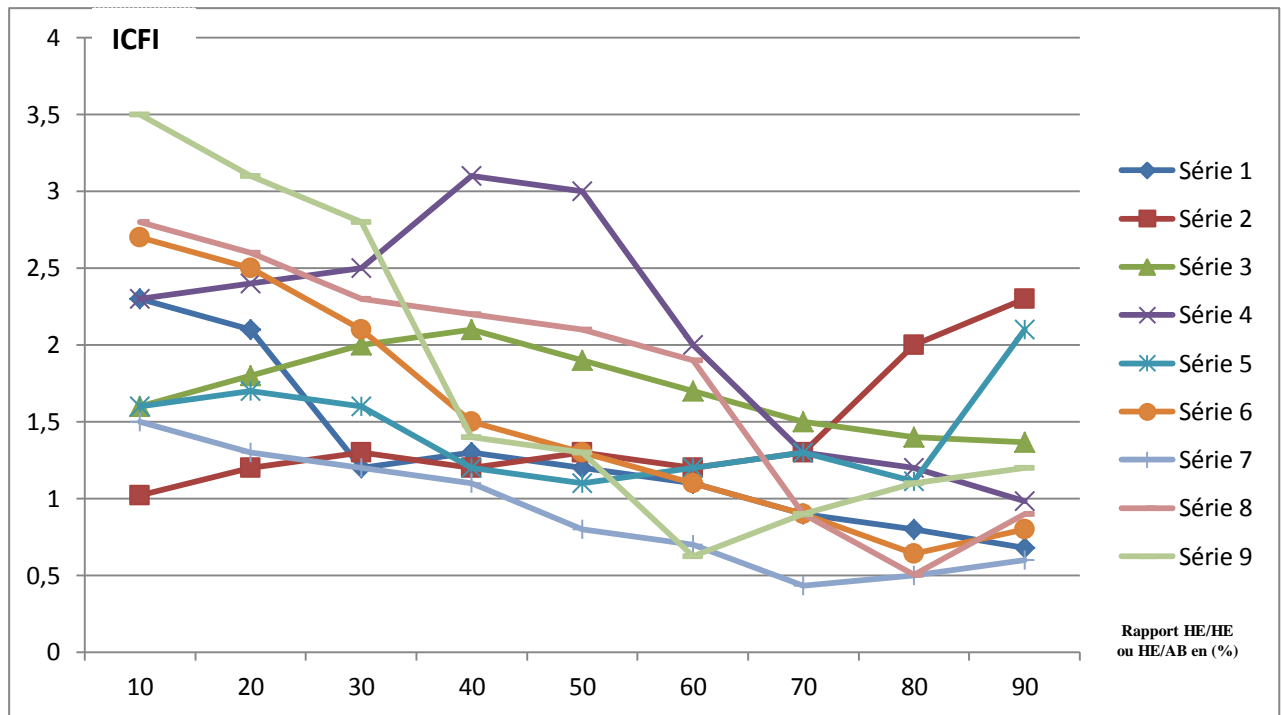


Figure 15: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de *P. aeruginosa*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/ Ciprofloxacine ; Série 5= *O. basilicum*/Ciprofloxacine ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Ciprofloxacine ; Série 7= *T. vulgaris*/Ciprofloxacine ; Série 8= *Or. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 9= *R. officinalis*/Ciprofloxacine ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

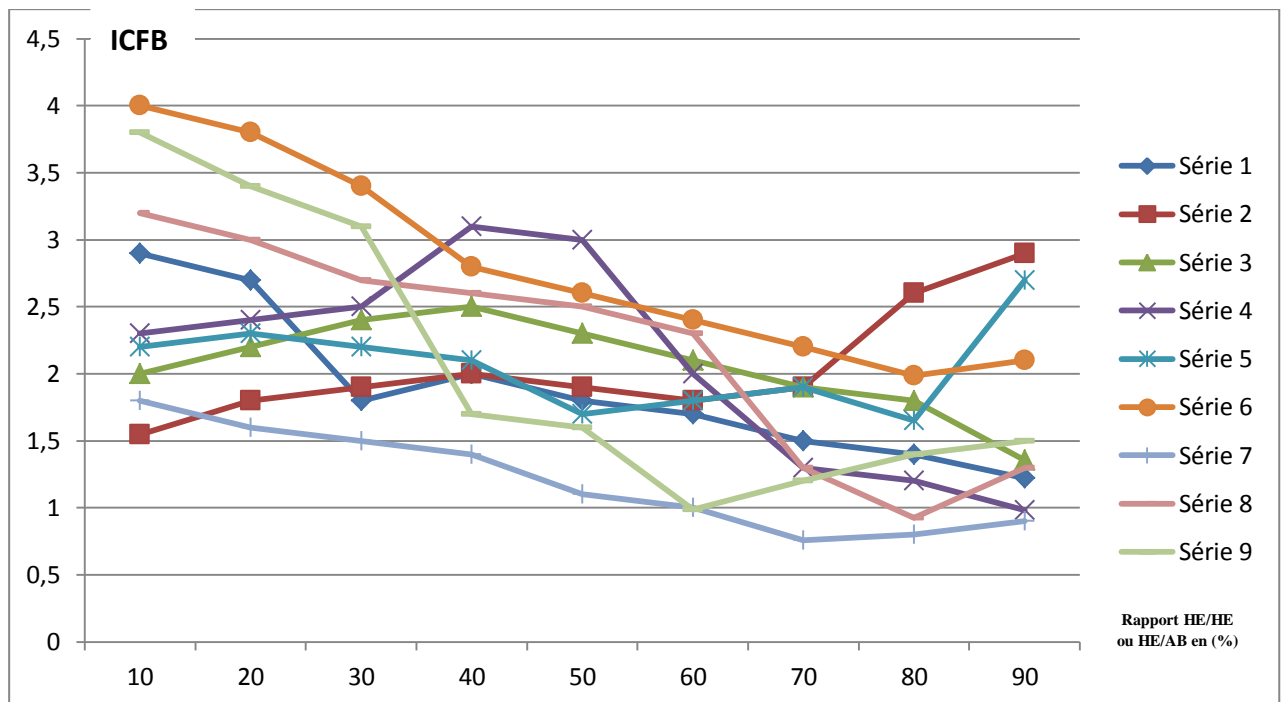


Figure 16: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de *P. aeruginosa*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/ Ciprofloxacine ; Série 5= *O. basilicum*/Ciprofloxacine ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Ciprofloxacine ; Série 7= *T. vulgaris*/Ciprofloxacine ; Série 8= *Or. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 9= *R. officinalis*/Ciprofloxacine ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

2.5 Discussion

2.5.1 *Artemisia vulgaris*

Il ressort de nos résultats que L'HE d'*A. vulgaris* s'est montrée efficace contre *P. aeruginosa* ATCC 27853. Avec une zone d'inhibition de 22,03mm, nos résultats dépassent ceux d'Erel *et al.* (2012) qui ont rapporté des diamètres d'inhibition variant de 13,5 à 31mm. Cependant ils sont dépassés par ceux de Blagojević *et al.* (2006) qui signalent une zone d'inhibition de 31mm pour une dilution de 1/10 en HE d'*A. vulgaris* et de 27,5mm pour une dilution 1/30 pour la souche ATCC 9027 de *P. aeruginosa*. Pour l'espèce *A. absinthium*, la même équipe rapporte une zone d'inhibition de 28mm pour une dilution de 1/10 et 17mm pour une dilution de 1/30.

L'évaluation de certains constituants majoritaires de l'HE seuls a démontré, selon Blagojević *et al.* (2006) que la zone d'inhibition est de 18mm pour le camphre, 24mm pour l' α -thuyone, 14mm pour la β -caryophyllène, 23mm pour la β -thuyone et de 17mm en présence du 1,8-cinéol (Blagojević *et al.*, 2006). Ainsi que les constituants actifs de l'HE agissent en synergie, et leur action est souvent inférieure à l'ensemble de l'huile essentielle.

2.5.2 *Ocimum basilicum*

A l'encontre de *P. aeruginosa* ATCC 27853, l'HE d'*O. basilicum* a montré une activité intermédiaire par rapport aux autres HE testées et à la ciprofloxacine. En effet le diamètre d'inhibition était de 19,39mm contre 30,67mm pour la ciprofloxacine et les CMI et CMB étaient respectivement de 1 μ l/ml et 2 μ l/ml et de 0,5 μ g/ml et 1 μ g/ml.

Silva *et al.* (2015) ont testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*O. basilicum* sur deux souches ATCC de *P. aeruginosa* (25853 et 9027) et six souches cliniques. Ils ont constaté que 50% des souches étaient résistantes à l'huile essentielle d'*O. basilicum* et celles qui étaient sensibles avaient une CMI de 1024 μ g/ml, ce qui caractérise également une activité antibactérienne modérée.

Daneshian Moghaddam *et al.* (2011) signalent des zones d'inhibition maximales que ce soit pour la collecte de juillet ou celle du mois d'août. Les CMI respectives étaient de 9 et 18 μ g/ml. Opalchenova et Obreshkova (2003) ont montré que les CMI varient en fonction de la durée d'incubation, elles étaient de 0,0030 ; 0,0030 ; 0,0121 ; 0,0243 et de 0,0487 pour des incubations de 24h, 3, 5, 7 et 14 jours pour *P. aeruginosa* ATCC 9034 et de 0,0030 ; 0,0030 ; 0,0060 ; 0,0121 et 0,0243 pour *P. aeruginosa* 652. Cette étude a démontré aussi que les CMI sont influencées par la nature du diluant.

2.5.3 *Syzygium aromaticum*

L'HE du *Sy. aromaticum* était efficace contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition de 26,08mm, une CMI de 0,75µl/ml et une CMB de 1µl/ml. Fu *et al.* (2007) ont trouvé, pour la même souche ATCC 27853, un diamètre d'inhibition de 9,5mm, une CMI et une CMB de 0,5% (v/v).

Hussein *et al.* (2014) rapportent des valeurs différentes des nôtres; ils signalent un diamètre d'inhibition de 16mm et une CMI de 1/128 (v/v). Cette différence par rapport à nos résultats est due fort probablement à la nature du germe, à l'origine de la plante et au chémotype.

Kavanaugh et Ribbeck (2012) signalent une CMI supérieure à 5% (v/v), ils ont étudié la concentration minimale d'éradication du biofilm (CMEB) qui a été supérieure à 5% (v/v). L'évaluation de l'activité anti-*P. aeruginosa* de certains composants de l'HE de *Sy. aromaticum* a montré que le cinnamaldéhyde donne une CMI de 0,1% (v/v) et une CMEB de 0,2% (v/v), la CMI de l'eugénol est supérieure à 5% (v/v) et la CMEB est de 3,3% (v/v).

2.5.4 *Thymus vulgaris*

Les tests conduits sur l'HE du *T. vulgaris* ont montrée qu'elle est très efficace contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition de 29,98mm, une CMI de 0,125µl/ml et une CMB de 0,5µl/ml.

Boukhatem *et al.* (2014) ont testé l'HE de *T. vulgaris*, chémotype à carvacrol (83,3%), sur *P. aeruginosa* provenant de deux examens cytotactériologiques des urines (ECBU) et une souche ATCC 9027, à des volumes différents de 20, 40 et 60µl. L'HE s'est montrée inefficace sur les souches de l'ECBU, tandis que sur la souche ATCC 9027, les diamètres d'inhibition pour les trois volumes étaient successivement 10, 12 et 12mm avec le diamètre de disque (9mm) inclus.

Ces résultats comparés aux nôtres montrent que l'HE du thym à thymol est plus puissante que l'HE du thym à carvacrol sur *P. aeruginosa*.

Borugă *et al.* (2014) ont testé l'HE du thym à thymol (47,49%) sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 à des quantités croissantes de 5, 10, 15 et 20µl, les diamètres d'inhibition étaient de 11,82 ; 13,34 ; 14 et 14,13mm.

Millezi *et al.* (2012) ont évalué l'activité antibactérienne de l'HE du thym à 1,8-cinéol sur la souche ATCC 27853 de *P. aeruginosa* à des concentrations croissantes de 0,5 ; 1,5 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 15 ; 25 et 50%, les zones d'inhibition des différentes concentrations étaient de 0 ; 0 ; 0 ; 6,5 ; 7 ; 7,17 ; 7,5 et 8,83mm, la CMI était de 5%.

2.5.5 *Origanum vulgare*

L'HE d'*Or. vulgare* était efficace contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition de 25,34mm, une CMI de 0,75µl/ml et une CMB de 1µl/ml.

Amrouni *et al.* (2014) ont étudié l'effet de l'HE d'*Or. vulgare* à 33,85% de carvacrol et à 23,64% de thymol sur dix souches de *P. aeruginosa*, résistantes à l'imipénème par production d'enzymes de résistance aux carbapénèmes, VIM-2 carbapénémases. Ces souches ont été isolées au service de réanimation en Algérie. Le diamètre d'inhibition était de 20,8mm. La CMI était de 1,71mg/ml.

Le diamètre d'inhibition et la CMI pour la souche ATCC 27853 selon la même étude était respectivement de 16,6mm et 1,3mg/ml, ces résultats montrent que cette huile essentielle composée majoritairement de 33,85% de carvacrol et de 23,64% de thymol est moins efficace contre la souche ATCC 27853 que notre huile essentielle composée de 62,23% de carvacrol.

Özkalp *et al.* (2010) ont testé l'HE d'*Or. vulgare* sur *P. aeruginosa* RSKK 06021, la CMI était de 64µg/ml avec la même valeur pour l'ampicilline. Schillaci *et al.* (2013) ont étudié l'activité antibactérienne de six types d'HE d'*Or. vulgare* sur une souche de référence ATCC 15442, les six types d'HE avaient une composition en monoterpènes hydrocarbonés de 15,7 ; 27,8 ; 31,3 ; 34,4 ; 33,5 ; 64,1% et une composition en monoterpènes oxygénés de 81,4 ; 69,7 ; 65,9 ; 62,4 ; 63,7 ; 31,0%. La concentration 1000µg/ml n'était pas efficace contre *P. aeruginosa*. Da Costa *et al.* (2009) ont trouvé des CMI qui variaient de 2,5 à 5µl/ml, les CMB étaient de 5µl/ml. Les souches étudiées par les auteurs sus-cités étaient des germes multirésistants ce qui a demandé de grandes CMI par rapport à ce que nous avons trouvé (CMI de 0,75µl/ml et CMB de 1µl/ml).

2.5.6 *Rosmarinus officinalis*

L'HE du romarin a été moyennement efficace contre *P. aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre d'inhibition de 19,08mm, une CMI de 1µl/ml et une CMB de 2µl/ml; valeurs relativement supérieures à celles de leurs homologues qui ont présenté un pouvoir antibactérien plus puissant à l'égard de *P. aeruginosa*.

Ez Zoubi *et al.* (2016) ont évalué l'activité antibactérienne de l'HE de romarin originaire de Taounate (nord-est du Maroc) à 6,02% de camphre et 5,25% de 1,8-cinéol, la zone d'inhibition était de 6,3mm, valeur significativement inférieure à nos résultats (19,08mm). Ceci est dû à l'origine de la souche bactérienne qui a été isolée des surfaces du service de néphrologie de l'hôpital Ibn Al Khatib de la ville de Fès ainsi que le chémotype étudié.

Selon l'étude menée par Rashid (2010), les diamètres d'inhibition pour les concentrations de 8, 16, 32, 64, 128, 256 et 512µl/ml étaient respectivement de 0, 0, 0, 18, 20, 24 et 25mm, la CMI

était de 64 μ g/ml. Ceci montre que le chémotype à camphre (20,54% de camphre) dans ce cas est plus efficace contre *P. aeruginosa* que le nôtre (chémotype à 1,8-cinéol). Cependant le chémotype à menthol (38,83%) originaire de Taza (Maroc) a été inactif contre ce même pathogène (Chahboun *et al.*, 2014).

Les HE du romarin provenant de deux régions de Tunisie, Sidi Bouzid, chémotype à 1,8-cinéol (56,2%), et Zaghouan, chémotype à verbanone (63,7%), testées sur *P. aeruginosa* ATCC 7624, ont donné respectivement une zone d'inhibition de 7,5mm et une CMI de 1/16 (62,5 μ l/ml) et 8,5mm et une CMI de 1/8 (125 μ l/ml) (Ayadi et Abderrabba, 2014).

Bien que le chémotype de Sidi Bouzid soit plus riche en 1,8-cinéol que le nôtre (41,04%), il était moins efficace que notre échantillon que ce soit en diamètre d'inhibition ou en CMI.

3. *Staphylococcus aureus*

3.1 Aromatogramme

a- Effets des HE et du ciprofloxacine sur *S. aureus*

Les HE étudiées ont montré une grande efficacité contre *S. aureus*, cela est traduit par de larges zones d'inhibition (figure 17). L'HE de *T. vulgaris* s'est montrée plus efficace que les autres huiles avec une zone d'inhibition de 30,39mm, presque semblable à celle provoquée par la ciprofloxacine (30,81mm).

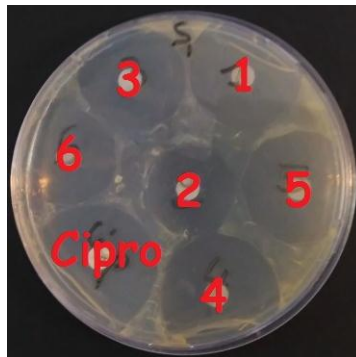


Figure 17: Zones d'inhibition produites chez *S. aureus* sous l'effet des HE étudiées et de la ciprofloxacine à des concentrations de 100% (v/v)

(1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; Cipro= Ciprofloxacine)

Les HE ont montré une forte activité antibactérienne et ce en fonction de la concentration. On a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci. En effet, la classification des HE en fonction de l'activité antibactérienne et des concentrations n'a pas été toujours la même pour toutes les gammes de concentrations. L'effet de l'HE du *Sy. aromaticum* (15,73mm) à 25% était supérieur à celui d'*Or. vulgare* (15,34mm) par contre pour des concentrations à 100% c'est l'HE d'*Or. vulgare* qui était la plus efficace avec un diamètre d'inhibition de 26,75mm contre 23,41mm pour *Sy. aromaticum* (tableau 25a).

La classification des HE et de la ciprofloxacine en fonction du diamètre d'inhibition à des concentrations de 100% (v/v) est la suivante: Ciprofloxacine > *T. vulgaris* > *A. vulgaris* > *Or. vulgare* > *Sy. aromaticum* > *R. officinalis* > *O. basilicum*.

Tableau 25a: Effets des HE et de la ciprofloxacine sur *S. aureus*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	17,43 ± 0,35	18,21 ± 0,69	23,07 ± 0,30	29,26 ± 0,69
<i>O. basilicum</i>	11,34 ± 0,37	13,39 ± 0,95	16,43 ± 0,98	21,18 ± 0,95
<i>Sy. aromaticum</i>	15,73 ± 0,13	16,08 ± 0,31	18,03 ± 0,94	23,41 ± 0,54
<i>T. vulgaris</i>	17,04 ± 0,19	19,06 ± 0,38	24,48 ± 0,47	30,39 ± 0,90
<i>Or. vulgare</i>	15,34 ± 0,38	17,04 ± 1,34	22,72 ± 0,93	26,75 ± 0,09
<i>R. officinalis</i>	13,12 ± 0,99	15,35 ± 0,33	19,03 ± 0,91	22,51 ± 0,46
Cipro	16,08 ± 0,11	18,01 ± 0,71	22,14 ± 1,05	30,81 ± 0,29

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des HE et de la ciprofloxacine à différentes concentrations contre *S. aureus* a montré qu'il y a une différence significative dans 69% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et de la ciprofloxacine (tableau 25b).

Tableau 25b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la ciprofloxacine sur *S. aureus*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i>		25% NS 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% S 75% NS 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% S 50% NS 75% S 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% NS	25% S 50% S 75% NS 100% NS	25% NS 50% NS 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% S 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% NS 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS 50% S 75% S 100% S

b- Effet des associations HE/HE sur *S. aureus*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant leurs effets à l'encontre de *S. aureus*. Elles ont induit des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations entre huiles essentielles

les plus efficaces sont entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 24,71mm, *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,06mm et *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,71mm. Notons que les effets des trois associations sur *S. aureus* sont significativement supérieurs à ceux de chacune des HE correspondante utilisée seule (figure 18 et tableau 26a). L'association à plus faible diamètre est observé entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 10% (14,03mm).



Figure 18: Zones d'inhibition produites chez *S. aureus* par association des HE étudiées
(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 80% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 70% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 80% (v/v))

Tableau 26a: Effets des associations entre HE sur *S. aureus*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm									
	Concentration (v/v)									
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	
<i>A. v. + O. b.</i>	14,03 ± 0,56	16,25 ± 0,39	18,62 ± 0,30	16,06 ± 0,32	19,54 ± 0,46	22,42 ± 0,92	21,52 ± 0,22	24,71 ± 0,49	24,33 ± 0,53	
<i>Sy. ar. + T. v.</i>	19,01 ± 0,12	18,23 ± 0,95	24,13 ± 0,34	25,27 ± 0,19	25,95 ± 0,22	26,10 ± 0,98	30,06 ± 0,74	29,92 ± 0,37	28,24 ± 1,05	
<i>Or. vu. + R. o.</i>	24,34 ± 1,37	22,43 ± 0,92	25,84 ± 0,52	26,69 ± 0,23	23,34 ± 0,26	29,02 ± 0,60	29,33 ± 0,45	30,71 ± 0,18	27,93 ± 0,24	

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition observés sur *S. aureus* sous l'effet des associations entre les HE étudiées à différentes concentrations, les HE seules et la ciprofloxacine à 100% a montré qu'il y a une différence significative dans 88% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou Cipro et ce à différentes concentrations (tableau 26b).

Tableau 26b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur *S. aureus*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% NS	20% NS	20% S	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- effet des associations des HE à la ciprofloxacine sur *S. aureus*

Les associations des HE à la ciprofloxacine ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces sont *O. basilicum* + Cipro à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 20,98mm supérieur à celui d'*O. basilicum* seul (différence statistiquement significative), *Sy. aromaticum* + Cipro à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 24,07mm supérieur à celui du *Sy. aromaticum* seul (différence statistiquement significative), *Or. vulgare*+ Cipro à 50% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 32,11mm supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls (différence statistiquement significative pour l'*Or. vulgare*) et *R. officinalis* + Cipro à 60% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 26,03mm supérieur à celui du *R. officinalis* seul (différence non significative statistiquement).

Quant aux associations *A. vulgaris* + Cipro à 60% (v/v) et *T. vulgaris* + Cipro à 80% (v/v), elles ont induit respectivement des diamètres d'inhibition de 22,06mm et 28,61mm qui sont inférieurs à ceux produits correspondants utilisés seuls (différence statistiquement significative dans le premier cas et non significative dans le deuxième cas) (figure 19 et tableau 27a).

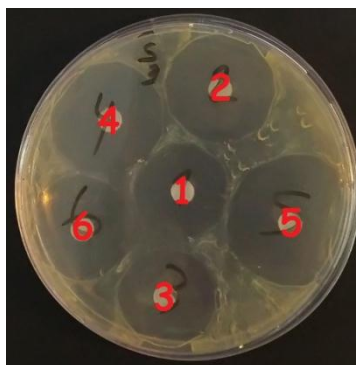


Figure 19: Zones d'inhibition produites chez *S. aureus* sous l'effet des associations entre HE et la ciprofloxacine

(1= *A. vulgaris* + Cipro à 60% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + Cipro à 80% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + Cipro à 70% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + Cipro à 80% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + Cipro à 50% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + Cipro à 60% (v/v))

Tableau 27a: Effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur *S. aureus*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + Cipro	13,55 ± 0,13	15,02 ± 0,34	15,84 ± 0,65	13,09 ± 0,71	21,74 ± 0,33	22,06 ± 0,32	16,95 ± 0,95	19,08 ± 0,89	18,92 ± 0,81
<i>O. b.</i> + Cipro	17,05 ± 0,74	18,48 ± 0,46	21,95 ± 0,15	20,98 ± 0,35	23,62 ± 0,37	22,18 ± 0,29	25,07 ± 0,16	25,34 ± 0,44	23,67 ± 0,78
<i>Sy. ar.</i> + Cipro	17,01 ± 0,46	16,24 ± 0,59	18,37 ± 0,52	19,08 ± 0,49	13,09 ± 0,58	22,63 ± 0,91	24,07 ± 0,26	23,31 ± 0,81	22,21 ± 0,18
<i>T. v.</i> + Cipro	24,12 ± 0,34	25,81 ± 0,67	24,02 ± 0,73	26,26 ± 0,51	26,20 ± 0,94	27,91 ± 0,57	27,12 ± 0,17	28,61 ± 0,84	26,08 ± 0,67
<i>Or. vu.</i> + Cipro	25,34 ± 0,59	26,37 ± 0,83	27,67 ± 0,39	29,07 ± 1,02	32,11 ± 0,98	28,02 ± 1,09	28,63 ± 0,53	27,09 ± 0,67	24,84 ± 0,67
<i>R. o.</i> + Cipro	19,69 ± 0,95	22,46 ± 0,67	23,75 ± 0,84	24,08 ± 0,17	25,43 ± 0,29	26,03 ± 1,71	24,18 ± 0,43	23,39 ± 0,23	22,05 ± 1,23

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition de *S. aureus* obtenus sous l'effet des associations entre les HE et la ciprofloxacine à différentes concentrations et les HE seules et la ciprofloxacine à 100% a montré qu'il y a une différence significative dans 85% des cas entre l'effet des associations HE/Cipro et HE seule ou ciprofloxacine et ce à différentes concentrations (tableau 27b).

Tableau 27b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et ciprofloxacine sur *S. aureus*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Cipro
<i>A. vulgaris</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% NS
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>O. basilicum</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% N	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>Sy. aromaticum</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% NS	60% NS	60% S	60% NS	60% NS	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>T. vulgaris</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% NS	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>Or. vulgare</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% NS	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>R. officinalis</i> + Cipro	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS
	60% NS	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	

3.2 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) contre *S. aureus*

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) a montré que *S. aureus* était très sensible aux HE étudiées ainsi qu'à la ciprofloxacine (figure 18). Les rapports CMB/CMI, pour tous les produits testés, ont été inférieurs ou égaux à 4 ce qui a permis de les qualifier comme bactéricides (tableau 28).

Tableau 28: CMI et CMB des HE et de la ciprofloxacine efficaces contre *S. aureus*

Produit	CMI*	CMB*
<i>A. vulgaris</i>	0,125	0,5
<i>O. basilicum</i>	0,75	1
<i>Sy. aromaticum</i>	0,5	0,75
<i>T. vulgaris</i>	0,125	0,5
<i>Or. vulgare</i>	0,5	0,5
<i>R. officinalis</i>	0,5	0,5
Cipro	0,5	1

*Les CMI et CMB des HE sont exprimées en µl/ml et celles de la ciprofloxacine en µg/ml

3.3 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et bactéricide (ICFB)

L'étude des ICFI et ICFB a permis de déceler plusieurs interactions synergiques potentialisatrices, additives ou indifférentes. L'association entre l'HE d'*A. vulgaris* et celle d'*O. basilicum* s'est montrée antagoniste pour l'effet bactéricide. L'ICFI le plus faible a été obtenu pour l'association entre *R. officinalis* et Cipro (0,441) et l'ICFB le plus faible a été obtenu pour la même association (0,692). Les valeurs représentées dans le tableau 29 sont les valeurs minimales.

Tableau 29: Valeurs minimales des ICFI et ICFB des associations entre HE et ciprofloxacine contre *S. aureus*

Association	ICFI	Interprétation	ICFB	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	1,137	Indifférent	2,569	Antagonisme
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	0,502	Effet additif	1,689	Indifférent
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	0,963	Effet additif	1,452	Indifférent
<i>A. vulgaris</i> + Cipro	0,972	Effet additif	1,389	Indifférent
<i>O. basilicum</i> + Cipro	1,214	Indifférent	1,956	Indifférent
<i>Sy. aromaticum</i> + Cipro	0,679	Effet additif	0,993	Effet additif
<i>T. vulgaris</i> + Cipro	0,493	Synergie potentialisatrice	0,987	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + Cipro	0,952	Effet additif	1,937	Indifférent
<i>R. officinalis</i> + Cipro	0,441	Synergie potentialisatrice	0,692	Effet additif

3.4 Cinétique des ICFI et ICFB

L'analyse des valeurs des ICFI et ICFB a montré qu'elles suivent une cinétique non linéaire en fonction des rapports HE/HE et HE/Cipro comme représenté dans les figures 20 et 21. La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFB n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. Les ICFI et les ICFB les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *R. officinalis* + Cipro à 60% (v/v) (0,441 et 0,692). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *Or. vulgare* + *R. officinalis*, pour l'effet inhibiteur, à 10% a montré un effet antagoniste, à 70% un effet indifférent et à 80% un effet additif. Pour l'effet bactéricide, l'association *Sy. aromaticum* + Ciprofloxacine à 10% a montré un effet antagoniste, à 50% un effet indifférent et à 70% un effet additif.

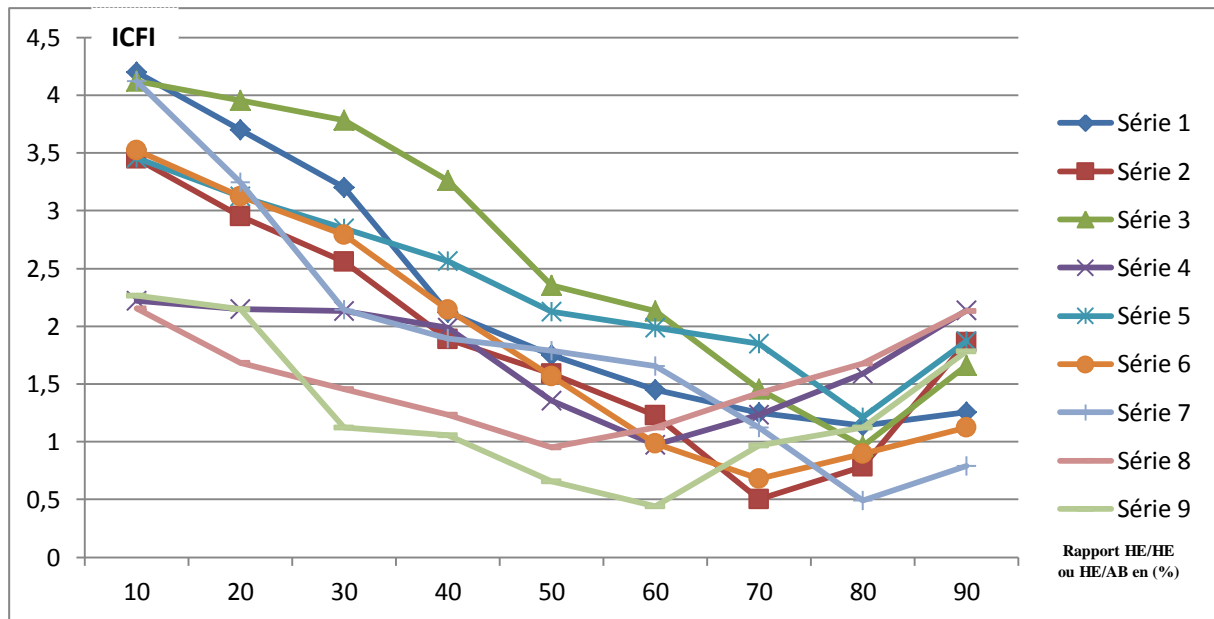


Figure 20: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de *S. aureus*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgare* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Ciprofloxacine ; Série 5= *O. basilicum*/Ciprofloxacine ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Ciprofloxacine ; Série 7= *T. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 8= *Or. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 9= *R. officinalis*/Ciprofloxacine ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

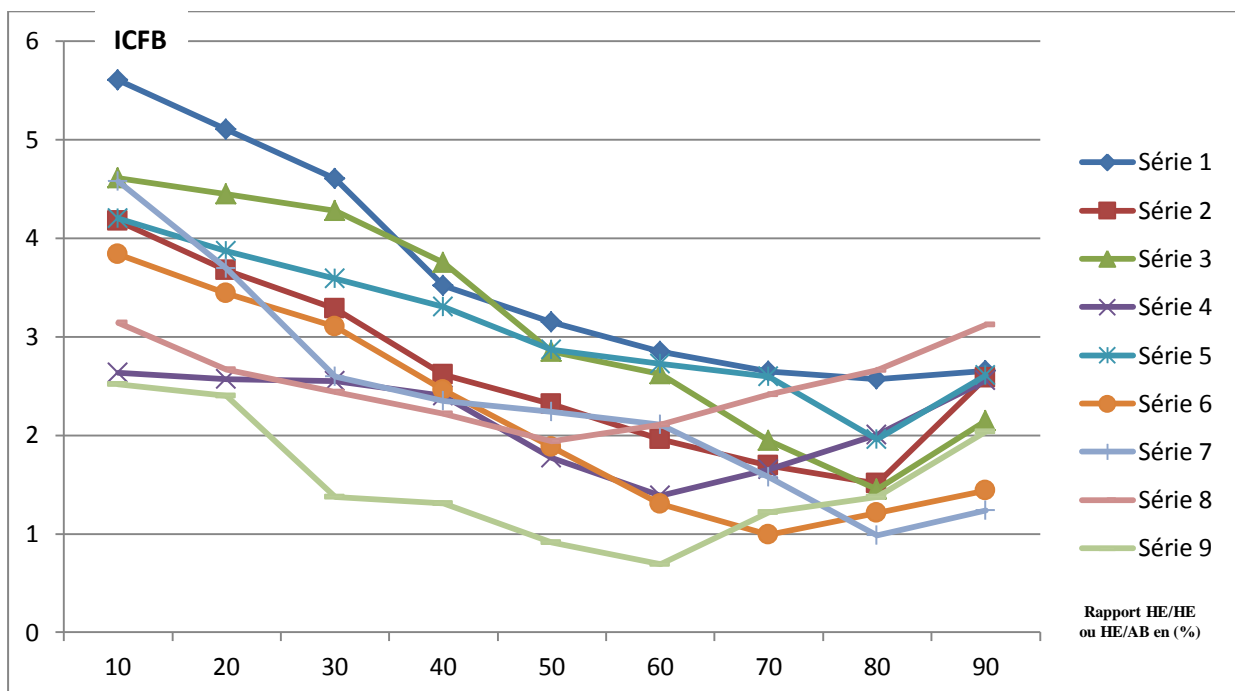


Figure 21: Cinétique de la variation de l'ICFB en fonction du rapport HE/HE ou HE/AB, cas de *S. aureus*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgare* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Ciprofloxacine ; Série 5= *O. basilicum*/Ciprofloxacine ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Ciprofloxacine ; Série 7= *T. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 8= *Or. vulgare*/Ciprofloxacine ; Série 9= *R. officinalis*/Ciprofloxacine ; HE= Huile essentielle ; AB= Antibiotique)

3.5 Discussion

3.5.1 *Artemisia vulgaris*

Nous avons montré que l'HE d'*A. vulgaris* a été très efficace contre *S. aureus* ATCC 29213 avec une inhibition de 29,26mm de diamètre. Nos résultats sont comparables à ceux de Blagojević *et al.* (2006) qui ont trouvé une zone d'inhibition de 26mm de diamètre pour une dilution de 1/10 et de 17mm de diamètre pour une dilution de 1/30 pour la souche ATCC 6538 de *S. aureus*, contre 29mm et 26mm pour l'espèce *A. absinthium*.

Selon Hiremath *et al.* (2011), les extraits alcooliques d'*A. vulgaris* étaient plus efficaces contre *S. aureus* avec 20mm contre 4mm pour l'extrait aqueux. Quant aux extraits à l'éther de pétrole et benzénique, ils n'avaient montré aucune zone d'inhibition.

3.5.2 *Ocimum basilicum*

L'HE d'*O. basilicum* a exercé une activité intermédiaire sur *S. aureus* ATCC 29213 par rapport aux HE étudiées et à la ciprofloxacine. Le diamètre d'inhibition de l'huile essentielle d'*O. basilicum* était de 21,18mm et celui de la ciprofloxacine était de 30,81mm. Les CMI des deux produits étaient respectivement 0,75µl/ml et 0,5µg/ml, les CMB étaient de 1,125µl/ml et de 1µg/ml.

Nos valeurs sont inférieures à ceux obtenus par Daneshian Moghaddam *et al.* (2011) qui ont trouvé une zone d'inhibition de 29,20mm pour l'échantillon récolté en juillet et 30,56mm celui prélevé durant le mois d'août. Les CMI pour les deux échantillons étaient de 18µg/ml.

Silva *et al.* (2015) ont également testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*O. basilicum* sur deux souches ATCC de *S. aureus* (25923 et 6538) et six souches cliniques. Ils ont observé que toutes les souches de *S. aureus* étaient sensibles à l'huile essentielle d'*O. basilicum* avec des CMI de 1024 à 512µg/ml. L'activité antibactérienne de cette HE est considérée comme modérée.

3.5.3 *Syzygium aromaticum*

L'HE de *Sy. aromaticum* a été efficace contre *S. aureus* ATCC 29213 avec un diamètre d'inhibition de 23,41mm, une CMI de 0,5µl/ml et une CMB de 0,75µl/ml.

Abed Karkosh (2012) a trouvé des zones d'inhibition variant en fonction de la température entre 18,5 et 10,22mm. Les diamètres obtenus sont de 11mm à 4°C, 15,4mm à 25°C, 18,5mm à 37°C, 12,4mm à 50°C, 14mm à 75°C et 10,22mm à 100°C. Selon la même étude, l'HE de *Sy. aromaticum* était plus efficace sur *S. aureus* que sur *E. coli* (Abed Karkosh, 2012).

La CMI selon Kavanaugh et Ribbeck (2012) était de 1,3% (v/v), la CMB était de 1,8% (v/v). Fu *et al.* (2007) ont trouvé un diamètre d'inhibition de 16,3mm, les CMI et CMB étaient de

0,125 et 0,250% (v/v). Hussein *et al.* (2014) ont trouvé un diamètre d'inhibition de 20mm et une CMI de 1/64.

3.5.4 *Thymus vulgaris*

Comme pour *E. coli* et *P. aeruginosa*, l'HE du *T. vulgaris* s'est montrée également très efficace contre *S. aureus* ATCC 29213 avec un diamètre d'inhibition de 30,39mm, une CMI de 0,125µl/ml et une CMB de 0,5µl/ml.

Boukhatem *et al.* (2014) ont testé l'HE de thym à carvacrol sur cinq souches de *S. aureus*: ATCC 6538, deux provenant de l'ECBU (sa1 et sa2), une provenant de pus (sa3) et une provenant d'une hémoculture (sa4) à des volumes croissants en huile essentielle. Les souches bactériennes répondaient différemment aux différentes concentrations. En effet, pour un volume de 20µl en huile essentielle de *T. vulgaris*, la souche ATCC 6538 était la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 60mm, alors que pour des concentrations de 40 et 60µl, la souche clinique sa2 était la plus sensible avec des diamètres d'inhibition respectifs de 68 et 70mm. Toutes les souches répondaient d'une façon linéaire aux concentrations en huile essentielle sauf la souche clinique sa3 qui a donné les diamètres d'inhibition de 26, 27 et 24mm pour les concentrations respectives de 20, 40 et 60µl.

