



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. : /2019

Présenté et soutenu par :
ABDESSALEM Hayat et BOURMAL Chahrazad

Le: septembre 2020 [Click here to enter a date.](#)

Thème

**Evaluation de l'activité antifongique des extraits de
plantes locales envers *Candida albicans* responsable
d'infection buccales et d'origine dentaire.**

Jury:

Titre	Prénom puis NOM	Grade	Université de Biskra	Statut
Titre	Prénom puis NOM	Grade	Université de Biskra	Statut
M.	Fethi BENBELAID	MCB	Université de Biskra	Rapporteur

Année universitaire : 2019 - 2020

Remerciement

قال الله تعالى: "... هذا من فضل ربي ... (النمل 40)

Nous remercions tout d'abord Dieu tout puissant pour la santé et le Miséricordieux, qui nous a facilité de réaliser ce modeste travail, qui nous a ouvert les portes du savoir, et qui nous a donné la force, la volonté et la patience durant toutes ces années d'études

Nous remercions et nos profondes considérations vont d'une façon toute particulière à notre encadreur Dr. Benbelaïd Fethi; son précieux de votre conseil et son attention et sa disponibilité et son aide durant toute la période du travail, et aussi pour l'orientation, la confiance, et pour ces encouragements, et la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Pour tout cela, nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude mais nous nous trouvons incapables d'exprimer ses remerciements à lui pour avoir bien voulu examiner notre travail. Ainsi que pour sa grande contribution à faciliter toutes les étapes de la réalisation de ce travail.

Nous remercions les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger notre travail et de l'enrichir par leurs propositions, nous vous en sommes très reconnaissante et en espérant être à l' hauteur de votre confiance.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude, à tous les enseignants du département de SNV.

Nous remercions aussi l'ensemble de l'équipe des laboratoires pédagogiques pour leur aide et leur disponibilité qui nous a facilité l'intégration dans le milieu de la pratique, nous leur exprimons notre sincère gratitude.

Enfin. Nous tenons à remercier également toutes les personnes dont leur contribution à notre travail est non négligeable, notamment les dentistes Hafidi et Chaiboub.

Dédicace

Avec l'aide d'ALLAH, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à :

A mes parents

A mes chères

*Qui m'ont transmis de l'amour la joie le courage et pour l'éducation qu'ils m'ont
prodigué*

*Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma considération
et mes profonds sentiment envers eux,
J'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

***Ma chère mère** puisse Dieu, le tout puissant,
Te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur*

***Mon cher père Abdallah.** Que j'aime beaucoup qui a toujours cru en moi et mis
à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse je le
remercie vivement pour son soutien*

A mes sœurs et Mes frères

*Mohamad Qusay, Salsabil, Raid, Donia, que Dieu les protège .Sortant a ma
sœur moyenne Khawla et mon frère Akram Pour votre soutien moral et
encouragements vous m'avez appris la patience et la concentration sur mon
travail. Je vous souhaite un avenir plein d'amour, de bonheur et de succès. Je
vous aime beaucoup.*

Mon neveu ; Siraj

Toute la famille Bourmale et Dimia

À mon binôme

*Hayat qui a participé et continué ce travail avec moi, déroulé dans des
moments difficiles et agréables, que nous avons passé ensemble jusqu'à la fin de
ce travail, et je vous remercie pour votre soutien moral et votre dévouement à ce
travail, Je vous dédie le fruit*

Bourmal chahrazad

Dédicaces

Avec l'aide d'ALLAH, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie à :

A mes parents

A mes chères

*Qui m'ont transmis de l'amour la joie le courage et pour l'éducation
Qu'ils m'ont prodigué
Aucun dédicace aucun mot ne pourrait exprimer mon respect ma considération
et mes profonds sentiment envers eux,
J'espère qu'ils seront toujours fiers de moi.*

Ma chère mère Labachi Laamra puisse Dieu, le tout puissant, Te préserver
t'accorder santé, longue vie et bonheur

Mon cher père Abderrahmane que Dieu tout
Puissant bénisse son âme
Je dédie spécial Mon mari **Badri** pour ses encouragements,
Sa confiance et son amour.

A mes sœurs et mon frère

*Yassine, Ibtissam, Naoui, Boufateh et Rayen que dieu les protèges
Sortant à ma grand sœur Yassmina et ma grand frère Mohamed Pour votre
soutien moral et encouragements vous m'avez appris la patience et la
concentration sur mon travail. Je vous souhaite un avenir plein d'amour, de
bonheur et de succès. Je vous aime beaucoup.*

A mes neveux et mes nièces

Razan, Alaa Arrahmen, Abde Arrahmen, Hanine, Batoul, Ibtihel.

Toutes la famille Abdessalem et Labachi

A mes proches amies

Hadjer, Sabiha, Sakina, Sawsen, Sadia, Hanane, Lynda

A mon binôme

*Chahrazad qui a participé et continué ce travail avec moi, déroulé dans des
moments difficiles et agréables, que nous avons passé ensemble jusqu'à la fin de
ce travail, et je vous remercie pour votre soutien moral et votre dévouement à ce
travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.*

Abdessalem Hayat

Table de matière

Page de garde	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des Tableaux	I
Liste des Figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction	1

Première Partie : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1.PATHOLOGIE BUCCALES ET D'ORIGINE DENTAIRE

1.1. Anatomie buccale	3
1.2. Racines dentaires	3
1.3. Infections des racines dentaires	3
1.3.1. Infections endodontiques primaires	4
1.3.2. Infections endodontiques secondaires.....	4
1.4. Microorganismes de la cavité buccale.....	4
1.5. <i>Candida albicans</i>	4
1.5.1. Habitat	4
1.5.2. Généralités	5
1.5.3. Mécanismes de pathogénicité et facteurs virulences	6
1.5.4. Résistances chez <i>C. albicans</i>	6

Chapitre 2.LES HUILES ESSENTIELLES

2.1. Généralités	8
2.2. Activité antifongique	8
2.3. Activité anti biofilm.....	8
2.4. Mode d'action antimicrobienne.....	9

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3.MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel végétale	10
3.1.1. Source du matériel végétale	10
3.1.2. Extraction des HE	11
3.1.3. Conservation	11
3.2. Souches de <i>C. albicans</i>	11
3.2.1. Souches de référence.....	11
3.2.2. Souches cliniques.....	13
3.3. Evaluation de l'activité antifongique des HEs vis-à-vis les souches <i>C. albicans</i>	15
3.3.1. Méthode de l'aromatogramme (ou méthode des disques)	15
3.3.2. Détermination des CMI des HEs (Méthode de microplaque à 96 puits)	16
3.3.3. Détermination des CMI de la formation de biofilm.....	17

Chapitre 4.RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Identification des souches cliniques de <i>C. albicans</i>	18
4.1.1.Observation macroscopique.....	18
4.1.2. Observation microscopique.....	18
4.2. Résultats de l'activité antifongique des HEs vis-à-vis les souches de <i>C.albicans</i>	20
4.2.1. Diamètres des zones d'inhibition.....	20
4.2.2. Détermination des Concentration Minimales Inhibitrices CMI.....	22
4.2.3. Détermination de la CMI de la formation de biofilms CMIB.....	27
Conclusion	29
Références bibliographiques	30

Annexes

Résumés

Liste des Tableaux

Tableau 1:Données sur la provenance des HEs étudiées	10
Tableau 2: Donnés sur les souches cliniques étudiées	13
Tableau 3 : Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant utilisé trois méthodes différentes pour évaluer l'HE de <i>S .aromaticum</i> contre l'espèce <i>C. albicans</i>	21
Tableau 4: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant utilisé deux méthodes différentes pour évaluer l'HE de <i>T. capitata</i> contre l'espèce <i>C. albicans</i>	22
Tableau 5: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant déterminé des CMI de l'HE de <i>S. aromaticum</i> vis-à-vis <i>C.albicans</i> par trois méthodes.	23
Tableau 6: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant déterminé des CMI de l'HE de <i>T. capitata</i> vis-à-vis <i>C.albicans</i> par deux méthodes.....	24
Tableau 7: Comparaison entre résultats d'inhibition et éradication des biofilms de <i>C. albicans</i> en utilisant l'HE <i>S .aromaticum</i> et l'eugénol.....	27
Tableau 8: Comparaison entre résultats d'inhibition et éradication des biofilms de <i>C. albicans</i> en utilisant l'HE <i>T. capitata</i> et ses composés majoritaires.....	28