Cheurfa *et al.* (2013) ont testé l'HE à carvacrol (34,62%) et à thymol (27,43%), récoltée au mois de mars 2010, provenant d'Algérie sur *S. aureus*. Les diamètres d'inhibition étaient de 45,00mm. Selon les mêmes auteurs, une concentration de 0,33µl/ml en HE de *T. vulgaris* était suffisante pour inhiber la croissance de *S. aureus*.

Borugă *et al.* (2014) ont testé l'HE du thym à thymol (47,59%) sur une souche ATCC 25923 de *S. aureus* à des volumes croissants de 5, 10, 15 et 20µl, les diamètres d'inhibition étaient de 23,93 ; 29,2 ; 29,9 et 31,4mm. La souche ATCC 29213 de notre étude et la souche ATCC 25923 utilisée par Borugă *et al.* (2014) répondent de la même manière à l'huile essentielle de thym à thymol.

Millezi *et al.* (2012) ont évalué l'activité antibactérienne de l'HE du thym à 1,8-cinéol sur *S. aureus* ATCC 25923 à des concentrations croissantes de 0,5 ; 1,5 ; 2,5 ; 5 ; 10 ; 15 ; 25 et 50%, les zones d'inhibition des différentes concentrations étaient de 2,00 ; 2,00 ; 2,00 ; 2,00 ; 3,00 ; 3,33 ; 4,00 et 5,00mm avec une CMI de 0,5%.

L'HE essentielle du *T. vulgaris* à thymol était plus efficace contre la souche ATCC 25923 de *S. aureus* que le chémotype à 1,8-cinéol selon les deux études menées par Millezi *et al.* (2012) et Borugă *et al.* (2014).

3.5.5 *Origanum vulgare*

L'HE d'*Or. vulgare* était efficace contre *S. aureus* ATCC 29213 avec un diamètre d'inhibition de 26,75mm, une CMI et une CMB de 0,5µl/ml.

Busatta *et al.* (2007) ont trouvé une zone d'inhibition de 26,8mm pour la souche ATCC6538 qui est significativement semblable à ce que nous avons trouvé et une CMI de 0,23mg/ml qui est relativement proche de la moitié de notre valeur de CMI (0,5mg/ml).

Özkalp *et al.* (2010) ont rapporté une CMI de 64µg/ml pour une souche (SARM). Schillaci *et al.* (2013) ont étudié l'activité antibactérienne des HE d'*Or. vulgare* provenant de six populations qui les ont classées de A à F (61,9%, 49,0%, 49,2%, 52,9%, 57,1% et 24,5% de thymol respectivement). Les CMI pour les six HE étudiées étaient supérieures à 1µl/ml pour *S. aureus* ATCC 6538, entre 0,8 et plus de 1µl/ml pour *S. aureus* ATCC 29213; valeurs relativement supérieures à la nôtre (0,5µl/ml), ceci est dû au chémotype de notre HE qui est un chémotype à carvacrol (62,23%) et que la teneur en thymol (3,26%) est faible par rapport à celles des échantillons étudiés par les auteurs sus-cités. Quant aux *S. aureus* 353 (à partir de lait de brebis) et *S. aureus* 708 (à partir de fromage frais), l'activité antistaphylococcique n'était pas strictement liée à la teneur en thymol. L'huile essentielle F qui contenait de fortes proportions en monoterpènes hydrocarbonés (64,1%) était la moins efficace contre les différentes souches de *S. aureus* (Schillaci *et al.*, 2013).

3.5.6 *Rosmarinus officinalis*

L'HE du romarin a été moyennement efficace contre *S. aureus* ATCC 29213 avec un diamètre d'inhibition de 22,51mm, une CMI et une CMB de 0,5µl/ml.

Ez Zoubi *et al.* (2016) ont trouvé un diamètre d'inhibition de 11±3mm pour une charge de disque en HE de 10µl. Issabeagloo *et al.* (2012) ont trouvé des zones d'inhibition de 8,76 ; 9,10 et 10,12mm pour des concentrations de 10 ; 20 et 30%.

D'autres études ont montré que ces mêmes concentrations testées sur différentes espèces du genre *Staphylococcus*, ont donné des zones d'inhibition strictement proportionnelles à celles-ci pour la plupart des espèces, sauf pour *S. equorum* et *S. epidermidis*. *S. hyicus* était la souche la plus sensible à l'HE de *R. officinalis* avec un diamètre d'inhibition de 10,40mm pour une concentration de 30% (Issabeagloo *et al.*, 2012).

Les zones d'inhibition induites par les concentrations de 10 ; 20 et 30% en HE contre *S. aureus* subsp. *anaerobious* étaient respectivement de 9,30 ; 9,76 et 10,03mm (Issabeagloo *et al.*, 2012).

Balouiri (2011) a testé l'HE du romarin cultivé dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques de Taounate (Maroc) sur deux souches de *S. aureus* ATCC 25922

et CIP 543154 dont les diamètres d'inhibition étaient respectivement de 17 et 20mm. Cette HE est composée majoritairement de camphène (7,27%), de 1,8-cinéol (6,75%) et de camphre (6,08%). Rappelons que les proportions en camphre et en 1,8-cinéol, connus pour leur fort pouvoir antibactérien, de notre HE dépassent largement celles de l'HE étudiée par Balouiri (2011).

L'extrait éthanolique de romarin a été analysé *in vitro* par Jarrar *et al.* (2010) selon la méthode de diffusion contre les isolats cliniques de 5 SARM et *S. aureus* ATCC 25923. Les zones d'inhibition ont varié de 16mm à plus de 28mm contre tous les isolats. L'activité antibactérienne significative des extraits végétaux actifs était comparable à celle des agents antimicrobiens classiques, la céfuroxime (30µg/disque) (Jarrar *et al.*, 2010).

Les CMI des extraits et des antibiotiques variaient entre 0,000125mg/ml et 3,13mg/ml. Plus précisément, les CMI ont variaient de 0,39 à 3,13mg/ml pour le romarin sur l'ensemble des isolats testés. Les antibiotiques standard, les fourchettes étaient de 0,000125 à 0,008mg/ml pour la céfuroxime. La CMB de l'extrait de romarin et de la céfuroxime était habituellement égale ou double de la CMI, sauf dans le cas de la céfuroxime contre le SARM-5 où la CMB était quatre fois plus que la CMI (Jarrar *et al.*, 2010).

En comparant ces résultats aux nôtres, on déduit que l'extrait éthanolique, riche en polyphénols et en flavonoïdes, est aussi efficace que l'HE du romarin et que les HE ne sont qu'une partie active de la composition totale de la plante.

4. Discussion sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Les huiles essentielles étudiées ont montré une grande activité antibactérienne, cette activité est due à la synergie d'action entre les différents constituants, comme le cas pour le carvacrol et le thymol du thym contre *S. aureus* et *P. aeruginosa* (Lambert, 2001), ou le carvacrol et le p-cymène. Ce dernier semblerait faciliter la pénétration intracellulaire du carvacrol (Ultee *et al.*, 2002).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est souvent sélective et leur pouvoir antibactérien est fonction de la nature de la bactérie. Ainsi nous avons trouvé que l'HE d'*A. vulgaris* était plus efficace contre *E. coli* que l'HE du *Sy. aromaticum* tandis que cette dernière était plus efficace contre *P. aeruginosa*.

Soković *et al.* (2010) ont comparé l'activité antibactérienne de 10 huiles essentielles ainsi que les constituants majeurs de chaque huile sur différents germes à Gram+ et à Gram-. Ils ont trouvé que les huiles essentielles étudiées présentaient une meilleure activité contre les bactéries Gram+ que des bactéries Gram-. Le potentiel antibactérien des huiles testées par ces auteurs peut être présenté comme suite:

Origanum vulgare > *Thymus vulgaris* > *Mentha spicata* > *Mentha piperita* > *Ocimum basilicum* > *Lavandula angustifolia* > *Citrus limon* > *Citrus aurantium* > *Salvia officinalis* > *Matricaria chamomilla*.

L'huile essentielle d'*Or. vulgare* s'est avérée être la plus active. La classification des composants d'huiles essentielles testées en fonction de leur potentiel antibactérien était la suivante:

Carvacrol > thymol > menthol > 1,8-cinéol > linalool > camphre > α -pinène > β -pinène > limonène > Acétate de linalyle.

Les espèces les plus résistantes étaient *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus mirabilis*.

Le tableau 30 résume les quatre principaux constituants de chaque HE ainsi que leurs familles et/ou fonctions chimiques. Ceci permet de faire un lien de causalité entre la famille et/ou la fonction chimique et le potentiel antibactérien de chaque constituant.

Les monoterpènes hydrocarbonés ont la plus faible activité antibactérienne, les composés oxygénés notamment les composés de type phénol comme le thymol et le carvacrol possèdent un potentiel antibactérien plus élevé.

Les monoterpènes oxygénés, présentent une forte activité antimicrobienne due à leur fort pouvoir de pénétration intracellulaire qui n'est pas assez performant chez les hydrocarbures. Les cétones, les aldéhydes et les alcools sont relativement actifs (Soković *et al.*, 2010).

Il est devenu évident que la forte activité antibactérienne des huiles des espèces étudiées et rattachées aux genres *Thymus* et *Origanum* est due aux composés phénoliques, tels que le thymol et le carvacrol en pourcentage élevé. Les différents composés peuvent avoir des modes d'action différents. Le métabolisme de certaines bactéries est capables de mieux compenser les effets des HE ou de s'y adapter en créant par conséquence une sorte de résistance. Les bactéries Gram- sont en général plus résistantes que les Gram+ (Soković *et al.*, 2010).

L'activité antibactérienne remarquable des huiles de *T. vulgaris* et d'*O. vulgare* peut être expliquée par la qualité et les fortes proportions des composants actifs dans ces plantes tels que le menthol, le thymol ou le carvacrol (tableau 30).

Tableau 30: Familles et fonctions chimiques des quatre principaux constituants des HE analysées

Huile essentielle	Constituant	Familles et fonctions chimiques
<i>A. vulgaris</i>	Camphre	Composé organique bicyclique non aromatique/cétone monoterpénique
	α -thuyone	Cétone monoterpénique
	Cis-Carvéol	Alcool monoterpénoïde monocyclique insaturé
	Camphène	Monoterpène bicyclique non aromatique
<i>O. basilicum</i>	Linalool	Alcool tertiaire terpénique insaturé/alcool monoterpénique
	Eugénol	Cycle aromatique/phénylpropène/sous-classe des phénylpropanoïdes
	Méthyl-eugénol	Cycle aromatique/phénylpropène/sous-classe des phénylpropanoïdes
	Alcool fenchyle	Alcool cyclique non aromatique
<i>Sy. aromaticum</i>	Eugénol	Phénol monoterpénique
	Acétate d'eugényle	Méthoxy/phénol/ester
	β -élémane	Hydrocarbure sesquiterpénique
	β -caryophyllène	Sesquiterpène bicyclique composé d'un macrocycle à 9 atomes de carbone fusionné avec un noyau cyclobutane
<i>T. vulgaris</i>	Thymol	Phénol
	p-cymène	Monoterpène, cycle benzénique para-substitué par un groupe méthyle et un groupe isopropyle.
	γ -terpinène	Hydrocarbure isomériques/monoterpène/cyclohexadiène
	Linalool	Alcool tertiaire terpénique insaturé
<i>Or. vulgare</i>	Carvacrol	Phénol monoterpénoïde
	γ -terpinène	Hydrocarbure isomérique/monoterpène/cyclohexadiène
	p-cymène	Monoterpène, cycle benzénique para-substitué par un groupe méthyle et un groupe isopropyle.
	Thymol	Phénol monoterpénique
<i>R. officinalis</i>	1,8-cinéol	Phénol monoterpénique
	Camphre	Composé organique bicyclique non aromatique/cétone
	α -pinène	Monoterpène bicyclique insaturé non aromatique
	β -pinène	Monoterpène bicyclique insaturé non aromatique

Cette corrélation n'est pas toujours valable pour toutes les huiles essentielles ce qui laisse penser à d'autres composants mineurs et à d'autres mécanismes surtout synergiques (Soković *et al.*, 2010).

Dorman et Deans (2000) ont testé l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Syzygium aromaticum*, *Myristica fragrans*, *Pelargonium graveolens* et *Piper nigrum* et les composés qui les contiennent: thymol, carvacrol, carvacrol méthyl-éther, eugénol, bornéol, géraniolle, linalool, la menthone, le nérol, limonène, α -pinène, α -terpinéol, terpinen-4-ol, δ -3-carène, géranyl-acétate, β -pinène, α -terpinène, cis-hex-3-en-1-ol, (-)-thuyone, citral et (+)-sabinène.

Le thym avait le plus fort pouvoir antibactérien des HE testées, et le thymol était le premier parmi les composants testés. L'HE de thym possédait une activité bactéricide deux fois plus importante que le thymol seul (Jouault, 2012).

Le même phénomène s'est produit avec l'eugénol et l'HE de *Sy. aromaticum*: l'HE de clou de girofle avait un effet antibactérien plus important que l'eugénol seul sauf pour quelques souches ou l'eugénol seul s'est montré plus efficace. Les huiles essentielles se sont montrées plus efficace que leurs composés utilisés seuls. Ces derniers se sont montrés inefficaces contre certains germes tandis que les huiles essentielles qui les contiennent étaient très efficaces (Jouault, 2012).

Jouault (2012) a élaboré à partir d'une étude canadienne un classement des molécules les plus actives sur certaines souches bactériennes parmi les plus virulentes en pathologie humaine:

- **Sur *E. coli*:**

Le thymol est plus actif que le carvacrol sur *E. coli*, la classification par ordre décroissant des différentes molécules selon le pouvoir antibactérien à l'encontre d'*E. coli* est la suivante:

Thymol > carvacrol > α -terpinéol > terpinène-4-ol > delta-3-carène > linalool > eugénol > cis-hex-3-en-1-ol > (-)-thuyone > (+)-limonène > citral > géranyl acétate > géraniol > α -pinène > β -pinène > nérol > bornéol > menthone > α -terpinène > carvacrol méthyl-éther > (+) sabinène (absence d'inhibition).

Notre étude nous a permis la classification suivante des composés majoritaires analysés:

Thymol (*T. vulgaris*) > camphre (*A. vulgaris*) > eugénol (*Sy. aromaticum*) > carvacrol (*Or. aulgare*) > 1,8-cinéol (*R. officinalis*) > linalool (*O. basilicum*).

Si on compare l'activité anti-*E. coli* de nos HE et celle des composants seuls rapportée par Jouault (2012) on remarque une concordance dans le cas du *T. vulgaris*, un chémotype à thymol, qui avait l'activité la plus forte. Certaines antinomies rencontrés entre nos résultats et ceux rapportés par l'auteur sus-cité, peuvent être expliquées par l'effet synergique entre l'ensemble des constituants de l'HE entière versus composant actif seul.

- **Sur *P. aeruginosa*:**

Contrairement à *E. coli*, le carvacrol est plus efficace sur *P. aeruginosa* que le thymol, la classification par ordre décroissant des différentes molécules selon le pouvoir antibactérien à l'encontre d'*P. aeruginosa* est la suivante:

Carvacrol > terpinène-4-ol > thymol > eugénol > nérol > δ -3-carène > (-)-thuyone > α -terpinéol > cis-hex-3-en-1-ol > citral > géranyl acétate > β -pinène > α -terpinène > géraniol > bornéol = carvacrol méthyl-éther = (+)-limonène = linalool = menthone = α -pinène = (+)-sabinène (absence d'inhibition).

Notre étude nous a permis la classification suivante des composés majoritaires analysés:

Thymol (*T. vulgaris*) > eugénol (*Sy. aromaticum*) > carvacrol (*Or. vulgare*) > camphre (*A. vulgaris*) > 1,8-cinéol (*R. officinalis*) > linalool (*O. basilicum*).

Le thymol est plus efficace que l'eugénol contre *P. aeruginosa* selon Jouault (2012), ceci concorde avec nos résultats (le thymol (*T. vulgaris*) était plus efficace que l'eugénol (*Sy. aromaticum*)), cependant l'activité antibactérienne de l'HE entière n'est pas toujours corrélée à l'activité du composant majoritaire seul, c'est le cas du thymol et du carvacrol, ce dernier est plus efficace sur *P. aeruginosa* que le thymol, alors que l'HE du *T. vulgaris* qui est un chémotype à thymol est plus efficace sur la même bactérie que l'HE d'*Or. vulgare* qui est un chémotype à carvacrol.

- **Sur *S. aureus*:**

Comme le cas pour *E. coli* et contrairement à *P. aeruginosa*, le thymol est plus actif sur *S. aureus* que le carvacrol, la classification par ordre décroissant des différentes molécules selon le pouvoir antibactérien à l'encontre d'*E. coli* est la suivante:

Thymol > carvacrol > α -terpinéol > terpinen-4-ol > eugénol > δ -3-carène > menthone > (-)-thuyone > nérol > linalool > α -pinène > cis-hex-3-en-1-ol > β -pinène > bornéol > géranyl acétate > géraniol > citral > carvacrol méthyl-éther = (+)-limonène = (+)-sabinène = α -terpinène (absence d'inhibition).

La classification que nous avons trouvée en tenant compte du composé majoritaire était:

Thymol (*T. vulgaris*) > camphre (*A. vulgaris*) > carvacrol (*Or. vulgare*) > eugénol (*Sy. aromaticum*) > 1,8-cinéol (*R. officinalis*) > linalool (*O. basilicum*).

Si on compare la classification des phytosubstances proposée par Jouault (2012), et la nôtre en fonction de leur activité anti-*S. aureus*, on constate un lien de causalité strictement proportionnel.

Le classement général des HE selon le pouvoir antibactérien d'après Jouault (2012): *T. vulgaris* > *Or. vulgare* > *Sy. aromaticum* > *Myristica fragrans* > *Pelargonium graveolens* > *Piper nigrum*.

Cette classification renforce notre résultat concernant l'HE du *T. vulgaris* qui était l'huile la plus efficace contre les trois germes étudiés, en revanche, nous avons constaté qu'il n'y a pas de classification antibactérienne universelle des HE mais cette activité se traite au cas par cas.

Le mécanisme d'action de certains composés majoritaires de nos HE a été décrit dans la littérature. Ainsi le carvacrol pénètre dans la bicouche lipidique de la membrane plasmique et se positionne entre les chaînes d'acides gras ce qui augmente la perméabilité de la membrane plasmique aux métabolites cellulaires entraînant ainsi une déformation de la structure de cette dernière. Il agit aussi par diminution de l'ATP intracellulaire et du potentiel membranaire. Le carvacrol semble faciliter la fuite des ions par formation de canaux membranaires et il inhibe

ainsi la production de toxines par les bactéries (Helander *et al.*, 1998; Lambert, 2001; Ultee *et al.*, 2002).

Trombetta *et al.* (2005), ont étudié le mode d'action du thymol sur une membrane artificielle. Ils ont démontré que ce dernier semble entraîner une perte du matériel intracellulaire par altération de la perméabilité de la membrane plasmique.

L'eugénol, quant à lui, il a le même mode d'action que le carvacrol, entraînant une inhibition de l'activité des ATP synthétases membranaires par dégradation de la paroi cellulaire (Gill et Holley, 2006). Il semble exercer une inhibition de la production de certaines enzymes bactériennes comme les protéases et les amylases (Thoroski *et al.*, 1999).

IV. Conclusion

L'étude présentée dans ce chapitre portait sur l'évaluation de l'activité antibactérienne des HE et des médicaments antibiotiques sélectionnés ainsi que la mise en évidence de l'effet synergique entre ces produits.

Les HE ont montré un grand pouvoir antibactérien comparable et parfois supérieur à celui des antibiotiques étudiés. Ce pouvoir diffère selon la composition, la quantité de l'huile essentielle et la souche bactérienne étudiée.

Les HE de *T. vulgaris* et *d'A. vulgaris* étaient les plus efficaces à la fois sur *E. coli* et sur *S. aureus*, tandis que les HE de *T. vulgaris* et de *Sy. aromaticum* l'étaient sur *P. aeruginosa*.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées est due à la diversité des constituants phytochimiques qu'elles contiennent. Les huiles essentielles agissent comme les familles des antibiotiques, et par conséquent chaque huile essentielle a son propre spectre d'action.

Pour avoir des effets plus performants et améliorer l'efficacité, la sécurité et le coût des antibiotiques, nous avons opté pour le concept de synergie, c'est un phénomène très complexe, vu le nombre élevé de constituants des HE. Cependant, ce concept représente un gain pour l'arsenal thérapeutique.

Suite à notre travail, il apparaît que les concentrations des associations entre HE les plus efficaces pour lutter contre *E. coli* sont celles entre: *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 30% (v/v), *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* à 90% (v/v) et enfin *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 80% (v/v). Tandis que celles nécessaires dans la lutte contre *P. aeruginosa* sont les suivantes: *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 90% (v/v), *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* à 10% (v/v) et *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 90% (v/v). Concernant la lutte contre *S. aureus*, les associations les plus

prometteuses sont celles entre: *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 80% (v/v), *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* à 70% (v/v) et *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 80% (v/v)).

Aussi, l'association entre *Sy. aromaticum* et *T. vulgari* est de type synergique contre *E. coli*, alors que les autres associations entre HE sont soit de type additif (comme entre *Or. vulgare* et *R. officinalis*) ou indifférent (comme entre *A. vulgaris* et *O. basilicum*).

L'effet synergique entre ces HE est souvent le résultat de l'action de leurs différents constituants, cependant certains composés induisent un effet antagoniste ce qui encourage la réalisation d'une étude d'identification de ces constituants afin d'améliorer l'effet synergique des associations entre HE.

Les concentrations des associations entre HE et Cxm les plus efficaces dans la lutte contre *E. coli* sont les suivantes: *A. vulgaris* et Cxm à 70% (v/v), *O. basilicum* et Cxm à 40% (v/v), *Sy. aromaticum* et Cxm à 40% (v/v), *T. vulgaris* et Cxm à 70% (v/v), *Or. vulgare* et Cxm à 90% (v/v), et *R. officinalis* et Cxm à 20% (v/v). Concernant *P. aeruginosa*, les meilleurs résultats pour lutter contre ce germe pathogène sont obtenus en associant: *A. vulgaris* et Cipro à 90% (v/v), *O. basilicum* et Cipro à 80% (v/v), *Sy. aromaticum* et Cipro à 80% (v/v), *T. vulgaris* et Cipro à 70% (v/v), *Or. vulgare* et Cipro à 80% (v/v) ainsi que *R. officinalis* et Cipro à 60% (v/v). Et dans la lutte contre *S. aureus* les associations entre HE et Cipro les plus efficaces sont: *A. vulgaris* et Cipro à 60% (v/v), *O. basilicum* et Cipro à 80% (v/v), *Sy. aromaticum* et Cipro à 70% (v/v), *T. vulgaris* et Cipro à 80% (v/v), *Or. vulgare* et Cipro à 50% (v/v) et enfin *R. officinalis* et Cipro à 60% (v/v)).

Concernant les ICFI, des associations synergiques ont été observées entre *A. vulgaris* et Cxm et entre *T. vulgaris* et Cxm contre *E. coli*, puis entre *T. vulgaris* et Cipro dans la lutte contre *P. aeruginosa*. Alors que dans la lutte contre *S. aureus*, les associations synergiques sont de deux types: entre *T. vulgaris* et Cipro et entre *R. officinalis* et Cipro.

Les autres associations entre HE et médicaments antibactériens ont été soit additives (comme celles entre *Sy. aromaticum* et Cxm contre *E. coli*, ou bien entre *Or. vulgare* et Cipro contre *P. aeruginosa*, ou entre *A. vulgaris* et Cipro contre *S. aureus*), soit indifférentes (comme celles entre *R. officinalis* et Cxm contre *E. coli*, entre *O. basilicum* et Cipro contre *P. aeruginosa*, entre *O. basilicum* et Cipro contre *S. aureus*) parfois antagonistes (comme celles entre *O. basilicum* et Cxm contre *E. coli*).

Ajoutant que cet effet synergique entre HE et antibiotiques est probablement le résultat d'un mécanisme complexe incluant des interactions entre ces deux substances. Cela pourrait être expliqué par une induction réciproque de l'effet de chaque produit pris à part.

Aussi, ce concept de synergie serait un gain pour l'arsenal thérapeutique antibactérien et pourrait faire l'objet d'association fixe entre HE et antibiotique à condition de concevoir une forme galénique adaptée.

Chapitre III: Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et des médicaments antifongiques sélectionnés

I. Introduction

Candida est un genre de levures qui est la cause la plus fréquente des infections fongiques dans le monde entier (Manolakaki *et al.*, 2010). De nombreuses espèces sont des commensaux inoffensifs ou des endosymbiotes d'hôtes, y compris chez l'Homme. Cependant, lorsque les barrières muqueuses sont perturbées ou que le système immunitaire est compromis, plusieurs espèces de ce genre peuvent envahir et causer des maladies. Parmi ces espèces, *Candida albicans* est l'espèce la plus rencontrée dans les analyses mycologiques et responsable de nombreuses infections telles que des candidoses ou de muguet aussi chez l'Homme que chez les animaux (Kourkoumpetis *et al.*, 2011).

De nombreuses espèces se rencontrent spontanément dans la flore intestinale, y compris *C. albicans* chez de nombreux mammifères, tandis que d'autres espèces vivent comme endosymbiotes dans les insectes (Nguyen *et al.*, 2007; Suh *et al.*, 2008; Spanakis *et al.*, 2010).

Au Maroc, *C. albicans* occupait la deuxième place des microorganismes isolés des infections nosocomiales avec un pourcentage de 22,2% après *E. coli* (El Rhazi *et al.*, 2016).

En France, l'incidence des infections invasives liées aux levures du genre *Candida* est croissante. La prévalence de l'infection des populations à risque est comprise entre 10 et 20%. *C. albicans* selon les études, reste l'espèce la plus souvent isolée, dans 50 à 70% des cas; aussi, la mortalité reste élevée, comprise entre 40 et 60% (Charles *et al.*, 2016).

Aux États-Unis les infections systémiques du système sanguin et des organes majeurs (candidémie ou candidose invasive), en particulier chez les patients immunodéprimés, affectent plus de 90 000 personnes par an (d'Enfert et Hube, 2007). Et, dans ce même pays, lors d'une étude menée par Andes *et al.* (2016), *C. albicans* était responsable de 46,3% des infections à *Candida* invasives chez les receveurs de transplantation d'organes, suivie de *C. glabrata* (24,4%) et de *C. parapsilosis* (8,1%).

La fréquence relative des espèces de *Candida* non *albicans* varie selon les régions, par exemple, en Amérique du Nord, *C. glabrata* est la deuxième et en Iran est la troisième espèce isolée après *C. albicans*. L'épidémiologie de la candidémie varie selon la région géographique. En outre, une variété dans la distribution des espèces de *Candida* dans

différentes régions a été rapportée. La raison de l'émergence des espèces non-*albicans* n'est pas encore claire et peut être associée à l'amélioration des méthodes d'analyses plus sensibles dans l'identification des espèces de *Candida* ainsi qu'à l'utilisation sans discernement de médicaments antifongiques pour la prophylaxie et le traitement des patients (Badiee *et al.*, 2017).

Généralement, *C. krusei* est considéré comme un commensal transitoire chez l'homme (Samaranayake Y.H *et al.*, 1994) mais peut devenir pathogène chez les patients souffrant de malignité hématologique, les receveurs de transplantation et les immunodéprimés (Pfaller *et al.*, 2008).

Bien que *C. albicans* soit responsables des candidoses invasives dans la plupart des milieux cliniques, certains patients ont été infectés par d'autres espèces de *Candida*. Les différentes espèces de cet agent pathogène varient selon leur susceptibilité aux agents antifongiques les plus couramment utilisés, et leur résistance intrinsèque à la thérapie antifongique. Le développement de la résistance acquise pendant le traitement des patients atteints de certaines espèces de *Candida* pose un problème de santé publique dans la gestion des candidoses (Sanguinetti *et al.*, 2015).

Les huiles essentielles ont montré, *in vitro*, une efficacité contre les espèces du genre *Candida* (Bona *et al.*, 2016; Dahraoui *et al.*, 2016), mais les médicaments antifongiques seraient plus adaptés pour lutter contre ces infections vu le nombre et la qualité des études précliniques et cliniques, cependant l'apparition de mutants résistants, le coût élevé des antifongiques, la longue durée de traitement et les effets indésirables médicamenteux (Vidal, 2014) sont prometteurs de certaines études sur les interactions synergiques entre les HE et les médicaments antifongiques afin de renforcer leur activité et diminuer les risques liés aux effets secondaires, la longue durée d'administration et le coût de traitement.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique des HE étudiées et de déceler certaines interactions surtout de type synergique entre les HE elles-mêmes et les HE et certains médicaments antifongiques commercialisés ainsi que la cinétique de ces interactions.

II. Matériel et méthodes

1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles étudiées sont celles utilisées pour les tests antibactériens et extraites des plantes suivantes à savoir: *A. vulgaris*, *O. basilicum*, *Sy. aromaticum*, *T. vulgaris*, *Or. vulgare* et *R. officinalis*.

2. Souches fongiques

Les souches fongiques étudiées relèvent des souches ATCC (American Type Culture Collection) et qui sont:

- *Candida albicans* (ATCC® 90029™)
- *Candida glabrata* (ATCC® 90030™)
- *Candida krusei* (ATCC® 6258™)

3. Médicaments antifongiques

Les médicaments antifongiques étudiés sont soit sous forme de disques ou des solutions préparées à partir de la substance pure. Les charges des disques sont les suivantes:

- Fluconazole: 25µg
- Terbinafine: 30µg
- Amphotéricine B: 10µg

4. Evaluation de l'activité antifongique

4.1 Milieux de culture

Le milieu de culture de *Candida sp.* est le Sabouraud, dont la composition est répertoriée dans l'annexe 11. Les milieux de culture sont stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 15 minutes et conservés à une température de 4°C.

4.2 Taux d'Inhibition antifongique

Le taux d'inhibition est calculé en comptant le nombre de levures par mm³ sur une cellule de Malassez après incubation à 37°C pendant 48h et homogénéisation sur Vortex.

La formule de calcul est la suivante:

$$\text{Taux d'Inhibition en (\%)} = [(N0 - N) / N0] \times 100$$

Où: **N0**: nombre de levures dans le tube témoin au temps zéro.

N: nombre de levures dans le tube avec l'HE ou le médicament antifongique testé, après 48h d'incubation.

Le témoin est préparé en ajoutant des souches à tester sur les milieux de culture sans ajout de produit d'étude (huile essentielle ou médicament antifongique testé).

4.3 Aromatogramme

Les souches ont été revivifiées dans de l'eau physiologique stérile et la turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland ce qui correspond à une suspension fongique de 10⁶UFC/ml. Les boîtes de Pétri ont été inondées avec 100µl de cette suspension de levures (10⁶UFC/ml) et ont été séchées sous hotte à flux laminaire. Une série de dilutions a été effectuée en utilisant une solution d'agar à 0,2% favorisant ainsi une meilleure diffusion que les huiles essentielles

ne sont pas miscibles à l'eau. Des disques stériles de papier Whatman de 6mm de diamètre ont été imprégnés de 10 μ l de produit (huile essentielle ou association) et ont été ensuite déposés sur la gélose. L'incubation a été faite à l'étuve pendant 48h à 37°C. Un disque imprégné de 10 μ l de solution d'agar 0,2% a été utilisé comme témoin (contrôle négatif). Trois tests ont été réalisés pour chaque concentration. La zone d'inhibition a été mesurée et exprimée en mm en tenant compte du diamètre du disque (Richter, 2005; CLSI, 2008; Haddouchi, 2009; Kiraz *et al.*, 2010; Wang, 2016).

4.4 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La méthode utilisée est celle de la macrodilution. Elle suit le même principe que celui utilisé dans l'étude des bactéries. Des solutions mères des produits étudiés (huiles essentielles, médicaments antifongiques et leurs associations) ont été préparées à l'aide d'une solution d'agar 0,2%, une série de dilution a été effectuée à partir de ces solutions et du bouillon de Sabouraud. L'homogénéisation s'est faite à l'aide du Vortex. 200 μ l d'inoculum fongique de densité équivalente à 10⁶ levures/ml ont été placés dans chaque tube à essais.

L'incubation est faite à 37°C pendant 48h (Richter, 2005; CLSI, 2008; Haddouchi, 2009; Kiraz *et al.*, 2010; Wang, 2016).

4.5 Concentration minimale fongicide (CMF)

Elle a le même principe que la CMI. La CMF est la plus faible concentration d'huile essentielle, du médicament antifongique ou du mélange (HE/HE et HE/médicament) pour laquelle l'effet fongicide souhaité dépasse 99,99% (soit moins de 0,01% de survivants). Les prélèvements ont été effectués à partir du tube témoin et des tubes de concentration décroissante qui succèdent celui qui représente la CMI. Ils ont été ensuite déposés en stries sur milieu solide de Sabouraud. L'incubation est faite à 37°C pendant 48h. La CMF correspond à la concentration du produit déposé dans la boîte de pétri qui ne représente aucune croissance fongique visible (Richter, 2005; CLSI, 2008; Haddouchi, 2009; Kiraz *et al.*, 2010; Wang, 2016).

5. Etude des interactions entre les huiles essentielles et les médicaments antifongiques

Les interactions huile essentielle/médicament antifongique ont été étudiées en fonction des concentrations du mélange des deux produits. Les concentrations huile essentielle/médicament antifongique étaient de l'ordre de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 et 90%.

La formule de calcul des concentrations huile essentielle/médicament antifongique est la suivante:

$$\text{Volume d'huile essentielle/volume d'huile essentielle} + \text{volume du médicament antifongique}$$

Les indices de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF) qui permettent de déterminer la nature de l'interaction sont calculés selon les formules suivantes (Rosato *et al.*, 2007):

CFI= CMI du produit en association / CMI du produit seul

ICFI= CFI du médicament antifongique + CFI de l'huile essentielle

CFF= CMF du produit en association / CMF du produit seul

ICFF= CFF du médicament antifongique + CFF de l'huile essentielle

Les interprétations en fonction des valeurs des ICFI et ICF B sont mentionnées dans le tableau 31.

Tableau 31: Lecture des résultats (Otrębska-Machaj *et al.*, 2016)

Valeur de l'ICFI ou ICFF	Interprétation
ICFI ou ICFF $\leq 0,5$	Synergie potentialisatrice
$0,5 < \text{ICFI ou ICFF} \leq 1$	Effet additif
$1 < \text{ICFI ou ICFF} \leq 2$	Indifférent
ICFI ou ICFF > 2	Antagonisme

6. Analyse statistique

L'analyse statistique des effets antifongiques des différentes substances étudiées a été faite à l'aide de l'IBM SPSS Statistics 20.0. Le test utilisé est celui de Student (t-Student), une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme significative.

III. Résultats et discussion

1. *Candida albicans*

1.1 Taux d'inhibition fongique

a- Effet des huiles essentielles et du fluconazole à différentes concentrations sur le taux d'inhibition de *C. albicans*

Les huiles essentielles étudiées ont montré un fort pouvoir d'inhibition anti-*C. albicans*, qui était en général strictement proportionnel à la concentration en huile essentielle (tableau 32a). L'HE de *Sy. aromaticum* a provoqué le taux d'inhibition le plus élevé (99,24%), celui de l'HE de *R. officinalis* était le plus faible parmi les six HE (94,84%), celui du fluconazole était par contre le moins important par rapport à tous les produits étudiés (94,36%).

La classification par ordre décroissant des huiles essentielles et du fluconazole à des concentrations de 100% en fonction du taux d'inhibition anti-*Candida albicans* est la suivante: *Sy. aromaticum* > *Or. vulgare* > *O. basilicum* > *T. vulgaris* > *A. vulgaris* > *R. officinalis* > Fluconazole

Tableau 32a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et du fluconazole sur *C. albicans*

Produit	Taux d'inhibition en %			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	32,45±2,36	85,61±3,65	91,67±3,95	97,32±1,67
<i>O. basilicum</i>	59,92±3,61	89,64±4,30	92,12±3,66	98,27±2,25
<i>Sy. aromaticum</i>	68,87±2,13	91,06±2,40	97,77±1,65	99,24±1,37
<i>T. vulgaris</i>	70,23±5,12	82,03±1,15	87,24±2,16	98,23±2,15
<i>Or. vulgare</i>	71,01±1,19	92,03±1,36	97,84±3,07	98,29±1,07
<i>R. officinalis</i>	22,35±1,25	84,29±4,34	87,23±3,94	94,84±1,02
Fluconazole	62,21±1,35	67,94±2,37	72,93±3,08	94,36±2,91

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des taux d'inhibition des huiles essentielles et du fluconazole contre *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 61% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et de le fluconazole dans 76% des cas entre l'effet inhibiteur des différentes HE étudiées et du fluconazole et ce à différentes concentrations (tableau 32b).

Tableau 32b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et du fluconazole sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% NS 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% NS 75% NS 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS 50% NS 75% S 100% S

b- Effet des associations entre les huiles essentielles sur le taux d'inhibition de *C. albicans*

Les associations entre les huiles essentielles ont permis le plus souvent de renforcer le pouvoir d'inhibition anti-*C. albicans* (tableaux 33a). Les taux d'inhibition les plus élevés dépassant ceux des deux produits analysés seuls (différence statistiquement significative) ont été observés pour les associations entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 60% (v/v) avec un taux

d'inhibition de 99,92%, *Sy. Aromaticum* et *T. vulgaris* à 50% avec un taux de 99,91% et en fin *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 50% avec un taux de 99,56% (différence statistiquement significative pour le *R. officinalis*). Le taux d'inhibition le plus faible a été observé pour l'association entre *Or. vulgare* et *R. officinalis* à 10% avec un taux d'inhibition de 90,36%.

Tableau 33a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. albicans*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v. + O. b.</i>	91,23± 2,39	92,26± 1,37	96,23± 3,11	97,63± 2,37	98,82± 2,94	99,92± 2,68	98,23± 3,06	97,35± 2,46	99,23± 2,98
<i>Sy. ar. + T. v.</i>	92,32±2, 52	93,59± 4,31	95,68± 3,41	98,81± 4,91	99,91± 2,74	98,39± 4,09	98,55± 4,36	99,25± 2,34	96,09± 3,04
<i>Or.vu. + R.o.</i>	90,36±1, 06	92,31± 1,31	95,68± 2,29	97,37± 1,98	99,56± 2,13	96,94± 2,55	96,65± 3,01	97,24± 1,95	98,34± 1,97

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des taux d'inhibition des associations entre huiles essentielles à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et le fluconazole à 100% contre *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 85% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/HE et HE seule ou fluconazole et ce à différents rapports (tableau 33b).

Tableau 33b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS
	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet des associations des HE au fluconazole sur le taux d'inhibition de *C. albicans*

L'association des HE au fluconazole a permis d'améliorer le pouvoir inhibiteur de ces produits. Ce pouvoir inhibiteur n'était pas proportionnel au rapport HE/Fluc. Les taux d'inhibition les plus élevés ont été induits par les associations suivantes:

A. vulgaris + Fluc. à 50% pour un taux de 98,65% supérieur à celui du Fluc. seul (différence statistiquement significative), *O. basilicum* + Fluc. à 40% avec un taux de 99,85% supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls (différence non significative statistiquement). *Or. vulgare* + Fluc. à 50% avec un taux de 99,28% supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls (différence statistiquement significative pour l'*Or. vulgare*). Les associations qui ont donné des effets qui dépassent significativement ceux des deux produits utilisés seuls sont, *Sy. aromaticum* + Fluc. à 60% avec un taux de 99,59%, *T. vulgaris* + Fluc. à 40% avec un taux de 99,19% et *R. officinalis* + Fluc. à 70% avec un taux de 98,74% (tableau 34a).