Liste des Figures

Figure 1: Aspect macroscopique de la levure <i>C. albicans</i>	5
Figure 2: Enrichissement des souches de référence	12
Figure 3: Ensemencement par épuisement	12
Figure 4: Ensemencement des souches cliniques	14
Figure 5: Aspect macroscopique de levure <i>C. albicans</i> sur milieu Sabouraud	18
Figure 6: Observation microscopique d'examen à l'état frais par Bonola (2014)	19
Figure 7: La coloration de Gram pour les levures (Pianetti, 2015)	19
Figure 8: observation microscopique des tubes de germination de <i>C. albicans</i> par Sudbery <i>etal.</i> (2004).	20
Figure 9: <i>Syzygium aromaticum</i> (Memmou, 2015)	40
Figure 10: <i>Thymbra capitata</i> (Benbelaid ,2015).....	41

Liste des abréviations

ATCC : American Type Culture Collection

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

CMEB : Concentration minimale éradicatrice de biofilm.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMIB: Concentration Minimale Inhibitrice de la Formation du Biofilm

HE: Huile Essentielle

IPP : Institut Pasteur Paris

LIPOE: Lésion Inflammatoire Péri-apicale d'origine Endodontique

PAA: Parodontites Apicales Aiguës

PAC: Parodontites Apicales Chroniques

UFC:UnitéFormantColonie

Introduction

Introduction

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine. Ces infections se diversifient selon leur localisation et l'organe atteint (El Bouri, 2014). Les candidoses buccales sont des infections opportunistes causées par des germes saprophytes ayant le plus souvent une évolution pathogène (Agbo-Godeau et Guedj, 2005). Parmi les agents pathogènes fongiques les plus incriminés figurant les espèces de levures appartenant au genre *Candida* (Sullivan *et al.*, 2004). Cependant, l'espèce *Candida albicans* (*C. albicans*) reste la plus fréquemment identifiée (El Mansouri, 2013), puisqu'elle est responsable de plus de 80 % des mycoses rencontrées chez l'homme (Chambard, 2009). Bien que cette espèce existe souvent comme un microorganisme commensal exclusif des muqueuses respiratoires, digestives et vaginales (Chami, 2005). De plus, l'espèce *C. albicans* est responsable également des infections d'origine dentaire notamment les infections endodontiques. En effet, la présence de cette levure dans les canaux radiculaires est parmi les causes de l'échec des traitements endodontiques ainsi que les parodontites apicales secondaires (Özcan *et al.*, 2013).

Les souches de *C. albicans* sont diversement adaptées au parasitisme dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence des facteurs favorisants, dits « facteurs de risque », locaux ou généraux (Develoux et Bretagne, 2005). Les principaux déséquilibres muqueux facilitant la prolifération locale des *C. albicans* sont : l'humidité, les irritations locales (Exemple : appareils dentaires) et l'hyperacidité. Les facteurs généraux favorisant les candidoses sont ceux classiquement impliqués dans le déterminisme des mycoses. Ainsi, les cancers, les hémopathies, les endocrinopathies (en particulier le diabète) et le Sida, tiennent une place particulière dans la genèse des candidoses (El Bouri, 2014). De plus, les candidoses sont favorisées également chez les sujets âgés et immunodéprimés (Agbo-Godeau et Guedj, 2005), ainsi que chez les sujets anémiques (Chambard, 2009).

Bien qu'aujourd'hui on dispose de médicaments antifongiques, les traitements des infections liées aux candidoses notamment les infections des racines dentaires restent difficiles à effectuer non seulement du fait du nombre limité de principes réellement efficaces contre ces levures mais aussi de leur coût très élevé. Ces différentes difficultés ont suscité la communauté scientifique à travers le monde à enlever pour la mise en évidence de nouveaux agents antifongiques efficaces, sûrs, et à coût disponible (El Mansouri, 2013).

Les produits naturels, y compris les huiles essentielles (HEs), sont considérés parmi les solutions alternatives. Les HEs sont des produits odorants, généralement de composition riche, obtenues à partir des plantes aromatiques par hydrodistillation (Cohen, 2013). Actuellement, dans de nombreux travaux publiés, les chercheurs ont démontré que la plupart des HEs étudiées sont pourvues des activités biologiques intéressantes notamment l'activité antimicrobienne (El Bouri, 2014). Les propriétés antifongiques des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés (Ouraïn *et al.* , 2005). Le thymol, le carvacrol, et l'eugénol sont parmi les composés les plus actifs.

Dans le même contexte de la recherche de nouveaux agents antifongiques, nous sommes intéressés dans ce travail à étudier l'effet inhibiteur des HEs de *T. capitata* et *S. aromaticum* vis-à-vis des souches de références de *C. albicans* ainsi que des souches cliniques de *Candida* d'origine buccale et dentaire. Ce mémoire est organisé en de deux parties dont la première propose une mise au point bibliographique divisée en deux chapitres. Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit en détail le matériel végétal, puis l'extraction des HEs et enfin, l'étude de son activité anticondidosique. Les résultats obtenus par différents chercheurs sont ensuite amplement discutés. Puis, ce manuscrit est achevé par une conclusion générale.

Les objectifs assignés de ce travail consiste à :

- Collecter des souches cliniques de *C. albicans* responsables des infections de racine dentaire.
- Etudier l'effet inhibiteur des HEs envers des souches de référence et cliniques à l'état planctonique et biofilm afin de proposer des solutions d'irrigation alternatives.



**Partie
Bibliographique**

Chapitre 1
Pathologies
buccales et
d'origine dentaire

1.1. Anatomie buccale

La cavité buccale est divisée par les arcades gingivo-dentaires en deux parties : l'une périphérique ou vestibule de la bouche, l'autre centrale ou cavité buccale proprement dite (Sanogo ,2015). La cavité buccale est la voie d'entrée des aliments en assurant leur première transformation avant de diriger vers l'œsophage (Belahcen El Ouali ,2016). C'est une cavité limitée par des muscles et des os, et bordée par un épithélium pavimenteux stratifié (Righetti, 2007).

1.2. Racines dentaires

Les incisives mandibulaires sont reconnues pour présenter une importante variation dans la morphologie de leur réseau canalaire radulaire. Habituellement, les dents avec une seule racine présentent un seul canal (Maury, 2014).La dent est fortement ancrée dans l'alvéole dentaire via le périodonte (Gauthier, 2017).La dent est composée de 4 tissus : L'émail, la dentine et le cément (par sa fonction, ce dernier fait partie du parodonte), qui sont minéralisés et qui entourent la pulpe (Trebosc Rouch, 2015).La pulpe dentaire est un tissu conjonctif lâche (Le Breton *et al.* , 2013).

1.3. Infections des racines dentaires

La parodontite apicale d'origine endodontique est principalement causée par une infection microbienne localisée dans le canal radulaire, sachant que l'environnement canalaire fournit un habitat sélectif pour une certaine flore microbienne (Nair, 2006). Les Microorganismes responsables des infections persistantes sont les «restes» d'une infection primaire ou secondaire. Par conséquent, on retrouve essentiellement les micro-organismes résistants aux procédures de nettoyage du système endodontique (Boisseau ,2010).

En effet, l'écosystème buccal est un équilibre entre la flore orale normale et les espèces pathogènes. Cet ensemble constitue une flore orale évoluant dans un état d'équilibre interrelationnel. La rupture de cet équilibre sera caractérisée par une modification de la croissance de certaines souches, la disparition de certaines espèces mais aussi l'apparition des métabolites qui seront à l'origine de processus infectieux à point de départ local (Sixou *et al.* , 2007). La réaction inflammatoire est un ensemble de mécanismes physiologiques de défense visant à circonscrire et à réparer les lésions tissulaires (Brunato ,2005).

1.3.1. Infections endodontiques primaires

La lésion péri apicale se développe à la suite de la pulpopathie, Ces lésions sont aussi connues sous les termes de parodontite apicale chronique (PAC), on parle de parodontite apicale aiguë (PAA) lors du passage de l'inflammation pulpaire dans le périapex. Elles peuvent encore apparaître sous le terme de lésion inflammatoire périradiculaire d'origine endodontique (LIPOE). (Heydel, 2016).