Tableau 34a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre les HE et le fluconazole sur *C. albicans*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + Fluc.	93,56± 2,38	94,98± 2,03	96,64± 3,52	98,65± 6,02	99,96± 3,98	95,54± 5,45	98,69± 2,67	97,32± 4,01	99,35± 3,85
<i>O. b.</i> + Fluc.	94,05± 5,08	96,67± 4,09	98,68± 3,69	99,85± 2,64	96,29± 2,08	94,75± 3,04	96,21± 2,52	97,01± 2,64	98,26± 3,13
<i>Sy. ar.</i> + Fluc.	93,36± 5,12	94,44± 4,65	96,74± 2,55	98,74± 4,01	98,98± 3,41	99,59± 3,21	98,34± 1,65	96,77± 2,13	89,37± 1,03
<i>T. v.</i> + Fluc.	96,02± 1,33	97,84± 3,25	98,61± 4,65	99,19± 4,06	92,22± 1,87	94,86± 2,22	96,01± 4,57	95,07± 6,15	89,15± 1,21
<i>Or. vu.</i> + Fluc.	94,12± 0,36	95,25± 1,08	97,03± 3,11	98,54± 4,24	99,28± 5,06	98,12± 0,98	98,24± 0,95	96,62± 3,14	98,65± 1,03
<i>R. o.</i> + Fluc.	90,05± 0,95	91,08± 0,66	92,34± 0,99	93,56± 0,13	95,67± 1,37	97,16± 2,57	98,74± 3,41	96,02± 0,79	97,52± 0,84

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative des taux d'inhibition des associations entre huiles essentielles et le fluconazole à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et le fluconazole seul à 100% contre *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 96% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/Fluc. et HE seule ou Fluc. et ce à différentes concentrations (tableau 34b).

Tableau 34b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre les HE et le fluconazole sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% NS	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% NS	90% NS	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% NS	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S
	30% S	30% NS	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% NS
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% NS	90% S

1.2 Aromatogramme

a- Effet des huiles essentielles et du fluconazole sur *C. albicans*

Les huiles essentielles étudiées ont montré une grande efficacité contre *C. albicans*, cela était traduit par de larges zones d'inhibition (figure 22). L'huile essentielle d'*Or. vulgare* s'est montrée plus efficace que les autres huiles même plus que le fluconazole avec un diamètre d'inhibition de 30,07mm à 100% (v/v) contre 24,67mm pour le fluconazole.



Figure 22: Zones d'inhibition produites chez *C. albicans* sous l'effet des HE et du fluconazole (1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; Fluc= fluconazole)

Les HE ont montré une forte activité antifongique et ce en fonction de la concentration. On a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci.

La classification des HE en fonction de l'activité antifongique et des concentrations a été toujours la même pour toutes les gammes de concentrations sauf pour le cas de l'HE d'*A. vulgaris* et du fluconazole à 25% (v/v) où les diamètres d'inhibition étaient respectivement 5,23mm et 5,34mm tandis qu'à 100% (v/v) les diamètres d'inhibition étaient respectivement 26,89mm et 24,67mm (tableau 35a).

La classification des huiles essentielles et du fluconazole en fonction du diamètre d'inhibition est la suivante: *Or. vulgare* > *Sy. aromaticum* > *T. vulgaris* > *O. basilicum* > *A. vulgaris* > fluconazole > *R. officinalis*.

Tableau 35a: Effets des huiles essentielles et du fluconazole sur *C. albicans*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	5,23±0,34	7,28±0,94	23,12±1,37	26,89±2,34
<i>O. basilicum</i>	6,67±0,97	8,59±1,34	24,68±2,07	28,52±1,94
<i>Sy. aromaticum</i>	7,59±1,19	9,96±1,81	25,95±2,47	29,37±1,48
<i>T. vulgaris</i>	6,92±1,05	9,31±0,89	25,01±0,62	29,03±0,97
<i>Or. vulgare</i>	7,92±0,37	9,97±0,78	25,92±1,07	30,07±1,07
<i>R. officinalis</i>	4,32±0,13	6,75±0,65	18,03±2,17	22,54±0,94
Fluc.	5,34±0,31	6,98±0,98	19,37±1,52	24,67±1,61

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des effets des huiles essentielles et du fluconazole sur *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 71% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et du fluconazole et cela à différentes concentrations (tableau 35b).

Tableau 35b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et du fluconazole sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% NS 75% S 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% S 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% S 50% S 75% S 100% S

b- Effet des associations HE/HE sur *C. albicans*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisent des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces, qui ont donné des effets supérieurs significativement à ceux des deux produits utilisés seuls, sont *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,89mm et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,09mm. *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) a induit un diamètre d'inhibition de 29,34mm supérieur à celui du *T. vulgaris* seul (différence statistiquement significative) (figure 23 et tableau 36a).



Figure 23: Zones d'inhibition produites chez *C. albicans* par association des HE étudiées
(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 70% (v/v))

Tableau 36a: Effets des associations entre HE sur *C. albicans*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	18,56± 0,19	21,01±0, 48	22,21± 0,48	23,05± 0,93	22,06± 0,78	25,46± 0,94	27,19± 0,96	29,57± 1,41	30,89± 1,07
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	21,95± 1,04	23,05±1, 97	24,03± 0,22	25,34± 0,39	26,04± 0,43	27,17± 0,72	27,23± 0,37	28,05± 0,31	29,34± 1,05
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	21,24± 1,37	24,34±1, 01	26,64± 1,38	27,67± 1,15	29,67± 0,74	31,04± 0,92	31,09± 0,33	29,01± 1,02	29,21± 0,63

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative des diamètres d'inhibition des associations entre huiles essentielles à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et le fluconazole à 100% contre *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 81% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou Fluc. et ce à différentes concentrations et cela à différentes concentrations (tableau 36b).

Tableau 36b: Analyse statistique comparative des effets des associations entre HE sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% NS
	50% NS	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% NS	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% NS
	40% NS	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% NS
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS
	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c. Les associations des HE au fluconazole sur *C. albicans*

Les associations des HE au fluconazole ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces sont *T. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,95mm dépassant significativement ceux des deux produits utilisés seuls, *A. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,05mm supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls (différence statistiquement significative pour le Fluc.), *Or. vulgare* +

Fluc. à 80% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,61mm supérieur à celui du Fluc. seul (différence statistiquement significative).

O. basilicum + Fluc. à 20% (v/v), *Sy. aromaticum* + Fluc. à 40% (v/v) et *R. officinalis* + Fluc. à 60% (v/v) ont induit respectivement des diamètres d'inhibition de 29,01m, 29,56mm et 26,84mm. Ces effets sont supérieurs à ceux de chacun des produits utilisés seuls. La différence est cependant significative dans le cas de l'huile essentielle (figure 24 et tableau 37a).



Figure 24: Zones d'inhibition produites chez *C. albicans* sous l'effet des associations entre HE et fluconazole (1= *A. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + Fluc. à 20% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + Fluc. à 40% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + Fluc. à 80% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + Fluc. à 60% (v/v))

Tableau 37a: Effets des associations entre HE et fluconazole sur *C. albicans*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm									
	Concentrations (v/v)									
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	
<i>A. v.</i> + Fluc.	29,05± 0,15	28,24± 0,24	27,15± 0,37	26,54± 0,87	25,03± 0,64	24,07± 0,97	24,95± 0,97	26,06± 1,14	26,01± 1,09	
<i>O. b.</i> + Fluc.	28,64± 0,37	29,01± 0,36	27,34± 1,94	26,54± 2,94	24,64± 2,09	24,95± 0,97	25,67± 2,64	26,91± 1,49	27,93± 2,91	
<i>Sy. ar.</i> + Fluc.	29,54± 1,34	29,64± 0,97	28,64± 2,64	29,56± 1,94	28,69± 1,95	27,03± 0,43	26,61± 1,93	25,65± 0,34	24,61± 0,61	
<i>T. v.</i> + Fluc.	30,95± 2,93	29,34± 2,34	28,34± 0,34	27,34± 0,29	26,94± 0,37	25,67± 0,34	26,94± 0,77	26,94± 0,39	25,61± 0,37	
<i>Or. vu.</i> + Fluc.	29,35± 0,95	28,64± 1,19	27,49± 1,59	28,64± 0,29	29,09± 2,08	27,61± 1,52	28,03± 0,36	29,61± 1,95	28,13± 0,76	
<i>R. o.</i> + Fluc.	26,45± 0,52	24,31± 1,31	25,61± 1,91	26,41± 0,93	24,68± 1,95	26,84± 0,33	21,62± 0,99	23,30± 1,09	20,35± 0,19	

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative des diamètres d'inhibition des associations entre huiles essentielles et fluconazole à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et fluconazole à 100% contre *C. albicans* a montré qu'il y a une différence significative dans 80% des cas entre l'effet des associations HE/Fluc. et HE seule ou Fluc. et ce à différentes concentrations et cela à différentes concentrations (tableau 37b).

Tableau 37b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et fluconazole sur *C. albicans*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Fluc.
<i>A. vulgaris</i> + Fluc.	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% NS	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS
	30% NS	30% NS	30% S	30% S	30% NS	30% NS	30% S
	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% NS
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% NS
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% NS	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% NS	80% NS	80% S
	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% NS	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS
<i>Or. vulgare</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Fluc.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% NS	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS

1.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF) a montré que *C. albicans* était très sensible aux huiles essentielles étudiées ainsi que le fluconazole (figure 25). Les rapports CMF/CMI, pour tous les produits, ont été inférieurs ou égaux à 4 ce qui permet de les qualifier comme fongicides (tableau 38).

Tableau 38: CMI et CMF des HE et du fluconazole efficaces contre *C. albicans*

Produit	CMI*	CMF*
<i>A. vulgaris</i>	0,5	2
<i>O. basilicum</i>	0,25	0,5
<i>Sy. aromaticum</i>	0,25	0,5
<i>T. vulgaris</i>	0,25	0,5
<i>Or. vulgare</i>	0,25	0,5
<i>R. officinalis</i>	1	1
Fluc.	0,004	0,008

*Les CMI et CMF des huiles essentielles sont exprimées en µl/ml et celles du fluconazole en µg/ml

1.4 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF)

L'étude des ICFI et ICFF a permis de déceler plusieurs interactions de type synergique potentialisateur, additif ou indifférent. L'association entre l'huile essentielle du *R. officinalis* et le fluconazole s'est montrée antagoniste pour l'effet fongicide avec un ICFF de 2,265 (tableau 39). L'ICFI le plus faible a été obtenu pour l'association entre *A. vulgaris* + *O. basilicum* (0,492) et l'ICFF le plus faible a été obtenu pour l'association entre *A. vulgaris* + Fluc. (0,549). Les valeurs représentées dans le tableau 38 sont les valeurs minimales.

Tableau 39: Valeurs minimales des ICFI et ICFF des associations entre HE et fluconazole contre *C. albicans*

Association	ICFI	Interprétation	ICFF	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	0,492	Synergie potentialisatrice	0,982	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	0,861	Effet additif	0,937	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	0,962	Effet additif	1,053	Indifférent
<i>A. vulgaris</i> + Fluc.	0,496	Synergie potentialisatrice	0,549	Effet additif
<i>O. basilicum</i> + Fluc.	0,498	Synergie potentialisatrice	0,785	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + Fluc.	0,679	Effet additif	0,923	Effet additif
<i>T. vulgaris</i> + Fluc.	0,931	Effet additif	1,248	Indifférent
<i>Or. vulgare</i> + Fluc.	0,494	Synergie potentialisatrice	0,596	Effet additif
<i>R. officinalis</i> + Fluc.	1,106	Indifférent	2,265	Antagonisme

1.5 Cinétique des ICFI et ICFF

L'analyse des valeurs des ICFI et ICFF a montré qu'elles suivent une cinétique non linéaire en fonction des rapports HE/HE et HE/Fluconazole (figures 25 et 26). La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFF n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. Le ICFI et le ICFF les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) (0,492) et l'association *A. vulgaris* + Fluconazole à 10% (v/v) (0,549). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *A. vulgaris* + Fluconazole a montré, pour l'effet inhibiteur, un effet synergique à 10%, un effet additif à 20%, un effet indifférent à 40% et un effet antagoniste à 70%. Pour l'effet bactéricide, l'association *O. basilicum* + Fluconazole a montré un effet additif à 10%, un effet indifférent à 20% et un effet antagoniste à 50%.

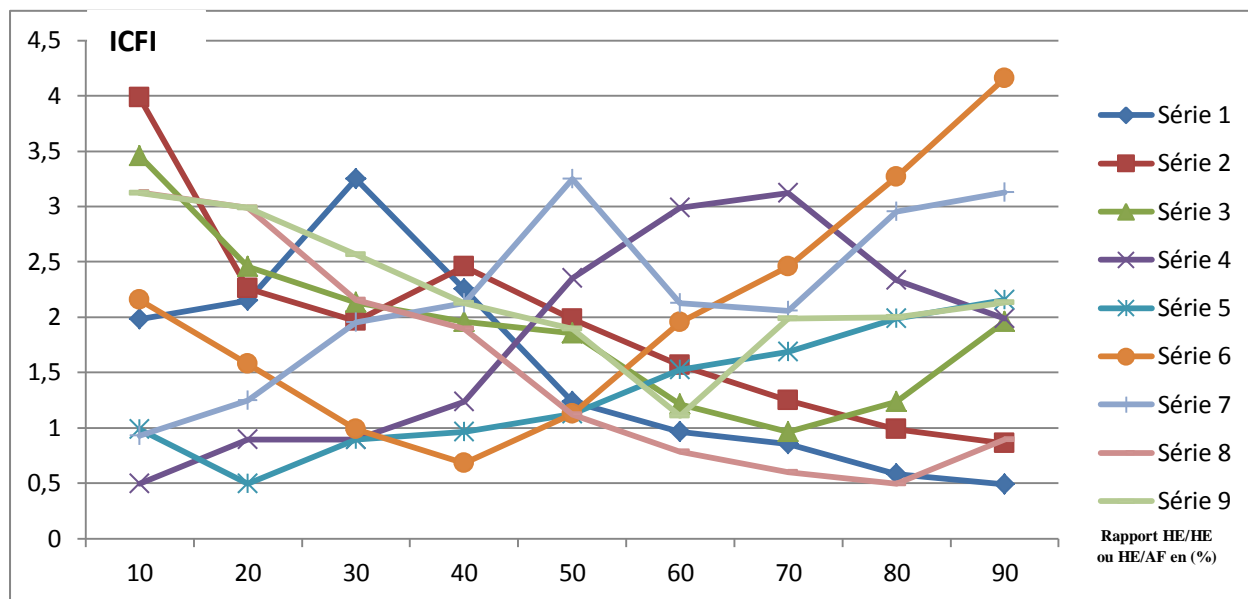


Figure 25: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. albicans*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Fluconazole ; Série 5= *O. basilicum*/Fluconazole ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Fluconazole ; Série 7= *T. vulgaris*/Fluconazole ; Série 8= *Or. vulgare*/Fluconazole ; Série 9= *R. officinalis*/Fluconazole ; HE= Huile essentielle ; AF= Antifongique)

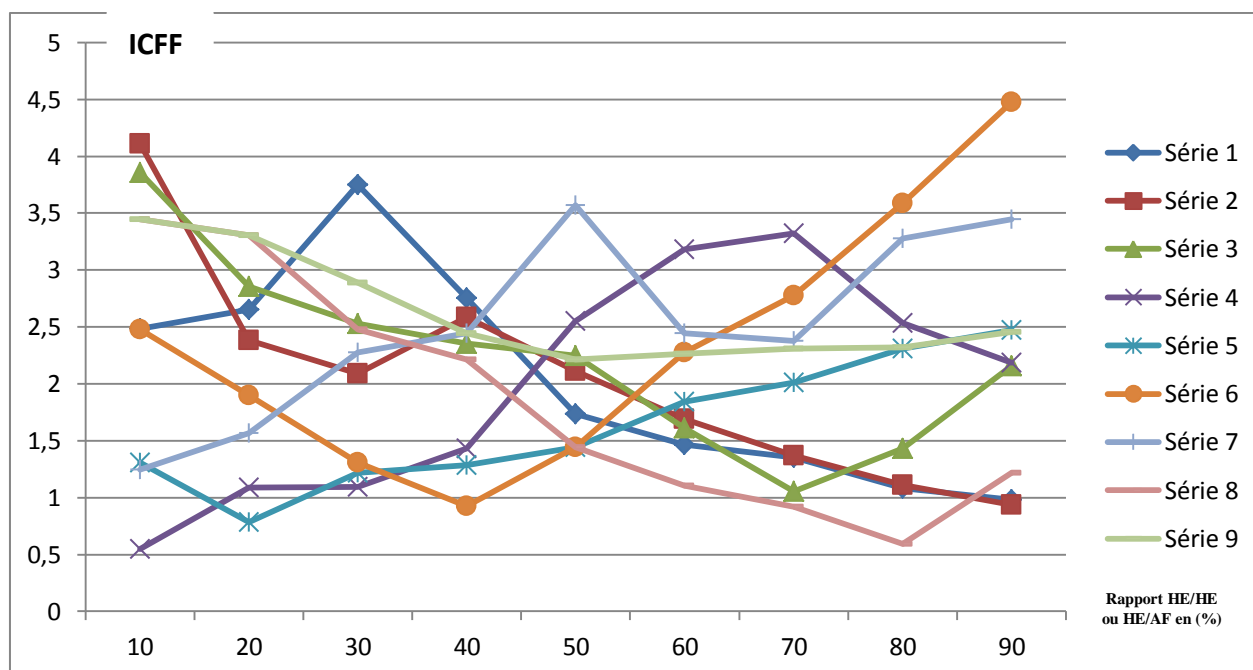


Figure 26: Cinétique de la variation de l'ICFF en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. albicans*

(Série 1= *A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2= *Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3= *Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4= *A. vulgaris*/Fluconazole ; Série 5= *O. basilicum*/Fluconazole ; Série 6= *Sy. aromaticum*/Fluconazole ; Série 7= *T. vulgaris*/Fluconazole ; Série 8= *Or. vulgare*/Fluconazole ; Série 9= *R. officinalis*/Fluconazole ; HE= Huile essentielle ; AF= Antifongique)

1.6 Discussion

1.6.1 *Artemisia vulgaris*

Il ressort de nos résultats que l'huile essentielle d'*A. vulgaris* qui est une HE à camphre, s'est montrée extrêmement efficace contre *C. albicans* (ATCC[®] 90029[™]) avec un taux d'inhibition de 97,32%, un diamètre d'inhibition de 26,89mm, une CMI de 0,5µl/ml et une CMF de 2µl/ml.

Erel *et al.* (2012), ont testé l'activité antifongique de l'HE d'*A. vulgaris* (chémotype à 56,13% d' α -thuyone) sur une souche ATCC 10239 de *C. albicans* et ont trouvé ainsi un diamètre d'inhibition de 20mm, valeur inférieure à la nôtre. Rappelons que notre HE est un chémotype à camphre (15,32%).

Obistioiu *et al.* (2014) ont testé les HE commerciales de plusieurs espèces d'*Artemisia* sur une souche de *C. albicans* (ATCC 10231). Ils rapportent un diamètre d'inhibition pour *A. dracuncululus* de 15,5mm, celui pour *A. abrotanum* est 20,0mm, pour *A. absinthium* est de 17,0mm et celui d'*A. vulgaris* (à 65% d' α -thuyone) est de 12,5mm. Cette dernière valeur est inférieure au diamètre d'inhibition obtenu par notre huile essentielle, ceci peut être dû au type de chémotype et à la nature de la souche de *C. albicans*.

1.6.2 *Ocimum basilicum*

Avec un taux d'inhibition de 98,27%, une zone d'inhibition de 28,52mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml obtenus à la suite de nos test de l'HE d'*O. basilicum* sur *C. albicans*, il ressort de notre analyse que ce produit naturel est extrêmement efficace contre cet agent pathogène.

Chenni *et al.* (2016) ont testé l'activité antimicrobienne de deux variétés d'huile essentielle ; une provenant d'une extraction sans solvant par micro-onde (HE1) et l'autre obtenue par hydro-distillation conventionnelle (HE2), sur une souche de *C. albicans* ATCC 10231. Les diamètres d'inhibition étaient de 34mm pour HE1 et 31mm pour HE2, les CMI étaient respectivement de 30µl/ml et 40µl/ml. Les zones d'inhibition dépassent légèrement les nôtres, cependant, notre CMI était beaucoup plus faible.

Hzounda *et al.* (2014) ont testé les huiles essentielles de quatre espèces d'*Ocimum* qui sont *O. gratissimum*, *O. basilicum*, *O. canum* et *O. urticaefolium* sur plusieurs souches de *C. albicans* à savoir: *C. albicans* ATCC L26, *C. albicans* ATCC 12C et *C. albicans* ATCC 37039. Selon ces auteurs, l'HE d'*O. basilicum* était la deuxième huile la plus active sur toutes les souches derrière l'HE d'*Ocimum gratissimum*. La souche la plus sensible à l'HE d'*O. basilicum* était *C. albicans* ATCC L26 (CMI = $1,37 \pm 0,04\mu\text{g/ml}$) et la souche la plus résistante était *C. albicans* ATCC 37039 (CMI = $2,31 \pm 0,07\text{mg/ml}$). Ces résultats apparaissent plus performants que les

nôtres, cependant nous n'avons pas de données comparatives concernant le degré de résistance des souches sur lesquelles Hzounda *et al.* (2014) ont travaillé et celui de la nôtre (*C. albicans* ATCC® 90029™).

1.6.3 *Syzygium aromaticum*

C. albicans s'est montré extrêmement sensible à l'huile essentielle du *Sy. aromaticum*, avec un taux d'inhibition de 99,24%, une zone d'inhibition de 29,37mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Kouidhi *et al.* (2010) ont testé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Sy. aromaticum* sur 41 souches de *C. albicans*, la moyenne et l'écart type des zones d'inhibition étaient de 18,4mm. Valeurs significativement différentes de nos résultats. Pinto *et al.* (2009) ont travaillé avec une huile essentielle à 85,3% d'eugénol, pour la souche *C. albicans* ATCC 10231 et des souches cliniques, les CMI étaient de 0,64µl/ml tandis que les CMF variaient entre 0,64 à 1,25µl/ml. Thosar *et al.* (2013), ont testé l'eugénol seul sur le même germe qui a affiché les mêmes CMI et CMF. Ces mêmes auteurs en 2013, ont testé l'eugénol sur une souche ATCC 90028 de *C. albicans*, la CMI et la CMF étaient de 0,1µl/ml.

D'après ces résultats, l'eugénol semble être responsable en grande partie de l'activité antifongique, mais ceci n'élimine pas l'hypothèse qui stipule, selon Jouault (2012), que l'effet des huiles essentielles est le résultat de l'action de l'ensemble des constituants et que l'effet de l'HE est souvent supérieur aux constituants utilisés seuls.

Trajano *et al.* (2010) ont trouvé une CMI de 2,5µl/ml et une CMF de 5µl/ml pour la souche *C. albicans* ATCC 90028, pour une huile de *Sy. aromaticum* à 74,0% d'eugénol. Olama *et al.* (2013) ont travaillé sur cinq souches différentes de *C. albicans* isolées à partir d'échantillons oraux les patients de originaire du Liban, la moyenne des zones d'inhibition était de 27,84mm, celle des CMI était de 106,25µl/ml. La moyenne des CMF était de 200µl/ml.

Cette variation entre ces résultats et les nôtres est due à l'origine de la souche fongique et à la composition totale des huiles essentielles étudiées.

1.6.4 *Thymus vulgaris*

D'après nos résultats, l'huile essentielle du *T. vulgaris* est extrêmement efficace contre *C. albicans* avec un taux d'inhibition de 98,23%, un diamètre d'inhibition de 29,03mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Nombreux sont les auteurs qui se sont intéressés aux effets de cette huile essentielle sur les agents des candidoses. En effet, Borugă *et al.* (2014) ont trouvé pour des volumes croissant d'huile essentielle du *T. vulgaris* de 5, 10, 15 et 20µl, des zones d'inhibition respectives

croissantes de 15,14 ; 19,43 ; 25,74 et 30,2mm pour une souche de *C. albicans* (ATCC 10231).

Giordani *et al.* (2004) à leur tour ont testé l'activité anti- *C. albicans* de 5 chémotypes de *T. vulgaris* à thymol, bornéol, géraniol, linalool et thuyanol-4/terpinéol-4, les CMI étaient respectivement de 0,016 ; 1,937 ; 3,352 ; 4,579 et 5,915 μ l/ml. Le chémotype à thymol était le plus efficace avec une CMI largement inférieure à celle que nous avons trouvée.

Quant aux travaux de Lakis *et al.* (2012), ils ont montré que l'huile essentielle du *T. vulgaris* à 29,74% de thymol, testée sur une souche de *C. albicans* ATCC 10231 et des souches sauvages isolées à partir de la cavité buccale humaine, induit des diamètres d'inhibition respectifs de 44 et 38mm qui dépassent remarquablement l'effet de l'huile essentielle que nous avons testée (29mm).

1.6.5 *Origanum vulgare*

L'huile essentielle d'*Or. vulgare* a exercé un fort pouvoir antifongique contre *C. albicans* avec un taux d'inhibition de 98,29%, un diamètre d'inhibition de 30,07mm, une CMI de 0,25 μ l/ml et une CMF de 0,5 μ l/ml.

Nombreux sont les auteurs qui se sont intéressés à l'effet de l'*Or. vulgare* sur *C. albicans*. Cleff *et al.* (2010) ont testé l'activité anti-*C. albicans* d'un chémotype d'origan à 4-terpinéol (47,95%) d'origine chilienne et uruguayenne, contre neuf isolats de *C. albicans* (cinq provenant des muqueuses et téguments cutanées de chiens et quatre souches standard - ATCC 44858, 4053, 18804 et 3691), les CMI vis-à-vis des souches cliniques variaient entre 1,25 et 10 μ l/ml pour les huit HE, celles vis-à-vis des souches standard variaient entre 0,65 et 10 μ l/ml. Cette différence des CMI largement supérieure aux nôtres, est due au chémotype des HE étudiées et à la nature des souches fongiques testées (pouvoir virulent et acquisition de résistance).

Delić *et al.* (2013) ont également testé une huile essentielle d'*Or. vulgare*, d'origine commerciale, sur trois souches de *C. albicans*, une souche isolée du laboratoire, une souche d'origine pulmonaire humaine et une souche standard *C. albicans* ATCC 10231 et cela à des concentrations décroissantes allant de 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,63 et 0,31mg/ml. A la concentration de 5mg/ml, la souche isolée du laboratoire était la plus sensible avec un diamètre de 25mm, suivie de la souche d'origine pulmonaire humaine avec un diamètre de 19,40mm et enfin la souche standard *C. albicans* ATCC 10231 avec un diamètre de 17,70mm. L'effet antifongique était strictement proportionnel aux différentes concentrations, l'HE à des concentrations de 0,63 et 0,31mg/ml n'a pas d'effet antifongique (Delić *et al.*, 2013).

L'effet antifongique de l'HE d'*Or. vulgare*, selon la même étude menée par Delić *et al.* (2013) et selon la nôtre, est strictement proportionnel à la concentration en celle-ci. La différence entre les diamètres d'inhibition obtenus par les auteurs sus-cités et les nôtres pourrait être due à la composition globale de l'HE et à la nature de la souche fongique étudiée.

1.6.6 *Rosmarinus officinalis*

L'huile essentielle du *R. officinalis* a montré un fort pouvoir antifongique contre *C. albicans* avec un taux d'inhibition de 94,84%, un diamètre d'inhibition de 22,54mm, une CMI et une CMF de 1µl/ml.

Soliman *et al.* (1994) ont trouvé un diamètre d'inhibition de 3 à 6mm contre une souche de *C. albicans* (NIH B 311). Quant à Gauch *et al.* (2014), ils ont testé l'activité antifongique de l'huile essentielle du *R. officinalis* contre une souche de *C. albicans* (INCQS 49175). Les diamètres d'inhibition étaient de 45mm pour l'huile utilisée pure et de 13mm pour une émulsion à 8% en huile. Les CMI et CMF étaient respectivement de 0,5 et 1% en huile essentielle ce qui correspond à 5µl/ml et 10µl/ml, valeurs largement supérieures aux nôtres.

Sepehri *et al.* (2016) ont testé trois extraits (aqueux, éthanolique et d'acétate d'éthyle) du *R. officinalis* sur 9 souches de *C. albicans*. L'extrait aqueux était inefficace. Pour l'extrait éthanolique, les CMI et CMF les plus faibles de *R. officinalis* contre *C. albicans* étaient respectivement 25 et 50µl/ml, tandis que les CMI et CMF les plus élevées étaient 150 et 200µl/ml. Dans le cas de de l'extrait à l'acétate d'éthyle, les CMI et CMF les plus faibles étaient respectivement de 12,5 et 5,25µl/ml, tandis que les plus grandes étaient de 50 et 200µl/ml. D'après ces résultats l'HE du *R. officinalis* serait plus efficace que les extraits par solvant organiques.

2. *Candida glabrata*

2.1 Taux d'inhibition fongique

a-Effet des huiles essentielles et de la terbinafine sur *C. glabrata*

Les huiles essentielles étudiées ont montré un fort pouvoir d'inhibition anti-*C. albicans*, qui était en général strictement proportionnel à la concentration en huile essentielle (tableau 40a). A 100% (v/v), l'HE d'*A. vulgaris* a provoqué le taux d'inhibition le plus élevé (98,78%), celui de *Sy. aromaticum* était le plus faible parmi les six HE (86,55%), dépassant celui de la terbinafine qui était le moins important de tous les produits étudiés (83,85%).

La classification des HE et de la terbinafine à différentes concentrations (25, 50, 75 et 100%) en fonction des taux d'inhibition n'était pas la même. Le taux d'inhibition de l'HE d'*A. vulgaris* à 25% était inférieur à celui de l'HE du *T. vulgaris* (32,55% contre 42,12%) par contre à 100%

c'était l'HE qui avait induit le taux d'inhibition le plus élevé avec 98,78% contre 98,01% pour l'HE du *T. vulgaris*.

La classification par ordre décroissant des huiles essentielles à des concentrations de 100% en fonction du taux d'inhibition anti-*Candida glabrata* est la suivante: *A. vulgaris* > *T. vulgaris* > *Or. vulgare* > *R. officinalis* > *O. basilicum* > *Sy. aromaticum* > Terb.

Tableau 40a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de la terbinafine sur *C. glabrata*

Produit	Taux d'inhibition en %			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	32,55±0,25	33,95±1,36	78,95±1,94	98,78±2,84
<i>O. basilicum</i>	15,36±0,64	39,05±0,19	66,55±1,56	94,34±2,35
<i>Sy. aromaticum</i>	8,32±1,03	12,34±1,54	65,95±1,97	86,55±2,34
<i>T. vulgaris</i>	42,12±3,96	55,03±1,65	77,59±2,67	98,01±0,99
<i>Or. vulgare</i>	30,12±0,54	42,35±0,94	66,07±0,76	96,97±1,27
<i>R. officinalis</i>	29,54±0,13	35,95±0,56	59,34±1,56	94,67±0,79
Terb.	12,05±0,36	19,89±0,93	56,67±0,73	83,85±1,07

L'analyse statistique comparative des taux d'inhibition des huiles essentielles et de la terbinafine contre *C. glabrata* a montré qu'il y a une différence significative dans 69% des cas entre l'effet inhibiteur des différentes HE étudiées et de la terbinafine et ce à différentes concentrations et ce à différentes concentrations (tableau 40b).

Tableau 40b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de la terbinafine sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% S 75% NS 100% NS
<i>O. basilicum</i>			25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS 50% NS 75% S 100% S

b- Effet des associations entre les huiles essentielles sur le taux d'inhibition de *C. glabrata*

Les associations entre les huiles essentielles ont permis le plus souvent de renforcer le pouvoir d'inhibition anti-*C. glabrata* (tableau 41a). Les taux d'inhibition les plus élevés ont été observés pour les associations *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 60% (v/v) avec un taux de 99,02%, *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 50% avec un taux de 98,59% et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 80% avec un taux de 98,57%. Dans ces trois cas les effets dépassent significativement ceux des produits utilisés seuls. Le taux d'inhibition le plus faible a été observé pour l'association entre *A. vulgaris* et *O. basilicum* à 10% avec un taux d'inhibition de 92,22%.

Tableau 41a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. glabrata*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v. + O. b.</i>	92,22 ±2,49	93,25 ±1,47	95,27 ±3,12	97,03 ±2,67	98,52 ±2,33	99,02 ±2,58	98,13 ±2,16	96,35 ±2,56	99,12 ±2,67
<i>Sy. ar. + T. v.</i>	92,53 ±2,41	93,09 ±4,21	95,22 ±3,41	97,21 ±4,51	98,59 ±2,63	97,36 ±4,22	97,56 ±4,36	98,24 ±2,24	97,08 ±2,55
<i>Or. vu. + R. o.</i>	98,53 ±0,36	92,55 ±0,63	93,12 ±1,51	94,37 ±1,34	95,45 ±0,75	96,67 ±1,85	97,67 ±2,85	98,57 ±0,36	97,02 ±0,59

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des taux d'inhibition des associations entre huiles essentielles à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et la terbinafine à 100% contre *C. glabrata* a montré qu'il y a une différence significative dans 81% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/HE et HE seule ou terbinafine et ce à différents rapports (tableau 41b).

Tableau 41b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S
	40% NS	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% NS
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% NS	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% NS	30% NS	30% NS	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S
	50% S	50% NS	50% NS	50% NS	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% NS	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet de l'association des HE à la terbinafine sur le taux d'inhibition de *C. glabrata*

L'association des HE à la terbinafine a permis d'améliorer le pouvoir inhibiteur de ces produits y compris la terbinafine. Ce pouvoir inhibiteur n'était pas proportionnel au rapport HE/Terb.

Les taux d'inhibition les plus élevés, dépassant significativement ceux des deux produits utilisés, seuls ont été observés chez les associations: *A. vulgaris* + Terb. (à 50%) avec un taux de 98,93% et *Or. vulgare* + Terb. à 50% avec un taux de 99,28%. Les associations *O. basilicum* + Terb. à 40% avec un taux de 98,82%, *Sy. aromaticum* + Terb. à 60% avec un taux de 99,29% et *R. officinalis* + Terb. à 70% avec un taux de 97,05% ont donné également des effets supérieurs à ceux des deux produits utilisés seuls. Cependant la différence est significative par rapport à l'huile essentielle seule. L'unique association qui a induit un effet supérieur significativement à la terbinafine est *T. vulgaris* + Terb. à 40% avec un taux de 99,19% (tableau 42a).

Tableau 42a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et terbinafine sur *C. glabrata*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
A. v. + Terb.	91,11± 2,45	93,94± 2,36	96,66± 3,21	98,52± 5,13	98,93± 2,96	96,50± 4,54	98,23± 2,63	96,31± 4,22	98,45± 2,34
O. b. + Terb.	93,14± 5,08	96,87± 4,09	97,02± 3,69	98,82± 2,64	97,22± 2,08	95,76± 3,04	97,41± 2,52	94,24± 2,64	96,28± 3,13
Sy. ar. + Terb.	92,14± 2,13	94,04± 0,56	96,37± 1,12	97,04± 1,59	97,08± 1,57	99,29± 0,98	97,24± 0,99	95,75± 0,93	79,34± 0,85
T. v. + Terb.	96,02± 1,33	97,84± 3,25	98,61± 4,65	99,19± 4,06	92,22± 1,87	94,86± 2,22	96,01± 4,57	95,07± 6,15	89,15± 1,21
Or. vu. + Terb.	94,12± 0,36	95,25± 1,08	97,03± 3,11	98,54± 4,24	99,28± 5,06	98,12± 0,98	98,24± 0,95	96,62± 3,14	98,65± 1,03
R. o. + Terb.	92,05± 0,36	93,53± 1,34	94,56± 0,76	96,49± 0,84	96,98± 1,76	97,05± 1,09	94,94± 0,37	93,59± 1,07	78,85± 0,36

(A. v.= *A. vulgaris* ; O. b.= *O. basilicum* ; Sy. ar.= *Sy. aromaticum* ; T. v.= *T. vulgaris* ; Or. vu.= *Or. vulgare* ; R. o.= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition des associations, entre huiles essentielles et terbinafine à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et terbinafine à 100%, contre *C. glabrata* a montré qu'il y a une différence significative dans 77% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/Terb. et HE seule ou terbinafine et ce à différentes concentrations (tableau 42b).

Tableau 42b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et terbinafine sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% NS
	40% NS	40% NS	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% NS	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% NS	70% NS	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% NS	80% S	80% S
	90% NS	90% NS	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% S	70% NS	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% NS	50% S	50% NS
	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% NS
	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S
	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% NS	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% NS	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% NS
<i>Or. vulgare</i> + Terb.	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% NS	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% S	30% NS	30% NS	30% S	30% NS	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% NS	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS

2.2 Aromatogramme

a-Effet des huiles essentielles et de la terbinafine sur *C. glabrata*

Les huiles essentielles étudiées ont montré une grande efficacité contre *C. glabrata* traduite par de larges zones d'inhibition (figure 27). L'huile essentielle d'*Or. vulgare* s'est montrée plus efficace que les autres huiles même plus que la terbinafine avec un diamètre d'inhibition de 30,97mm à 100% (v/v) contre 25,67mm pour la terbinafine.



Figure 27: Zones d'inhibition produites chez *C. glabrata* sous l'effet des HE et de la terbinafine (1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; Terb= Terbinafine)

Les HE ont montré une forte activité antifongique et ce en fonction de la concentration. On a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci pour la même HE. La classification des HE en fonction de l'activité antifongique et des concentrations n'a pas été toujours la même (tableau 43a).

A des concentrations de 25 et 50% (v/v), c'est l'HE du *Sy. aromaticum* qui était la plus efficace contre *C. glabrata* (8,95mm et 10,26mm respectivement) tandis qu'à des concentrations de 75 et 100% (v/v), c'est l'HE d'*Or. vulgare* qui a provoqué un grand halo d'inhibition (30,97mm).

La classification des huiles essentielles et de la terbinafine en fonction du diamètre d'inhibition est la suivante: *Or. vulgare* > *T. vulgaris* > *Sy. aromaticum* > *O. basilicum* > *A. vulgaris* > terbinafine > *R. officinalis*.

Tableau 43a: Effets des HE et de la terbinafine sur *C. glabrata*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	6,35±0,12	8,12±1,97	24,56±0,95	27,59±1,12
<i>O. basilicum</i>	7,56±1,34	9,56±1,11	25,68±0,59	29,25±1,25
<i>Sy. aromaticum</i>	8,95±1,59	10,26±0,25	26,09±2,12	29,98±0,59
<i>T. vulgaris</i>	7,56±0,79	10,02±0,38	26,02±1,95	30,01±2,23
<i>Or. vulgare</i>	8,92±1,12	10,12±1,75	26,76±1,15	30,97±1,79
<i>R. officinalis</i>	5,26±0,16	6,03±2,75	17,34±0,16	23,05±1,07
Terb.	7,22±1,67	7,52±0,63	20,56±1,34	25,67±1,94

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des HE et de la terbinafine contre *C. glabrata* a montré qu'il y a une différence significative dans 64% des cas et entre l'effet des différentes HE étudiées et de la terbinafine et ce à différentes concentrations (tableau 43b).