1.3.2. Infections endodontiques secondaires

À la différence des infections endodontiques primaires, les infections endodontiques secondaires sont à l'origine d'un échec du traitement caractérisé par la réapparition de l'infection, parfois d'une façon plus sévère. C'est sans doute à cause des conditions extrêmes que seuls quelques micro-organismes peuvent survivre et proliférer. La plupart des études, qui ont essayé d'isoler les micro-organismes responsables des infections endodontiques secondaires, retrouvent essentiellement *Enterococcus faecalis* et *Candida albicans* (Boisseau ,2010).

1.4. Microorganismes de la cavité buccale

La cavité buccale abrite de nombreux micro-organismes que sont les bactéries, les levures, les protozoaires et les virus. C'est un écosystème complexe qui évolue constamment et qui constitue un milieu adéquat pour leur développement (Rajabaly ,2015) .Les candidoses sont les mycoses humaines les plus fréquentes. Elles sont cosmopolites et sont provoquées par des levures opportunistes, du genre *Candida*, qui profitent d'une opportunité liée à un dysfonctionnement du système immunitaire pour exprimer leur pouvoir pathogène. Le genre *Candida* se situe parmi les dix principaux groupes de microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme (Bonola, 2014).

1.5. *Candida albicans*

1.5.1. Habitat

Répandu dans tout le monde, les espèces du genre *Candidas* ont des microorganismes commensaux par fait ementtolérés par l'homme sain ayant comme habitat l'oropharynx et l'estomac. Ce sont en fait des levures saprophytes strictes du tube digestif. Cependant, toute autre localisation de cette espèce (*C. albicans*) doit être considérée comme pathogène (Coulibaly, 2003).

1.5.2. Généralités

L'espèce *Candida albicans*, souvent associée à un champignon microscopique, est un microorganisme de la famille des levures qui se trouvent dans l'organisme humain en quantité relativement limitée (Youcef-Ali ,2014). Cette espèce est caractérisée par un thalle unicellulaire composé de blastoconidies. Lors de la culture de *C. albicans*, on observe des colonies blanches, crémeuses, lisses sur milieu Sabouraud. Certaines colonies sont plus ou moins rugueuses. Après quelques jours de culture, on observe des filaments qui s'enfoncent dans la gélose et mesurent entre 4 à 6 micromètres de long (Nicolas, 2016) (fig.1).

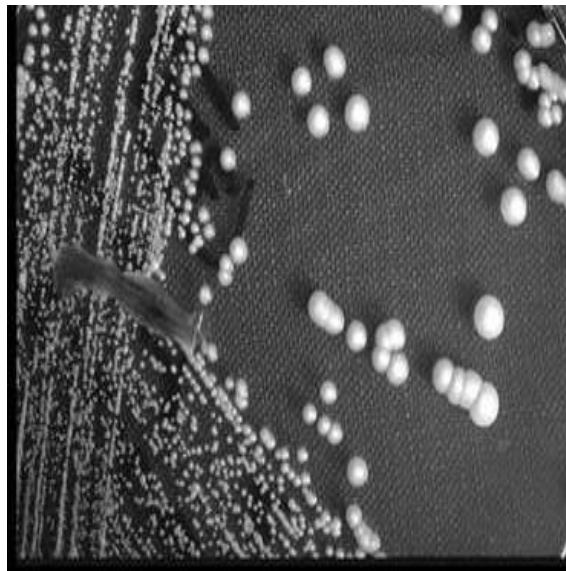


Figure 1: Aspect macroscopique de levures de *C. albicans* (Nicolas, 2016).

C. albicans est dans la grande majorité des cas un organisme diploïde. Bien que, des souches haploïdes, tétraploïdes ou aneuploïdes ont été obtenues *in vitro* et observées *in vivo* (Sitterlé ,2018). Le mode de multiplication de *C. albicans* est principalement de type asexué excepté. La multiplication est assurée par bourgeonnement de la blastospore à un pôle particulier de la cellule donnant naissance, après division du noyau par simple mitose et septation de la cellule, à une blastospore fille qui se dissocie ultérieurement de la blastospore mère (Beucher, 2007).

1.5.3. Taxonomie

Le genre *Candida* regroupe des levures dont la majorité des caractères sont retrouvés chez les Ascomycètes. Cette classification s'appuie sur des caractères phénotypiques :

Règne : des champignons (*fungi*)

Phylum : des Ascomycètes

Classe : des Saccharomycètes

Ordre : des saccharomycétales (levures bourgeonnantes)

Saccharomycétales mitosporiques

Genre : *Candida* (Chambard, 2009).

1.5.3. Mécanismes de pathogénicité et facteurs virulences

Les candidoses invasive relèvent deux mécanismes différents : soit le plus souvent par voie « endogène » avec passage de levures vers le sang, puis les organes profonds à partir d'un foyer digestif ; soit par voie « exogène » ou nosocomiale : transmission par manuportage ou introduction de levures par effraction cutanée à partir des accès vasculaires.

La pathogénicité de *C. albicans* vient de sa capacité de modifier son phénotype afin de s'adapter à son environnement. Sa pathogénicité est favorisée par l'association de facteurs liés au microorganisme et de facteurs liés au statut immunologique de l'hôte (Pianetti, 2015). La séquence des événements qui contribuent à l'installation de *C. albicans* chez son hôte peut se résumer en trois étapes clés :

- ❖ Adhérence et colonisation
- ❖ Invasion au niveau des tissus
- ❖ Multiplication et survie chez l'hôte (Lagane, 2007).

1.5.4. Résistances chez *C.albicans*

a. Résistances envers les antifongiques

Le système immunitaire cellulaire joue un rôle majeur dans la lutte contre les candidoses superficielles (Bloch, 2013). L'arsenal thérapeutique comprend actuellement quatre principales familles : Les polyènes, les nucléosidiques, les dérivés azolés et les échinocandines (El Jouhari, 2008).Le phénomène de la résistance aux antifongiques a des origines soit clinique, pharmacologique ou microbienne (Gauthier, 2007).Les mécanismes de résistance décrits pour quelques molécules anti-*Candida* :

1. Polyènes : les résistances aux polyènes sont assez rares, car ces composés n'ont pas besoin de pénétrer dans les cellules fongiques pour exercer leur effet. Le principal mécanisme de résistance observé est l'absence de la cible ergostérol (Guerineau, 2015).

2. Echinocandines : les résistances aux échinocandines sont relativement rares. Quelques mutations ponctuelles sont décrites (Guerineau, 2015).

3. Dérivés azolés : les mécanismes de résistance fongique aux dérivés azolés sont les plus étudiés. En effet, de nombreux cas de résistance ont été décrits dès les années 1980 à cause de l'utilisation massive de ces molécules. Trois mécanismes de résistance sont donc décrits :

- ❖ Diminution de l'affinité des azolés pour leur cible : l'enzyme 14 α -lanostérol déméthylase.
- ❖ Multiplication du nombre de copie de l'enzyme 14 α -lanostérol déméthylase.
- ❖ Surexpression des protéines d'efflux entraînant une diminution des concentrations intracellulaires en antifongique (Guerineau, 2015).

4. Analogues de la pyrimidine : en raison de l'apparition des résistances, la 5-fluorocytosine n'est pas utilisée en monothérapie mais toujours associée à l'amphotéricine B. Les mécanismes mis en jeu sont le plus souvent un excès de cible ou une mutation d'un gène codant pour une enzyme impliquée dans le métabolisme (Guerineau, 2015).

b. Résistance par formation de biofilm

La formation de biofilm fongique est complexe avec des architectures différentes selon la surface d'adhérence et selon les espèces. Le biofilm fongique peut être formé à partir d'une seule ou le plus souvent de nombreuses espèces. Au sein de ce biofilm, plusieurs mécanismes de résistance entrent en jeu. Une diffusion altérée des antifongiques au sein du biofilm est mise en évidence notamment à cause de la surexpression des pompes à efflux. Cependant, ces pompes contribuent à la résistance seulement dans les premières phases de formation du biofilm. Au cours des phases intermédiaires et matures du biofilm, les concentrations en ergostérol diminuent ce qui augmente la résistance aux azolés. Additionnés à ces mécanismes, une croissance plus lente des champignons au sein biofilm, la capacité à produire des enzymes dégradant ainsi les molécules antifongiques (Guerineau, 2015).

Chapitre 2

Les huiles essentielles

2.1. Généralités

Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile d'une part du fait du nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé et d'autre part lié à l'émergence de souches résistantes envers certains antimycosiques habituellement utilisés. Ces différentes difficultés ont suscité notre intérêt pour la recherche d'autres substances fongitoxiques pouvant être une solution alternative envers les infections fongiques persistantes. Les propriétés curatives des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction HE, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques (El Mansouri ,2013). Les HE sont sécrétées dans presque tous les organes du végétal (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). Il a été prouvé que les HE extraites de certaines plantes aromatiques ont une valeur inestimable pour la santé humaine (El Bouri ,2014).

2.2. Activité antifongique

A ce jour, l'activité antimicrobienne des HE n'est pas clairement élucidée. Cette ambiguïté est attribuée à plusieurs facteurs, notamment la variété des composés actifs existants au sein d'une HE donnée (Benbelaid, 2015).

L'utilisation de composés naturels bioactifs offre une alternative de premier choix pour traiter les infections fongiques. Les propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes de plusieurs plantes ont été mises en évidence pour traiter plusieurs infections chez l'homme (Kossonou *et al.*, 2019).

2.3. Activité anti biofilm

D'après des études publiées, les HE sont avérées très efficaces vis-à-vis des biofilms microbiennes, sur lesquels elles peuvent agir de plusieurs façons. Notamment, l'activation des gènes de réponse contre-stress qui à leur tour diminuant la production des polysaccharides extracellulaires. En outre, les HEs ont la particularité d'agir directement sur des biofilms déjà formés, contrairement à la majorité des agents antimicrobiens. Les HEs ont la possibilité d'éradiquer les biofilms microbiennes par solubilisation de leur matrice extracellulaire (Benbelaid, 2015).

2.4. Mode d'action antimicrobienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule. Certains composés phénoliques des HE interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATP ase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Les HE peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides (El Amri *et al.* , 2014)



**Partie
Expérimentale**



Chapitre 3
Matériel et
méthodes



3.1. Matériel végétal

Les HEs sont utilisés en médecine alternative depuis très longtemps pour leurs propriétés antimicrobiennes et notamment antifongiques. Le pouvoir antifongique de ces sécrétions végétales a fait l'objet de nombreuses études *in vitro* (Giordani et Kaloustian ,2006).

3.1.1. Source du matériel végétal

Les HEs étudiées (voir tab.1) ont été obtenues par hydrodistillation.

Tableau 1:Données sur la provenance des HEs étudiées

Plante	Nom en arabe	Utilisation traditionnelle	La partie utilisée	Photo
<i>Syzygium aromaticum</i>	القرنفل	Utilisée comme patte pour la reconstitution des dents. Les <i>S. aromaticum</i> soulagent les troubles digestifs, tels que flatulences et coliques. Ils apaisent aussi la toux (Lamendin <i>et al.</i> , 2004)	les graines (Les clou de girogle) (Lamendin <i>et al.</i> , 2004)	
<i>Thymbra capitata</i>	الزعينة	Utilisée beaucoup plus en cuisine comme épice pour la préparation de nombreux plats. Egalement, cette espèce est considérée parmi les plantes médicinales ainsi utilisée pour le traitement des troubles digestives, infections buccodentaires et cutanées. (Benbelaid ,2015).	Les feuilles (Benbelaid , 2015).	

3.1.2. Extraction des HE

L'obtention des HEs a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un montage de type Clevenger (Bourkhiss *et al.* , 2009). La première étape consiste à remplir 100 g de la matière végétale sèche avec 500 ml de l'eau distillée dans un ballon de 1 L. Ensuite, le ballon est d'abord connecté à l'appareil Clevenger puis le tout est déposé sur un Chauffé Ballon. Le Clevenger en verre est constitué d'une colonne qui mène les vapeurs sortants du ballon vers un réfrigérateur dans lequel ces vapeurs sont alors condensées puis récupérées dans une burette graduée. Grâce à leur densité généralement inférieure à celle de l'eau, les HEs obtenue vont flotter au-dessus de l'hydrolat ainsi leur volume est lu directement dans la burette. Après l'extraction durant 3 à 5 heures, et l'obtention de la totalité de l'HE, la partie hydrophobe est récupérée conservée.

3.1.3. Conservation

Les HEs récupérées ont été séchées à l'aide de sulfate de magnésium et stockés dans des flacons fumés à 4 ° C (Benbelaïd *et al.* , 2014).

3.2. Souches de *C. albicans*

3.2.1. Souches de référence

Deux souches de référence ont été utilisées dans cette étude à savoir *C. albicans* ATCC 10231 (American Type Culture Collection), *C. albicans* et IPP (Institut Pasteur Paris) obtenues de la part de laboratoire LAMAABE Université de Tlemcen. La revivification des souches de référence a été effectuée ainsi :

A partir des cultures conservées, des gouttes de celles-ci sont prises à l'aide d'une anse de platine, puis inoculées dans des tubes à essai contenant 5 ml de Bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) (Conda Pronadisa™, Espagne). Les tubes sont ensuite incubés pendant 48 h à 30 °C pour leur enrichissement (fig.2).



Figure 2:Enrichissement des souches références

Après enrichissement, les cultures positives ont été ensemencées par méthode d'épuisement sur un milieu sélectif la gélose Sabouraud (Conda Pronadisa™, Espagne)(fig.3).

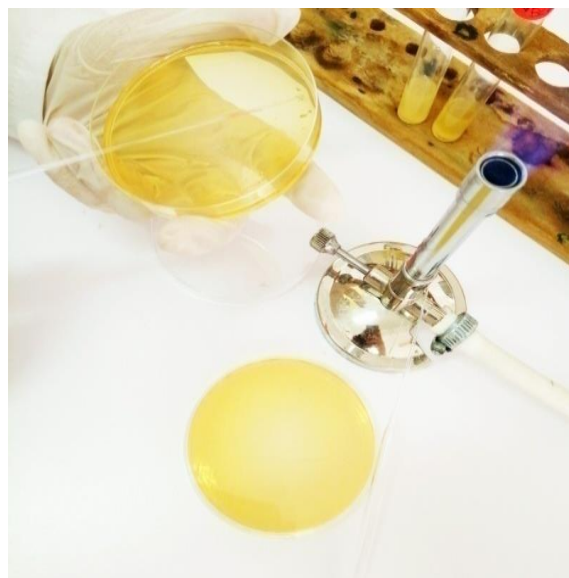


Figure 3: Ensemencement par épauement

Pour la purification des souches, uniquement les colonies poussant en blanche crème ont été réensemencées dans les mêmes conditions. Une fois les cultures deviennent pures, les souches ont été conservées sur une gélose nutritive (Conda Pronadisa™, Espagne) inclinée à 4 °C.

3.2.2. Souches cliniques

Les souches cliniques utilisées dans ce travail (tab.2) ont été obtenues auprès de différentes cliniques dentaires privés de la région de Biskra à partir des patients atteints de maladies endodontiques (voir annexe 2).

Tableau 2: Donnés sur les souches cliniques étudiées

Patients	Sexe	Age	Lieu	Site d'échantillonnage	Maladie
1	F	43	Sidi okba	Pulpite	Immunodéprimé et diabétique
2	F	11	Sidi okba	Pulpite	L'acidité d'estomac
3	H	35	Sidi okba	Pulpite	Le diabète et l'acidité d'estomac
4	H	59	Sidi okba	Pulpite	L'hypertension artérielle et Immunodéprimé
5	H	13	Biskra HLM	Pulpite	L'acidité d'estomac
6	F	46	Biskra HLM	Pulpite	La colonne et l'acidité d'estomac
7	F	37	Biskra HLM	Pulpite	Immunodéprimé

3.2.2.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage à partir des racines dentaires infectées. Les écouvillons sont trempés dans des tubes à essai contenant 5 ml de bouillon BHIB, puis les tubes sont transportés immédiatement au laboratoire à 4°C dans une glacière.

Au niveau de laboratoire, les tubes ont été incubés durant 48 h à 30 °C pour leur enrichissement. Après incubation, les cultures positives sontensemencées par méthode d'épuisement sur gélose Sabouraud (fig.4), puis incubés durant 48 h à 30 °C. Ultérieurement, les colonies ayant poussé sont supposées comme des souches de *C. albicans*. Ainsi, ces

souches sont alors conservées sur une gélose nutritive inclinée à 4 °C dans le but de leur caractérisation ultérieure.