Tableau 43b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de la terbinafine sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS
<i>O. basilicum</i>			25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% NS 100% NS	25% NS 50% NS 75% S 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% S 75% NS 100% NS	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% NS 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% NS 75% NS 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% S 50% S 75% S 100% S

b- Effet des associations HE/HE sur *C. glabrata*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant l'effet sur *C. glabrata*. Les diamètres des zones d'inhibition induits par ces associations sont souvent plus grands que ceux des produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. L'association entre huiles essentielles ayant un effet significativement supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls est *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 32,02mm. Concernant les autres associations, *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 32,94mm et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 70% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,36mm, leurs effets dépassent de manière significative l'effet de l'huile essentielle de *Sy. aromaticum* et celui de *R. officinalis* (figure 28 et tableau 44a).



Figure 28: Zones d'inhibition produites chez *C. glabrata* par association des HE étudiées
(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 10% (v/v))

Tableau 44a: Effets des associations entre HE sur *C. glabrata*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	22,36± 1,34	23,59± 1,37	24,59± 1,95	26,79± 1,54	27,03± 1,09	28,59± 1,77	29,01± 1,26	30,56± 0,91	32,02± 1,73
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	25,59± 1,13	26,89± 2,01	28,56± 1,38	29,91± 1,38	30,52± 2,09	31,75± 1,27	30,59± 0,59	29,54± 0,16	32,94± 1,07
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	31,36± 0,34	30,01± 1,07	29,64± 2,08	27,49± 1,74	27,02± 0,13	26,38± 0,81	26,02± 0,94	26,15± 0,94	27,16± 1,67

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (Test de Student) des diamètres d'inhibition des associations entre HE à différentes concentrations et HE seules et terbinafine à 100% contre *C. glabrata*, a montré qu'il y a une différence significative dans 77% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou terbinafine et ce à différentes concentrations (tableau 44b).

Tableau 44b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S
	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% NS
	70% S	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% NS	70% S
	80% S	80% NS	80% NS	80% S	80% S	80% NS	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% NS
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet des associations des HE à la terbinafine sur *C. glabrata*

Les associations des HE à la terbinafine ont montré une grande variabilité concernant les diamètres d'inhibition. Ces associations induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces dont les effets dépassent significativement ceux des deux produits utilisés seuls sont *A. vulgaris* + Terb. à 20% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,59mm, *O. basilicum* + Terb. à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,02mm, *T. vulgaris* + Terb.

à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,95mm et *R. officinalis* + Terb. à 50% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 26,71mm supérieur à ceux des deux produits utilisés seuls. D'autres associations ont par contre donné des effets qui sont supérieurs significativement à la Terb. seule, permettant ainsi de renforcer l'activité de la Terb. tout en diminuant la concentration de celle-ci. C'est le cas de *Sy. aromaticum* + Terb. à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,67mm et *Or. vulgare* + Terb. à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 29,89mm (figure 29 et tableau 45a).



Figure 29: Zones d'inhibition produites chez *C. glabrata* sous l'effet des associations entre HE et terbinafine (1= *A. vulgaris* + Terb. à 20% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + Terb. à 10% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + Terb. à 10% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + Terb. à 10% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + Terb. à 10% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + Terb. à 50% (v/v))

Tableau 45a: Effets des associations entre HE et la terbinafine sur *C. glabrata*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentrations (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + Terb.	29,56± 1,38	30,59± 0,36	29,84± 1,16	28,37± 1,67	28,67± 1,34	27,68± 1,19	27,94± 1,09	26,86± 1,03	25,84± 0,94
<i>O. b.</i> + Terb.	30,02± 0,37	29,56± 0,39	28,28± 0,95	27,94± 1,06	26,98± 1,95	25,69± 0,92	24,74± 2,01	26,59± 0,97	25,61± 1,99
<i>Sy. ar.</i> + Terb.	29,67± 0,67	28,59± 0,38	27,93± 0,64	26,98± 1,92	25,59± 0,69	25,05± 0,59	26,94± 1,03	25,67± 0,92	24,69± 0,19
<i>T. v.</i> + Terb.	31,95± 0,16	30,01± 0,98	29,59± 0,96	28,59± 1,93	27,91± 1,09	26,92± 0,93	26,01± 1,08	25,59± 0,13	24,96± 1,09
<i>Or. vu.</i> + Terb.	29,89± 1,25	28,91± 1,18	27,95± 1,67	26,85± 2,03	26,17± 0,73	25,94± 1,08	26,07± 1,09	25,67± 0,37	25,09± 1,18
<i>R. o.</i> + Terb.	26,59± 0,37	25,79± 1,67	24,67± 0,16	25,91± 0,95	26,71± 1,32	25,75± 0,18	24,55± 0,56	24,85± 1,92	24,51± 1,03

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student) des diamètres d'inhibition, des associations entre HE et terbinafine à différentes concentrations et HE seules et terbinafine à 100% contre *C. glabrata*, a montré qu'il y a une différence significative dans 80% des cas entre l'effet des associations HE/Terb. et HE seule ou terbinafine et ce à différentes concentrations et cela à différentes concentrations (tableau 45b).

Tableau 45b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et la terbinafine sur *C. glabrata*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	Terb.
<i>A. vulgaris</i> + Terb.	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% NS	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% S	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% NS
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS
<i>Sy. aromaticum</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% NS
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% NS	40% S
	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% NS	60% NS	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>T. vulgaris</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% NS
	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare</i> + Terb.	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS
	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS
	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + Terb.	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% NS
	90% S	90% NS	90% NS	90% S	90% S	90% NS	90% NS

2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF) a montré que *C. glabrata* était très sensible aux huiles essentielles étudiées ainsi qu'à la terbinafine. Les rapports CMF/CMI, pour tous les produits, ont été inférieurs ou égaux à 4 ce qui permet de les qualifier comme fongicides (tableau 46).

Tableau 46: CMI et CMF des HE et de la terbinafine efficaces contre *C. glabrata*

Produit	CMI*	CMF*
<i>A. vulgaris</i>	0,25	0,5
<i>O. basilicum</i>	0,25	0,5
<i>Sy. aromaticum</i>	0,25	0,5
<i>T. vulgaris</i>	0,125	0,5
<i>Or. vulgare</i>	0,25	0,5
<i>R. officinalis</i>	0,5	1
Terb.	16	64

*Les CMI et CMF des huiles essentielles sont exprimées en µl/ml et celles de la terbinafine en µg/ml

2.4 Indice de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF)

L'étude des ICFI et ICFF a permis de déceler six interactions synergiques potentialisatrices et trois additives pour l'effet inhibiteur. Pour l'effet fongicide toutes les interactions étaient de type additif. L'ICFI le plus faible a été obtenu pour l'association entre *A. vulgaris* + *O. basilicum* (0,436) et l'ICFF le plus faible a été obtenu pour l'association entre *O. basilicum* + Terb. (0,784). Les valeurs représentées dans le tableau 47 sont les valeurs minimales.

Tableau 47: Valeurs minimales des ICFI et ICFF des associations entre HE et terbinafine contre *C. glabrata*

Association	ICFI	Interprétation	ICFF	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	0,436	Synergie potentialisatrice	0,846	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	0,492	Synergie potentialisatrice	0,909	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	0,846	Effet additif	0,985	Effet additif
<i>A. vulgaris</i> + Terb.	0,408	Synergie potentialisatrice	0,843	Effet additif
<i>O. basilicum</i> + Terb.	0,453	Synergie potentialisatrice	0,784	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + Terb.	0,439	Synergie potentialisatrice	0,853	Effet additif
<i>T. vulgaris</i> + Terb.	0,947	Effet additif	0,948	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + Terb.	0,437	Synergie potentialisatrice	0,966	Effet additif
<i>R. officinalis</i> + Terb.	0,976	Effet additif	0,964	Effet additif

2.5 Cinétique des ICFI et ICFF

La cinétique des ICFI et ICFF a montré que les interactions synergiques huile essentielle/huile essentielle et huile essentielle/terbinafine varient en fonction des rapports d'association entre ces derniers (figures 30 et 31).

La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFF n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. Le ICFI et le ICFF les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) (0,436) et l'association *O. basilicum* + Terbinafine à 10% (v/v) (0,784). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *Sy. aromaticum* + Terbinafine a montré, pour l'effet inhibiteur, un effet synergique à 10%, un effet additif à 20%, un effet indifférent à 40% et un effet antagoniste à

70%. Pour l'effet fongicide, l'association *O. basilicum* + Terbinafine a montré un effet additif à 10%, un effet indifférent à 30% et un effet antagoniste à 50%.

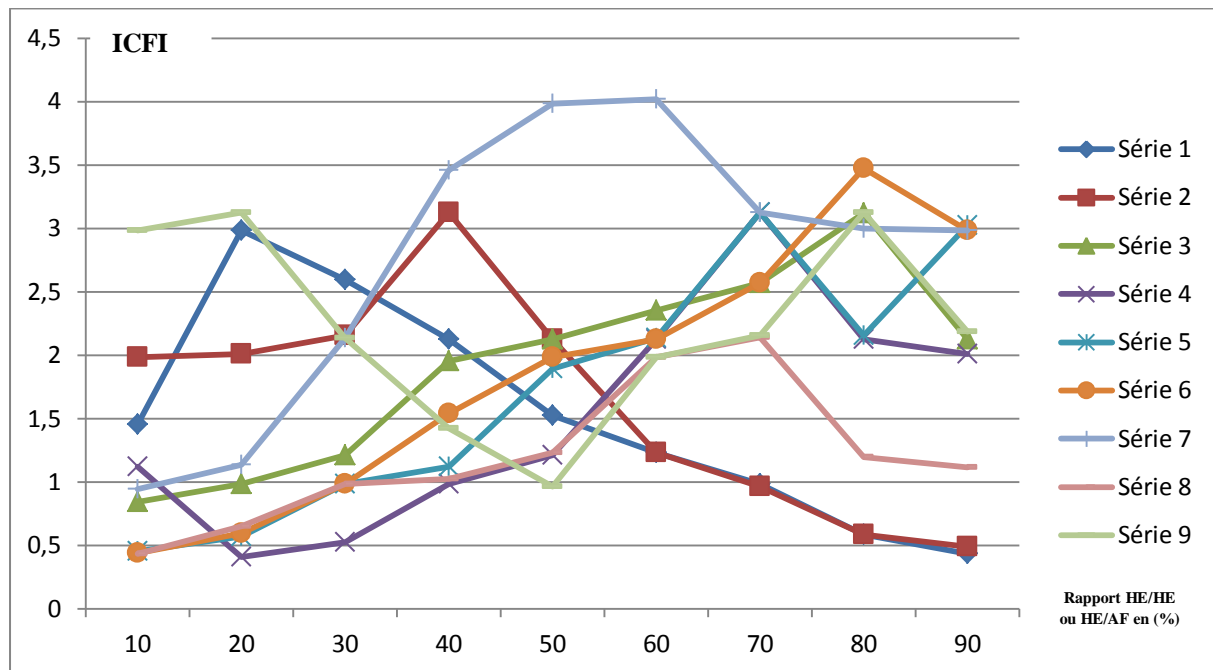


Figure 30: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. glabrata*

(Série 1=*A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2=*Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3=*Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4=*A. vulgaris*/Terbinafine ; Série 5=*O. basilicum*/Terbinafine ; Série 6=*Sy. aromaticum*/Terbinafine ; Série 7=*T. vulgaris*/Terbinafine ; Série 8=*Or. vulgare*/Terbinafine ; Série 9=*R. officinalis*/Terbinafine ; HE=Huile essentielle ; AF=Antifongique)

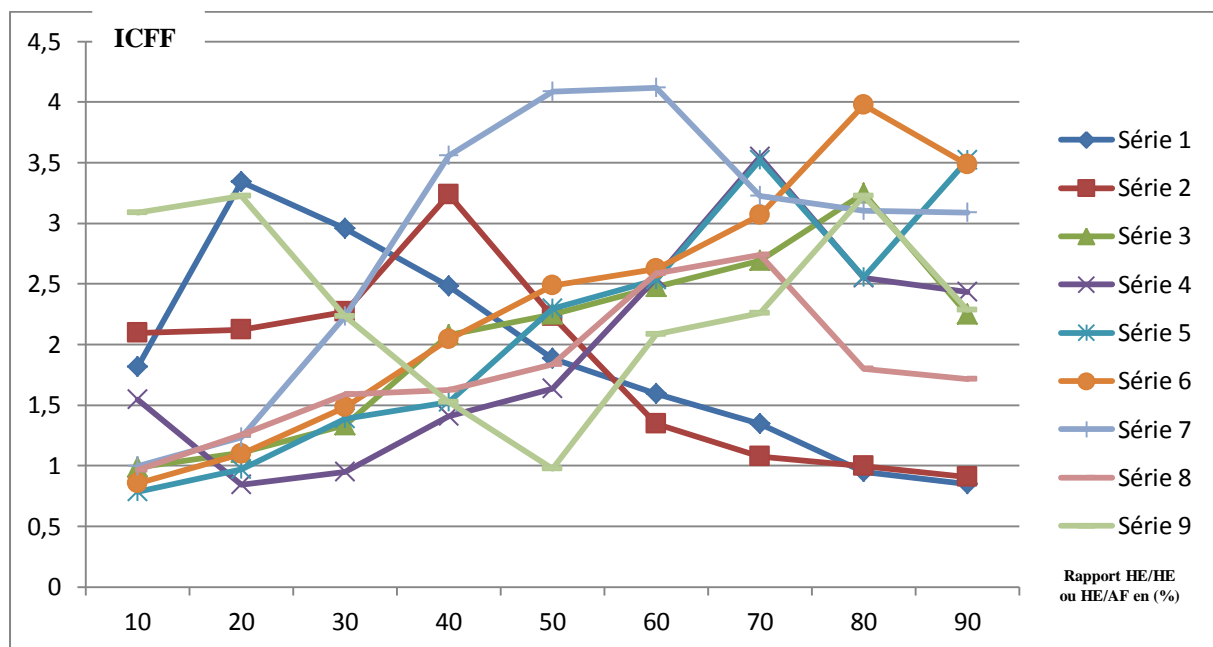


Figure 31: Cinétique de la variation de l'ICFF en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. glabrata*

(Série 1=*A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2=*Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3=*Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4=*A. vulgaris*/Terbinafine ; Série 5=*O. basilicum*/Terbinafine ; Série 6=*Sy. aromaticum*/Terbinafine ; Série 7=*T. vulgaris*/Terbinafine ; Série 8=*Or. vulgare*/Terbinafine ; Série 9=*R. officinalis*/Terbinafine ; HE=Huile essentielle ; AF=Antifongique)

2.6 Discussion

2.6.1 *Artemisia vulgaris*

C. glabrata s'est montrée extrêmement sensible à l'huile essentielle d'*A. vulgaris* avec un taux d'inhibition de 98,78%, un diamètre d'inhibition de 27,59mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Khosravi *et al.* (2011) ont testé l'huile essentielle d'une autre espèce d'*Artemisia*, *A. sieberia* à l'encontre de 16 isolats de *C. glabrata* obtenus à partir de patients atteints de candidose vulvovaginales. Tous ces isolats étaient sensibles à cette HE et l'activité inhibitrice était dépendante de la concentration. Les valeurs des CMI variaient de 37,4 à 4781,3µg/ml avec une moyenne de 1496,4µg/ml, celles de CMF variaient de 597,6µg/ml à 4781,3µg/ml. On en déduit que l'HE d'*A. vulgaris* que nous avons testée est beaucoup plus performante sur cet agent pathogène avec une CMI de 0,25µl/ml.

2.6.2 *Ocimum basilicum*

C. glabrata s'est montré extrêmement sensible à l'huile essentielle d'*O. basilicum* avec un taux d'inhibition de 94,34%, une zone d'inhibition de 29,25mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml. L'effet de l'HE d'*O. basilicum* sur les trois espèces de *Candida* est presque le même. A notre connaissance aucune étude ne signale l'activité anti-*C. glabrata* de l'huile essentielle d'*O. basilicum*.

2.6.3 *Syzygium aromaticum*

C. glabrata s'est montré extrêmement sensible à l'huile essentielle du *Sy. aromaticum*, avec un taux d'inhibition de 86,55%, une zone d'inhibition de 29,98mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Suman *et al.* (2017), ont testé l'HE du *Sy. aromaticum* provenant du commerce sur *C. glabrata*. Le diamètre d'inhibition était de 36mm dépassant ainsi le diamètre que nous avons enregistré. La composition de l'HE testée par les auteurs sus-cités n'a pas été mentionnée ce qui ne permet pas d'expliquer cette différence d'effet antifongique.

Selon l'étude menée par Pinto *et al.* (2009), les CMI et CMF respectives pour un isolat clinique de *C. glabrata* étaient de 0,64µl/ml et 0,64 à 1,25µl/ml. Mêmes valeurs que pour *C. albicans* lors de la même étude. Chaieb *et al.* (2007) ont testé une HE de *Sy. aromaticum* à 88,6% d'eugénol et 5,6% d'acétate d'eugényle sur deux souches cliniques de *C. glabrata*, la zone d'inhibition était de 15,33mm pour une charge de disque de 10µl.

Bhat *et al.* (2014) ont testé l'huile essentielle du *Sy. aromaticum* sur une souche clinique de *C. glabrata*, la zone d'inhibition était de 30 mm pour une charge de 20µl d'huile essentielle.

D'après ces résultats, l'HE du *Sy. aromaticum* semble très efficace contre *C. glabrata*, efficacité due selon Chaieb *et al.* (2007) au caractère lipophile de l'HE et à l'eugénol en raison de son noyau aromatique et de la présence d'un groupement hydroxyle libre du phénol. Raison probable pour laquelle *C. glabrata* s'est montré extrêmement sensible à notre HE hautement riche en eugénol (80,92%).

2.6.4 *Thymus vulgaris*

L'exposition de *C. glabrata* à l'huile essentielle du *T. vulgaris* a donné un taux d'inhibition de 98,01%, une zone d'inhibition de 30,01mm, une CMI de 0,125µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

On déduit que l'HE de *T. vulgaris* est extrêmement efficace contre cet agent pathogène.

Selon Pinto *et al.* (2009) les CMI et CMF contre deux souches cliniques de *C. glabrata* variaient de 0,32 à 0,64µl/ml. Cette CMI dépasse le double de ce que nous avons obtenu.

Ložienė *et al.* (2008) ont évalué l'activité anti-*C. glabrata* de trois chémotypes d'HE provenant de *Thymus pulegioides*: à linalool, à thymol et à géraniol avec des volumes de 10µl. Les diamètres d'inhibition étaient respectivement de 11,3 ; 33,6 et 14,3mm. Le chémotype à thymol était le plus efficace comme pour *C. albicans* avec un diamètre d'inhibition proche du notre. Sachant que notre HE est aussi un chémotype à thymol (45,12%). Cependant *C. glabrata* n'est pas toujours sensible au *T. vulgaris*, en effet, Soares *et al.* (2015) ont testé l'huile essentielle du *T. vulgaris* sur deux souches de *C. glabrata*: une sensible au fluconazole et une résistante. L'huile essentielle n'a pas pu inhiber la croissance des deux souches de cet agent pathogène (CMI supérieure à 3200µl/ml).

2.6.5 *Origanum vulgare*

L'huile essentielle d'*Or. vulgare* a exercé un effet antifongique puissant sur *C. glabrata* avec un taux d'inhibition de 96,97%, un diamètre d'inhibition de 30,97mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Selon l'étude menée par Khosravi *et al.* (2011) les diamètres d'inhibition contre 16 isolats de *C. glabrata* variaient entre 18 et 40mm. Les CMI variaient entre 0,3 et 1100µl/ml et les CMF variaient entre 2,2 et 2200µl/ml. Selon d'autres travaux, ces CMI variaient entre 150 et 250µl/ml. Ces derniers résultats ont été rapportés par Vahedi *et al.* (2016) à l'encontre des souches cliniques de *C. glabrata* prélevées sur muqueuses de la cavité buccales de candidoses oropharyngées chez des patients VIH-positifs. Ce qui explique les valeurs élevées de ces CMI par rapport aux nôtres vu la faible résistance de notre souche standard par rapport à ces souches cliniques souvent multirésistantes.

2.6.6 *Rosmarinus officinalis*

C. glabrata était sensible à l'HE du *R. officinalis* avec un taux d'inhibition de 94,67%, un diamètre d'inhibition de 23,05mm, une CMI de 0,5µl/ml et une CMF de 1µl/ml.

Pintore *et al.* (2009) ont testé l'huile essentielle du *R. officinalis* à 37,6% de 1,8-cinéol sur 6 souches cliniques de *C. glabrata*, les CMI variaient entre 1,5 et 12,5µl/ml, les CMF variaient entre 12,5 et supérieure à 25µl/ml.

Ces valeurs sont nettement supérieures aux nôtres. Ceci peut être expliqué par la résistance des souches cliniques utilisées ainsi que par la teneur relativement faible en 1,8-cinéol par rapport à notre échantillon qui contient 41,04%.

Soares *et al.* (2015) ont trouvé une CMI supérieure à 3,2µl/ml à l'encontre de deux souches de *C. glabrata*: une résistante au fluconazole et une deuxième sensible, pour une HE, provenant des États-Unis, composée majoritairement de 1,8-cinéol (28,59%) et du camphre (26,31%) contre 41,04% et 14,35% respectivement pour la nôtre.

Cependant, un chémotype à 30,4% d' α -pinène, 23,3% de 1,8-cinéol et 15,9% de camphre provenant de Bulgarie s'est montrée inefficace contre *C. glabrata* (Zheljazkov *et al.*, 2015). Ceci suggère que le chémotype à 1,8-cinéol est plus efficace que celui à α -pinène.

3. *Candida krusei*

3.1 Taux d'inhibition fongique

a- Effet des huiles essentielles et d'amphotéricine B sur *C. krusei*

Les huiles essentielles étudiées ont montré un fort pouvoir d'inhibition anti-*C. krusei*, qui était en général strictement proportionnel à la concentration en huile essentielle (tableau 48a).

L'HE d'*A. vulgaris* a provoqué le taux d'inhibition le plus élevé (98,75%), celui de l'HE de *Sy. aromaticum* était le plus faible parmi les six HE testées (87,98%), tandis que celui de l'amphotéricine B était le moins performant de tous les produits étudiés (84,59%).

La classification par ordre décroissant des huiles essentielles et de l'amphotéricine B à des concentrations de 100% en fonction du taux d'inhibition anti-*Candida krusei* est la suivante:

A. vulgaris > *T. vulgaris* > *Or. vulgare* > *R. officinalis* > *O. basilicum* > *Sy. aromaticum* > AmB

Tableau 48a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B sur *C. krusei*

Produit	Taux d'inhibition en %			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	33,25±1,34	35,59±0,94	77,94±1,95	98,75±0,49
<i>O. basilicum</i>	16,86±1,03	40,12±0,37	67,59±1,07	95,25±0,97
<i>Sy. aromaticum</i>	9,12±1,03	13,52±1,09	66,84±1,19	87,98±1,93
<i>T. vulgaris</i>	45,75±0,18	57,03±1,37	78,95±1,85	98,03±1,07
<i>Or. vulgare</i>	31,08±1,07	43,84±0,97	67,59±0,78	97,01±1,07
<i>R. officinalis</i>	30,07±0,18	36,84±0,76	60,08±0,97	95,57±0,93
AmB	13,51±0,74	20,84±1,07	57,84±0,67	84,59±0,76

L'analyse statistique comparative, des taux d'inhibition des huiles essentielles et de l'amphotéricine B contre *C. krusei*, a montré qu'il y a une différence significative dans 70% des cas entre l'effet inhibiteur des différentes HE étudiées et de l'amphotéricine B et ce à différentes concentrations (tableau 48b).

Tableau 48b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% NS 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% NS 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% NS 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% NS 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% S 50% NS 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% S 50% NS 75% NS 100% NS

b- Les associations entre les huiles essentielles sur *C. krusei*

Les associations entre les huiles essentielles ont permis le plus souvent de renforcer le pouvoir d'inhibition anti-*C. albicans*. Les taux d'inhibition les plus élevés ont été observés pour l'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 50% (v/v) avec un taux de 98,67% supérieur

significativement à celui d'*O. basilicum* seul. Les associations *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 50% et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 80% ont donné des taux d'inhibition respectifs de 98,57% et 84% dépassant largement ceux des deux produits utilisés seuls (différence statistiquement significative) (tableau 49a).

Tableau 49a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. krusei*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	93,54± 0,75	94,85± 1,24	96,45± 0,76	97,89± 1,07	98,67± 0,76	99,82± 0,34	98,76± 0,57	96,78± 0,76	99,07± 0,37
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	92,89± 0,76	94,03± 0,84	96,73± 0,38	97,95± 1,16	98,57± 1,04	97,67± 0,63	97,98± 0,70	98,25± 0,98	97,86± 1,60
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	98,02± 1,23	93,57± 0,34	94,01± 1,37	94,98± 1,03	96,07± 0,76	96,89± 0,17	97,99± 1,80	98,84± 1,57	97,78± 1,34

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student), des taux d'inhibition des associations entre huiles essentielles à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et la amphotéricine B à 100% contre *C. glabrata*, a montré qu'il y a une différence significative dans 81% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/HE et HE seule ou amphotéricine B et ce à différents rapports (tableau 49b).

Tableau 49b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% NS	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% NS	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% NS	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S
	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS
	70% NS	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% NS
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet des associations des HE à l'AmB sur *C. krusei*

L'association des HE à l'AmB a permis d'améliorer le pouvoir inhibiteur de ces produits y compris l'AmB. Ce pouvoir inhibiteur n'était pas proportionnel au rapport HE/AmB.

Les taux d'inhibition les plus élevés dont les effets dépassent significativement ceux des produits utilisés seuls sont induits par les associations: *A. vulgaris* + AmB à 40% pour un taux de 98,89%, *O. basilicum* + AmB à 40% avec un taux de 98,90%, *Sy. aromaticum* + AmB à 60% avec un taux de 99,01%, *T. vulgaris* + AmB à 40% avec un taux de 99,10%, *Or. vulgare* + AmB à 50% avec un taux de 99,67% et enfin *R. officinalis* + AmB à 60% avec un taux de 98,05%. L'effet le plus faible a été obtenu par l'association *R. officinalis* + AmB à 90% (v/v), avec un taux d'inhibition de 79,54% (tableau 50a).

Tableau 50a: Taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et l'amphotéricine B sur *C. krusei*

Produit	Taux d'inhibition en %								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + AmB	91,02± 1,89	94,01± 0,57	96,89± 1,07	98,89± 1,27	98,79± 1,75	95,76± 1,64	98,70± 0,17	96,71± 1,79	98,24± 2,07
<i>O. b.</i> + AmB	94,75± 0,37	96,78± 1,51	97,07± 1,95	98,90± 0,17	97,82± 0,82	95,78± 0,37	97,98± 1,37	95,57± 1,30	96,17± 1,27
<i>Sy. ar.</i> + AmB	92,87± 1,50	94,84± 1,55	96,89± 1,75	98,21± 1,85	97,82± 1,20	99,01± 1,94	98,57± 1,30	96,03± 0,17	79,89± 1,40
<i>T. v.</i> + AmB	96,87± 1,02	98,54± 1,85	98,79± 1,09	99,10± 1,57	93,12± 1,81	95,17± 1,32	96,89± 2,01	96,01± 2,09	89,85± 1,92
<i>Or. vu.</i> + AmB	95,24± 2,85	96,81± 0,37	98,51± 0,37	98,68± 1,51	99,67± 0,80	98,93± 1,04	98,99± 1,08	96,79± 1,31	98,90± 1,58
<i>R. o.</i> + AmB	93,56± 2,07	94,45± 0,37	96,45± 0,37	96,51± 0,76	97,51± 1,37	98,05± 0,09	95,15± 0,37	94,04± 0,15	79,54± 0,75

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student), des taux d'inhibition des associations entre huiles essentielles et amphotéricine B à différentes concentrations et les huiles essentielles seules et amphotéricine B à 100% contre *C. krusei*, a montré qu'il y a une différence significative dans 78% des cas entre l'effet inhibiteur des associations HE/AmB et HE seule ou amphotéricine B et ce à différentes concentrations (tableau 50b).

Tableau 50b: Analyse statistique comparative (test de Student) des taux d'inhibition obtenus sous l'effet des associations entre HE et l'amphotéricine B sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>O. basilicum</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>T. vulgaris</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>Or. vulgare.</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S
<i>R. officinalis</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS	20% NS
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS	80% NS
	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

3.2 Aromatogramme

a-Effet des huiles essentielles et de l'amphotéricine B sur *C. krusei*

Les huiles essentielles étudiées ont montré une grande efficacité contre *C. krusei* traduite par de larges zones d'inhibition (figure 32). L'huile essentielle du *T. vulgaris* s'est montrée plus efficace que les autres huiles voire même plus que l'amphotéricine B avec un diamètre d'inhibition de 31,15mm à 100% (v/v) contre 20,75mm pour l'amphotéricine B.

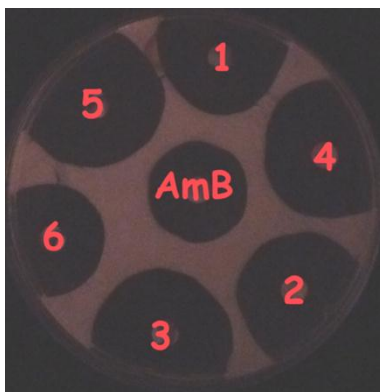


Figure 32: Zones d'inhibition produites chez *C. krusei* sous l'effet des HE et de l'amphotéricine B
(1= *A. vulgaris* ; 2= *O. basilicum* ; 3= *Sy. aromaticum* ; 4= *T. vulgaris* ; 5= *Or. vulgare* ; 6= *R. officinalis* ; AmB= Amphotéricine B)

Les HE ont montré une forte activité antifongique et ce en fonction de la concentration, on a noté une activité strictement proportionnelle à celle-ci. La classification des HE en fonction de l'activité antifongique et des concentrations n'était pas toujours la même pour toutes les gammes de concentrations sauf pour le cas de l'HE du *R. officinalis* et de l'AmB à 50% (v/v) où les diamètres d'inhibition étaient respectivement de 7,78mm et de 9,15mm tandis qu'à 100% (v/v) les diamètres étaient respectivement de 24,51mm et de 20,75mm (tableau 51a).

La classification des huiles essentielles et de l'amphotéricine B en fonction du diamètre d'inhibition est la suivante: *T. vulgaris* > *Or. vulgare* > *Sy. aromaticum* > *O. basilicum* > *A. vulgaris* > *R. officinalis* > Amphotéricine B.

Tableau 51a: Effets des HE et de l'amphotéricine B sur *C. krusei*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm			
	Concentrations (v/v)			
	25%	50%	75%	100%
<i>A. vulgaris</i>	6,78±1,13	9,03±1,03	25,06±1,03	27,95±0,16
<i>O. basilicum</i>	7,98±0,36	10,02±1,52	25,49±1,80	29,89±1,07
<i>Sy. aromaticum</i>	9,12±1,12	11,54±1,08	27,01±1,09	30,35±1,15
<i>T. vulgaris</i>	8,26±0,94	11,12±1,09	27,51±1,91	31,15±0,84
<i>Or. vulgare</i>	9,13±1,03	12,75±0,19	27,32±1,12	31,01±0,94
<i>R. officinalis</i>	6,45±1,05	7,78±0,19	19,07±1,16	24,51±1,60
AmB	8,34±0,14	9,15±0,76	18,76±0,19	20,75±0,37

L'analyse statistique comparative (test de Student), des diamètres d'inhibition des HE et de l'amphotéricine B contre *C. krusei*, a montré qu'il y a une différence significative dans 76% des cas entre l'effet des différentes HE étudiées et de l'amphotéricine B et ce à différentes concentrations (tableau 51b).

Tableau 51b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des HE et de l'amphotéricine B sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i>		25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>O. basilicum</i>			25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Sy. aromaticum</i>				25% S 50% S 75% NS 100% S	25% S 50% S 75% S 100% S	25% S 50% S 75% S 100% NS	25% NS 50% S 75% S 100% NS
<i>T. vulgaris</i>					25% S 50% NS 75% NS 100% NS	25% S 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% S 75% S 100% S
<i>Or. vulgare</i>						25% NS 50% S 75% S 100% S	25% NS 50% NS 75% S 100% S
<i>R. officinalis</i>							25% NS 50% S 75% S 100% S

b- Effet des associations HE/HE contre *C. Krusei*

Les associations HE/HE ont montré une grande variabilité concernant leurs effets sur *C. krusei*. Elles induisaient des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires. Les associations les plus efficaces sont *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 33,15mm, *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 60% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,98mm et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 20% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,75mm. Leurs effets dépassent de manière significative respectivement les effets d'*A. vulgaris*, *Sy. aromaticum* et *R. officinalis*. (figure 33 et tableau 52a).



Figure 33: Zones d'inhibition produites chez *C. krusei* par association des HE étudiées
(1= *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) ; 2= *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 60% (v/v) ; 3= *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 20% (v/v))

Tableau 52a: Effets des associations entre HE sur *C. krusei*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + <i>O. b.</i>	23,05± 0,75	23,57± 0,76	24,03± 0,50	26,79± 0,65	27,65± 0,71	28,92± 0,71	29,81± 0,37	30,71± 0,16	33,15± 0,34
<i>Sy. ar.</i> + <i>T. v.</i>	26,05± 0,74	26,72± 0,37	28,01± 0,13	28,03± 0,45	30,98± 0,75	31,09± 0,95	30,07± 0,24	29,85± 0,75	30,84± 0,70
<i>Or. vu.</i> + <i>R. o.</i>	28,56± 0,92	30,75± 0,37	29,71± 0,67	27,01± 0,34	27,51± 0,34	26,74± 0,97	26,75± 1,22	27,01± 1,90	27,94± 0,16

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student), des diamètres d'inhibition des associations entre HE à différentes concentrations et HE seules et amphotéricine B à 100% contre *C. krusei*, a montré qu'il y a une différence significative dans 75% des cas entre l'effet des associations HE/HE et HE seule ou amphotéricine B et ce à différentes concentrations et cela à différentes concentrations (tableau 52b).

Tableau 52b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S
	60% NS	60% NS	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% NS	80% S
	90% S	90% NS	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% NS
	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S	50% S
	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S
	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% NS	10% S	10% NS
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS
	30% NS	30% NS	30% S	30% NS	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS	60% S
	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
	90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S

c- Effet des associations des HE à l'AmB sur *C. krusei*

Les associations des HE à l'AmB ont montré une grande variabilité concernant leurs effets sur *C. krusei*. Elles ont induit des zones d'inhibition souvent plus grandes que les produits utilisés seuls, mais à des proportions non linéaires.

Les associations qui ont donné des effets dépassant significativement ceux des deux produits utilisés seuls sont, *A. vulgaris* + AmB à 20% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,78mm,

O. basilicum + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 31,07mm et *T. vulgaris* + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 32,02mm.

Les associations qui ont donné des effets supérieurs statistiquement à celui de l'AmB seul sont *Sy. aromaticum* + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,12mm, *T. vulgaris* + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 32,02mm, *Or. vulgare* + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 30,15mm et *R. officinalis* + AmB à 10% (v/v) avec un diamètre d'inhibition de 27,56mm (figure 34 et tableau 53a).



Figure 34: Zones d'inhibition produites chez *C. krusei* sous l'effet des associations entre HE et amphotéricine B

(1= *A. vulgaris* + AmB à 20% (v/v) ; 2= *O. basilicum* + AmB à 10% (v/v) ; 3= *Sy. aromaticum* + AmB à 10% (v/v) ; 4= *T. vulgaris* + AmB à 10% (v/v) ; 5= *Or. vulgare* + AmB à 10% (v/v) ; 6= *R. officinalis* + AmB à 10% (v/v))

Tableau 53a: Effets des associations entre les HE et l'amphotéricine B sur *C. krusei*

Produit	Diamètres d'inhibition en mm								
	Concentration (v/v)								
	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%
<i>A. v.</i> + AmB	29,84± 1,12	30,78± 1,20	29,84± 1,27	28,97± 1,07	29,12± 0,17	27,84± 0,12	27,98± 0,44	27,45± 0,74	26,74± 0,34
<i>O. b.</i> + AmB	31,07± 0,84	29,71± 1,04	28,64± 0,98	28,64± 0,17	27,64± 0,34	26,41± 0,92	25,64± 0,37	27,64± 0,90	26,48± 0,62
<i>Sy. ar.</i> + AmB	30,12± 0,98	29,41± 1,31	28,41± 1,03	27,13± 0,81	26,81± 1,04	26,45± 0,11	27,12± 0,18	26,84± 1,16	25,34± 0,37
<i>T. v.</i> + AmB	32,02± 0,17	31,05± 1,49	30,51± 1,50	29,12± 1,95	29,03± 1,02	27,51± 1,09	27,45± 0,84	26,75± 0,95	26,45± 0,98
<i>Or. vu.</i> + AmB	30,15± 0,34	29,23± 0,51	28,95± 0,45	27,02± 0,67	27,15± 0,96	26,05± 0,59	27,56± 0,16	26,54± 1,07	26,75± 0,98
<i>R. o.</i> + AmB	27,56± 0,92	26,46± 0,90	25,04± 1,06	26,04± 1,17	27,03± 1,05	26,23± 0,98	25,56± 0,94	25,46± 0,90	25,19± 1,37

(*A. v.*= *A. vulgaris* ; *O. b.*= *O. basilicum* ; *Sy. ar.*= *Sy. aromaticum* ; *T. v.*= *T. vulgaris* ; *Or. vu.*= *Or. vulgare* ; *R. o.*= *R. officinalis*)

L'analyse statistique comparative (test de Student), des diamètres d'inhibition des associations HE/AmB et HE ou amphotéricine B contre *C. krusei*, a montré qu'il y a une différence significative dans 83% des cas entre l'effet des associations HE/AmB et HE seule ou amphotéricine B et ce à différentes concentrations (tableau 53b).

Tableau 53b: Analyse statistique comparative (test de Student) des effets des associations entre HE et amphotéricine B sur *C. krusei*

	<i>A. vulgaris</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>Sy. aromaticum</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>Or. vulgare</i>	<i>R. officinalis</i>	AmB
<i>A. vulgaris</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% NS	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% NS	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% NS	50% S	50% S
	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S
	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	
<i>O. basilicum</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>Sy. aromaticum</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S	60% NS
	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% NS	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	
<i>T. vulgaris</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% NS	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% NS	40% S	40% NS
	50% NS	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% NS
	70% S	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% S	70% S
	80% NS	80% NS	80% NS	80% S	80% NS	80% NS	80% S
90% S	90% NS	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	
<i>Or. vulgare.</i> + AmB	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S
	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S	40% S
	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S	50% S
	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S	60% S
	70% S	70% S	70% S	70% NS	70% NS	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% NS	80% S	80% NS	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	
<i>R. officinalis</i> + AmB	10% S	10% NS	10% S	10% S	10% S	10% NS	10% S
	20% S	20% S	20% S	20% S	20% NS	20% S	20% S
	30% S	30% S	30% S	30% S	30% S	30% NS	30% NS
	40% NS	40% NS	40% S	40% NS	40% S	40% NS	40% NS
	50% S	50% NS	50% S	50% S	50% NS	50% S	50% NS
	60% S	60% S	60% S	60% S	60% NS	60% S	60% S
	70% NS	70% S	70% NS	70% S	70% S	70% S	70% S
	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S	80% S
90% S	90% S	90% S	90% S	90% S	90% NS	90% S	

3.3 Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF)

L'étude des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF) a montré que *C. krusei* était très sensible aux huiles essentielles étudiées (figure 37). Les rapports CMF/CMI, pour tous les produits, ont été inférieurs ou égaux à 4 ce qui permet de les qualifier comme fongicides (tableau 54).