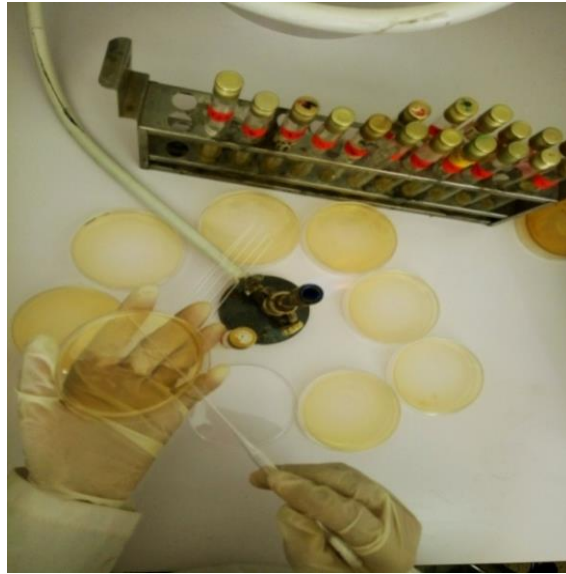


Figure 4: Ensemencement des souches cliniques

3.2.2.2. Caractérisation des souches cliniques

La première étape d'identification des souches est constituée de deux tests simples qui sont l'examen à l'état frais et la coloration de Gram. Tandis que la confirmation de l'identification a été effectuée par teste blastèse.

Examen à l'état frais

Cette technique se fait en déposant une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre. Ensuite, une colonie de levure est prélevée et dissociée dans la goutte, puis le tout est recouvert par une lamelle en évitant la formation des bulles d'air. L'observation est effectuée sous microscope optique au grossissement (X400), ce qui nous permet d'observer les levures à l'état viable et de préciser leur morphologie.

Coloration de Gram

Examen avec coloration de Gram est une coloration de choix pour les champignons permet de mettre en évidence les levures du genre *Candida* apparaissant «Gram positif» (Bille, 2005). L'observation au microscope optique est réalisée à l'objectif (GX 100) (déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré).

Test de Blastèse

Quelques cellules de souches à identifier sont inoculées dans 0,5 ml du sérum d'humain (Marinho *et al.* , 2010). A l'aide d'un vortex, la préparation est bien homogénéisée pour l'obtention d'une suspension de levure. Puis, une incubation dans une étuve à 37°C est nécessaire pour détecter les bourgeons germinatifs de *C. albicans*. Au bout des trois heures d'incubation, des observations au microscope de suspension entre lame et lamelle sont réalisées pour noter la présence de tube germinatif.

3.3. Evaluation de l'activité antifongique des HEs vis-à-vis les souches *C. albicans*

Le potentiel antifongique des HEs étudiées a été déterminé selon deux méthodes à savoir la méthode de diffusion sur la gélose et la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI).

3.3.1. Méthode de l'aromatogramme (ou méthode des disques)

3.3.1.1. Préparation de l'inoculum

➤ Revivification des souches

Les souches de références ainsi que les souches cliniques ont été revivifiées par ensemencement dans des tubes remplies de Bouillon BHIB, puis incubés pendant 24h à 30°C.

➤ Standardisation

Après revivification des souches, une quantité de la suspension fongique est mise dans des tubes à hémolyse stériles, puis diluées par l'ajout de bouillon Müller-Hinton stérile. Ensuite, les tubes à hémolyse sont bien homogénéisés à l'aide d'un vortex, puis standardisée à une charge microbienne égale à 10^8 UFC/ml qui correspond à 0,5 Mc Farland. La standardisation est effectuée par spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm, l'absorbance doit comprise entre 0,08–0,13.

3.3.1.2 Aromatogramme

La sensibilité des souches étudiées envers les HEs a été évaluée *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Fettah *et al.* , 2018). Des disques en papier filtre de 6 mm de diamètre sont imprégnés de 5 µl d'HE puis déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage avec de la suspension microbienne standardisée. Les géloses sont ensuite mises en culture pendant 24 h à 30 °C. Après incubation, l'apparition d'une zone d'inhibition

circulaire autour des disques dénote la sensibilité de la souche en question envers l'HE étudiée. Plus la zone d'inhibition est large plus le germe est sensible.

3.3.1.3. Lecture des résultats

Les diamètres des zones d'inhibition mesurées sont appréciés comme suivant :

Pas sensible (-) de diamètre inférieur ou égal à 8 mm, moyennement sensible (+) pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, sensible (++) pour un diamètre compris entre 14 et 20 mm et extrêmement sensible (+++) pour un diamètre égal ou supérieur à 20 mm (Djabou *et al.*, 2013).

3.3.2. Détermination des CMI des HEs (Méthode de microplaque à 96 puits)

La CMI a été déterminée selon la technique rapportée par Khadir *et al.* (2013).

3.3.2.1 Préparation de l'inoculum

Pour effectuer la détermination des CMI des inocula 10^6 UFC/ml de chaque souche ont été préparés. La préparation est réalisée par dilution 1/100 à partir d'un inoculum standardisé à 10^8 UFC/ml.

3.3.2.2. Préparation des microplaques

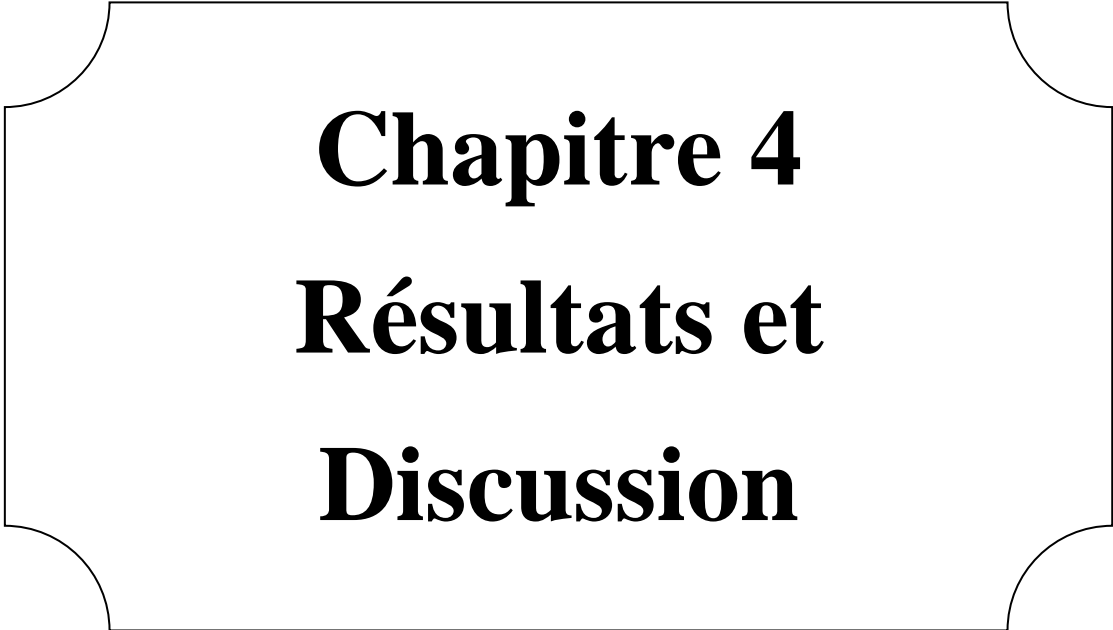
Pour chaque souche, on dépose horizontalement dans une rangée de la microplaque 90 μ l d'inoculum standardisé dans chaque puits. Puis on ajoute 10 μ l de dilution de l'HE déjà préparée dans des tubes à hémolyse avec des concentrations situées entre 40 à 0.08%. Le onzième puits est rempli par 100 μ l de bouillon Müller-Hinton stérile comme témoin négatif pour vérifier les contaminations. Tandis que le dernier puits est rempli par la suspension microbienne additionnée de Tween 80 à 0.1% pour vérifier l'effet de ce dernier, il s'agit du témoin positif. Enfin, les plaques sont incubées durant 48 h à 30°C.

3.3.2.3 La lecture

Les CMI ont été déterminées après incubation en tant que la plus faible concentration de l'HE pour laquelle la croissance microbienne n'est pas observée à l'œil nu.

3.3.3. Détermination des CMI de la formation de biofilm

Les CMI de la formation de biofilm ont été indirectement évaluées à l'aide de la méthode modifiée du cristal violet de Djordjevic *et al.* (2002). Après l'incubation et lecture des CMI de la croissance, le milieu de culture est retiré des puits et la microplaque est alors lavée cinq fois par l'eau distillée stérile pour éliminer les cellules faiblement adhérentes. Après un séchage de 45 min des plaques dans une étuve, 100 µl d'une solution de cristal violet à 1% est ajoutée puis laissée agir pendant 15 min pour colorer les biofilms. Les plaques sont ensuite lavées avec de l'eau distillée stérile cinq fois pour éliminer le cristal violet. La dernière étape consiste à ajouter 100 µl de l'éthanol à 95% dans chaque puits, puis la plaque est bien agitée manuellement pendant 10 min afin de libérer la coloration à partir des biofilms. Les CMI de la formation de biofilms sont déterminées en tant que la plus faible concentration du produit à tester (l'HE) pour laquelle la coloration n'est pas observée à l'œil nu (Beckloff *et al.*., 2007).



Chapitre 4
Résultats et
Discussion

4.1. Identification des souches cliniques de *C. albicans*

Après enrichissement des prélèvements dentaires, l'identification des souches cliniques est basée sur des caractères morphologiques et physiologiques (Ripert, 2013).

4.1.1. Observation macroscopique

L'observation macroscopique des souches ayant poussées sur le milieu Sabouraud (fig.5) montre les caractères suivants : leur couleur est blanche à crème, leur texture crémeuse, leur surface luisante et présentaient un aspect lisse pour l'ensemble des souches cliniques et les 3 souches de références. En effet, ce sont les mêmes caractères morphologiques des colonies de l'espèce *C.albicans* observés par Kammalac(2014), ainsi confirmés par Sullivan *et al.* (2004).



Figure 5: Aspect macroscopique de levure *C. albicans* sur milieu Sabouraud

4.1.2. Observation microscopique

Les examens microscopiques des colonies, entre lame et lamelle, permet d'apporter des informations supplémentaires sur la forme, la taille et le mode de bourgeonnement (Pianetti ,2015)

4.1.2.1. Examen à l'état frais

Selon Delevoux *et* Bretagne (2005) l'examen direct permet de mettre en évidence des cellules arrondies ou ovalaires de 6 à 8 μm . Pianetti(2015) indique que les cellules de *C. albicans* présentent une paroi mince non capsulés avec un ou plusieurs bourgeonnements (fig.6).



Figure 6: Observation microscopique d'examen à l'état frais par Bonola (2014)

4.1.2.2. Coloration de Gram

D'après les deux auteurs Bille(2005) et Ripert(2013), la coloration de Gram permet la mise en évidence des levures à coloration de Gram positive lors d'une candidose. Cette coloration au violet de gentiane touche beaucoup plus les contours des cellules indiquant ainsi qu'il s'agit bien des levures appartenant à l'espèce *C. albicans* (fig.7).

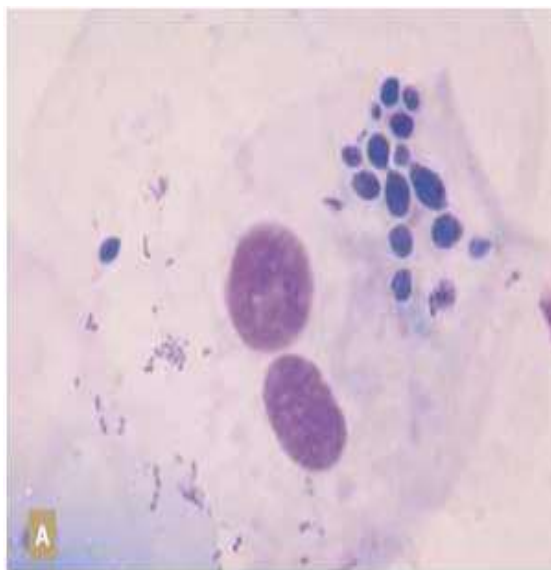


Figure 7: La coloration de Gram pour les levures (Pianetti, 2015)

4.1.2.3. Test de Blastèse

La détection des tubes germinatifs ne présentant aucune constriction au niveau de la base affirme la présence des souches *C. albicans* (fig.8) (Anane et Khalfallah, 2007).

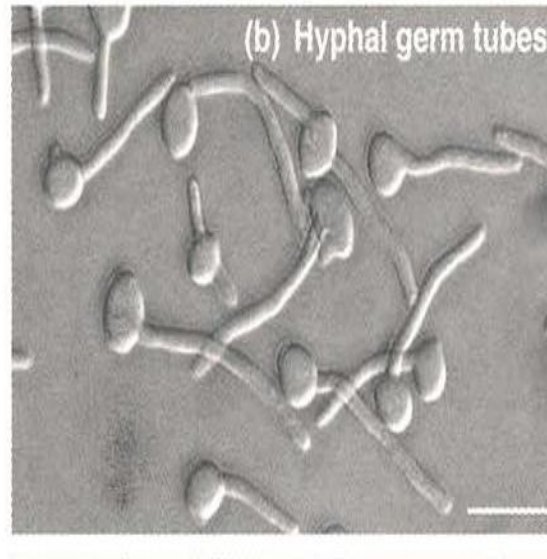


Figure 8: observation microscopique de tubes de germination de *C. albicans* par Sudbery *et al.* (2004).

4.2. Résultats de l'activité antifongique des HEs vis-à-vis les souches de *C. albicans*

4.2.1. Diamètres des zones d'inhibition

D'après une recherche bibliographique, nous avons trouvé beaucoup de travaux dans lesquels les auteurs ont déterminé l'activité antifongique des HEs de *T. capitata* et de *S. aromaticum* envers des souches de *C. albicans* en utilisant la méthode de diffusion en milieu gélosé. Toutefois, il est à mentionner qu'il y'a des différences entre les méthodes utilisées notamment l'utilisation des disques de papier filtre ou des puits. Ci-après une étude comparative entre les résultats obtenus par différents auteurs entre les diamètres des halos d'inhibition de la croissance de *C. albicans* vis-à-vis les deux HEs étudiées. Les résultats de la sensibilité des souches sont interprétés selon Djabou *et al.*(2013) en utilisant le classement suivant:

$D < 8 \text{ mm}$: Souches résistante (-).

$8 \text{ mm} \leq D \leq 14 \text{ mm}$: moyennement sensible (+).

14 mm \leq D \leq 20 mm : sensible (++)

D > 20 mm : Souches extrêmes sensible (+++)

Les résultats obtenus pour les diamètres des zones d'inhibition d'HE de *S. aromaticum* sont récapitulés dans le (tab.3).

Tableau 3 : Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant utilisé trois méthodes différentes pour évaluer l'HE de *S. aromaticum* contre l'espèce *C. albicans*.

La méthode utilisée	Références	Résultats (mm)
Avec l'utilisation de disque de papier imprégné d'HE	(Devkatte <i>et al.</i> , 2005)	20.3
	(Gayoso <i>et al.</i> , 2005)	28
	(Fu <i>et al.</i> , 2007)	32
Avec l'utilisation des puits remplie par d'HE	(Nzeako et Lawati, 2008)	25
	(Ahmad <i>et al.</i> , 2005)	25
	(El-Shouny <i>et al.</i> , 2016)	25
	(Ayoola <i>et al.</i> ., 2008)	35
Par placé une goutte d'HE au centre de la boîte de pétri	(Hili <i>et al.</i> , 1997)	40.3

A la lumière de ces résultats mentionnés ci-dessus, nous avons remarqué tout d'abord que l'HE de *S. aromaticum* est très actif envers les souches de *C. albicans*. Les zones d'inhibition enregistrées par les auteurs dépassent 20 mm ce qui signifie que l'espèce *C. albicans* est très sensible envers cette HE. Toutefois, nous avons constaté des différences remarquables entre les résultats obtenus non seulement entre les méthodes utilisées voir même entre les résultats de la même technique. Cela est dû en premier lieu à la quantité utilisée dans la technique et en deuxième lieu à l'HE utilisée elle-même qui peut diffère l'une de l'autre selon la région géographique, la méthode d'extraction, la durée de séchage, l'organe mise en extraction ainsi que d'autres paramètres.

Les résultats obtenus pour les diamètres des zones d'inhibition d'HE de *T. capitata* sont récapitulés dans le (tab.4).