Tableau 54: CMI et CMF des huiles essentielles et de l'amphotéricine B efficaces contre *C.*

krusei

Produit	CMI*	CMF*
<i>A. vulgaris</i>	0,25	0,5
<i>O. basilicum</i>	0,5	0,5
<i>Sy. aromaticum</i>	0,25	0,5
<i>T. vulgaris</i>	0,125	0,5
<i>Or. vulgare</i>	0,5	1
<i>R. officinalis</i>	0,5	1
AmB	64	128

*Les CMI et CMF des huiles essentielles sont exprimées en µl/ml et celles de l'amphotéricine B en µg/ml

3.4 Indices de concentration fractionnaire inhibitrice (ICFI) et fongicide (ICFF)

L'étude des ICFI et ICFF a permis de déceler plusieurs interactions synergiques potentialisatrices et additives. Les valeurs représentées dans le tableau 55 sont les valeurs minimales.

L'étude des ICFI et ICFF a permis de déceler 7 interactions synergiques potentialisatrices et 3 interactions additives pour l'effet inhibiteur, tandis que toutes les interactions étaient additives pour l'effet fongicide. L'ICFI le plus faible a été obtenu pour l'association entre *A. vulgaris* + *O. basilicum* (0,422) et l'ICFF le plus faible a été obtenu pour la même association (0,893). Les valeurs représentées dans le tableau 55 sont les valeurs minimales.

Tableau 55: Valeurs minimales des ICFI et ICFF des associations entre HE et amphotéricine B contre *C. krusei*

Association	ICFI	Interprétation	ICFF	Interprétation
<i>A. vulgaris</i> + <i>O. basilicum</i>	0,422	Synergie potentialisatrice	0,893	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + <i>T. vulgaris</i>	0,458	Synergie potentialisatrice	0,974	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + <i>R. officinalis</i>	0,942	Effet additif	0,902	Effet additif
<i>A. vulgaris</i> + AmB	0,446	Synergie potentialisatrice	0,964	Effet additif
<i>O. basilicum</i> + AmB	0,545	Synergie potentialisatrice	0,975	Effet additif
<i>Sy. aromaticum</i> + AmB	0,648	Synergie potentialisatrice	0,897	Effet additif
<i>T. vulgaris</i> + AmB	0,896	Effet additif	0,968	Effet additif
<i>Or. vulgare</i> + AmB	0,493	Synergie potentialisatrice	0,990	Effet additif
<i>R. officinalis</i> + AmB	0,954	Effet additif	0,972	Effet additif

3.5 Cinétique des ICFI et ICFE

La cinétique des ICFI et ICFE a montré que les interactions synergiques HE/HE et HE/AmB varient en fonction des rapports d'association entre ces derniers (figures 35 et 36).

L'analyse des valeurs des ICFI et ICFE a montré qu'elles suivent une cinétique non linéaire en fonction des rapports HE/HE et HE/AmB. La classification des différentes associations en fonction des ICFI et ICFE n'était pas la même et variait en fonction des rapports de concentrations. L'ICFI et l'ICE les plus faibles ont été obtenus respectivement pour l'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v) (0,422) et (0,893). On a pu observer les différents niveaux d'interactions pour une même association et ce à différentes concentrations. L'association *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris*, pour l'effet inhibiteur, a montré un effet antagoniste à 20%, un effet indifférent à 40%, un effet additif à 50% et un effet synergique à 60%. Pour l'effet bactéricide, l'association *Sy. aromaticum* + Amphotéricine B a montré un effet additif à 10%, un effet indifférent à 30% et un effet antagoniste à 50%.

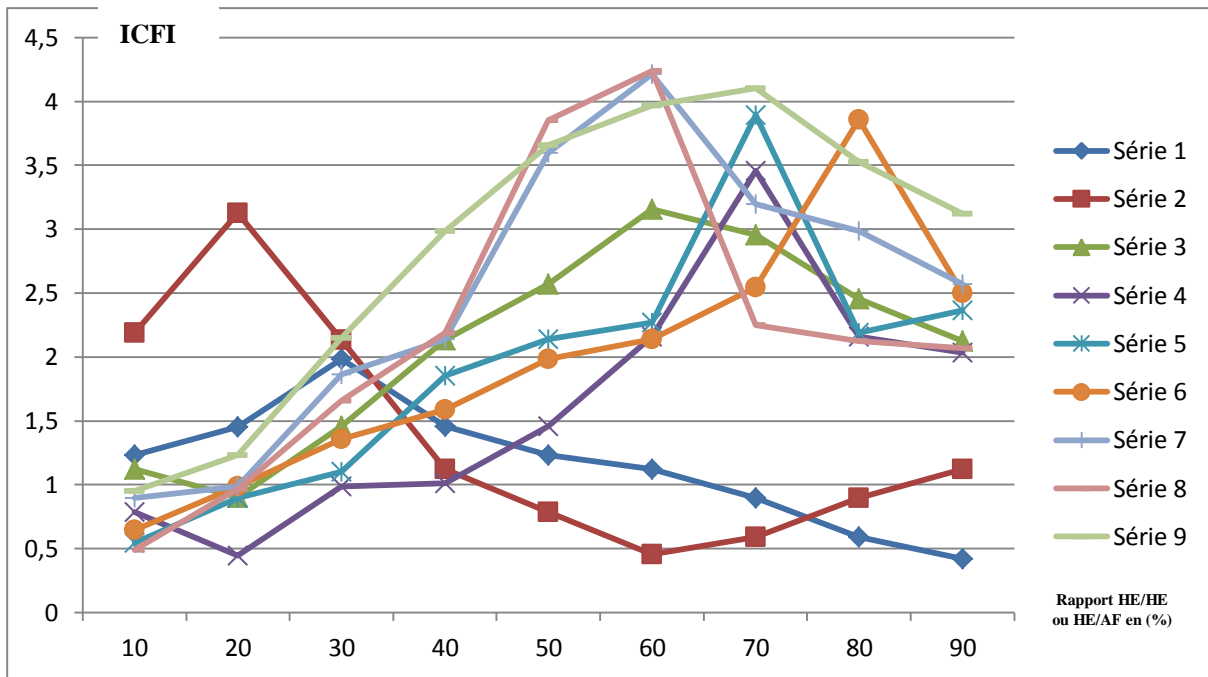


Figure 35: Cinétique de la variation de l'ICFI en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. krusei*

(Série 1=*A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2=*Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3=*Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4=*A. vulgaris*/Amphotéricine B ; Série 5=*O. basilicum*/Amphotéricine B ; Série 6=*Sy. aromaticum*/Amphotéricine B ; Série 7=*T. vulgaris*/Amphotéricine B ; Série 8=*Or. vulgare*/Amphotéricine B ; Série 9=*R. officinalis*/Amphotéricine B ; HE=Huile essentielle ; AF=Antifongique)

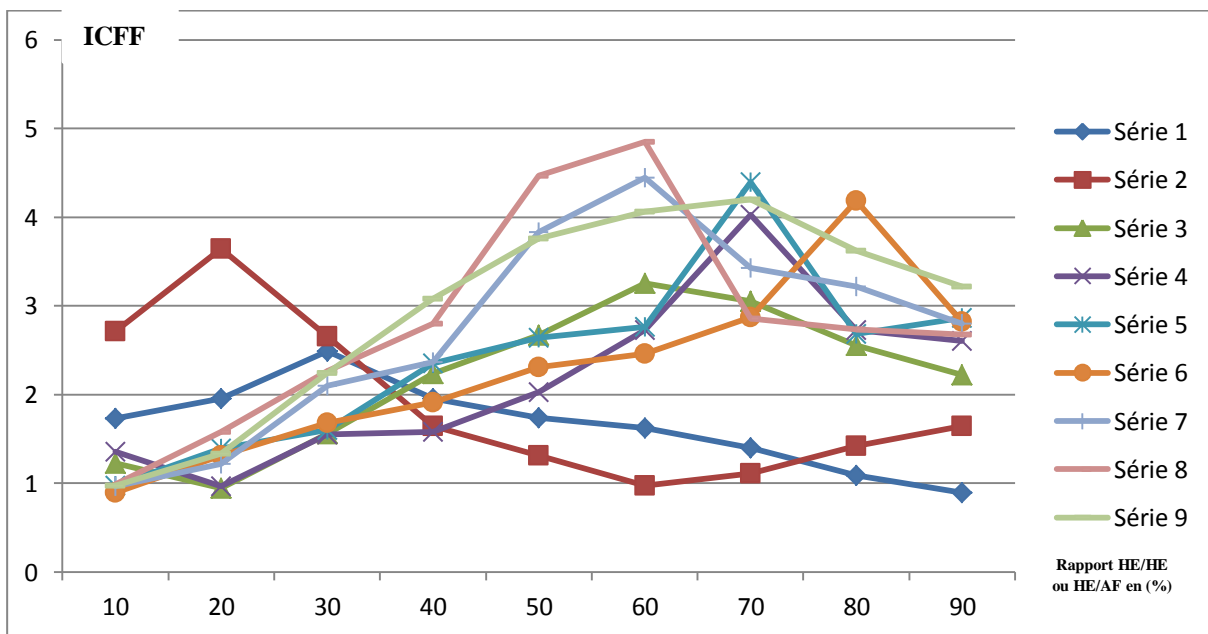


Figure 36: Cinétique de la variation de l'ICFF en fonction du rapport HE/HE ou HE/AF, cas de *C. krusei*

(Série 1=*A. vulgaris*/*O. basilicum* ; Série 2=*Sy. aromaticum*/*T. vulgaris* ; Série 3=*Or. vulgare*/*R. officinalis* ; Série 4=*A. vulgaris*/Amphotéricine B ; Série 5=*O. basilicum*/Amphotéricine B ; Série 6=*Sy. aromaticum*/Amphotéricine B ; Série 7=*T. vulgaris*/Amphotéricine B ; Série 8=*Or. vulgare*/Amphotéricine B ; Série 9=*R. officinalis*/Amphotéricine B ; HE=Huile essentielle ; AF=Antifongique)

3.6 Discussion

3.6.1 *Artemisia vulgaris*

L'huile essentielle d'*A. vulgaris* s'est montrée extrêmement efficace contre *C. krusei* avec un taux d'inhibition de 98,75%, une zone d'inhibition de 27,95mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml. Résultats comparables à ceux obtenus pour *C. glabrata*.

Cavar *et al.* (2012) ont testé l'activité anti-*C. krusei* de l'huile essentielle d'une autre espèce d'*Artemisia*: *A. annua*. Ils ont démontré que celle-ci est active à des concentrations de 10µl/ml. Marcos-Arias *et al.* (2011) ont évalué l'activité de deux composés minoritaires de notre HE: le 4-terpinéol et le linalool sur *C. krusei* ATCC 6258 et ont trouvé des CMI respectives de 0,6 et 1,2µl/ml et des CMF respectives de 2,5 et 10µl/ml; valeurs supérieures à celles de notre HE testée entière. Il ressort de ce qui précède que l'HE d'*A. vulgaris* est plus efficace contre *C. krusei*.

3.6.2 *Ocimum basilicum*

C. krusei s'est montré extrêmement sensible à l'huile essentielle d'*O. basilicum* avec un taux d'inhibition de 95,25%, une zone d'inhibition de 29,89mm, une CMI et une CMF de 0,5µl/ml. L'effet de l'HE d'*O. basilicum* sur les trois espèces de *Candida* était presque semblable. Cependant, dans la littérature on n'a pas pu trouver des études évaluant l'activité anti-*C. krusei* de l'huile essentielle d'*O. basilicum*.

3.6.3 *Syzygium aromaticum*

L'huile essentielle du *Sy. aromaticum* s'est montrée extrêmement efficace contre *C. krusei* avec un taux d'inhibition de 87,98%, un diamètre d'inhibition de 30,15mm, une CMI de 0,25µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

L'effet de l'HE du *Sy. aromaticum* semble avoir la même efficacité sur les trois espèces de *Candida* étudiées.

Selon la même étude menée par Pinto *et al.* (2009), les CMI et CMF respectivement pour un isolat clinique de *C. krusei* et pour la souche *C. krusei* ATCC 6258 étaient de 0,64µl/ml, ce qui permet de qualifier cette HE comme bactéricide. Ceci concorde avec nos résultats rapportés pour l'HE de *Sy. aromaticum* envers *C. krusei*.

3.6.4 *Thymus vulgaris*

L'huile essentielle du *T. vulgaris* s'est montrée très efficace contre *C. krusei* avec un taux d'inhibition de 98,03%, une zone d'inhibition de 31,15mm, une CMI de 0,125µl/ml et une CMF de 0,5µl/ml.

Nos résultats concordent avec ceux de Pinto *et al.* (2009) qui ont également prouvé l'efficacité de *T. vulgaris* contre une souche ATCC 6258 de *Candida krusei* et une souche clinique. Les CMI et CMF étaient les mêmes et variaient de 0,32 à 0,64µl/ml.

Asdadi *et al.* (2014) ont évalué l'activité d'autres espèces du genre *Thymus* sur *C. krusei*: *Thymus leptobotrys* (32,13% à bornéol), *Thymus satureioides* (84,74% à carvacrol) et *Thymus pallidus* (63,38% à carvacrol). Les zones d'inhibition incluant un diamètre de disque de 5mm étaient respectivement de 53 ; 71 et 67mm. Les CMI étaient respectivement de 0,3300 ; 0,9062 et 0,7837mg/ml les CMF étaient les mêmes que les CMI. En se basant sur les CMI, on peut conclure que *T. vulgaris* est plus active sur *C. krusei*.

3.6.5 *Origanum vulgare*

C. krusei était sensible à l'huile essentielle d'*Or. vulgare* avec un taux d'inhibition de 97,01%, un diamètre d'inhibition de 31,01mm, une CMI de 0,5µl/ml et une CMF de 1µl/ml.

Selon Cleff *et al.* (2010), la CMI du chémotype d'*Or. vulgare* à 4-terpinéol d'origine chilienne vis-à-vis de *C. krusei* (ATCC 34135) était de 2,5µl/ml tandis que la CMF était de 5µl/ml, le chémotype à carvacrol, qui est le nôtre, semble être plus efficace que celui à 4-terpinéol.

Quant aux travaux de Vale-Silva *et al.* (2012), qui ont également évalué l'activité anti-*C. krusei* de trois variétés d'huiles essentielles d'*Or. vulgare* d'origine portugaise, sur des souches cliniques de *C. krusei*, rapportaient des CMI correspondantes aux trois huiles essentielles variant de 0,64 à 1,25µl/ml et des CMF de 0,64 à 2,5µl/ml. Ces résultats renforcent les nôtres et confirment la qualification de cette HE en tant que fongicide.

3.6.6 *Rosmarinus officinalis*

L'huile essentielle du *R. officinalis* a exercé un fort pouvoir antifongique à l'égard de *C. krusei* avec un taux d'inhibition de 95,57%, un diamètre d'inhibition de 24,51mm, une CMI de 0,5 et une CMF de 1.

Gauch *et al.* (2014) ont testé l'activité antifongique de l'huile essentielle du *R. officinalis* contre une souche de *C. krusei* (ATCC 6258). Les diamètres d'inhibition étaient de 39mm pour l'huile utilisée pure et de 9mm pour une émulsion à 8% en huile. Les CMI et CMF étaient de 10µl/ml en huile essentielle.

Tavassoli *et al.* (2011) ont testé l'huile essentielle à 1,8-cinéol et l'extrait méthanolique de *R. officinalis* sur une souche PTCC 5295 de *C. krusei*, les CMI et CMF de l'huile essentielle étaient de 1,5 et 2mg/ml alors que celles de l'extrait méthanolique étaient de 2,5 et 3mg/ml.

L'HE du *R. officinalis* est plus efficace que les extraits par solvant organique à l'encontre de *C. krusei*.

4. Discussion sur l'activité antifongique des huiles essentielles

La teneur élevée en composés phénoliques peut expliquer l'activité antifongique des huiles de type *Origanum*. Cependant, l'action antifongique de l'huile essentielle est toujours supérieure aux composés seuls. Cette « théorie du totum » est renforcée par l'observation des chercheurs brésiliens qui ont montré que la CMI de l'HE de clou de girofle sur des dermatophytes était quatre fois inférieure à la CMI de l'eugénol seul (Jouault, 2012), ce qui peut être expliqué par une action synergique entre les différents composés de l'huile essentielle.

Notre HE d'*Or. vulgare* est un chémotype à carvacrol, composé phénolique. Elle contient aussi d'autres composés phénoliques dont le thymol, ce qui explique selon Jouault (2012) son fort pouvoir antifongique.

Selon Laib (2011), les huiles essentielles les plus signalées en littérature ayant des propriétés antifongiques appartiennent toutes à la famille des *Lamiaceae*: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. Ce sont les HE de ces plantes qui sont les plus utilisées dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire. L'auteur conclut que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques alors que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique) ont de propriétés fongistatiques. Tandis que les groupements méthoxyles ne semblent pas avoir un effet fongicide significatif.

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés d'une manière décroissante en fonction de leur pouvoir antifongique: Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures.

Concernant nos HE testées, on déduit que les trois HE les plus efficaces sont celles dérivant de *T. vulgaris*, *Or. vulgare* et *Sy. aromaticum* avec une différence de classification en fonction de l'espèce *Candida* testée.

D'après le tableau 30, on déduit que les constituants majoritaires de ces HE (thymol, carvacrol et eugénol) sont des phénols ce qui concorde avec la classification de Laib (2011).

Le cinnamaldéhyde (aldéhyde aliphatique) s'est révélé le plus actif. L'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol > thymol > isoeugénol > eugénol) pour les composés phénoliques. Les groupements alkyls surtout méthyl renforcent l'activité antifongique. Un équilibre de la balance hydrophilie/lipophilie renforcé par la présence de composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques semble renforcer et optimiser l'activité antifongique de certaines huiles essentielles. Les fonctions chimiques des terpènes influencent directement l'activité antifongique de ces derniers (Laib, 2011).

L'HE du *T. vulgaris* à thymol s'est montrée plus efficace sur les trois espèces de *Candida* que l'HE du *Sy. aromaticum* à eugénol, ceci concorde également avec la classification proposée par Laib (2011).

IV. Conclusion

L'étude présentée dans ce chapitre portait sur l'évaluation de l'activité antifongique des HE et des médicaments antifongiques sélectionnés ainsi que la mise en évidence de l'effet synergique entre ces produits.

Les HE ont montré un grand pouvoir antifongique comparable et parfois supérieur à celui des antifongiques étudiés. Ce pouvoir diffère selon la composition, la quantité de l'huile essentielle et la souche fongique étudiée.

Les HE d'*Or. vulgare* et *Sy. aromaticum* étaient les plus efficaces sur *C. albicans*, celles d'*Or. vulgare* et *T. vulgaris* sur *C. glabrata* et enfin les HE de *T. vulgaris* et *Or. vulgare* sur *C. krusei*.

L'activité antifongique des HE étudiées est due à la diversité des constituants phytochimiques qu'elles contiennent. Les huiles essentielles agissent comme les familles pharmaceutiques des antifongiques, et par conséquent chaque huile essentielle a son propre spectre d'action.

Afin d'avoir des effets plus performants et améliorer l'efficacité, la sécurité et le coût des antifongiques, nous avons opté pour le concept de synergie, c'est un phénomène très complexe, vu le nombre élevé des constituants des HE, mais il représente un gain pour l'arsenal thérapeutique.

Les associations entre HE les plus efficaces contre *C. albicans* et *C. glabrata* sont *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v), *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 90% (v/v) et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 70% (v/v). Celles qui sont les plus efficaces contre *C. krusei* sont: *A. vulgaris* + *O. basilicum* à 90% (v/v), *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* à 60% (v/v) et *Or. vulgare* + *R. officinalis* à 20% (v/v).

L'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* était synergique contre *C. albicans*, celles entre *A. vulgaris* + *O. basilicum* et *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* contre *C. glabrata* et *C. krusei*. Les autres associations entre HE étaient additives. L'effet synergique entre ces HE est souvent le résultat de l'action des différents constituants.

Les associations entre HE et Fluc. les plus efficaces contre *C. albicans* sont *A. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v), *O. basilicum* + Fluc. à 20% (v/v), *Sy. aromaticum* + Fluc. à 40% (v/v), *T. vulgaris* + Fluc. à 10% (v/v), *Or. vulgare* + Fluc. à 80% (v/v) et *R. officinalis* + Fluc. à 60%

(v/v). Dans le cas du *C. glabrata*, les meilleurs résultats sont obtenus sous l'action des associations *A. vulgaris* + Terb. à 20% (v/v), *O. basilicum* + Terb. à 10% (v/v), *Sy. aromaticum* + Terb. à 10% (v/v), *T. vulgaris* + Terb. à 10% (v/v), *Or. vulgare* + Terb. à 10% (v/v) et *R. officinalis* + Terb. à 50% (v/v). Concernant *C. krusei*, les associations les plus efficaces entre HE et AmB sont *A. vulgaris* + AmB à 20% (v/v), *O. basilicum* + AmB à 10% (v/v), *Sy. aromaticum* + AmB à 10% (v/v), *T. vulgaris* + AmB à 10% (v/v), *Or. vulgare* + AmB à 10% (v/v) et *R. officinalis* + AmB à 10% (v/v).

Selon les ICFI, Les HE d'*A. vulgaris*, *O. basilicum* et *Or. vulgare* étaient synergiques avec le Fluc. contre *C. albicans* tandis que les HE de *Sy. aromaticum*, *T. vulgaris* et *R. officinalis* ont présenté un effet additif.

Les HE d'*A. vulgaris*, *O. basilicum*, *Sy. aromaticum* et *Or. vulgare* étaient synergiques avec la Terb. contre *C. glabrata* tandis que les HE de *T. vulgaris* et *R. officinalis* ont présenté un effet additif.

Les HE d'*A. vulgaris*, *O. basilicum*, *Sy. aromaticum* et *Or. vulgare* étaient synergiques avec l'AmB contre *C. krusei*, tandis que les HE de *T. vulgaris* et *R. officinalis* ont présenté un effet additif.

Comme pour les antibiotiques, l'effet synergique entre HE et médicaments antifongiques est le résultat d'un mécanisme complexe incluant des interactions entre les deux substances pouvant être expliqué par une induction réciproque de l'effet de chaque produit.

Ce concept de synergie est un vrai gain pour l'arsenal thérapeutique antifongique et pourrait être l'objet d'association fixe entre HE et antifongique à condition de concevoir une forme galénique adaptée.

Conclusion générale

Notre travail, avait pour but en plus de l'analyse phytochimique, l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles de six plantes médicinales choisies dans cette étude. Aussi, ces plantes compte parmi celles les plus largement utilisées en médecine traditionnelle; sans beaucoup de preuves scientifiques. Notre objectif principal durant cette étude était de déceler les différents niveaux d'interactions entre les HE extraites de nos plantes, elles-mêmes et entre ces HE et certains médicaments antimicrobiens. Aussi, nous avons suivi la cinétique de ces interactions dans le but d'améliorer l'efficacité et la sécurité tout en diminuant le cout d'un traitement antimicrobien.

Selon l'Institut Pasteur (2017), 25 000 décès par an en Europe sont enregistrés suite à la résistance aux antibiotiques. Une surmortalité équivalente est observée aux États-Unis. L'augmentation de la résistance dans les pays à bas revenu, associée au manque d'accès à des antibiotiques efficaces; lorsqu'ils sont nécessaires; sont probablement responsables de très nombreux décès malgré les données manquantes pour ces pays. L'augmentation de la résistance sera responsable d'une augmentation dramatique de ces chiffres comme cela a été modélisé dans le rapport de O'Neil sur l'impact de la résistance aux antibiotiques d'ici 2050 (Institut Pasteur Paris, 2018).

L'OMS (2017) a publié une liste des agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques, classés selon l'ordre de priorité. *P. aeruginosa* et *E. coli* figurent parmi la liste de priorité 1 (critique) tandis que *S. aureus* figure parmi la liste de priorité 2 (élevé).

Les candidoses invasives, quant à elles, touchent plus de 250 000 personnes dans le monde chaque année et sont responsables de plus de 50 000 décès. Les taux d'incidence des candidémies se situent entre 2 et 14 cas pour 100 000 personnes (Tessier, 2017).

Cinq espèces de *Candida* les plus fréquemment retrouvées en pathologie sont, par ordre de fréquence décroissante, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. krusei*. La mortalité des candidoses chez les immunodéprimés est de l'ordre de 40% (HAS, 2017).

La résistance acquise des *Candida* aux antifongiques bien qu'elle soit un évènement ne possédant pas la même ampleur que celle des bactéries vis-à-vis des antibiotiques du fait de sa faible prévalence. Cependant, elle reste un problème majeur vu le nombre réduit de médicaments actifs sur les différentes espèces de *Candida*. Ceci induit un équilibre fragile de la prise en charge thérapeutique des candidoses, d'où la nécessité des approches de « *Drug discovery* » dans les années à venir (Morio et Le Pape, 2014).

La phytothérapie, utilisée pendant longtemps en médecine traditionnelle et présentant un bon recul de point de vue effets indésirable et toxicité, peut être une meilleure alternative pour remédier aux problèmes de résistances vis-à-vis des différents médicaments antimicrobiens.

Les plantes sont constituées de plusieurs substances phytochimiques ayant plusieurs rôles thérapeutiques. Il est évident que les extraits de plantes sont largement actifs que les plantes entières, raison pour laquelle nous avons choisis de travailler avec les HE, connues pour leur composition riche en substances antimicrobiennes.

Pour mieux étudier l'activité antimicrobienne des HE, l'analyse phytochimique reste impérative afin de corréliser cette activité à la composition qualitative et quantitative de ces HE. L'analyse chromatographique des huiles essentielles étudiées a montré une grande diversité et une richesse en substances phyto-chimiques. Ces substances auraient évidemment différentes activités selon la teneur et la combinaison avec d'autres constituants phytochimiques au sein de la même plante. Nos résultats concernant la composition qualitative et quantitative ainsi que les caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles qui ne sont pas toujours concordants avec ceux d'autres auteurs comme le cas de l'HE d'*A. vulgaris* de notre échantillon qui est composée majoritairement de 15,32% de camphre tandis que celle étudiée par Mucciarelli *et al.* (1995) est composée de 40% de la même cétone. Ceci est dû à plusieurs facteurs tels que le chémotype, la saison de récolte, le matériel et les techniques d'extraction, la situation géographique et la nature du sol, etc.

Les rendements obtenus en HE pour les six plantes sont assez performants et les caractéristiques physico-chimiques répondent aux normes fixées par la Pharmacopée européenne (2016).

L'HE d'*A. vulgaris* est un chémotype à camphre (15,32%), les composés majoritaires après le camphre sont l' α -thuyone (10,92%), cis-carvéol (10,32%) et le camphène (6,82%). Celle d'*O. basilicum* est un chémotype à linalool (44,07%), les composés majoritaires après le linalool sont l'eugénol (13,65%) et le méthyl-eugénol (6,63%), celle du *Sy. aromaticum* est un chémotype à eugénol (80,92%), les composés majoritaires après l'eugénol sont l'acétate d'eugényle (10,11%) et le β -élémane (5,32%), celle du *T. vulgaris* est un chémotype à thymol (45,12%), les composés majoritaires sont la p-cymène (18,02%) et la γ -terpinène (10,05%), celle d'*Or. vulgare* est un chémotype à carvacrol (62,23%), les composés majoritaires après le carvacrol sont la γ -terpinène (11,02%) et la p-cymène (9,06%) et enfin celle du *R. officinalis* est un chémotype à 1,8-cinéol (41,04%), les composés majoritaires après le 1,8-cinéol sont le camphre (14,35%), l' α -pinène (12,89%) et le β -pinène (8,36%).

Il ressort de notre travail que l'hydrodistillation reste un moyen quantitatif d'extraction des HE. Cependant l'extraction de celles-ci doit être orientée vers une technique qualitative permettant d'obtenir des composés phytochimiques précis en respectant les cycles et le temps de chaque extraction. Car on peut avoir deux constituants au sein de la même plante, l'un augmente avec le temps de distillation et l'autre diminue.

La phase pré-analytique pour l'extraction de l'huile essentielle (identification, récolte, transport, conservation, séchage, etc.) et pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne (isolement et identification du germe, milieu de culture, préparation des dilutions et des disques d'antimicrobiens, etc.) comme dans tous les domaines, est un élément primordial qui agit directement aussi bien sur la qualité et la quantité des HE que sur leurs activités antimicrobiennes; ce qui explique d'éventuelles discordances entre nos résultats et ceux de la littérature.

Dans notre étude nous avons recherché à évaluer l'activité antimicrobienne des HE extraites de nos plantes ainsi qu'à établir la synergie et la cinétique de nos huiles. Ces deux dernières caractéristiques sont rarement signalées en littérature ce qui donne une originalité à notre travail.

Ainsi et à titre d'exemple, les HE de *T. vulgaris* et d'*A. vulgaris* étaient les plus efficaces sur *E. coli*, celles de *T. vulgaris* et de *Sy. aromaticum* se révélaient efficaces sur *P. aeruginosa* et enfin, les HE de *T. vulgaris* et d'*A. vulgaris* étaient actives sur *S. aureus*. Ceci montre que nos HE agissaient comme certaines familles d'antibiotiques et par conséquent chaque HE apparaît posséder son propre spectre d'action.

Egalement, notre étude a démontré une activité synergique entre nos HE elles-mêmes et entre ces HE et les antimicrobiens analysés dans ce travail.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'étude des ICFI et ICFB des associations entre HE elles-mêmes ou HE et médicaments antibiotiques, a montré une diversité d'interaction et ce en fonction de la nature des HE associées, du germe et des rapports de concentration des substances associées.

L'association *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* s'est montrée synergique contre *E. coli* tandis que les autres associations étaient indifférentes ou antagonistes.

Les deux associations *A. vulgaris* + Cxm et *T. vulgaris* + Cxm étaient synergiques vis-à-vis d'*E. coli*, celle d'*O. basilicum* + Cxm était antagoniste à l'encontre de la même bactérie. L'association *T. vulgaris* + Cipro était synergique sur *P. aeruginosa* et les deux associations *T. vulgaris* + Cipro et *R. officinalis* + Cipro étaient synergiques sur *S. aureus*, les autres combinaisons étaient soit additives soit indifférentes.

Pour l'activité antifongique, l'étude des ICFI et ICFF des associations entre HE elles-mêmes ou HE et les médicaments antifongiques, a montré une diversité d'interaction et ce en fonction de la nature des HE associées, du germe et des rapports de concentration des différentes substances associées.

L'association *A. vulgaris* + *O. basilicum* s'est montrée synergique contre *C. albicans*, celles d'*A. vulgaris* + *O. basilicum* et *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* étaient synergiques contre *C. glabrata* et celles d'*A. vulgaris* + *O. basilicum* et *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* étaient synergiques contre *C. krusei*, tandis que les autres associations étaient additives.

Les associations *A. vulgaris* + Fluc. ; *O. basilicum* + Fluc. et *Or. vulgare* + Fluc. contre *C. albicans*, celles d'*A. vulgaris* + Terb. ; *O. basilicum* + Terb. ; *Sy. aromaticum* + Terb. et *Or. vulgare* + Terb. contre *C. glabrata* et celles d'*A. vulgaris* + AmB ; *O. basilicum* + AmB ; *Sy. aromaticum* + AmB et *Or. vulgare* + AmB contre *C. krusei* étaient synergiques tandis que les autres associations étaient additives ou indifférentes.

La compréhension de ces actions synergiques nécessite la compréhension des mécanismes d'actions de chaque antimicrobien y compris les huiles essentielles. Le mécanisme d'action des huiles essentielles varie selon les parties de la plante et les divers constituants actifs présents (Hyldgaard *et al.*, 2012; Aleksic et Knezevic, 2014; Chouhan *et al.*, 2017).

Les différents composés présents dans les huiles essentielles ont un mode d'action différent, selon les effets biologiques exercés, à savoir antibactériens, antifongiques, antiviraux et cytotoxiques. Il y a des mécanismes communément admis basé sur l'interaction entre l'huile essentielle et le microbe. Le mécanisme d'action de l'huile essentielle implique tant de cibles dans la cellule due à un grand nombre de constituants actifs (Chouhan *et al.*, 2017; Nazzaro *et al.*, 2017), raisons pour lesquelles on a observé des effets différents pour une même HE selon la nature du germe. Les niveaux du potentiel antimicrobien sont également distincts selon les différents chémotypes des HE.

Les principales actions antimicrobiennes des huiles essentielles sont l'inhibition d'une voie biochimique commune, l'inactivation des enzymes microbiennes, la fuite de la membrane cellulaire et l'augmentation de la perméabilité de la membrane. Les huiles essentielles peuvent perturber la structure des différents acides gras, des polysaccharides et des phospholipides présents dans les couches de la paroi cellulaire et de la membrane cytoplasmique. Les huiles essentielles peuvent provoquer des perturbations dans la membrane des micro-organismes par l'action des composés lipophiles présents dans les huiles et conférant ainsi une activité antibactérienne (Swamy *et al.*, 2016). Ces multiples actions expliquent le fort potentiel

antimicrobien ainsi que les interactions synergiques entre HE elles-mêmes et entre HE et médicaments antibactériens.

Le mode d'action antibactérien ou antifongique des huiles essentielles peut être due à des terpénoïdes, y compris les monoterpènes, les sesquiterpènes oxygénés et de leurs dérivés. Ces composés sont très lipophiles et sont de faible masse moléculaire ce qui perturbe la membrane cellulaire, provoque la mort cellulaire et également efficace dans l'inhibition de la sporulation et la germination des champignons (Nazzaro *et al.*, 2017). Nos HE sont riches en monoterpénoïdes comme le carvacrol, le thymol, le 1,8-cinéol, l'eugénol, le linalool et le camphre auxquels a été attribué le fort pouvoir antibactérien des HE étudiés (annexe 12).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de grand nombre de molécules, leur activité antimicrobienne synergique est le résultat d'une synergie de toutes les molécules. Des constituants de certaines huiles essentielles comme le terpinéol, l'eugénol, le safreole, le thymol, le carvacrol, l'eucalyptol, le géraniol, le citronellol, le limonène et le cinnamaldéhyde, qui sont responsables de diverses activités pharmacologiques, ont un mode d'action différent et l'activité dépend de la concentration du composant. La caractéristique la plus importante est la distribution d'huile essentielle dans la cellule, qui détermine les différents types de réactions et d'effets biologiques induits dans la cellule. Les huiles essentielles provoquent un effet post-antifongique par induction d'un retard de formation de tube de germination (Padalia *et al.*, 2015). Ceci explique la différence entre l'effet antimicrobien des HE du *Sy. aromaticum* et *O. basilicum* contenant toutes les deux de l'eugénol mais à des proportions variables.

Les huiles essentielles ont montré différents types d'interactions. Rapper *et al.* (2013) ont analysé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* en combinaison avec 45 autres huiles essentielles contre des micro-organismes pathogènes comme *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* et ont déclaré que ces combinaisons ont montré 26,7% d'interactions synergiques et 48,9% effets additifs.

Magi *et al.* (2015) ont évalué l'activité antibactérienne *in vitro* des huiles essentielles d'*Or. vulgare*, *T. vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, et *Melaleuca alternifolia* et carvacrol, et la synergie entre carvacrol et l'érythromycine, contre 32 souches cliniques de streptocoques du groupe A résistant à l'érythromycine. Les auteurs ont constaté que les HE du *T. vulgaris* et d'*Or. vulgare* ont une activité antimicrobienne plus élevée traduite par de faibles valeurs de CMI ainsi la combinaison de carvacrol avec de l'érythromycine a montré une activité antibactérienne synergique potentielle.

Nos résultats ont montré que l'HE du *T. vulgaris* était la plus efficace, tandis que l'efficacité de celle d'*Or. vulgare* variait en fonction du germe, en revanche nous n'avons pas identifié des

interactions synergiques entre *Or. vulgare*, qui est un chémotype à carvacrol et la céfuroxime ou la ciprofloxacine, ceci ne permet pas de tirer une conclusion suite aux résultats déclarés par Magi *et al.* (2015) concernant la synergie entre le carvacrol et l'érythromycine et ce pour plusieurs raisons:

Magi *et al.* (2015) ont combiné le carvacrol seul avec l'érythromycine et on ne connaît pas à quelle concentration ainsi le mécanisme d'action de l'érythromycine est différent de ceux de la céfuroxime et de la ciprofloxacine, c'est un antibiotique de la famille des macrolides, qui agit par inhibition de la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la partie 50s du ribosome et en empêchant la translocation peptidique (Vidal, 2014).

Giordani *et al.* (2004) ont déduit une augmentation de l'action antifongique de l'AmB en présence de l'HE de *T. vulgaris* chémotype à thymol qui a entraîné une baisse de la CMI de l'AmB aux concentrations de 0,1 ; 0,2 et 0,3 μ l/ml. La plus forte baisse est obtenue avec une concentration en huile essentielle égale à 0,2 μ l/ml. Ceci concorde avec nos résultats qui ont montré que l'effet synergique n'est pas proportionnel à la concentration en HE ajoutée à l'AmB.

Il ressort de nos résultats également que la variation des CMI de l'AmB n'était pas proportionnelle à la quantité des HE associées, ceci peut être dû à la différence de rapports entre AmB et HE de notre étude et celle menée par Giordani *et al.* (2004).

La synergie potentielle d'huiles essentielles avec des antibiotiques a déjà été examinée dans le but d'augmenter le taux de mort fongique, de raccourcir la durée du traitement, d'éviter l'émergence de la résistance aux médicaments, d'élargir le spectre d'activité, et de diminuer la toxicité en permettant des doses inférieures d'agents antifongiques à administrer (Shin et Lim, 2004). Correa-Royero *et al.* (2010) ont trouvé un effet indifférent lorsque l'huile de *Chenopodium ambrosioides* L. a été combinée avec l'itraconazole ou l'amphotéricine B.

L'association entre antibiotiques bactéricides et bactériostatiques induit un antagonisme (Ocampo *et al.*, 2014), une association entre deux bactéricides provoque une synergie, cependant, les interactions entre les antibiotiques restent complexes (Mouton *et al.*, 2000).

Nos HE étaient toutes bactéricides. Cependant, l'association entre les HE étudiées n'était pas toujours synergique, ceci explique que cette règle n'est pas générale et que d'autres mécanismes déterminent la nature des interactions.

L'activité bactéricide de la ciprofloxacine résulte de l'inhibition de la topo-isomérase de type II (ADN-gyrase) et de la topo-isomérase IV, nécessaires à la réplication, la transcription, la réparation et la recombinaison de l'ADN bactérien (Vidal, 2014).