Tableau 4: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant utilisé deux méthodes différentes pour évaluer l'HE de *T. capitata* contre l'espèce *C. albicans*.

La méthode utilisée	Références	Résultats (mm)
Avec l'utilisation de disque de papier imprégné d'HE	(Megdiche-ksouri <i>et al.</i> , 2015)	20
	(El-Jalel <i>et al.</i> , 2018)	34
Avec l'utilisation des puits remplie par d'HE	(Mkaddem <i>et al.</i> ,2010)	29

Selon ces résultats mentionnés ci-dessus, on constate également que l'HE de *T. capitata* est très active vis-à-vis l'espèce fongique *C.albicans* avec des zones d'inhibition dépassant les 20mm. Pareillement, nous avons remarqué qu'il y'a des différences entre les résultats des auteurs en utilisant les mêmes techniques. Dans le même contexte, ces variations sont expliquées aux mêmes raisons comme de celles remarquées dans les résultats de l'HE de *S. aromaticum*. D'autre part, l'efficacité des deux HEs est apparemment la même.

4.2.2. Détermination des Concentration Minimales Inhibitrices CMI

La nécessité d'une méthode standard et reproductible pour évaluer l'activité antifongique des agents antimicrobiens est soulignée par plusieurs auteurs (Mann et Markham, 1998). Dans cette optique, de nombreuses méthodes ont été développées pour déterminer précisément l'activité antimicrobienne des HEs (Remmal *et al.*,1993; Smith et Navilliat ,1996; Hammer *et al.*, 1998 ; Mann et Markham ,1998). Ainsi, il est clairement remarqué que la détermination de la CMI est la méthode la plus utilisée par la plupart des chercheurs dans le but d'évaluer d'une façon précise l'activité antimicrobienne des HEs. Selon Devkatte *et al.*(2005) et Nzeako et Lawati (2008) les valeurs de CMI sont déterminées étant que la plus faible concentration de l'huile ne montrant aucune croissance visible des souches de *C.albicans* lors l'utilisation de méthode de microdilution sur bouillon. Aussi, Gayoso *et al.* (2005) et Ayoola *et al.*(2008) ont indiqué que la CMI est considérée comme la plus petite concentration capable de développer un halo d'inhibition égal ou supérieur à 10 mm diamètre lors l'utilisation de méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les résultats les CMI obtenus pour *S. aromaticum* sont représentés dans le (tab.5) ci-dessous.

Tableau 5: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant déterminé des CMI de l'HE de *S. aromaticum* vis-à-vis *C.albicans* par trois méthodes.

La méthode utilisée	Auteurs	Produits testé	Résultats
Déterminée en (μ l/ml)	(Atanasova- Pancevska <i>et al.</i> , 2017)	HE	0.097
	(Pinto <i>et al.</i> .,2009)	Eugénol	0.195
		HE	0.64
	Eugénol	0.64	
Déterminée en (μ g/ml)	(Garg et Singh, 2011)	Eugénol	50
	(Ahmad <i>et al.</i> ,2005)	HE	51
	(Nzeako etLawati,2008)	HE	520
	(Ayoola <i>et al.</i> .,2008)	HE	67
	(Boonchird <i>et Flagel</i> ,1982)	Eugénol	625
Déterminée en (%) v/v)	(Devkatte <i>et al.</i> , 2005)	HE	0.12
	(Hammer <i>et al.</i> ., 1998)	HE	0.12
	(Fu <i>et al.</i> , 2007)	HE	0.13

HE : Huile essentielle de *S. aromaticum*.

Selon notre recherche bibliographique, nous avons remarqué que l'expression des résultats des CMI n'est pas uniforme. Par exemple, nous avons constaté que certaines auteurs présentant leurs résultats en unités de volume d'HE (μ l/ml), tandis que d'autres utilisent le poids (μ g/ml). Alors que le reste des chercheurs utilisent le pourcentage (% v/v). Ainsi, nous allons essayer de comparer les résultats ayant la même unité.

Concernant les résultats de CMI obtenues en (μ g/ml), l'HE de *S. aromaticum* ainsi que son composé majoritaire (Eugénol) ont montré des CMI inférieures démontrant ainsi une très bonne activité antifongique envers les souches de *C.albicans* (isolats cliniques et ATCC 10231). Toutefois, nous avons remarqué des différences entre les résultats des auteurs

notamment pour Boonchird et Flagel (1982) et Nzeako et Lawati (2008) ayant trouvé des valeurs de CMI supérieures contrairement aux autres Ahmad *et al.* (2005) ; Ayoola *et al.* (2008) ; Garg et Singh (2011).

Pour les résultats de CMI obtenus en ($\mu\text{l/ml}$), nous avons constaté que les trois chercheurs Hammer *et al.* (1998) ; Devkatte *et al.* (2005) ;Fu *et al.* (2007) ont obtenu des résultats de l'inhibition de la croissance des souches de *C.albicans* ATCC 10231 avec les valeurs de CMI similaires 1.2 $\mu\text{l/ml}$ (0.12% v/v).Tandis que Pinto *et al.* (2009) et Natalija *et al.* (2017) ont obtenu des résultats différents avec des valeurs de CMI très faibles de cette huile et son composé majoritaire (Eugénol).

Les résultats les CMIs obtenus pour *T. capitata* sont représentés dans le (tab.6) ci-dessous.

Tableau 6: Comparaison entre résultats obtenues à partir de nombreux chercheurs ayant déterminé des CMIs de l'HE de *T. capitata* vis-à-vis *C.albicans* par deux méthodes.

La méthode utilisée	Auteurs	Produits testé	Résultats
Déterminée en ($\mu\text{g/ml}$)	(Figueiredo et al., 2008)	HE	0.32
	(Salgueiro <i>et al.</i> ,2004)	HE	0.32
	(Dzamic <i>et al.</i> , 2015)	HE	1
	(Cosentino <i>et al.</i> ,1999)	HE	450
	(Palmeira de-Oliveira <i>et al.</i> , 2012)	HE	230
Déterminée en (% v/v)	(Sakkas <i>et al.</i> , 2016)	HE	0.25

HE : Huile essentielle de *T. capitata*.

L'activité antifongique de l'HE de *T. capitata* a fait l'objectif de plusieurs études. Les résultats obtenus de CMI affirment les propriétés antifongiques de cette HE notamment envers l'espèce *C.albicans*. Néanmoins, les valeurs de CMI rapportées par les auteurs étaient différentes. Certains chercheurs comme Cosentino *et al.* (1999) et Palmeira de-Oliveira *et al.* (2012) ont trouvé des valeurs supérieures de CMI contrairement aux résultats de Salgueir *et al.* (2004) ; Figueiredo *et al.* (2008) ; Dzamic *et al.* (2015) ayant mentionné des valeurs de CMI nettement plus faibles.

En effet, la différence entre les résultats de CMI entre les chercheurs en utilisant la même HE et la même espèce fongique est attribuée à plusieurs facteurs liés à la fois à l'HE ainsi que les souches utilisées. Par exemple l'auteur Mann et Markham (1998) a montré que la nature des isolats testés lors d'une détermination de CMI quoi que soit des souches cliniques ou bien de collection de la même espèce de micro-organisme peut influencer sur les valeurs d'activité antimicrobienne trouvées. De même, le choix du milieu de culture lors d'une détermination des CMI influence significativement sur les résultats. Hammer *et al.*(1999) ont trouvé que les valeurs de CMI de la même HE déterminées dans deux milieux de culture différents se sont révélées distinctes, étant plus élevées avec les milieux gélosés que celles obtenues avec les milieux en bouillon. Cependant, notre comparaison entre les résultats obtenus de Hammer *et al.* (1998) on remarque que le choix du milieu utilisé n'affecte pas l'activité parce que les auteurs ont obtenu les mêmes résultats (0.12% v/v) en utilisant les deux méthodes.