Sur la base de ces données, le mécanisme des interactions synergiques entre les huiles essentielles et la ciprofloxacine est que les huiles essentielles facilitent la pénétration de la ciprofloxacine dans les bactéries, en modifiant la membrane cytoplasmique et de ses composants ainsi que par d'autres actions sur les différentes parties des bactéries. Ces résultats sont prometteurs de nouvelles recherches pour une association fixe entre les huiles essentielles et des antibiotiques.

La céfuroxime inhibe la production de la paroi cellulaire, c'est un inhibiteur sélectif de la synthèse de peptidoglycanes. L'étape initiale de l'effet de la substance consiste en la fixation de celle-ci à des récepteurs cellulaires appelés «protéines liant la pénicilline». Une fois qu'un antibiotique bêtalactamine s'est lié à ces récepteurs, la réaction de transpeptidation est inhibée et la synthèse des peptidoglycanes est bloquée. Il en résulte une lyse bactérienne (Vidal, 2014).

Le mécanisme des interactions synergiques entre les huiles essentielles et la céfuroxime est que les deux agissent simultanément sur la paroi bactérienne, cette action est renforcée par le caractère lipophile des huiles essentielles ainsi que par leurs actions sur les différentes parties de la bactérie.

L'amphotéricine B se fixe sur des stérols de la membrane cellulaire des champignons sensibles, la rendant perméable et provoquant sa lyse membranaire. Elle se fixe à un stérol contenu dans les membranes de ces derniers, l'ergostérol. Ce qui la rend sélective. L'amphotéricine B agit par contact direct (fongistatique et fongicide si la concentration est élevée) (Vidal, 2014).

Le fluconazole inhibe la déméthylation en 14 alpha du lanostérol médiée par le cytochrome P 450, une étape essentielle dans la biosynthèse de l'ergostérol fongique. L'accumulation de stérols méthylés en 14-alpha est corrélée avec la perte subséquente d'ergostérol dans la membrane cellulaire fongique (Vidal, 2014).

L'association synergique peut être expliquée par l'action simultanée sur la membrane cellulaire de *Candida sp* ce qui facilite l'entrée de l'huile essentielle qui exerce son effet sur les différents constituants de *Candida sp* comme décrit précédemment.

Le caractère lipophile des huiles essentielles optimise l'action des antifongiques. Samaranayake Y.H *et al.* (1995) ont montré que *C. krusei* est plus hydrophobe que d'autres espèces. Cette caractéristique physico-chimique pourrait expliquer la sensibilité de cette levure aux huiles en raison de la nature hydrophobe de la majorité des composants de l'huile essentielle (De Cerqueira *et al.*, 2007).

Cette synergie est un véritable gain pour la thérapie anti-*Candida sp* vue le cout et la durée de traitement qui peut atteindre des mois, les effets indésirables et l'apparition de résistance aux médicaments antifongiques. En effet, Les associations *A. vulgaris* + Fluc. ; *O. basilicum* + Fluc. et *Or. vulgare* + Fluc. contre *C. albicans*, celles d'*A. vulgaris* + Terb. ; *O. basilicum* + Terb. ; *Sy. aromaticum* + Terb. et *Or. vulgare* + Terb. contre *C. glabrata* et celles d'*A. vulgaris* + AmB ; *O. basilicum* + AmB ; *Sy. aromaticum* + AmB et *Or. vulgare* + AmB contre *C. krusei* étaient synergiques et peuvent être en l'occurrence exploitées pour concevoir des médicaments sous formes d'associations fixes.

L'étude des ICFI et ICFB des associations entre HE elles-mêmes a montré une diversité d'interaction et ce en fonction de la nature des HE associées, du germe et des rapports de concentration. L'association *Sy. aromaticum* + *T. vulgaris* s'est montrée synergique contre *E. coli*, tandis que les autres associations étaient indifférentes ou antagonistes.

Il apparait clairement de ces résultats que l'effet synergique reste un mécanisme complexe qui est fonction des facteurs cités précédemment. La composition variée des huiles essentielles en phyto-substances et à des proportions variables rend difficile l'étude et l'exploration du mécanisme de synergie entre ces dernières et la nature des composants responsables de cette synergie.

L'antagonisme entre certaines huiles essentielles peut être expliqué par certaines incompatibilités physico-chimiques ainsi que par le caractère bactériostatique bactéricide dose-dépendant de ces derniers. En fonction des doses, les huiles essentielles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. Lorsqu'on change les proportions des rapports, une huile jouant un rôle bactériostatique est souvent celle à concentration faible alors que celle avec de fortes concentrations joue le rôle bactéricide. L'association entre bactériostatique et bactéricide induit souvent un antagonisme. L'association entre HE elles-mêmes et aux médicaments antimicrobiens ne suit pas toujours le même principe puisque toutes nos huiles étaient bactéricides et fongicides, néanmoins les associations entre ces HE n'était pas souvent synergiques.

Le concept de médicament synergisme semble être plus significatif lorsque les huiles essentielles entières sont étudiées plutôt que leurs composants individuels. Les huiles essentielles ont non seulement la capacité d'inhiber la croissance bactérienne, mais aussi de diminuer la concentration active nécessaire d'antibiotiques par leur activité synergique. Guerra *et al.* (2012) ont constaté que l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* et *Citrus limon* a montré un effet synergique en combinaison avec l'amikacine contre les souches *Acinetobacter baumannii*. Il est également possible que, parfois, les huiles essentielles ne

possèdent pas les composés qui présentent une activité antimicrobienne, mais puissent fonctionner en synergie avec des antibiotiques ou d'autres extraits de plantes qui sont capables de sensibiliser les micro-organismes aux antibiotiques qui ne sont pas efficaces (Padalia *et al.*, 2015). Ceci explique le fait que l'association *R. officinalis* + Cipro était synergique sur *S. aureus* alors que l'association *A. vulgaris* + Cipro était additive, toutefois l'HE d'*A. vulgaris* seule s'est montrée plus efficace contre *S. aureus* que l'HE du *R. officinalis*.

Sachant que peu de travaux se sont intéressés à la synergie entre HE et à l'optimisation de cette activité antimicrobienne (Aouni *et al.* 2013), on ne peut en aucun cas conclure que la synergie entre *Sy. aromaticum* et *T. vulgaris* est due à une interaction entre tels constituants, mais ceci demande une série de combinaisons entre ces derniers et à des proportions bien définies.

L'administration de certaines huiles essentielles reste un facteur limitant leur utilisation vue leur effet irritant sur la peau et les muqueuses, la mise en place d'une forme galénique adaptée figure parmi les perspectives de ce travail.

Perspectives

Il ressort de notre étude qu'il serait judicieux de développer:

- ✓ un référentiel d'étude *in vitro* de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles;
- ✓ d'approfondir l'étude des mécanismes d'action des huiles essentielles;
- ✓ d'étudier la relation composition-activité globale, c'est-à-dire une étude qui prend en considération tous les composés des huiles essentielles que ce soient mineurs ou majeurs;
- ✓ de dresser le concept des formes galéniques adéquates rendant nos huiles essentielles tolérables par l'organisme;
- ✓ d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles analysées *in vivo* dans une étude cohorte;
- ✓ d'évaluation l'activité antirétrovirale de nos huiles essentielles chez des patients séropositifs au VIH;
- ✓ d'étudier les interactions entre trois produits et plus;
- ✓ d'étudier les interactions entre d'autres médicaments antimicrobiens que ce soient des antibiotiques ou des antifongiques voire même des antiparasitaires ou des antiviraux.

Références bibliographiques

1. Abbas J., Bodey G.P., Hanna H.A., Mardani M., Girgawy E., Abi-Said D. 2000. *Candida krusei* Fungemia: An Escalating Serious Infection in Immunocompromised Patients. Archives of internal medicine. 160(17): 2659-64.
2. Abdul Hammid S., Ahmad F. 2015. Chemotype of *Litsea cubeba* Essential Oil and Its Bioactivity. Nat Prod Commun. 10(7):1301-1304.
3. Abed Karkosh A.S. 2012. Study of *in vitro* antibacterial activity of the essential oils of Cloves (*Syzygium aromaticum*) and the effect of temperature on antibacterial activity. Euphrates Journal of Agriculture Science. 4(1):15-19.
4. AFNOR. Association Française de Normalisation. 2000. Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse. Tome 2 - Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles. Tome 2 - Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles.
5. Akgül A. 1989. Volatile oil composition of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivating in Turkey. *Die Nahrung*. 33(1):87-88.
6. Al-Bayati F.A. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J Ethnopharmacol. 116:403-406.
7. Aleksic V., Knezevic P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. Microbiological Research. 169(4):240-254.
8. Alexandre P., Ronoel L., Godoy O. 2008. Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). J. Serb. Chem.Soc. 73(3):307-310.
9. Ali B., Al-Wabel N.A., Shams S., Ahamad A., Khan S.A., Anwar F. 2015. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 5(8):601-611.
10. Alizadeh M., Aghaei M., Sharifian I., Saadatian M. 2012. Chemical composition of essential oil of *Artemisia vulgaris* from West Azerbaijan, Iran. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry. 11(5):493-496.
11. Allen U. 2010. Les antifongiques pour le traitement des infections fongiques systémiques chez les enfants. Paediatrics & Child Health. 15(9):609-615.
12. Alzugaray D. et Alzugaray C. 1996. Plantas que curam. v.1. São Paulo: TrêS. 260 pages.

13. Amábile-Cuevas CF. 2007. Antimicrobial Resistance in Bacteria. Horizon Scientific Press. 201 pages.
14. Ambrose D.C.P., Manickavasagan A., Naik R. 2016. Leafy Medicinal Herbs: Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses. CABI. 296 pages.
15. Amrouni S., Touati M., Hadeif Y., Djahoudi A. 2014. Effect of Essential Oil of *Origanum vulgare* and *Thymus ciliatus* against *Pseudomonas aeruginosa* Producing VIM-2 Carbapenemase. *Phytothérapie*. 12(5):309-313.
16. Andes DR., Safdar N., Baddley J.W., Alexander B., Brumble L., Freifeld A. 2016. The epidemiology and outcomes of invasive *Candida* infections among organ transplant recipients in the United States: results of the Transplant-Associated Infection Surveillance Network (TRANSNET). *Transplant Infectious Disease*. 18(6):921-931.
17. ANSM. 2008. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. [en ligne]. Disponible sur: < http://www.ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/657257784ff10b16654e1ac94b60e3fb.pdf> (consulté le 11.02.2016).
18. ANSM. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2016. Liste a des plantes médicinales utilisées traditionnellement [en ligne]. Disponible sur: <http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/9efaa71075f10658632e2dbbd7b95c73.pdf> (consulté le 30.01.2017).
19. Anwar F., Ahmad N., Alkharfy K.M. 2016. Mugwort (*Artemisia vulgaris*) Oils. In *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. 573-579.
20. Aouni M., Pelen F., Soulimani R. 2013. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*. 11(4):225-236.
21. Asdadi A., Alilou H., Akssira M., Idrissi Hassani L.M., Chebli B., Moutaj R. 2014. Chemical Composition and Anticandidal Effect of Three *Thymus* Species Essential Oils from Southwest of Morocco against the Emerging Nosocomial Fluconazole-Resistant Strains. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. 4(11):16-26.
22. Asta J., Juste B. 2006. Chemical composition of essential oils of *Artemisia vulgaris* L. (mugwort) from North Lithuania. *CHEMIJA*. (1):12-15.
23. Attisso M. 1979. As plantas medicinais voltam a florescer. *O correio da UNESCO*. 7(9):6-8.
24. Ayadi S., Abderrabba M. 2014. Biological characteristics of the essential oils and methanol extracts from *Rosmarinus Officinalis*. *J Mater Environ Sci*. 5(6):1872-1876.

25. Ayadi S., Jerribi C., Abderrabba M. 2011. Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. *Journal de la Société Algérienne de Chimie*. 21(1):25-33.
26. Azizi A., Yan F., Honermeier B. 2009. Herbage yield, essential oil content and composition of three oregano (*Origanum vulgare* L.) populations as affected by soil moisture regimes and nitrogen supply. *Industrial Crops and Products*. 29(2-3):554-561.
27. Badiee P., Badali H., Diba K., Jafarian H., Mohammadi R., Mirhendi H. 2017. Multicenter Identification and Antifungal Susceptibility Patterns of *Candida* Species Isolated from Clinical Samples. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 10(12):e56117.
28. Badiee P., Hashemizadeh Z. 2014. Opportunistic invasive fungal infections: diagnosis & clinical management. *The Indian Journal of Medical Research*. 139(2):195-204.
29. Balouiri M. 2011. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques-Taounate. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de master sciences et techniques. Faculté des Sciences et Techniques – Fès. Maroc.
30. Bamoniri A., Mirjalili B.B.F., Mazoochi A., Batooli H. 2010. Chemical composition of *Artemisia vulgaris* L. from Kashan area isolated by nano scale injection. *Iran. J. Org. Chem*. 2(4):533-536.
31. Baser K.H.C., Ozek T., Kurkcuoğlu M., Tumen G. 1992. Composition of the Essential Oil of *Origanum sipyleum* of Turkish Origin. *J Essent Oil Res*. 4(2):139-132.
32. Baser K.H.C., Ozek T., Tumen G., Sezik E, J. 1993. Composition of the Essential Oils of Turkish *Origanum* species with Commercial Importance. *Essent. Oil Res*. 5:619-623.
33. Bauer K., Garbe D., Surburg H. 2001. *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*. Weinheim: Wiley-VCH. 293 pages.
34. Bayala B., Bassole I.H.N., Gnoula C., Nebie R., Yonli A., Morel L. 2014. Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso. Vanacker J-M, éditeur. *PLoS ONE*. 9(3):e92122.
35. Bayot D. et Faron G. 2014. *Pharmacologie pour les sages-femmes*. De Boeck Supérieur. 188 pages.
36. Belaiche P. 1979. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Maloine. 204 pages.

37. Belkamel A., Bammi J., Janneot V., Belkamel A., Dehbi Y., Douira A. 2008. Évaluation de la biomasse et analyse des huiles essentielles de trois variétés de basilic (*Ocimum basilicum* L.) cultivées au Maroc. *Acta Botanica Gallica*. 155(4):467-476.
38. Bencheqroun H., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Chaouch A. 2012. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 81:4-21.
39. Bernáth J. 1997. Some scientific and practical aspects of production and utilization of oregano in central Europe. In: Padulosi, S. (Ed.), *Oregano*, 14. Proceedings of the IPGRI International Workshop. Italy, Rome. 75-92.
40. Besombes C., Berka-Zougali B., Allaf K. 2010. Instant controlled pressure drop extraction of lavandin essential oils: Fundamentals and experimental studies. *J. Chromatogr. A*. 1217(4):6807-6815.
41. Bhat V., Sharma S.M., Shetty V., Shastry C.S., Rao V., Shenoy S.M. 2014. Screening of selected plant essential oils for their antifungal activity against *candida* species isolated from denture stomatitis patients. *Nitte University Journal of Health Science*. 4:46-51.
42. Bhuiyan M.N.I., Begum J., Akter F. 2010. Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston). *African Journal of Plant Science*. 4(11):451- 454.
43. Blagojević P., Radulović N., Palić R., Stojanović G. 2006. Chemical composition of the essential oils of serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J Agric Food Chem*. 54(13):4780-4789.
44. Blattner F.R., Plunkett G., III., Bloch C.A., Perna N.T., Burland V., *et al.* 1997. The complete genome sequence of *Escherichia coli* K-12. *Science*. 277:1453-1474.
45. Bodey G.P., Mardani M., Hanna H.A., Boktour M., Abbas J., Girgawy E. 2002. The epidemiology of *Candida glabrata* and *Candida albicans* fungemia in immunocompromised patients with cancer. *The American journal of medicine*. 112(5):380-385.
46. Bona E., Cantamessa S., Pavan M., Novello G., Massa N., Rocchetti A. 2016. Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents? *Journal of applied microbiology*. 121(6):1530-1545.
47. Bora K.S., Sharma, A. 2011. The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmaceutical Biology*. 49(1):101-109.

48. Borugă O., Jianu C., Mișcă C., Goleț I., Gruia A.T., Horhat F.G. 2014. *Thymus vulgaris* essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of Medicine and Life*. 7(3):56-60.
49. Bottcher H. 1965. *Miracle drugs*. Zagreb: Zora. 23-139.
50. Bougnoux M.E., Diogo D., Pujol C., Soll D.R., Enfert C. 2007. Molecular Epidemiology and Population Dynamics in *Candida albicans*, [in] Enfert C, Hube B. (Eds) *Candida: Comparative and Functional Genomics*. Norfolk, GBR: Caister Academic Press. 428 pages.
51. Bouguerra N., Djebbar F.T., Soltani N. 2017. Algerian *Thymus vulgaris* essential oil: chemical composition and larvicidal activity against the mosquito *Culex pipiens*. *Int J Mosq Res*. 4(1):37-42.
52. Boukhatem M.N., Ferhat M.A., Kameli A., Saidi F., Taibi H., Djamel T. 2014. Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 8:1418-1431.
53. Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F., Hakim Y. 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nat Technol*. 3:37-45.
54. Boukhobza F., Goetz P. 2014. *Phytothérapie en odontologie - Editions CdP. Initiatives Santé*. 226 pages.
55. Boutamani M. 2013. Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisée. Master domaine en chimie du médicament. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger, Algérie.
56. Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A., Lognay G. 2007. Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 11(1):3-7.
57. Brennan B., Leyden J.J. 1997. Overview of topical therapy for common superficial fungal infections and the role of new topical agents. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 36(2):S3-8.
58. Bruneton J. 1987. *Déments de phytochimie et de pharmacognosie*. Paris: Lavoisier. 585 pages.
59. Bruneton J. 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} édition. Paris: Lavoisier. 1292 pages.

60. Bruyère F. 2016. Dossier de presse du 104ème Congrès Français d'Urologie. Maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques. [en ligne]. Disponible sur: <<http://urofrance.org/congres-et-formations/congres-francais-durologie/historique-des-congres-de-lafu/104eme-congres/dp-104-congres-bacteries-multi-r.html>> (consulté le 11.02.2016).
61. Budri P.E., C. Silva N.C., R. Bonsaglia E.C., Fernandes Júnior A., Araújo Júnior J.P., Doyama J.T. 2015. Effect of essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum zeylanicum* and their major components on biofilm production in *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with mastitis. *J Dairy Sci.* 98:1-6.
62. Burt S.A., Reinders R.D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology.* 36:162-167.
63. Busatta C., Mossi A.J., Rodrigues Maria R.A., Cansian R.L., Oliveira J.V. 2007. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Braz J Microbiol.* 38(4):610-616.
64. Cáceres A. 1999. Plantas de Uso Medicinal em Guatemala. 2^{ed}. Guatemala: Editorial Universitária. 402 pages.
65. Caillaud M.A. 2013. Étude de l'espèce *Origanum vulgare* L. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Nantes: UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Nantes. France.
66. Cannon P.F., Kirk P.M. 2007. Fungal Families of the World. Wallingford, UK: CAB International. 320-321.
67. Castilho P.C., Savluchinske-Feio S., Weinhold T.S., Gouveia S.C. 2012. Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils, extracts and their main components from oregano from Madeira Island, Portugal. *Food Control.* 23:552-558.
68. Cattoir V. 2012. Quinolones: de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2012(445):79-87.
69. Čavar S., Maksimović M., Vidic D., Parić A. 2012. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products.* 37(1):479-485.
70. Cazin C., Jonard R., Allain P., Pellecuer J. 1985. L'évolution de la composition des huiles essentielles chez divers chémotypes de Sarriette des montagnes (*Satureia montana* L.) obtenus par l'isolement *in vitro* des apex. *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences Série 3, Sciences de la vie.* 300(6):237-240.

71. CBIP. Centre belge d'information pharmacothérapeutique. 2017. Répertoire commenté des médicaments. 640 pages.
72. Çetin B., Çakmakçi S., Cakmakci R. 2011. The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. *Turkish Journal of Agriculture and forestry*. 35(2):145-154.
73. Chahboun N., Esmail A., Rhaïem N., Abed H., Amiyare R., Barrahi M. 2014. Extraction and study of the essential oil *Rosmarinus Officinalis* Cuellie in the Region of Taza, Morocco. *Der Pharma Chemica*. 6(3):367-372.
74. Chaieb K., Zmantar T., Ksouri R., Hajlaoui H., Mahdouani K., Abdelly C. 2007. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. *Mycoses*. 50(5):403-406.
75. Chaintreau A., Maignial L., Pollien P. 1997. Appareil et procédé de distillation et d'extraction simultanées. [en ligne]. Disponible sur: < <https://www.google.com/patents/EP0779088A1?cl=fr> > (consulté le 11.02.2016).
76. Chalchat J.C., Garry R.P., Sidibé L., Harama M. 1999. Aromatic plants of Mali (I): chemical composition of essential oils of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Essential Oil Research*. 11(3):375-380.
77. Charles P.E., Large A., Quenot J.P., Dalle F. 2016. Épidémiologie des candidoses invasives en France. *Réanimation*. 25(2):37-43.
78. Chatzifragkou A., Petrou I., Gardeli C., Komaitis M., Papanikolaou S. 2011. Effect of *Origanum vulgare* L. Essential Oil on Growth and Lipid Profile of *Yarrowia lipolytica* Cultivated on Glycerol-Based Media. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 88(12):1955-1964.
79. Chenni M., El Abed D., Rakotomanomana N., Fernandez X., Chemat F. 2016. Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction. *Molecules*. 21(1):113.
80. Chericoni S., Flamini G., Campeol E., Cioni P.L., Morelli I. 2004. GC–MS analyses of the essential oil from the aerial parts of *Artemisia verlotiorum*: variability during the year. *Biochemical Systematics and Ecology*. 32(4):423-429.
81. Cheurfa M., Allem R., Sebahia M., Belhireche S. 2013. Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Phytothérapie*. 11:154-160.

82. Chouhan S., Sharma K., Guleria S. 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. Skaltsa E, ed. Medicines. 4(3):58.
83. Chups. 2003. Bactériologie. Niveau DCEM1. Université Pierre et Marie Curie. [en ligne]. Disponible sur: <<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/bacterio.pdf>> (consulté le 24.01.2017).
84. Cleff M.B., Meinerz A.R., Xavier M., Schuch L.F., Meireles M.C.A., Rodrigues M.R.A. 2010. *In vitro* activity of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida* species. Brazilian Journal of Microbiology. 41:116-123.
85. CLSI. Clinical Laboratory Standards Institute. 2008. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard-Third Edition. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute. M27-A3, 28.
86. CNPM. 2016. Pharmacologie. [en ligne]. Disponible sur: <<http://pharmacomedicale.org>> (consulté le 11.02.2016).
87. Colle K. 2010. Apport de la chirurgie dans le traitement des tendinopathies calcanéennes chroniques: à propos de trente-six cas. Thèse de Doctorat en médecine. Université Henri Poincaré -Nancy I. Faculté de Médecine. Nancy. France.79 Pages
88. Cordeiro C.H.G., Chung M.C., Do Sacramento L.V.S. 2005. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 15:272-278.
89. Cormack B.P., Falkow S. 1999. Efficient homologous and illegitimate recombination in the opportunistic yeast pathogen *Candida glabrata*. Genetics. 151:979-987.
90. Correa-Royero J., Tangarife V., Durán C., Stashenko E., Mesa-Arango A. 2010. *In vitro* antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn. 20(5):734-741.
91. Craveiro A.A., Matos F.J.A., Alencar J.W., Plumel M.M. 1989. Microwave extraction of an essential oil. Flavour Fragrance Journal. 4:43-44.
92. Craven L.A., Biffin E. 2010. An infrageneric classification of *Syzygium* (*Myrtaceae*). Blumea - Biodiversity, Evolution and Biogeography of Plants. 55(1):94-99.
93. Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. 2000. Natural products (secondary metabolites). Biochemistry and molecular biology of plants. 24:1250-1319.
94. d'Enfert C., Hube B. 2007. *Candida*: comparative and functional genomics. Horizon Scientific Press. 440 pages.

95. Da Costa A.C., Dos Santos B.H.C., Filho L.S., Lima E.D.O. 2009. Antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients. *Braz J Pharmacog.* 19:236-241.
96. Dahraoui S., El Abbassi S., Kabbage S., Hajjaji C., Iken M., Lmimouni B. 2016. Évaluation *in vitro* de l'activité anticandidosique des huiles essentielles de cannelle, de girofle et d'arbre à thé. *Journal de Mycologie Médicale.* 26(2):e23.
97. Daneshian Moghaddam A.M., Shayegh J., Mikaili P., Dolghari Sharaf J. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5(15):3453-3456.
98. Da-Silva F., Santos R.H.S., Diniz E.R., Barbosa L.C.A., Casali V.W.D., De-Lima R.R. 2003. Content and composition of basil essential oil at two different hours in the day and two seasons. *Braz J Med Plants.* 6(1):33-38.
99. De Barros J.C., da Conceição M.L., Neto N.J.G., da Costa A.C.V., de Souza E.L. 2012. Combination of *Origanum vulgare* L. essential oil and lactic acid to inhibit *Staphylococcus aureus* in meat broth and meat model. *Brazilian Journal of Microbiology.* 43(3):1120-1127.
100. De Cerqueira M., Souza-Neta L., Passos M., Lima E., Roque N., Martins D. 2007. Seasonal variation and antimicrobial activity of *Myrcia myrtifolia* essential oils. *J Braz Chem Soc.* 18:998-1003.
101. De Mello V., De Azevedo Prata M.C., Da Silva M.R., Daemon E., Da Silva L.S., Del Gaudio Guimarães F. 2014. Acaricidal properties of the formulations based on essential oils from *Cymbopogon winterianus* and *Syzygium aromaticum* plants. *Parasitol Res.* 113:4431-4437.
102. Del Campo J., Amiot M.J., Nguyen-The C. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extracts. *J Food Protect.* 63:1359-1368.
103. Delarras, C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire: recherche de bactéries et de levures-moisissures. Lavoisier-Tec & Doc. 772 pages.
104. Deletre E., Chandre F., Williams L., Duménil C., Menut C., Martin T. 2015. Electrophysiological and behavioral characterization of bioactive compounds of the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon winterianus*, *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils against *Anopheles gambiae* and prospects for their use as bednet treatments. *Parasites & Vectors.* 8:316.

105. Delić Dafina N., Skrobonja Jelica R., Karaman Maja A., Matavulj Milan N., Bogavac Mirjana A. 2013. Antifungal activity of essential oils of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* against three *Candida albicans* strains. Nat Sci Matica Srpska Novi Sad. 124:203-211.
106. Deng J., He B., He D., Chen Z. 2016. A potential biopreservative: Chemical composition, antibacterial and hemolytic activities of leaves essential oil from *Alpinia guinanensis*. Industrial Crops and Products. 94:281-287.
107. Dob T., Dahmane D., Benabdelkader T., Chelghoum C. 2006. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus fontanesii*. Pharm Biol. 44:607-612.
108. Dodgson A.R., Pujol C., Pfaller M.A., Denning D.W., Soll D.R. 2005. Evidence for recombination in *Candida glabrata*. Fungal Genet. Biol. 42:233-243.
109. Donnenberg M.S. (Ed.). 2002. *Escherichia coli*: virulence mechanisms of a versatile pathogen. Elsevier. 417 pages.
110. Dorman H.V., Deans S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol. 88(2):308-316.
111. Duke J.A. 2000. The Green Pharmacy Herbal Handbook: Your Comprehensive Reference to the Best Herbs for Healing. Rodale. 282 pages.
112. Duke J.A. 2002. Handbook of Medicinal Herbs, Second Edition. CRC Press. 896 pages.
113. Duraffourd C., Lapraz J.C. 2002. Traité de phytothérapie clinique: endobiogénie et médecine. Elsevier Masson. 827 pages.
114. El Ajjouri M., Ghanmi M., Satrani B. 2010. Composition chimique et activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* et *Thymus ciliatus* contre les champignons de pourriture du bois. Acta Botanica. 2:285-294.
115. El Rhazi K., Elfakir S., Berraho M., Tachfouti N., Serhier Z., Kanjaa C. 2007. Prévalence et facteurs de risque des infections nosocomiales au CHU Hassan II de Fès (Maroc). Eastern Mediterranean Health Journal. 13(1):56.
116. El-Akhal F., Greche H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali Lalami A. 2015. Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc. Mater Environ Sci. 6(1):214-219.
117. Elhassan I.A., Osman N.M. 2014. New chemotype *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): "*R. officinalis* ct. bornyl acetate". American Journal of Research Communication. 2(4):232-240.
118. Elvin-Lewis M. 2001. Should we be concerned about herbal remedies. J Ethnopharmacol. 75(2-3):141-164.

119. Erel S., Reznicek G., Senol S.G., Yavasogulu N.Ü.K., Konyalioglu S., Zeybek A.U. 2012. Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turk J Biol.* 36:75-84.
120. Ernst E. 2007. Herbal Medicines: Balancing Benefits and Risks. In: *Dietary Supplements and Health* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd. 154-172.
121. Ernst E., Pittler H.M. 2005. *Médecines alternatives: le guide critique*. Elsevier Masson. 504 pages.
122. Ez Zoubi Y., Abdellah F., Saâd M., El Ouali Lalami A. 2016. *In vitro* Antibacterial Efficacy of Essential Oils from Moroccan Plants Against Pathogenic Bacteria Isolated from Hospital Environment in Morocco. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.* 8(6): 610-615.
123. Fachini-Queiroz F.C., Kummer R., Estevão-Silva C.F., Carvalho M.D de B., Cunha J.M., Grespan R. 2012. Effects of Thymol and Carvacrol, Constituents of *Thymus vulgaris* L. Essential Oil, on the Inflammatory Response. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 2012(2):657026.
124. Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M., El-Baroty G.S.A. 1989. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection.* 52 (9): 665-667.
125. Farlex. 2017. Medical-dictionary. Aromatherapy [en ligne]. Disponible sur: <<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/aromatherapy>> (consulté le 23.02.2017).
126. Favre B., Ryder, N.S. 1997. Cloning and expression of squalene epoxidase from the pathogenic yeast *Candida albicans*. *Gene.* 189(1):119-126.
127. Fechtal M., Ismaili R., Zine el Abidine A. 2011. Effet de la transplantation sur la qualité et le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Annales de la recherche forestière au Maroc.* 34:94-102.
128. Fechtal M., Zine el Abidine A., Hachmi M., Sesbou A., Karkouzi R. 2005. Variabilité infraspécifique du rendement et de la composition chimique des huiles essentielles du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.). *Annales de la recherche forestière au Maroc.* 36:98-106.
129. Fedorov A.A. 2000. *Flora of Russia volume 3*. CRC Press. 370 pages.
130. Fennane M et Ibn Tattou M. 2012. Statistiques et commentaires sur l'inventaire actuel de la flore vasculaire du Maroc. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, Rabat, section Sciences de la Vie. 34(1):1-9.

131. Fennane M., Ibn Tattou M., El Oualidi J. 2014. Flore Pratique du Maroc: Manuel de détermination des plantes vasculaires. Volume 3: Dicotylédones (p.p), Monocotylédones. Institut Scientifique, Université Mohammed V-Agdal, Rabat. Cana Print Rabat. 800 pages.
132. Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A., El Oualidi J. 2007. Flore Pratique du Maroc: Manuel de détermination des plantes vasculaires. Volume 2: *Angiospermae (Leguminosae - Lentibulariaceae)*. Institut Scientifique, Université Mohammed V-Agdal, Rabat. Okad El Jadida Rabat. 648 pages.
133. Ferreira T.S., Moreira C.Z., Cária N.Z., Victoriano G., SILVA Jr W.F., Magalhães J.C. 2014. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. *Rev. bras. plantas med.* 16(2):290-298.
134. Ferreira T.S., Moreira C.Z., Cária N.Z., Victoriano G., SILVA Jr W.F., & Magalhães, J.C. 2014. Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 16(2):290-298.
135. Figueredo G. 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat. Chimie organique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. France. 218 pages.
136. Flaymond M. 2005. L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Nantes Faculté de Pharmacie. France. 93 pages.
137. Flesch F. 2012. Plantes toxiques: les dangers du retour à la nature. *Réanimation.* 21(5):525-532.
138. Fournomiti M., Kimbaris A., Mantzourani I., Plessas S., Theodoridou I., Papaemmanouil V. 2015. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumonia*. *Microbial Ecology in Health & Disease.* 26(1):23289.
139. Frederick Millsbaugh C. 1892. *American Medicinal Plants*. Courier Corporation. 806 pages.
140. Fu Y., Zu Y.G., Chen L., Shi X.G., Wang Z., Sun S. 2007. Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and in Combination. *Phytother Res.* 21:989-994.
141. Gattefossé R.M. 1937. *Aromathérapie: les huiles essentielles hormones végétales*. Paris: Librairie des Sciences. 187 pages.

142. Gauch L.M.R., Pedrosa S.S., Esteves R.A., Silveira-Gomes F., Gurgel E.S.C., Arruda A.C. 2014. Antifungal activity of *Rosmarinus officinalis* Linn. essential oil against *Candida albicans*, *Candida dubliniensis*, *Candida parapsilosis* and *Candida krusei*. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 5:61-66.
143. Gazengel J.M. et Orecchioni A.M. 2013. *Le préparateur en pharmacie*. 2ème édition. Ed. Lavoisier, Paris. 1762 pages.
144. Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Isamili M.R., Houti H., El Monfalouti H. 2010. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental). *Phytothérapie*. 8(5):295-301.
145. Gill A.O., Holley R.A. 2006. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *International journal of food microbiology*. 111(2):170-174.
146. Giordani R., Regli P., Kaloustian J., Mikail C., Abou L., Portugal H. 2004. Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*. 18(12):990-5.
147. Glover B., Wentzel J., Jenkins A., Van Vuuren M. 2017. The first report of *Escherichia fergusonii* isolated from non-human primates, in Africa. *One health* (Amsterdam, Netherlands). 3:70-75.
148. Goetz P., Ghédira K. 2012. *Phytothérapie anti-infectieuse*, Paris, Springer-Verlag France. 394 pages.
149. Govindaraj S., Kumari B.D.R. 2013. Composition and Larvicidal activity of *Artemisia vulgaris* L. stem essential oil against *Aedes aegypti*. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 6(1):11-16.
150. Govindaraj S., Ranjitha Kumari B.D., Cioni P.L., Guido Flamini G. 2008. Mass Propagation and Essential Oil Analysis of *Artemisia vulgaris*. *Journal Of Bioscience And Bioengineering*. 105(3):176-183.
151. Gradinariu V., Cioanca O., Hritcu L., Trifan A., Gille E., Hancianu M. 2015. Comparative efficacy of *Ocimum sanctum* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils against amyloid beta (1-42)-induced anxiety and depression in laboratory rats. *Phytochem Rev*. 14:567-575.
152. Guerra F.Q., Mendes J.M., Sousa J.P., Morais-Braga M.F., Santos B.H., Melo Coutinho H.D. 2012. Increasing antibiotic activity against a multidrug-resistant *Acinetobacter spp*

- by essential oils of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanicum*. *Nat Prod Res.* 26(23):2235-2238.
- 153.** Guetat A., Al-Ghamdi F.A., Osman A.K. 2017. The genus *Artemisia* L. in the northern region of Saudi Arabia: Essential oil variability and antibacterial activities. *Natural product research.* 31(5):598-603.
- 154.** Guinoiseau E. 2010. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. *Sciences du Vivant. Thèse de Doctorat en Biochimie-Biologie Moléculaire.* Université de Corse. France. 143 pages.
- 155.** Haddouchi F., Lazouni H.A., Meziane A., Benmansour A. 2009. Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique SCIENCE.* 5(2):246-259.
- 156.** Haller C.A et Benowitz N.L. 2000. Adverse cardiovascular and central nervous system events associated with dietary supplements containing ephedra alkaloids. *N Engl J Med.* 343(25):1833-1838.
- 157.** Hallmann-Mikołajczak A. 2004. [Ebers Papyrus. The book of medical knowledge of the 16th century B.C. Egyptians]. *Archiwum historii i filozofii medycyny.* 67(1):5-14.
- 158.** Handa S.S. 2008. An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In. International Centre for Science and High Technology. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.* ICS Unido. 21-54.
- 159.** Harris L.G., Foster S.J., Richards R.G. 2002. An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relation to adhesion to biomaterials: review. *European Cells & Materials.* 4:39-60.
- 160.** HAS. Haute Autorité de Santé. 2017. Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des candidoses invasives. [en ligne]. Disponible sur: <https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-10/argumentaire_candidoses_invasives.pdf> (consulté le 12.08.2018).
- 161.** Heinrich M. 2017. Phytotherapy. *Encyclopædia Britannica.* [en ligne]. Disponible sur: <<https://www.britannica.com/science/phytotherapy>> (consulté le 8.08.2018).
- 162.** Helander I.M., Alakomi H.L., Latva-Kala K., Mattila-Sandholm T., Pol I., Smid E.J., Gorris L.G.M. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry.* 46(9):3590-3595.
- 163.** Hendriks L., Goris A., Van De Peer Y., Neefs J., VanCanneyt M., Kersters K., Hennebert G.L., De Wachter R. 1991. Phylogenetic analysis of five medically important

- Candida* species as deduced on the basis of small ribosomal subunit RNA sequences. *Journal of General Microbiology*.137:1223-1230.
164. Hershoff A., Rotelli A. 2001. *Herbal Remedies: A Quick and Easy Guide to Common Disorders and Their Herbal Treatments*. Penguin. 368 pages.
165. Hili P., Evans C.S., Veness R.G. 1997. Antimicrobial action of essential oils: The effect of dimethylsulphoxide on the activity of *cinnamon* oil. *Lett Appl Microbiol*. 24:269-275.
166. Hiltunen R., Holm Y. 2003. *Basil: The Genus Ocimum*. CRC Press. 152 pages.
167. Hiremath S.K., Kolume D.G., Muddapur U.M. 2011. Antimicrobial activity of *Artemisia vulgaris* linn. (damanaka). *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2(6):1674-1675.
168. Hoefler C. 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses: activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de Doctorat. Université de Metz. Spécialité: Pharmacognosie. France. 148 pages.
169. Hoffmann D. 2003. *Medical Herbalism: The science and practice of herbal medicine*. Rochester, Vt.: Healing Arts Press. 672 pages.
170. Hossain M.A., Al-Hashmi R.A., Weli A.M., Al-Riyami Q., Al-Sabahib J.N. 2012. Constituents of the essential oil from different brands of *Syzygium caryophyllatum* L by gas chromatography–mass spectrometry. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(3):S1446-1449.
171. Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S., Nigam P.S. 2010. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41:1070-1078.
172. Hussein H., Abaas S.I., Hussain Ali R. 2014. Antibacterial activities of *Cinnamon zelanicum* and *Syzygium aromaticum* essential oil. *Int J Pharm Pharm Sci*. 6(5):165-168.
173. Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. 2012. Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. *Frontiers in Microbiology*. 3:12.
174. Hounda F.J.B., Jazet D.P.M., Bakarnga V.I., Ngo Mback M.N.L., Zeuko'O M.E., Fall A.D. 2014. Optimized combinations of *Ocimum* essential oils inhibit growth of four *Candida albicans*. *International Journal of Drug Discovery*. 6(1):198-206.
175. Ietswaart J.H. 1980. A taxonomic revision of the genus *Origanum* (*Labiatae*). PhD Thesis, Leiden University Press, The Hague, Netherlands. 160 pages.

176. Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., El Bachiri A. 2009. Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int J Agric Biol.* 11:205-208.
177. Institut Pasteur Paris. 2017. Résistance aux antibiotiques. [en ligne]. Disponible sur: <<https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/resistance-aux-antibiotiques#epidmiologie>> (consulté le 12.08.2018).
178. ISO 9235:2013(fr). Matières premières aromatiques naturelles — Vocabulaire. [en ligne]. Disponible sur: <<https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:fr>> (consulté le 11.02.2016).
179. Issabeagloo E., Kermanizadeh P., Taghizadieh M., Forughi R. 2012. Antimicrobial effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils against *Staphylococcus* spp. *African Journal of Microbiology Research.* 6(23):5039-5042.
180. Ivanovic J., Misic D., Zizovic I., Ristic M. 2012. *In vitro* control of multiplication of some food-associated bacteria by thyme, rosemary and sage isolates. *Food Control.* 25(1):110-116.
181. Jarrar N., Abu-Hijleh A., Adwan K. 2010. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 3(2):121-123.
182. Javed H., Erum S., Tabassum S. 2013. Ameen F. An overview on medicinal importance of *thymus vulgaris*. *Journal of Asian Scientific Research.* 3(10):974-982.
183. Johnson S.A. 2015. Evidence-based essential oil therapy: the ultimate guide to the therapeutic and clinical application of essential oils. Scott A. Johnson Professional Writing Services, LLC. 506 pages.
184. José Abad M., Miguel Bedoya L., Apaza L., Bermejo P. 2012. The Artemisia L. Genus: A Review of Bioactive Essential Oils. *Molecules.* 17:2542-2566.
185. Joshi R.K. 2014. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. *Ancient Science of Life.* 33(3):151-156.
186. Jouault S. 2012. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Lorraine. Faculté de Pharmacie. France. 142 pages.
187. Judzentiene A., Buzelyte J. 2006. Chemical composition of essential oils of *Artemisia vulgaris* L. (Mugwort) from North Lithuania. *Chem J A.* 17:12-15.

188. Julve P. 2016. ff. - Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. [en ligne]. Disponible sur: <<http://www.tela-botanica.org>> (consulté le 24.04.2017).
189. Kaloustian J., Hadji-Minaglou F. 2013. La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer Science & Business Media. 226 pages.
190. Kaniyas G.D., Souleles C., Loukis A., Philotheou-Panou E. 1998. Trace elements and essential oil Composition in chemotypes of the aromatic plant *Origanum vulgare*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 227(12):23-29.
191. Kavanaugh N., Ribbeck K. 2012. Selected Antimicrobial Essential Oils Eradicate *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus aureus* Biofilms. Applied and Environmental Microbiology. 78(11):4057-4061.
192. Kéita S.M., Vincent C., Schmit J., Bélanger A. 2000. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. Flavour and fragrance journal. 15(5):339-341.
193. Kelly K. 2009. History of medicine. New York: Facts on file. 29-50.
194. Kennedy M.J., Volz P.A., Edwards C.A., Yangy R.J. 1987. Mechanisms of association of *Candida albicans* with intestinal mucosa. Journal of Medical Microbiology. 24(4):333-341.
195. Keville K. 2007. History of Aromatherapy. [en ligne]. Disponible sur: <<https://health.howstuffworks.com/wellness/natural-medicine/aromatherapy/history-of-aromatherapy.htm>> > (consulté le 8.08.2018).
196. Rashid K.I. 2010. Antimicrobial Activity of Rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) Leaf Essential Oils Against Three Bacterial Species. Al-Mustansiriya J Sci. 21(4):1-8.
197. Khan A.U., Zarrilli R. 2012. Multidrug Resistance: A Global Concern. Bentham Science Publishers. 234 pages.
198. Khan M.S., Ahmad I. 2011. Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. Appl Microbiol Biotechnol. 90(3):1083-1094.
199. Khatri L., Nasir M., Saleem R., Noor F. 1995. Evaluation of Pakistani sweet basil oil for commercial exploitation. Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research. 38:281-282.

200. Khia A., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M., Quaboul B. 2014. Effect of provenance on the chemical and microbiological quality of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. in Morocco. *Phytothérapie*. 12(6):341-347.
201. 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 / Journal of Medical Mycology*. 21(2):93-99.
202. Kim S.W. 2012. Phytotherapy: emerging therapeutic option in urologic disease. *Translational Andrology and Urology*. 1(3):181-191.
203. Kinai M. 2013. *The Essentials of Aromatherapy Essential Oils*. Almasi Holistic Healthcare. 162 pages.
204. Kiraz N., Dag I., Yamac M., Kiremitci A., Kasifoglu N., Oz Y. 2010. Synergistic Activities of Three Triazoles with Caspofungin against *Candida glabrata* Isolates Determined by Time-Kill, Etest, and Disk Diffusion Methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 54(5):2244-2247.
205. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. 1997. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*. 10(3):505-520.
206. Kokkini S., Vokou D. 1989. Carvacrol-rich plants in Greece. *Flavour Frag. J.* 4:1-7.
207. Kong Q.L., Song Y.Z., Zhang L.L., Chen L.Y., Li Q.F. 2004. Natural antifungal compounds from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry. *Acta Agriculturae Shanghai*. 20(3): 68-72.
208. Kouidhi B., Zmantar T., Bakhrouf A. 2010. Anticariogenic and cytotoxic activity of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata*) against a large number of oral pathogens. *Annals of Microbiology*. 60(4):599-604.
209. Kourkoumpetis T.K., Velmahos G.C., Ziakas P.D., Tampakakis E., Manolakaki D., Coleman J.J. 2011. The effect of cumulative length of hospital stay on the antifungal resistance of *Candida* strains isolated from critically ill surgical patients. *Mycopathologia*. 171(2):85-91.
210. Krapp K.M., Longe J.L. 2001. *The Gale Encyclopedia of Alternative Medicine: A-C* Gale Group. Université du Michigan. 1937 pages.
211. Kuriyama H., Watanabe S., Nakaya T., Shigemori I., Kita M. 2005. Immunological and Psychological Benefits of Aromatherapy Massage. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2(2):179-184.

212. Lacy C. 2006. Drug Information Handbook International: A Comprehensive Resource for All Clinicians and Healthcare Professionals. Lexi-Comp. 2426 pages.
213. Lagane C. 2007. Role de l'il-13 et des ligands de PPAR- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans*. Implication de PPAR- γ . Thèse de Doctorat. Université Toulouse III – Paul Sabatier U.F.R. des Sciences de la Vie et de la Santé. France. 150 pages.
214. Lagunez Rivera L. 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat. Sciences des Agroressources. ENSIACET. Toulouse, France. 331 pages.
215. Laib I. 2011. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri Constantine, Algérie.
216. Lakis Z., Mihele D., Nicorescu I., Vulturescu V., Udeanu I.D. 2012. The antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* and *Origanum syriacum* essential oils in *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Candida albicans*. *Farmacia*. 6:857-865.
217. Lambert P.A. 2005. Bacterial resistance to antibiotics: modified target sites. *Advanced drug delivery reviews*. 57(10):1471-1485.
218. Langeveld W.T., Veldhuizen E.J., Burt S.A. 2014. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol*. 40(1):76-94.
219. Lawless J. 2013. *The Encyclopedia of Essential Oils: The Complete Guide to the Use of Aromatic Oils in Aromatherapy, Herbalism, Health, and Well Being*. Conari Press. 224 pages.
220. Lawless J. 2016. *The Complete Essential Oils Sourcebook: A Practical Approach to the Use of Essential Oils for Health and Well-Being*. New York: HarperCollins Publishers. 304 pages.
221. Le Loir Y., Gantier M. 2009. *Staphylococcus aureus*. Lavoisier. 300 pages.
222. Lee S., Najiah M., Wendy W., Nadirah M. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* flower bud (Clove) against fish systemic bacteria isolated from aquaculture sites. *Front. Agric. China*. 3(3):332-336.
223. Lesley B. 2003. *Herbs (Smithsonian Handbooks (Paperback))*. DK Publishing (Dorling Kindersley). 304 pages.
224. Li S., Smith P., Arthur Stuart G. 2003. *Chinese Medicinal Herbs: A Modern Edition of a Classic Sixteenth-century Manual*. Courier Corporation. 508 pages.

225. Li Y., Fabiano-Tixier A-S., Chemat F. 2014. Essential Oils as Reagents in Green Chemistry. Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability. 9-19.
226. Lim T.K. 2014. Edible Medicinal and Non Medicinal Plants: Volume 8, Flowers. Springer Science & Business. 1024 pages.
227. Liu D. 2015. Enterotoxin-Producing *Staphylococcus aureus*. In: Tang Y-W., Sussman M., Liu D., Poxton I, Schwartzman J, éditeurs. Molecular Medical Microbiology (Second Edition). Boston: Academic Press. 979-995.
228. Lożiené K., Sakalyte J., Paskevicius A., Venskutonis P.R. 2008. Anti-*Candida* activity of *Thymus pulegioides* [Lamiaceae] essential oils depends on the plant chemotype. Herba Polonica. 54(4):79-92.
229. Lucaccioni V., Loubaki P., Mafoua A., Simon B., Mattei J.F., Lucht F. 2012. Causes de mortalité des patients séropositifs sous antirétroviraux dans les pays en développement: expérience du Centre de traitement ambulatoire de la Croix-Rouge française à Pointe-Noire, Congo. Med Sante Trop. 23:22-29.
230. Lv F., Liang H., Yuan Q., Li C. 2011. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. Food Research International. 44:3057-3064.
231. Magi G., Marini E., Facinelli B. 2015. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. Frontiers in Microbiology. 6:1-7.
232. Mahboubi M., Mohammadi-Yeganeh S., Bokae S., Dehdashti H., Feizabadi M. 2007. Antimicrobial activity of essential oil from *Oliveria decumbens* and its synergy with vancomycin against *Staphylococcus aureus*. Herba polonica. 53(4):69-76.
233. Mahfuzul Hoque M., Bari M.L., Vijay K. 2008. Juneja, Kawamoto S. Antimicrobial activity of clove and *cinnamon* extract against food borne pathogens and bacteria with their essential oils. Rep. Nat'l. Food Res. Inst. 72:9-21.
234. Manolakaki D., Velmahos G., Kourkoumpetis T., Chang Y., Alam H.B., De Moya M.M. 2010. *Candida* infection and colonization among trauma patients. Virulence. 1(5):367-375.
235. Marcos-Arias C., Eraso E., Madariaga L., Quindós G. 2011. *In vitro* activities of natural products against oral *Candida* isolates from denture wearers. BMC Complement Altern Med. 26(11):119.

236. Martins N., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Silva S., Henriques M. 2014. Candidiasis: Predisposing Factors, Prevention, Diagnosis and Alternative Treatment. *Mycopathologia*. 177(5):223-240.
237. Mayer F.L., Wilson D., Hube B. 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 4(2):119-128.
238. Mazzanti G., Battinelli L., Salvatore G. 1998. Antimicrobial properties of the linalool-rich essential oil of *Hyssopus officinalis* L. var *decumbens* (*Lamiaceae*). *Flavour Fragr J*. 13:289-294.
239. Meghdas I., Hamze M., Dabboussi F., Baida N., Izard D. 2004. Taxonomie du genre *Pseudomonas*: rétrospective et actualité. *Lebanese Science Journal*. 5(1):115.
240. Meng X., Li D., Zhou D., Wang D., Liu Q., Fan S. 2016. Chemical composition, antibacterial activity and related mechanism of the essential oil from the leaves of *Juniperus rigida* Sieb. et Zucc against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Ethnopharmacology*. 194:698-705.
241. Mengal P., Behn Dm Bellido M., Monpon B. 1993. VMHD: extraction of essential oil by microwave. *Parfums Cosmet Aromes*. 114:66-67.
242. Merghache S., Hamza M., Tabti B. 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta chalepensis* L. De Tlemcen, Algérie. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*. (1):67-81.
243. Mikulska M., Calandra T., Sanguinetti M., Poulain D., Viscoli C. 2010. Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care*. 14(6):R222.
244. Mikulska M., Del Bono V., Ratto S., Viscoli C. 2012. Occurrence, presentation and treatment of candidemia. *Expert Rev Clin Immunol*. 8(8):755-765.
245. Millezi A.F., Caixeta D.S., Rossoni D.F., Cardoso M.G., Piccoli R.H. 2012. *In vitro* antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. *Ciênc Tecnol Aliment Campinas*. 32(1):167-172.
246. Millon L., Piarroux R., Monod M., Meillet D. 2002. Physiopathologie de la candidose oropharyngée au cours de l'infection par le VIH. *Médecine et maladies infectieuses*. 32(12):696-703.

247. Moldão-Martins M., Bernardo-Gil M.G., Beirão Da Costa M.L., Rouzet M. 1999. Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *Sylvestris* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*. 14(3):177-182.
248. Morio F., Le Pape P. 2014. Mécanismes de la résistance des *Candida* aux antifongiques. *Précis de Mycologie*. Editions ESKA. - M.A.J. n° 2/2014. 1-34.
249. Mounchid K., Bourjilat F., Dersi N., Aboussaouira T., Rachidai A., Tantaoui-Elaraki A. 2005. The susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Roramarinus officinalis* and *Eucalyptus globulus*. *African Journal of Biotechnology*. 4(10):1175-1176.
250. Mouton Y., Bingen E., Deboscker Y., Dubreuit L. 2000. Antibiotiques, antiviraux, anti-infectieux. Paris: John Libbey Eurotext. 288 pages.
251. Mucciarelli M., Caramiello R., Maffei M., Chialva F. 1995. Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in Northwest Italy. *Flav Fragr J*. 10:25-32.
252. Naguib N.Y. 2002. Thyme (*Thymus vulgaris* L.) growth, oil quality, yield and chemical composition as affected by of chelated iron and two potassium forms. *Arab Univ. J. Agric. Sci*. 10 (3):893-918.
253. Nakayama S., Morita T., Negishi H., Ikegami T., Sakaki K., Kitamoto D. 2008. *Candida krusei* produces ethanol without production of succinic acid; a potential advantage for ethanol recovery by pervaporation membrane separation. *FEMS Yeast Research*. 8(5):706-714.
254. Nazzaro F., Fratianni F., Coppola R., De Feo V. 2017. Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals*. 10(4):86.
255. Nebie R.H.C., Yameogo R., Belanger A., Sib F. S. 2002. Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burkina Faso. Composition chimique des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* L. *J SOC Ouest-Afr Chim*. 13:89-98.
256. Nguefack J., Tamgue O., Dongmo J.B.L., Dakole C.D., Leth V., Vismer H.F. 2012. Synergistic action between fractions of essential oils from *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* against *Penicillium expansum*. *Food Control*. 23:377-383.
257. Nguyen N.H., Suh S.O., Blackwell M. 2007. Five novel *Candida* species in insect-associated yeast clades isolated from Neuroptera and other insects. *Mycologia*. 99(6):842-858.

258. Nurzyńska-Wierdak R. 2009. Herb yield and chemical composition of common oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil according to the plant's developmental stage. *Herba polinica*. 55(3):55-62.
259. Obistoiu D., Cristina R.T., Schmerold I., Chizzola R., Stolze K., Nichita I. 2014. Chemical characterization by GC-MS and *in vitro* activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracuncululus*, *Artemisia abrotanum*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Chemistry Central Journal*. 8(1):6.
260. Ocampo P.S., Lázár V., Papp B., Arnoldini M., Abel zur Wiesch P., Busa-Fekete R. 2014. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob Agents Chemother*. 58(8):4573-4582.
261. Olama Z., Holail H., Makki S. 2013. Antifungal effect of some plant oils against some oral clinical isolates of *Candida albicans* in Lebanese community. *Journal of Science and Technology*. 3(3):25-39.
262. Omidbaigi R., Mirzai M., Moghadam M.S. 2007. Chemical Investigation of a New Cultivar of Purple Basil (*Ocimum basilicum* cv. Opal) from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 10(3):209-214.
263. OMS. 2017. Liste OMS des agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques. [en ligne]. Disponible sur: <<http://www.who.int/fr/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>> (consulté le 12.08.2018).
264. Opalchenova G., Obreshkova D. 2003. Comparative studies on the activity of basil—an essential oil from *Ocimum basilicum* L.-against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *Journal of Microbiological Methods*. 54(1):105-110.
265. Orav A., Kailas T., Ivask K. 2001. Composition of the essential oil from *Achillea millefolium* L. from Estonia. *Journal of Essential Oil Research*. 13:290-294.
266. Orwa C., Mutua A., Kindt R., Jamnadass R., Anthony S. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. [en ligne]. Disponible sur: <<http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>> (consulté le 25.04.2017).
267. Otrębska-Machaj E., Chevalier J., Handzlik J., Szymańska E., Schabikowski J., Boyer G. 2016. Efflux Pump Blockers in Gram-Negative Bacteria: The New Generation of Hydantoin Based-Modulators to Improve Antibiotic Activity. *Frontiers in Microbiology*. 7:622.

268. Oyedeji O.A., Adeniyi B.A., Ajayi O., König W.A. 2005. Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity. Another chemotype from Nigeria. *Phytother Res.* 19(4):362-364.
269. Özkalp B., Sevgi F., Özcan M., Musa Özcan M. 2010. The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). *Journal of Food, Agriculture & Environment.* 8 (2):272-274.
270. Padalia H., Moteriya P., Baravalia Y., Chanda S. 2015. Antimicrobial and synergistic effects of some essential oils to fight against microbial pathogens – a review. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs* (A. Méndez-Vilas, Ed.). 34-45.
271. Peace Rhind J., Pirie D. 2012. *Essential Oils: A Handbook for Aromatherapy Practice.* Singing Dragon. 318 pages.
272. Pei R.S, Zhou F, Ji B.P, Xu J. 2009. Evaluation of combined antibacterial effects of eugénol, cinnamaldehyde, thymol, and carvacrol against *E. coli* with an improved method. *J Food Sci.* 74:379-383.
273. Peter K.V. 2004. *Handbook of Herbs and Spices,* Woodhead Publishing. Volume 2. 360 pages.
274. Petrovska B.B. 2012. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews.* 6(11):1-5.
275. Pfaller M.A., Diekema D., Colombo A., Kibbler C., Ng K., Gibbs D. 2006. *Candida rugosa*, an emerging fungal pathogen with resistance to azoles: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program. *Journal of clinical microbiology.* 44(10):3578-3582.
276. Pfaller M.A., Diekema D., Gibbs D.L., Newell V.A., Nagy E., Dobiasova S. 2008. *Candida krusei*, a Multidrug-Resistant Opportunistic Fungal Pathogen: Geographic and Temporal Trends from the ARTEMIS DISK Antifungal Surveillance Program, 2001 to 2005. *Journal of Clinical Microbiology.* 46(2):515-521.
277. Pharmacopée européenne 9ème édition. 2016. Service européen de la qualité du médicament, Conseil de l'Europe. Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé. Strasbourg: Conseil de l'Europe (ref: 01/2008:1846/2098).
278. Pino J.A., Estarron M., Fuentes V. 1997. Essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) grown in Cuba. *J. Essent. Oil Res.* 9(5):609-610.
279. Pino J.A., Rohlado A., Fuentes V. 1999. Composition of the essential oil of *Artemisia vulgaris* L. herb from Cuba. *J. Essent. Res.* 11, 477-478.

280. Pinto E., Vale-Silva L., Cavaleiro C., Salgueiro L. 2009. Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *J Med Microbiol.* 58(11):1454-1462.
281. Pintore G., Marchetti M., Chessa M., Sechi B., Scanu N., Mangano G., Tirillini B. 2009. *Rosmarinus officinalis* L.: Chemical modifications of the essential oil and evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. *Nat Prod Commun.* 4(12):1685-1690.
282. Politeo O., Jukic M., Milos M. 2007. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. *Food Chem.* 101:379-385.
283. Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. 2003. *Microbiologie.* De Boeck Supérieur. 1137 pages.
284. Projet PAM. Mai 2014. Intégration de la biodiversité dans les chaînes de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes au Maroc. Manuel des bonnes pratiques de collecte du romarin « *Rosmarinus officinalis* ». 10 pages.
285. Quattrocchi U. 2016. *CRC World Dictionary of Medicinal and Poisonous Plants.* CRC Press. 3960 pages.
286. Rahme L.G., Stevens E.J., Wolfort S.F., Shao J., Tompkins R.G., Ausubel F.M. 1995. Common virulence factors for bacterial pathogenicity in plants and animals. *Science.* 268:1899-1902.
287. Raina A.P., Singh Negi K. 2012. Essential oil composition of *Origanum majorana* and *Origanum vulgare ssp. hirtum* growing in India. *Chemistry of Natural Compounds.* 47(6):1115-1117.
288. Raj Singh B., Singh V., Karan Singh R., Toppo S., Haque N., Ebibeni N. 2012. Comparative evaluation of antimicrobial effect of *Artemisia vulgaris* essential oils extracted from fresh and dried herb. *International Journal of Phytomedicines and Related Industries.* 4(2):76-82.
289. Rapper S.D., Kamatou G., Viljoen A., Vuuren S.V. 2013. The *in vitro* antimicrobial activity of *Lavandula angustifolia* essential oil in the combination with other aroma therapeutic oils. *Evidence Based Complementary and Alternative medicine.* 1-10.
290. Rates S.M.K. 2001. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de Farmacognosia. *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 11:57-69.

291. Ravid U., Putievsky E., Katzir I., Lewinsohn E. 1997. Enantiomeric composition of linalool in the essential oils of *Ocimum* species and in commercial basil oils. *Flavour Fragr J.* 12: 293-296.
292. Razafimamonjison G., Boulanger R., Jahiel M., Ramanoelina P., Fawbush F., Lebrun M., Danthu P. 2016. Variations in yield and composition of leaf essential oil from *Syzygium aromaticum* at various phases of development. *International Journal of Basic and Applied Sciences.* 5(1):90-94.
293. Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A. 1993. Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J Essent Oils Res.* 5:179-184.
294. Rezzoug S.A., Boutekedjiret C., Allaf K. 2005. Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering.* 71:9-17.
295. Richard H. 1992. *Epices et aromates*. Paris: Lavoisier, collection science et techniques alimentaires. 339 pages.
296. Richardson M.D. 2005. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. *J Antimicrob Chemother.* 56(1):i5-i11.
297. Richter G. 1993. *Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie*. Ed. Presses Polytechniques et Universitaire Romandes. 322-323.
298. Richter S.S., Galask R.P., Messer S.A., Hollis R.J., Diekema D.J., Pfaller M.A. 2005. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. *J Clin Microbiol.* 43:2155-2162.
299. Rodrigues F.F., Costa J.G., Coutinho H.D. 2009. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. *Phytomedicine.* 16(11):1052-1055.
300. Rodrigues L.B., Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins A., Cesário F., Ferreira e Castro F., de Albuquerque T.R., Martins Fernandes M.N. 2016. Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: *In vivo* mouse models. *Chemico-Biological Interactions.* 257:14-25.
301. Roman P. 2009. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Ind Crops Prod.* 30(2):311-315.
302. Ronald A.R., Low D. 2012. *Fluoroquinolone Antibiotics*. Birkhäuser. 261 pages.
303. Rosato A., Vitali C., Laurentis ND., Armenise D., Milillo MA. 2007. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with norfloxacin. *Phytomedicine.* 14:727-732.

304. Rose J. 1999. 375 Essential Oils and Hydrosols. Frog Books. 245 pages.
305. Salehi P., Fakhari A. R., Ebrahimi S. N., Heydari R. 2007. Rapid essential oil screening of *Rosmarinus officinalis* L. by hydrodistillation–headspace solvent microextraction. Flavour and Fragrance Journal. 22(4):280-285.
306. Samaranayake Y.H., Wu P.C., Samaranayake L.P., Ho P.L. 1998. The relative pathogenicity of *Candida krusei* and *Candida albicans* in the rat oral mucosa. Journal of Medical Microbiology. 47:1047-1057.
307. Samaranayake Y.H., Wu P.C., Samaranayake L.P., So M., Yuen K.Y. 1994. Adhesion and colonisation of *Candida krusei* on host surfaces. J. Med. Microbiol. 41(4): 250-258.
308. Samaranayake Y.H., Samaranayake L.P. 1994. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. Journal of medical microbiology. 41(5):295-310.
309. Samaranayake Y.H., Wu P.C., Samaranayake L.P., So M. 1995. Relationship between the cell surface hydrophobicity and adherence of *Candida krusei* and *Candida albicans* to epithelial and denture acrylic surfaces. APMIS. 10:707-713.
310. Sanguinetti M., Posteraro B., Lass-Flörl C. 2015. Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. Mycoses. 58(S2):2-13.
311. Santurio D.F., Kunz de Jesus F.P., Zanette R.A., Schlemmer K.B., Fraton A., Martins Fries L.L. 2014. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Thyme and of Thymol against *Escherichia coli* Strains. Acta Scientiae Veterinariae. 42:1234.
312. 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. 62:10-24.
313. Satrani B., Farah A., Fechtal M., Talbi M., Blaghen M., Chaouch A. 2001. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calaminthe* et *Satureja alpina* du Maroc. Ann Falsif Expert Chim. 94:241-250.
314. Schillaci D., Marco Napoli E., Grazia Cusimano M., Vitale M., Ruberto G. 2013. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Essential Oil Prevented Biofilm Formation and Showed Antibacterial Activity against Planktonic and Sessile Bacterial Cells. *Journal of Food Protection*. 76(10):1747-1752.
315. Schroeder M.P., Messing M.A. 1949. Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compounds. Bull Nat Formulary Comm. 17:213-218.

- 316.** Semeniuc C.A., Pop C.R., Rotar A.M. 2016. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Food and Drug Analysis*. [en ligne]. Disponible sur: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949816300801>> (consulté le 15.01.2016).
- 317.** Sepehri Z., Javadian F., Khammari D., Hassanshahian M. 2016. Antifungal effects of the aqueous and ethanolic leaf extracts of *Echinophora platyloba* and *Rosmarinus officinalis*. *Curr Med Mycol*. 2(1):30-35.
- 318.** Sharifian I., Hashemi S.M., Darvishzadeh A. 2013. Fumigant toxicity of essential oil of Mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) against three major stored product beetles. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 46(4):445-450.
- 319.** Shin S., Lim S. 2004. Antifungal effects of herbal essential oils alone and in combination with ketoconazole against *Trichophyton* spp. *J Appl Microbiol*. 97(6):1289-1296.
- 320.** Si H., Hu J., Liu Z., Zeng Z.L. 2008. Antibacterial effect of oregano essential oil alone and in combination with antibiotics against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 53:190-194.
- 321.** Sienkiewicz M., Łysakowska M., Pastuszka M., Bienias W., Kowalczyk E. 2013. The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*. 18(8):9334-9351.
- 322.** Silva O., Duarte A., Cabrita J., Pimentel M., Diniz A., Gomes E. 1996. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. *Journal of Ethnopharmacology*. 50(1):55-59.
- 323.** Silva V., Sousa J., Guerra F., Pessôa H., Freitas A., Alves L., *et al.* 2015. Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* Essential Oil and Linalool on Bacterial Isolates of Clinical Importance. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7(6):1066-1071.
- 324.** Skaria B. 2007. *Aromatic Plants*. New India Publishing. 288 pages.
- 325.** Soares IH., Loreto ÉS., Rossato L., Mario DN., Venturini TP., Baldissera F. 2015. *In vitro* activity of essential oils extracted from condiments against fluconazole-resistant and -sensitive *Candida glabrata*. *Journal de Mycologie Médicale / Journal of Medical Mycology*. 25(3):213-217.

- 326.** Soković M., Glamočlija J., Marin P.D., Brkić D., van Griensven L.J. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in - vitro* model. *Molecules*. 15(11):7532-7546.
- 327.** Soliman F.M., El-Kashoury E.A., Fathy M.M., Gonaïd M.H. 1994. Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour Fragr J*. 9(1):29-33.
- 328.** Spanakis E.K., Kourkoumpetis T.K., Livanis G., Peleg A.Y., Mylonakis E. 2010. Statin therapy and decreased incidence of positive *Candida* cultures among patients with type 2 diabetes mellitus undergoing gastrointestinal surgery. In Elsevier. 1073-1079.
- 329.** Srikantha T., Lachke S.A., Soll D.R. 2003. Three mating type-like loci in *Candida glabrata*. *Eukaryot. Cell*. 2:328-3240.
- 330.** Srinivasan A., Lopez-Ribot J.L., Ramasubramanian AK. 2014. Overcoming antifungal resistance. *Drug discovery today Technologies*. 11:111-116.
- 331.** Stahl-Biskup E., Sáez F. 2003. *Thyme: the genus Thymus*. CRC Press. 352 pages.
- 332.** Stefan M., Zamfirache M.M., Padurariu C., Trută E., Gostin I. 2013. The composition and antibacterial activity of essential oils in three *Ocimum* species growing in Romania. *Central European Journal of Biology*. 8(6):600-608.
- 333.** Suh S.O., Nguyen N.H., Blackwell M. 2008. Yeasts isolated from plant-associated beetles and other insects: seven novel *Candida* species near *Candida albicans*. *FEMS yeast research*. 8(1):88-102.
- 334.** Suman A., Chauhan S., Lata S., Sharma R.K. 2017. Antifungal activity of various plant oils against yeast isolates from ICU patients. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 5(7):3227-3230.
- 335.** Swamy M.K., Akhtar M.S., Sinniah U.R. 2016. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2016:21.
- 336.** Tavassoli S., Mousavi S.M., Emam-Djomeh Z., Razavi S.H. 2011. Comparative Study of the Antimicrobial Activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil and Methanolic Extract. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 9(4):467-471.
- 337.** Tchoumboungang F., Dongmo P.M.J., Sameza M.L., Mbanjo E.G.N., Fotso G.B.T., Zollo P.H.A. 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol Agron Soc Environ*. 13(1):77-84.

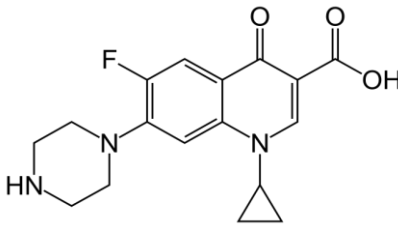
338. Tessier X. 2017. Épidémiologie des candidémies au CHU de Bordeaux du 30 avril 2012 au 30 mars 2016. Thèse de Doctorat en Médecine. Université de Bordeaux U.F.R. des sciences médicales. France. 117 pages.
339. Thériaque. 2017. Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament. [en ligne]. Disponible sur: < <http://www.theriaque.org/>> (consulté le 14.10.2017)
340. Thoroski J., Blank G., Biliaderis C. 1989. Eugenol induced inhibition of extracellular enzyme production by *Bacillus subtilis*. Journal of Food Protection. 52(6):399-403.
341. Thosar N., Basak S., Bahadure R.N., Rajurkar M. 2013. Antimicrobial efficacy of five essential oils against oral pathogens: An *in vitro* study. Eur J Dent. 7:71-77.
342. Tisserand R., Young R. 2013. Essential Oil Safety - E-Book: A Guide for Health Care Professionals. Elsevier Health Sciences. 784 pages.
343. Tofiño-Rivera A., Ortega-Cuadros M., Galvis-Pareja D., Jiménez-Rios H., Merini LJ., Martínez-Pabón MC. 2016. Effect of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* essential oils on biofilms of *Streptococcus mutans* and cytotoxicity in CHO cells. Journal of Ethnopharmacology. 194:749-754.
344. Tortora G.J. 2010. Microbiology: an Introduction. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings. 758 pages.
345. Touafek O., Nacer A., Kabouche A., Kabouche Z., Bruneau C. 2004. Chemical Composition of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* Cultivated in the Algerian Sahara. Chemistry of Natural Compounds. 40(1):28-29.
346. Trajano V.N., Lima E.O., De Souza L.E., Travassos A.E.R. 2010. Inhibitory effect of the essential oil from *Eugenia caryophyllata* Thumb leaves on coalho cheese contaminating microorganisms. Ciênc Tecnol Aliment Campinas. 30(4):1001-1006.
347. Trombetta D., Castelli F., Sarpietro M.G., Venuti V., Cristani, M., Daniele C. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial agents and chemotherapy. 49(6):2474-2478.
348. Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and environmental microbiology. 68(4):1561-1568.
349. USDA. 2017. *Artemisia vulgaris* L.: common wormwood [en ligne]. Disponible sur:
350. Vahedi G., Khosravi A.R., Shokri H., Moosavi Z., Delirezh N., Sharifzadeh A. 2016. Fungicidal effect of *Origanum vulgare* essential oil against *Candida glabrata* and its cytotoxicity against macrophages. J HerbMed Pharmacol. 5(2):78-84.

- 351.** Vale-Silva L., Silva M.J., Oliveira D., Gonçalves M.J., Cavaleiro C., Salgueiro L., Pinto E. 2012. Correlation of the chemical composition of essential oils from *Origanum vulgare* subsp. *virens* with their *in vitro* activity against pathogenic yeasts and filamentous fungi. *J Med Microbiol.* 61(2):252-260.
- 352.** Vallès J., Garcia S., Hidalgo O., Martín J., Pellicer J., Sanz M. 2011. Biology, Genome Evolution, Biotechnological Issues and Research Including Applied Perspectives in *Artemisia* (*Asteraceae*). In: Kader J-C, Delseny M, éditeurs. *Advances in Botanical Research.* Academic Press. 349-419.
- 353.** Valnet J. 1984. *Aromathérapie: traitement des maladies par les essences des plantes.* Maloine. 544 pages.
- 354.** Vandeputte P. 2008. Mécanismes moléculaires de la résistance aux antifongiques chez *Candida glabrata*. Thèse de Doctorat. Biologie des organismes. Université d'Angers, France. 157 pages.
- 355.** Ventola C.L. 2015. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics.* 40(4):277-283.
- 356.** Veres K., Varga E., Dobos Á., Hajdú Z., Máthé I., Németh É. 2003. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare ssp.vulgare* L. and *O. vulgare ssp.hirtum* (Link) letsvaart. *Chromatographia.* 57(1):95-98.
- 357.** Vidal. 2014. *Le dictionnaire.* 90 ème édition. Vidal Paris. 3287 pages.
- 358.** Viturro C., Molina A., Villa W., Saavedra O., Zampini M., Gonzalez M. 1999. Preliminary assays of adaptation in Jujuy (Argentina) of *Satureja hortensis* L., *Ocimum basilicum* L., and *Coriandrum sativum* L. *Acta. Horticulture.* 500:(9)47-50.
- 359.** Vokou D., Kokkini S., Bessière J.M. 1988. *Origanum onites* (Lamiaceae) in Greece: Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economic Botany.* 42(3):407-412.
- 360.** Walker T.S., Bais H.P., Déziel E., Schweizer H.P., Rahme L.G., Fall R. 2004. *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation. *Plant physiology.* 134(1):320-331.
- 361.** Wang F.J., Zhang D., Liu Z.H., Wu W.X., Bai H.H., Dong H.Y. 2016. Species Distribution and *In vitro* Antifungal Susceptibility of Vulvovaginal *Candida* Isolates in China. *Chinese Medical Journal.* 129(10):1161-1165.
- 362.** Weiss G., Weiss S. 1992. *Growing & using the healing herbs.* Gramercy; First Wings Edition. 360 pages.

- 363.** White R.L., Burgess D.S., Manduru M., Bosso J.A. 1996. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. *Antimicrob Agents Chemother.* 40:1914-1918.
- 364.** Wiart C. 2006. *Etnopharmacology of medicinal plants.* New Jersey: Humana Press. 228 pages.
- 365.** Williams J.D., Saleh A.M., Acharya D.N. 2012. Composition of the essential oil of wild growing *Artemisia vulgaris* from Erie, Pennsylvania. *Nat Prod Commun.* 7(5):637-640.
- 366.** Williams K.P., Gillespie J.J., Sobral B.W., Nordberg E.K., Snyder E.E., Shallom J.M. 2010. Phylogeny of gammaproteobacteria. *J Bacteriol.* 192(9):2305-2314.
- 367.** Yassin Nabri H.A.A. 2008. Comparative study on the essential oils of some *Ocimum* species (rehan) at different growth stages. Master en Sciences de l'Ingénieur, Université de Khartoum, Soudan. 91 pages.
- 368.** Yayi-Ladekan E., Kpoviessi S., Gbaguidi F., Kpadonou-Kpoviessi B.G.H., Gbénou J.D., Jolival C. 2012. Variation diurne de la composition chimique et influence sur les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle d'*Ocimum canum* Sims cultivée au Bénin. *Phytothérapie.* 10(4):229-237.
- 369.** Zayyad N., Farah A., Bahhou J. 2014. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. Algeriensis* et *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 83(118):132.
- 370.** Zheljzakov V.D., Astatkie T., Zhalnov I., Georgieva T.D. 2015. Method for attaining rosemary essential oil with differential composition from dried or fresh material. *Journal of oleo science.* 64(5):485-496.
- 371.** Zheljzakov V.D., Callahan A., Cantrell C.L. 2007. Yield and oil composition of 38 basil (*Ocimum basilicum* L.) accessions grown in Mississippi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 56(1):241-245.

Annexes

Annexe 1: Structure et propriétés pharmacocinétiques de la ciprofloxacine

<p>Structure</p>	
<p>Absorption</p>	<p>Après administration orale de doses uniques de 250mg, 500mg et 750mg de ciprofloxacine en comprimés, la ciprofloxacine est absorbée de façon rapide et importante, essentiellement au niveau de l'intestin grêle, et sa concentration sérique maximale est atteinte 1 à 2 heures après la prise.</p> <p>Après administration de doses uniques de 100-750mg, les concentrations sériques maximales (C_{max}) obtenues sont dose-dépendantes et comprises entre 0,56 et 3,7mg/litre. Les concentrations sériques sont proportionnelles à la dose administrée jusqu'à une dose de 1000mg. La biodisponibilité absolue est d'environ 70 à 80%.</p> <p>Après administration d'une dose orale de 500mg toutes les 12 heures, l'aire sous la courbe (AUC) de la concentration sérique en fonction du temps obtenue est équivalente à celle observée après une perfusion intraveineuse d'une heure de 400mg de ciprofloxacine toutes les 12 heures.</p>
<p>Distribution</p>	<p>La liaison aux protéines de la ciprofloxacine est faible (20-30%). La ciprofloxacine est largement présente dans le plasma sous forme non ionisée et le volume de distribution à l'équilibre est important, de l'ordre de 2-3 litres/kg de masse corporelle.</p> <p>Les concentrations de la ciprofloxacine sont élevées dans de nombreux tissus, comme les poumons (liquide épithélial, macrophages alvéolaires, tissu de biopsie), les sinus et les lésions inflammatoires (liquide vésiculaire à base de cantharidine) ou l'appareil urogénital (urine, prostate, endomètre) où les concentrations totales dépassent celles atteintes dans le plasma.</p>
<p>Biotransformation</p>	<p>Quatre métabolites ont été détectés à de faibles concentrations, à savoir: deséthylènegiprofloxacine (M 1), sulfociprofloxacine (M 2), oxociprofloxacine (M 3) et formylciprofloxacine (M 4). Les métabolites présentent une activité antimicrobienne in-vitro, mais moindre que celle observée avec la molécule mère. La ciprofloxacine est un inhibiteur modéré des isoenzymes 1A2 du CYP450.</p>
<p>Elimination</p>	<p>La ciprofloxacine est excrétée principalement sous forme inchangée par voie rénale et, à un moindre degré, par voie fécale. La demi-vie d'élimination sérique chez les sujets à fonction rénale normale est d'environ 4 à 7 heures.</p> <p>Excrétion de la ciprofloxacine (% de la dose): Administration par voie orale: - Urine: Ciprofloxacine: 44,7/Métabolites (M1-M4): 11,3 - Fécès: Ciprofloxacine: 25,0/Métabolites (M1-M4): 7,5</p> <p>La clairance rénale est comprise entre 180 et 300 ml/kg/heure et la clairance totale entre 480 et 600 ml/kg/heure. La ciprofloxacine est éliminée par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire. En cas d'insuffisance rénale sévère, la demi-vie de la ciprofloxacine est augmentée jusqu'à 12 heures.</p> <p>La clairance non rénale de la ciprofloxacine est principalement due à une sécrétion intestinale et au métabolisme. 1% de la dose est excrétée par voie biliaire. Les concentrations de ciprofloxacine dans la bile sont élevées.</p>

Annexe 2: Propriétés pharmacodynamiques de la ciprofloxacine

Mécanisme d'action	La ciprofloxacine est un antibiotique appartenant au groupe des fluoroquinolones. Son activité bactéricide résulte de l'inhibition de la topo-isomérase de type II (ADN-gyrase) et de la topo-isomérase IV, nécessaires à la réplication, la transcription, la réparation et la recombinaison de l'ADN bactérien.
Rapport PK/PD	L'efficacité dépend principalement du rapport entre la concentration sérique maximale (C_{max}) et la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la ciprofloxacine pour le pathogène concerné et du rapport entre l'aire sous la courbe (AUC) et la CMI.
Mécanisme de résistance	<p>La résistance <i>in-vitro</i> peut se développer par mutations successives entraînant des modifications des sites cibles de la ciprofloxacine sur l'ADN-gyrase et sur la topo-isomérase IV. Le degré de résistance croisée entre la ciprofloxacine et les autres fluoroquinolones est variable. Les mutations uniques ne donnent pas nécessairement lieu à une résistance clinique, mais les mutations multiples aboutissent généralement à une résistance clinique à plusieurs voire à toutes les substances actives de cette classe thérapeutique.</p> <p>Les mécanismes de résistance par imperméabilité membranaire et/ou efflux actif peuvent avoir des effets variables sur la sensibilité bactérienne aux fluoroquinolones en fonction de leurs propriétés physicochimiques et en fonction de l'affinité des systèmes de transport pour les différents antibiotiques de cette classe thérapeutique. Tous les mécanismes de résistance <i>in-vitro</i> sont fréquemment observés chez les isolats cliniques. La résistance aux autres familles d'antibiotiques par des mécanismes comme ceux affectant la perméabilité membranaire (fréquents avec <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) et les mécanismes d'efflux, peuvent altérer la sensibilité des bactéries à la ciprofloxacine.</p> <p>Une résistance plasmidique codée par les gènes <i>qnr</i> a été observée.</p>

Annexe 3: Sensibilité des différentes souches bactériennes à la ciprofloxacine

Micro-organismes	Sensible	Résistant
<i>Entérobactéries</i>	$S \leq 0,5\text{mg/l}$	$R > 1\text{mg/l}$
<i>Pseudomonas</i> spp.	$S \leq 0,5\text{mg/l}$	$R > 1\text{mg/l}$
<i>Acinetobacter</i> spp.	$S \leq 1\text{mg/l}$	$R > 1\text{mg/l}$
<i>Staphylococcus</i> spp. ¹	$S \leq 1\text{mg/l}$	$R > 1\text{mg/l}$
<i>Haemophilus influenzae</i> et <i>Moraxella catarrhalis</i>	$S \leq 0,5\text{mg/l}$	$R > 0,5\text{mg/l}$
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	$S \leq 0,03\text{mg/l}$	$R > 0,06\text{mg/l}$
<i>Neisseria meningitidis</i>	$S \leq 0,03\text{mg/l}$	$R > 0,06\text{mg/l}$
Concentrations critiques non liées aux espèces*	$S \leq 0,5\text{mg/l}$	$R > 1\text{mg/l}$

¹*Staphylococcus* spp. – les concentrations critiques définies pour la ciprofloxacine correspondent à un traitement utilisant des doses élevées.

* Les concentrations critiques non liées aux espèces ont été déterminées principalement sur la base des données PK/PD et sont indépendantes de la distribution des CMI d'espèces spécifiques. Elles s'appliquent uniquement aux espèces pour lesquelles aucune concentration critique propre à l'espèce n'a été définie et non à celles pour lesquelles un test de sensibilité n'est pas recommandé.

Annexe 4: Classification des espèces en fonction de la sensibilité à la ciprofloxacine

Espèces habituellement sensibles	<p>Aérobies à Gram+</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus anthracis</i> (1) <p>Aérobies à Gram-</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Aeromonas</i> spp. • <i>Brucella</i> spp. • <i>Citrobacter koseri</i> • <i>Francisella tularensis</i> • <i>Haemophilus ducreyi</i> • <i>Haemophilus influenzae</i>* • <i>Legionella</i> spp. • <i>Moraxella catarrhalis</i>* • <i>Neisseria meningitidis</i> • <i>Pasteurella</i> spp. • <i>Salmonella</i> spp.* • <i>Shigella</i> spp.* • <i>Vibrio</i> spp. • <i>Yersinia pestis</i> <p>Anaérobies</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Mobiluncus</i> <p>Autres</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Chlamydia trachomatis</i> (\$) • <i>Chlamydia pneumoniae</i> (\$) • <i>Mycoplasma hominis</i> (\$) • <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (\$)
Espèces inconstamment sensibles	<p>Résistance acquise $\geq 10\%$</p> <p>Aérobies à Gram+</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Enterococcus faecalis</i> (\$) • <i>Staphylococcus</i> spp.* (2) <p>Aérobies à Gram-</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Acinetobacter baumannii</i>+ • <i>Burkholderia cepacia</i>+* • <i>Campylobacter</i> spp.+* • <i>Citrobacter freundii</i>* • <i>Enterobacter aerogenes</i> • <i>Enterobacter cloacae</i>* • <i>Escherichia coli</i>* • <i>Klebsiella oxytoca</i> • <i>Klebsiella pneumoniae</i>* • <i>Morganella morganii</i>* • <i>Neisseria gonorrhoeae</i>* • <i>Proteus mirabilis</i>* • <i>Proteus vulgaris</i>* • <i>Providencia</i> spp.
Espèces naturellement résistantes	<p>Aérobies à Gram positif</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Actinomyces</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Listeria monocytogenes</i> <p>Aérobies à Gram-</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <p>Anaérobies</p> <ul style="list-style-type: none"> • A l'exception de celles listées ci-dessus <p>Autres</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Mycoplasma genitalium</i> • <i>Ureaplasma urealyticum</i>

* L'efficacité clinique a été démontrée pour des isolats sensibles dans les indications cliniques approuvées.

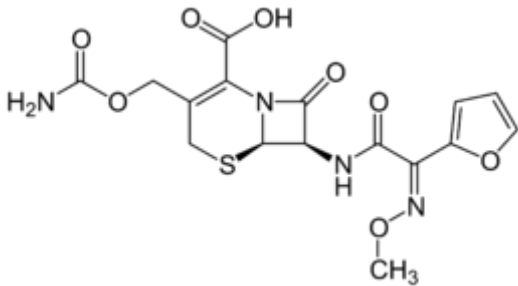
+ Taux de résistance $\geq 50\%$ dans un ou plusieurs pays de l'UE

(S) Sensibilité naturellement intermédiaire en l'absence de mécanisme de résistance acquise

(1) Des études ont été menées chez l'animal sur des infections expérimentales effectuées par inhalation de spores de *Bacillus anthracis* ; ces études montrent que l'antibiothérapie, commencée précocement après exposition, permet d'éviter la survenue de la maladie si le traitement est poursuivi jusqu'à ce que le nombre de spores persistantes dans l'organisme tombe au-dessous de la dose infectante. L'utilisation recommandée chez l'homme est principalement basée sur les données de sensibilité *in-vitro* et sur les données expérimentales chez l'animal, de même que sur des données limitées chez l'homme. Une durée de deux mois d'un traitement par ciprofloxacine administrée par voie orale à la posologie de 500mg deux fois par jour chez l'adulte, est considérée comme efficace pour prévenir la maladie du charbon chez l'homme. Le médecin doit se référer aux recommandations nationales et/ou internationales concernant le traitement de la maladie du charbon.

(2) Les souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline expriment très fréquemment une co-résistance aux fluoroquinolones. La fréquence de résistance à la méticilline est d'environ de 20 à 50% de l'ensemble des staphylocoques et est généralement plus élevée en milieu hospitalier.

Annexe 5: Structure et propriétés pharmacocinétiques de la céfuroxime

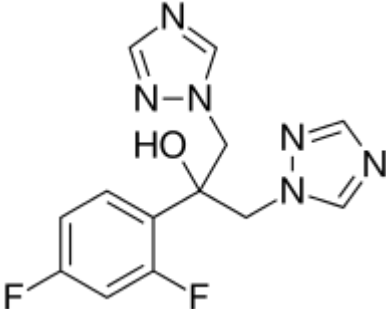
<p>Structure</p>	
<p>Absorption</p>	<p>Après administration orale, la céfuroxime, ester 1-acétoxy-éthyl de la céfuroxime, est rapidement hydrolysé par des estérases non spécifiques de la muqueuse intestinale. Biodisponibilité du céfuroxime axetil: <u>Sous forme de comprimé:</u> <input type="checkbox"/> elle est, après administration de la forme comprimé chez le sujet à jeun, de 30 à 40%, <input type="checkbox"/> elle est augmentée par la prise d'aliments atteignant 50 à 60%. Il est donc recommandé que le médicament soit absorbé 15 à 30 minutes après un repas. <u>Sous forme de granulés:</u> <input type="checkbox"/> elle est, après administration de la forme granulé à jeun, inférieure de 20 à 25% à celle de la forme comprimé, <input type="checkbox"/> elle n'est pas augmentée par la prise d'aliments pour cette forme. Les C_{max} suivantes ont été observées après une prise orale d'une dose unique de céfuroxime axetil: <input type="checkbox"/> 10mg/kg (granulés): 3,3 ± 0,8mg/l <input type="checkbox"/> 15mg/kg (granulés): 2,2 à 7,4mg/l Elles sont atteintes en moyenne en 1 à 6 heures. <u>Chez l'adulte</u> <input type="checkbox"/> 250mg (comprimé): 4 à 6mg/l <input type="checkbox"/> 500mg (comprimé): 7 à 9mg/l Elles sont atteintes en 2 à 3 heures après la prise du médicament lorsque celui-ci est donné après un repas. <u>Chez le sujet âgé</u> <input type="checkbox"/> 500mg (comprimé): 10,3 ± 6,1mg/l Elle est atteinte en moyenne en 3 heures après une prise à jeun. <u>Après injection intramusculaire,</u> l'absorption du produit est rapide et complète: la biodisponibilité de la céfuroxime administrée à la posologie de 500mg est de 92%. Chez l'adulte, après administration intramusculaire d'une dose unique de 750mg, la concentration plasmatique moyenne est de 17mg/l et après injection de 500mg de 12,3mg/l; elle est atteinte en moyenne en 60 minutes. Après administration IV d'une dose unique de 750mg et de 1,5g, les valeurs extrêmes de C_{max} sont respectivement de 53-73mg/l et de 101-168mg/l. Après administration de doses répétées, les paramètres pharmacocinétiques plasmatiques de la céfuroxime ne sont pas modifiés, traduisant l'absence d'accumulation du principe actif.</p>
<p>Distribution (1)</p>	<p><u>Diffusion tissulaire:</u> Le céfuroxime axetil a une bonne diffusion dans les tissus de l'appareil respiratoire et de la sphère ORL permettant d'obtenir des concentrations supérieures aux CMI des germes habituellement responsables d'infections respiratoires. La diffusion tissulaire de la céfuroxime a été étudiée chez l'adulte après administration d'une dose de 500mg de céfuroxime axetil (comprimé à jeun); les concentrations tissulaires suivantes ont été observées: <input type="checkbox"/> muqueuse bronchique: 2,3 à 8,0mg/kg <input type="checkbox"/> crachats: 2,8 à 3,3mg/l <input type="checkbox"/> liquide de recouvrement de l'épithélium pulmonaire (lavage bronchoalvéolaire): 0,2 à 7,6mg/kg <input type="checkbox"/> muqueuse sinusale: 0,2 à 4,4mg/kg <input type="checkbox"/> tissu amygdalien: 0,2 à 1,2mg/kg. La diffusion tissulaire de la céfuroxime a été étudiée chez l'enfant après administration d'une dose de 250mg de céfuroxime axetil (comprimés à jeun); les concentrations suivantes ont été observées dans le liquide auriculaire: 0,16 à 4,85mg/l. Une à 4 heures après injection IM d'une dose unique de 500mg, les concentrations varient de 1,6 à 13,7mg/l dans le parenchyme pulmonaire; 0,4 à 5,6mg/l dans les</p>

Distribution (2)	<p>sécrétions bronchiques.</p> <p>La céfuroxime diffuse également bien dans la peau et le secteur interstitiel ainsi que dans la bile et la vésicule biliaire, le tissu osseux et articulaire, le tissu utérin et prostatique, le tissu rénal, le tissu cardiaque et l'humeur aqueuse.</p> <p>Elle traverse facilement la barrière fœto-placentaire. Le passage dans le lait maternel est extrêmement faible.</p> <p>Elle ne traverse pas la barrière hémato-méningée sauf en cas d'inflammation des méninges.</p> <p><u>Taux de liaison aux protéines plasmatiques:</u></p> <p>Le taux de liaison aux protéines plasmatiques est faible, de l'ordre de 33%.</p> <p>Le volume apparent de distribution de la céfuroxime est de 25-30 l chez le sujet sain.</p>
Elimination	<p>La céfuroxime n'est pas métabolisée dans l'organisme et la quantité absorbée est éliminée à plus de 85% par voie rénale sous forme inchangée dans les urines dans les 12 premières heures. L'élimination se fait à la fois par filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire, cette dernière étant ralentie par le probénécide.</p> <p>La demi-vie d'élimination après administration de céfuroxime axetil:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> chez le nouveau-né à terme de moins de 1 mois: 3 à 5 fois plus élevée que chez l'adulte, de l'ordre de 4,5 heures chez le nouveau-né à terme de 4 jours; <input type="checkbox"/> chez l'enfant: est environ de 1,9 heures (granulés), chez l'enfant de plus de 1 mois, elle est de l'ordre de 1,1 heures après injection IM de 10mg/kg; <input type="checkbox"/> chez l'adulte: est environ de 1,4 heures (comprimé), de 1,3 à 1,6 heures après injection IM (1,6 heures après 750mg IM) et en moyenne de 1,1 heures après injection IV; <input type="checkbox"/> chez le sujet âgé: est augmentée, ne justifiant aucune réduction de la posologie tant que la clairance de la créatinine est supérieure à 40ml/min; <input type="checkbox"/> en cas d'insuffisance rénale, augmente proportionnellement à la clairance de la créatinine justifiant une réduction de la posologie de moitié dès que la clairance de la créatinine est inférieure à 20ml/min.

Annexe 6: Propriétés pharmacodynamiques de la céfuroxime

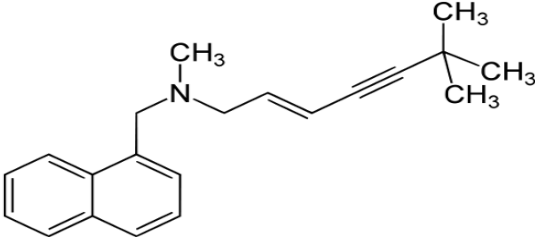
Mécanisme d'action	<p>Le spectre antibactérien naturel de le céfuroxime axétil correspond à celui de la céfuroxime dont il est la prodrogue.</p> <p>Toutes les céphalosporines (antibiotiques bêta-lactamines) inhibent la production de la paroi cellulaire et sont des inhibiteurs sélectifs de la synthèse de peptidoglycanes. L'étape initiale de l'effet de la substance consiste en la fixation de celle-ci à des récepteurs cellulaires appelés «protéines liant la pénicilline». Une fois qu'un antibiotique bêta-lactamine s'est lié à ces récepteurs, la réaction de transpeptidation est inhibée et la synthèse des peptidoglycanes est bloquée. Il en résulte une lyse bactérienne.</p> <p>Les concentrations critiques séparent les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières, des résistantes:</p> <p>S \leq 1mg/l et R $>$ 4mg/l ; concentration minimale inhibitrice (CMI) pneumocoque: S \leq 0,5mg/l et R $>$ 2mg/l (voie orale à titre provisoire).</p>
Espèces sensibles, par voie orale	<p>aérobies à Gram+: <i>Corynebacterium diphtheria</i>, <i>Staphylococcus méti-S</i>, <i>Streptococcus</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i>, aérobies à Gram-: <i>Branhamella catarrhalis</i>, <i>Citrobacter koseri</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Haemophilus para-influenzae</i>, <i>Klebsiella</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Pasteurella</i>, <i>Propionibacterium acnes</i> ; anaérobies: <i>Fusobacterium</i>, <i>Prevotella</i>.</p>
Espèces modérément sensibles par voie orale (in vitro de sensibilité intermédiaire)	<p>aérobies à Gram-: <i>Proteus mirabilis</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Shigella</i> ; anaérobies: <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Peptostreptococcus</i>.</p>
Espèces résistantes par voie orale	<p>aérobies à Gram+: entérocoques, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Staphylococcus</i> (résistant à la méticilline) ; aérobies à Gram-: <i>Acinetobacter</i>, <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Morganella morganii</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Providencia</i>, <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Serratia</i> ; anaérobies: <i>Bacteroides</i>, <i>Clostridium difficile</i>.</p>
Espèces sensibles, par voie injectable	<p>aérobies à Gram+: <i>Staphylococcus aureus</i> (sensible à la méticilline), <i>Staphylococcus saprophyticus</i>, <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i> ; aérobies à Gram-: <i>Proteus mirabilis</i>,</p>
Espèces dont la résistance acquise peut poser des problèmes par voie injectable	<p>aérobies à Gram+: <i>Staphylococcus epidermidis</i>, <i>Staphylococcus haemolyticus</i>, <i>Staphylococcus hominis</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i> ; aérobies à Gram-: <i>Citrobacter freundii</i>, <i>Citrobacter koseri</i>, <i>Enterobacter aerogenes</i>, <i>Enterobacter cloacae</i>, <i>Escherichia coli</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i>.</p>
Espèces résistantes par voie injectable	<p>aérobies à Gram+: <i>Enterococcus</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> (résistant à la méticilline), <i>Staphylococcus epidermidis</i> (résistant à la méticilline) ; aérobies à Gram-: <i>Acinetobacter baumannii</i>, <i>Burkholderia cepacia</i>, <i>Campylobacter</i> spp., <i>Morganella morganii</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Serratia</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> ; anaérobies: <i>Bacteroides</i>, <i>Clostridium difficile</i> ; autres: <i>Chlamydia</i> spp., <i>Chlamydophila</i> spp., <i>Legionella</i> spp., <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Mycoplasma</i> spp.</p>

Annexe 7: Résumé des caractéristiques du fluconazole

<p>Structure</p>	
<p>Pharmacodynamie</p>	<p>Mécanisme d'action:</p> <p>Le fluconazole est un agent antifongique triazolé. Son mode d'action principal est l'inhibition de la déméthylation en 14 alpha du lanostérol médiée par le cytochrome P 450, une étape essentielle dans la biosynthèse de l'ergostérol fongique. L'accumulation de stérols méthylés en 14-alpha est corrélée avec la perte subséquente d'ergostérol dans la membrane cellulaire fongique et pourrait être responsable de l'activité antifongique du fluconazole. Il a été montré que le fluconazole est plus sélectif vis-à-vis des enzymes à cytochrome P 450 fongiques que de divers systèmes enzymatiques à cytochrome P 450 chez les mammifères. Le fluconazole, administré à la posologie de 50mg par jour pendant 28 jours, n'a montré aucun effet sur les concentrations plasmatiques de testostérone chez les hommes ou les concentrations de stéroïdes chez les femmes en âge de procréer. Le fluconazole à la posologie de 200mg à 400mg par jour n'a pas d'effet cliniquement significatif sur les taux de stéroïdes endogènes ni sur la réponse induite par l'ACTH chez des volontaires sains de sexe masculin. Les études d'interaction avec l'antipyrine montrent que des doses uniques ou répétées de fluconazole 50mg n'influencent pas le métabolisme de l'antipyrine.</p> <p>* Sensibilité <i>in vitro</i></p> <p><i>In vitro</i>, le fluconazole montre une activité antifongique vis-à-vis de la plupart des espèces les plus fréquentes de <i>Candida</i> (dont <i>C. albicans</i>, <i>C. parapsilosis</i>, <i>C. tropicalis</i>). <i>C. glabrata</i> présente un large spectre de sensibilité tandis que <i>C. krusei</i> est résistant au fluconazole. Le fluconazole exerce également une activité <i>in vitro</i> vis-à-vis de <i>Cryptococcus neoformans</i> et de <i>Cryptococcus gattii</i> ainsi que vis-à-vis des moisissures endémiques <i>Blastomyces dermatitidis</i>, <i>Coccidioides immitis</i>, <i>Histoplasma capsulatum</i> et <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>.</p>
<p>Pharmacocinétique (1)</p>	<p>Les formes orales et intraveineuses du fluconazole sont équivalentes du point de vue pharmacocinétique.</p> <p>* Absorption</p> <p>Après administration orale, le fluconazole est bien absorbé et les taux plasmatiques (et la biodisponibilité systémique) représentent plus de 90% des taux atteints après l'administration intraveineuse. L'absorption orale n'est pas affectée par la prise alimentaire simultanée. Les concentrations plasmatiques maximales à jeun sont atteintes 30 minutes à 1 heure et demie après la prise. Les concentrations plasmatiques sont proportionnelles à la dose. Quatre-vingt-dix pour cent des taux à l'état d'équilibre sont atteints 4-5 jours après l'administration de doses quotidiennes uniques répétées. L'administration d'une dose de charge (au jour 1) égale au double de la dose habituelle permet aux taux plasmatiques d'approcher de 90% des taux à l'état d'équilibre au jour 2.</p> <p>* Distribution</p> <p>Le volume de distribution apparent est proche du volume d'eau corporelle totale. La liaison aux protéines plasmatiques est faible (11-12%).</p> <p>Le fluconazole pénètre bien dans tous les liquides corporels étudiés. Les taux de fluconazole dans la salive et dans l'expectoration sont comparables aux taux plasmatiques. Chez les</p>

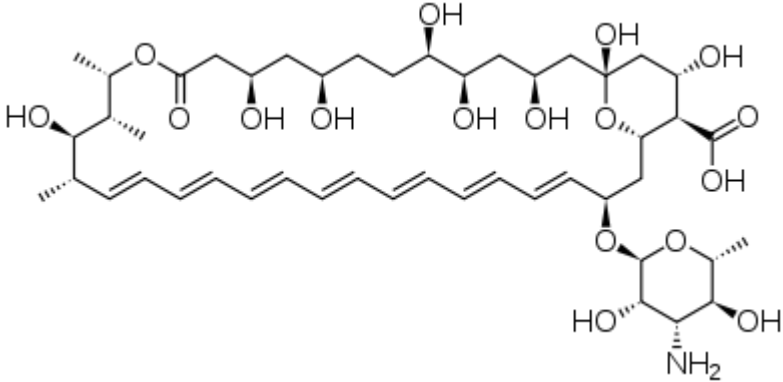
<p>Pharmacocinétique (2)</p>	<p>patients atteints de méningite fongique, les taux de fluconazole dans le LCR représentent environ 80% des taux plasmatiques correspondants.</p> <p>Des concentrations élevées de fluconazole, supérieures aux concentrations sériques, sont atteintes dans la couche cornée, l'épiderme et le derme et les glandes sudoripares. Le fluconazole s'accumule dans la couche cornée. A la dose de 50mg une fois par jour, la concentration de fluconazole après 12 jours a été de 73 microgrammes/gramme et, 7 jours après l'arrêt du traitement, la concentration était encore de 5,8 microgrammes/gramme. A la dose de 150mg une fois par semaine, la concentration de fluconazole dans la couche cornée au jour 7 était de 23,4 microgrammes/gramme et 7 jours après la seconde dose, elle était encore de 7,1 microgrammes/gramme.</p> <p>La concentration de fluconazole dans les ongles après 4 mois de traitement par 150mg une fois par semaine a été de 4,05 microgrammes/gramme dans les ongles sains et de 1,8 microgrammes/gramme dans les ongles malades ; et le fluconazole était toujours mesurable dans les ongles 6 mois après la fin du traitement.</p> <p>* Biotransformation</p> <p>Le fluconazole n'est que faiblement métabolisé. Seuls 11% d'une dose radioactive sont éliminés dans l'urine sous forme de métabolites. Le fluconazole est un inhibiteur sélectif des isoenzymes CYP2C9 et CYP3A4. Le fluconazole est également un inhibiteur de l'isoenzyme CYP2C19.</p> <p>* Elimination</p> <p>La demi-vie d'élimination plasmatique du fluconazole est d'environ 30 heures. La principale voie d'élimination est rénale, environ 80% de la dose administrée étant éliminés dans l'urine sous forme inchangée. La clairance du fluconazole est proportionnelle à la clairance de la créatinine. Aucun métabolite circulant n'a été mis en évidence.</p> <p>La longue demi-vie d'élimination plasmatique permet l'administration de doses uniques pour le traitement de la candidose vaginale, de doses uniques quotidiennes et de doses uniques hebdomadaires dans les autres indications.</p>
<p>Mécanisme de résistance</p>	<p>Les espèces de <i>Candida</i> ont développé un certain nombre de mécanismes de résistance aux antifongiques azolés. Les souches qui ont développé un ou plusieurs de ces mécanismes de résistance présentent des CMI élevées au fluconazole, ce qui a une influence négative sur l'efficacité <i>in vivo</i> et chez l'homme.</p> <p>Des cas de surinfection par des espèces de <i>Candida</i> autres que <i>C. albicans</i>, souvent intrinsèquement résistantes au fluconazole (ex. <i>Candida krusei</i>), ont été rapportés. Ces cas peuvent nécessiter un traitement antifongique alternatif.</p>
<p>Espèces habituellement sensibles</p>	<p><i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Cryptococcus gattii</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i></p>
<p>Espèces résistantes</p>	<p><i>Microsporium sp</i> <i>Trichophyton sp</i> <i>Candida krusei</i> <i>Aspergillus sp</i></p>

Annexe 8: Résumé des caractéristiques de la terbinafine

<p>Structure</p>	
<p>Pharmacodynamie</p>	<p>* Mécanisme d'action: La terbinafine est un antifongique à large spectre, appartenant à la classe des allylamines. La terbinafine est active sur les dermatophytes (<i>Trichophyton</i>, <i>Microsporum</i>, <i>Epidermophyton</i>), sur les levures (<i>Candida</i>, <i>Pityrosporum</i>), sur certains champignons filamenteux et certains champignons dimorphes. Elle empêche la biosynthèse de l'ergostérol, constituant essentiel de la membrane cellulaire du champignon, par inhibition spécifique de la squalène époxydase. L'accumulation intracellulaire de squalène serait responsable de son action fongicide. La terbinafine ne modifie pas le métabolisme des hormones et des autres médicaments (l'enzyme squalène époxydase n'étant pas lié au système cytochrome P450).</p>
<p>Pharmacocinétique</p>	<p>La présence de nourriture affecte modérément la biodisponibilité de la terbinafine (ASC augmentée de moins de 20%) ce qui ne nécessite aucune adaptation de posologie.</p> <p>* Absorption: La terbinafine administrée par voie orale est bien absorbée (>70%). Après administration unique d'un comprimé dosé à 250mg, le pic plasmatique moyen (1,3 microgrammes/mL) est atteint dans les 90 minutes suivant la prise. A l'état d'équilibre (70% de l'état d'équilibre est atteint en 28 jours), ce pic de concentration augmente d'environ 25%, et l'ASC plasmatique progresse d'un facteur 2,3 par comparaison à une dose unique. Dans ces conditions, on peut estimer la demi-vie d'accumulation ou demi-vie effective à environ 30 heures.</p> <p>* Distribution: La terbinafine est fortement liée aux protéines plasmatiques (99%), de manière non saturable. Elle diffuse à travers le derme et s'accumule dans le stratum corneum. Elle pénètre également dans le sébum et atteint des concentrations élevées dans les follicules pileux, les cheveux. La terbinafine est aussi présente dans l'ongle, dès les premières semaines de traitement.</p> <p>* Biotransformation/Métabolisme: La terbinafine est métabolisée rapidement et en quantité importante par au moins 7 isoenzymes du cytochrome P450 (CYP) dont principalement les CYP2C9, CYP1A2, CYP3A4, CYP2CB et CYP2C19. Les métabolites formés ne possèdent pas d'activité antifongique. Leur excrétion est principalement urinaire.</p> <p>* Biodisponibilité: La biodisponibilité absolue de la terbinafine des comprimés de ce médicament sous l'effet du premier passage hépatique est d'environ 40%.</p> <p>* Elimination: L'excrétion est majoritairement urinaire (70%), obéissant à un processus pluri-exponentiel qui se caractérise par une demi-vie terminale d'élimination plasmatique de l'ordre de 400 heures.</p>
<p>Mécanisme de résistance</p>	<p>Mutations non-sens du gène codant pour la squalène époxydase chez <i>Trichophyton rubrum</i> et des <i>Aspergillus sp.</i> la surexpression sachant que la terbinafine étant un substrat de la pompe d'efflux multidrogue CDR1 chez <i>Candida albicans</i>.</p>

	La surexpression de la squalène époxidase chez <i>Aspergillus fumigatus</i>
Espèces habituellement sensibles	<i>Microsporum canis</i> <i>Trichophyton sp</i> <i>Trichophyton rubrum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton verrucosum</i> <i>Trichophyton violaceum</i> <i>Trichophyton tonsurans</i> <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Pityrosporum</i>
Espèces modérément sensibles	<i>Candida sp</i>

Annexe 9: Résumé des caractéristiques de l'amphotéricine B

<p>Structure</p>	
<p>Pharmacodynamie</p>	<p>Mécanisme d'action: L'amphotéricine B est un antibiotique antifongique de la famille des macrolides polyènes, extrait de <i>Streptomyces nodosus</i>. L'amphotéricine B se fixe sur des stérols de la membrane cellulaire de champignons sensibles, la rendant perméable et provoquant sa lyse membranaire. La sélectivité est basée sur le fait que l'amphotéricine B se fixe à un stérol contenu dans les membranes des champignons, l'ergostérol (alors les membranes cellulaires humaines contiennent du cholestérol). L'amphotéricine B agit par contact direct (fongistatique et fongicide si la concentration est élevée), ce qui explique son efficacité dans les candidoses des muqueuses digestives. Elle n'a aucune action antibactérienne ou antivirale. Son spectre d'activité <i>in vitro</i> s'étend à de nombreux champignons pathogènes, agents des mycoses profondes ou superficielles.</p>
<p>Pharmacocinétique</p>	<p>Après administration répétée de doses d'environ 0,5mg/kg/jour chez l'adulte, le pic moyen de concentration plasmatique s'étend de 0,5 à 2 microgrammes/ml. Après une baisse initiale rapide, l'état d'équilibre des concentrations plasmatiques s'établit à environ 0,5 microgrammes/ml. Une demi-vie plasmatique d'environ 15 jours suit une demi-vie initiale d'environ 24 heures. L'amphotéricine B est fortement liée aux protéines plasmatiques et est faiblement dialysable. Bien que l'on ne dispose pas d'informations détaillées sur la distribution tissulaire de l'amphotéricine B, le foie semble être le site de stockage le plus important. L'amphotéricine B est éliminée très lentement par les reins, 2 à 5% de la dose administrée étant éliminés sous forme biologiquement active. Après arrêt du traitement, le produit peut être détecté dans les urines pendant 3 ou 4 semaines du fait de sa lente élimination. La bile peut représenter une importante voie d'élimination. L'insuffisance rénale ou hépatique n'affecte pas les taux sanguins.</p>
<p>Mécanisme de résistance</p>	<p>Phénomène rare décrit chez <i>Candida</i> et <i>Cryptococcus</i>. Mécanisme méconnu. Diminution de la capacité de l'amphotéricine B à se fixer sur l'ergostérol des membranes plasmatiques due aux mutations dans les gènes codant pour des enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol.</p>
<p>Espèces habituellement sensibles (1)</p>	<p><i>Mucor mucedo</i> <i>Absidia</i> <i>Rhizopus</i> <i>Candida albicans</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Coccidioides immitis</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Sporothrix schenckii</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Rhodotorula</i></p>

<p>Espèces habituellement sensibles (2)</p>	<p>L'amphotéricine B démontre une activité contre les germes responsables de mycoses systémiques suivantes: <i>Candida albicans</i>, <i>Rhodotorula</i>, <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Mucor mucedo</i>, <i>Absidia</i>, <i>Rhizopus</i>, <i>Histoplasma capsulatum</i>, <i>Blastomyces dermatitidis</i>, <i>Sporothrix schenckii</i> dans la sporothrichose disséminée, <i>Coccidioïdes immitis</i>.</p>
<p>Espèces modérément sensibles</p>	<p><i>Conidiobolus sp</i> <i>Basidiobolus ranarum</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida pseudotropicalis</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida glabrata</i></p> <p>L'amphotéricine B démontre une activité faible ou relative (variable) contre les germes responsables de mycoses systémiques suivantes: <i>Candida non albicans</i>, en particulier <i>C. parapsilosis</i>, <i>Aspergillus fumigatus</i> dans l'aspergillome, <i>Conidiobolus</i>, <i>Basidiobolus</i>, <i>Sporothrix schenckii</i> dans la sporothrichose lymphocutanée, <i>Coccidioïdes immitis</i> dans les atteintes pulmonaires diffuses.</p>

Annexe 10: Milieux de culture bactérienne

Bouillon nutritif	
Composition:	
Peptone (hydrolysate de gélatine)	5g
Extrait de bœuf	3g
Eau distillée ou déminéralisée.....	qsp 1 litre
pH final à 25°C: 6,8 ± 0,2	
Bouillon Mueller-Hinton	
Composition:	
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Extrait de bœuf.....	3,0 g
Amidon	1,5 g
Eau distillée ou déminéralisée.....	qsp 1 litre
pH final à 25°C: 7,3 ± 0,2	
Gélose de Mueller-Hinton	
Composition:	
Hydrolysate acide de caséine	17,5 g
Infusion de viande.....	2,0 g
Amidon soluble	1,5 g
Agar agar bactériologique.....	17,0 g
Eau distillée ou déminéralisée.....	qsp 1 litre
pH final à 25°C: 7,3 ± 0,2	

Annexe 11: Milieux de culture fongique

Bouillon de Sabouraud	
Pour 1 litre de milieu:	
Tryptone.....	5,0 g
Peptone pepsique de viande	5,0 g
Glucose.....	20,0 g
Eau distillée ou déminéralisée.....	qsp 1 litre
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C: 5,7 ± 0,2	
Gélose de Sabouraud	
Peptone pepsique de viande	10,0 g
Glucose.....	20,0 g
Chloramphénicol	0,5 g
Agar agar bactériologique.....	15,0 g
Eau distillée ou déminéralisée.....	qsp 1 litre
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C: 5,7 ± 0,2	

Production scientifique

A-Publications dans des revues indexées

- 1. Article soumis: Hakim El Alama**, Aïcha El Aïssami, Adnane Benmoussa, Moustapha Arahou, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2018). Kinetics of interactions essential oil – antibiotic. BMC Complementary and Alternative Medicine. BCAM-D-18-01640.
- 2. Hakim El Alama**, Aïcha El Aïssami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Moustapha Arahou, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2017). Phytochemical Study of Essential Oils of Six Medicinal Plants. Der Pharma Chemica, 9(15):77-85.
- 3. Hakim EL ALAMA**, Aïcha El Aïssami Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj SAID, Moustapha Arahou, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2017). Cinétique des interactions huile essentielle-antifongique. *Kinetics of the essential oil-antifungal interactions*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 86:67-77.
- 4. Hakim El Alama**, Aïcha El Aïssami, Amal Ait Haj Said, Fatima Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Evaluation of anti-staphylococcal activity of the essential oil of *Artemisia herba-alba*. Fundamental and Clinical Pharmacology, 30:47-62.
- 5. Hakim El Alama**, Aïcha El Aïssami, Amal Ait Haj Said, Fatima Ezzahra El Alaoui-Faris (2015). Evaluation of anti-Candida albicans activity of essential oils of six medicinal plants: Synergy concept. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(10):281-284.
- 6. Hakim El Alama**, Aïcha El Aïssami , Amal Ait Haj Said, Fatima Ezzahra El Alaoui-Faris (2015). Antistaphylococcal synergistic interaction between the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. and ciprofloxacin. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(10):285-289.

B- Communications orales

1. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Evaluation de l'activité anti-staphylococcique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. 7^{ème} Journées Scientifiques du CEDoc et 4^{ème} Journées Scientifiques d'AMADOC SVS: Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, 16 au 19 mars.

2. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2015). Evaluation de l'activité anti-*Candida albicans* de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia*. Edition des Journées Jeunes Chercheurs de la Société Marocaine de Chimie Thérapeutique (SMTTC), El Jadida, 19 et 20 novembre.

C- Communications affichées

- Internationales

1. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Evaluation of anti-Staphylococcal activity of the essential oil of *Artemisia herba-alba*. 20^{ème} Congrès de la Société Française de Pharmacologie et de Thérapeutique (SFPT). Nancy, 19 au 21 avril .

2. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Evaluation of anti-Staphylococcal activity of the essential oil of *Artemisia herba-alba*. Première édition du Congrès international des Sciences Pharmaceutiques (CISPharm). Béni Mellal, 25-26 février.

3. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2015). Evaluation de l'activité anti-staphylococcique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. 4^{ème} Edition des Journées Jeunes Chercheurs de la Société Marocaine de Chimie Thérapeutique (SMTTC). El Jadida, 19 et 20 novembre.

- Nationales

1. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Interaction synergique anti-*Streptococcus pyogenes* entre l'amoxicilline et l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* L. 4^{ème} congrès de la société marocaine d'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie (SOMIPEV). Marrakech, 25 au 27 mars.

2. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Evaluation de l'activité anti-staphylococcique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. 7^{ème} Journées Scientifiques du CEDoc et 4^{ème} Journées Scientifiques d'AMADOC SVS: Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat. Rabat, 16 au 19 mars.

3. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Interaction synergique anticandidosique entre l'amphotéricine B et l'huile essentielle du *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare*. 15^{ème} congrès de l'Association de Lutte contre les Maladies Infectieuses (ALMI). Marrakech, 20 février.

4. Hakim El Alama, Aicha El Aissami, Adnane Benmoussa, Amal Ait Haj Said, Fatima-Ezzahra El Alaoui-Faris (2016). Interaction antistaphylococcique entre la ciprofloxacine et l'huile essentielle du romarin. 15^{ème} congrès de l'Association de Lutte contre les Maladies Infectieuses (ALMI). Marrakech, 20 février.

N.B: Cette dernière publication a reçu le: - Premier Prix du Meilleur Poster