Les HEs de *T. capitata* et de *S. aromaticum* sont connues par leurs activités antimicrobiennes envers un large éventail de micro-organismes notamment les champignons (Hammer *et al.*, 1999 ; Nzeako et Lawati, 2008). Le potentiel anti-candidosique de ces deux HEs a été confirmée par plusieurs publications tels que Hammer *et al.* (1998) ; Hammer *et al.* (1999); Cosentino *et al.* (1999); Salgueiro *et al.* (2003) ; palmeira-de-oliveira *et al.* (2009). Les chercheurs Bonchird et Flegel (1982) ; Arras et Usai (2001) ; Inouye *et al.* (2001) ; Bennis *et al.* (2004) ; Dzamic *et al.* (2015) ont montré que les composés majoritaires des HEs de *T. capitata* et de *S. aromaticum* sont de nature phénolique très connus par leur action antifongique. D'après des résultats obtenus par de nombreux auteurs comme Banerjee *et al.* (2006) et Ghedira *et al.* (2010), les chercheurs ont confirmé que l'HE de *S. aromaticum* contient une quantité importante d'eugénol (80 à 90 %) ainsi classée comme un bon agent anti-*Candida*. En effet, activité biocide de *S. aromaticum* est considérée directement dépendante de la concentration d'eugénol (Ahmed *et al.* ., 2005 ; palmeira-de-oliveira *et al.*, 2009). Ce phénol agi directement au niveau de la paroi cellulaire en induisant une lésion de la membrane cytoplasmique (Salgueiro *et al.*, 2003 ;Palmeira-de-oliveira *et al.*, 2009). De même, les résultats d'Arras et Usai (2001) ; Amarti *et al.* (2008) ; Dzamic *et al.* (2015) ont démontré que plus que la concentration de carvacrol et thymol est élevée (supérieur 70%) dans l'HE de *T. capitata* plus que cette huile sera plus efficace dans l'inhibition de la croissance des champignons. Aussi, Figueiredo *et al.* (2008) et Dzamic *et al.* (2015) ont

supposé que le terpinéol peut jouer un rôle dans l'activité forte de l'HE de *T. capitata* vis-à-vis l'espèce *C.albicans*.

Les variations de l'activité antifongique observées entre l'HE de la même espèce sont liées à plusieurs paramètres surtout les facteurs influençant la composition chimique d'HE tels que l'insolation, la nature du sol, la période de récolte, la température relative (Oliveira *et al.*, 2005 ; Bounatirou *et al.*, 2007 ; Figueiredo *et al.* ; 2008), ainsi que les conditions de stockage (Turek et Stintzing , 2012). Egalement, Singh-Sangwan *et al.* (1994) et Ahmad *et al.*(2005) et Nzeako et Lawati (2008) ont signalé que l'origine des herbes et la teneur d'humidité affecte aussi sur la composition chimique des HEs. De plus, Cox *et al.*(2001) et Manohar *et al.*(2001) ont indiqué que la caractérisation de l'HE doit être effectuée en même temps avec la détermination de son activité antifongique. En effet, les auteurs indiquent que dans la plus part des cas l'activité antifongique est due aux composés majoritaires des HEs. Cependant, d'autres chercheurs ont trouvé que l'activité antifongique de certains composés majoritaires est inférieure à celle de l'HE, prédisant ainsi une possibilité de la synergie entre les composants de l'HE.

En outre, Atanasova-Pancevska *et al.* (2017) ont montré que l'HE fraîchement isolée a eu l'effet le plus fort contre *C.albicans*. De plus, il est important de noter que dans une étude sur l'activité antifongique de l'eugénol et de l'HE de *S. aromaticum* envers des souches de *C.albicans*, les auteurs Pinto *et al.* (2008) ont trouvé des résultats faibles en utilisant une HE commerciale du Portugal. Après une analyse par chromatographie en phase gazeuse, les auteurs n'ont pas détecté l'acétate d'eugényle dans l'HE commerciale testée. Tenant compte du fait que dans leur étude, la seule différence entre les deux HEs (fraîchement préparé et commerciale) est la présence d'acétate d'eugényle. Par conséquent, Atanasova-Pancevska *et al.* (2017) ont confirmé que pour la standardisation des résultats des études antimicrobiennes impliquant des HEs, un contrôle préalable de leur composition chimique est fortement conseillé. Afin d'éviter les ambiguïtés, ils proposent, en plus de la détermination de la composition chimique par des techniques de chromatographie en phase gazeuse, de vérifier l'indice de réfraction et la teneur en humidité des HEs.

4.2.3. Détermination de la CMI de la formation de biofilms CMIB

Selon Braga *et al.* (2008), il est connu que les biofilms matures sont très difficiles à éradiquer par les agents antimicrobiens représentant ainsi une source redoutable de contamination et d'infection. Ceci est déroutant car les populations fongiques protégées au sein des biofilms deviennent très résistantes vis-à-vis les antifongiques utilisée en médecine humaine. Ainsi, les nouveaux agents antifongiques capables d'inhiber la croissance des microorganismes associée aux biofilms sont nécessaires en urgence. Pour cela, la présente étude a été menée pour évaluer les propriétés antifongiques des HEs de *S. aromaticum* et *T. capitata* et leurs composants majeures contre *C. albicans* et son biofilm. Les résultats de l'analyse bibliographique sont présentés dans le (tab.7) et (tab.8).

Tableau 7: Comparaison entre résultats d'inhibition et éradication des biofilms de *C. albicans* en utilisant l'HE *S. aromaticum* et l'eugénol.

Auteurs	Produits testé	CMEB	CMIB
(Agarwal <i>et al.</i> ,2008)	HE	28.57%	0.3% (v/v)
(He <i>et al.</i> , 2007)	Eugénol	80%	2000µg/ml
(Khan et Ahmed ,2012)	HE	57.08%	200µg/ml

HE : Huile essentielle de *S. aromaticum*. CMEB : Concentration minimale éradicatrice de biofilm. CMIB : Concentration minimale inhibitrice de biofilm

A partir de ces résultats présentés ci-dessus, les chercheurs ont démontré que l'HE de *S. aromaticum* ainsi que son composé majoritaire l'eugénol sont des bons agents antibiofilm vis-à-vis de l'espèce fongique *C.albicans*. Nous avons remarqué également que l'eugénol est plus actif par rapport à l'HE dans l'éradication les biofilms préformés de *C.albicans* et l'adhésion des cellules avec une CMIB 2000µg/ml. Khan et Ahmed (2012) ont démontré lors d'un traitement par l'HE de *S. aromaticum* que l'HE induit un relâchement des cellules de *Candida* adhérees avec décomposition de la matrice extracellulaire de biofilm. Certains chercheurs tels que Khan et Ahmed (2012) suggèrent que la filamentation chez *C.albicans* joue un rôle central dans le développement de l'architecture organisée des biofilms matures. He *et al.* (2007) ont montré que la croissance filamenteuse des cellules de *C.albicans* dans les biofilms a été inhibée par l'eugénol. Dans le même contexte, Khan et Ahmed (2012) ont montré que l'inhibition de la filamentation se traduit par une architecture de biofilm atypique constituée de cellules de levure densément compactées qui se détachent facilement du substrat.

Selon Agarwal *et al.* (2008) le biofilm formé par *C. albicans* est beaucoup plus résistant aux agents antimicrobiens que les cellules planctoniques. Par conséquent, les auteurs ont supposé que l'activité anti-pathogène (en particulier l'inhibition de la formation du tube germinatif) des HEs contre les cellules planctoniques pourrait empêcher l'initiation et le développement de différents stades de biofilm.

Tableau 8: Comparaison entre résultats d'inhibition et éradication des biofilms de *C. albicans* en utilisant l'HE *T. capitata* et ses composés majoritaires.

Auteurs	Produits testé	CMEB	CMIB
(Dalleau <i>et al.</i> , 2008)	Carvacrol	≥ 75%	0.030%
	Terpène	≥ 75%	0.060%
	Thymol	75%	0,125%
(Braga <i>et al.</i> , 2008)	Thymol	50%	/
(Palmeira de-Oliveira <i>et al.</i> , 2012)	HE	71.96%	0.32 µl/ml

HE : Huile essentielle de *T. capitata*. CMEB : Concentration minimale éradicatrice de biofilm. CMIB : Concentration minimale inhibitrice de biofilm

D'après les résultats mentionnés ci-dessous, on remarque tout d'abord que l'HE de *T. capitata* et ses composés majoritaire notamment les phénols ont montré une activité antibiofilm importante à la fois vis-à-vis les biofilms matures de *C.albicans* ainsi que dans l'inhibition de l'adhésion. Nous avons remarqué également que l'HE en entier est plus efficace par rapport aux composés purs. Cela signifie qu'il y a une possibilité de synergie entre les composés de l'HE. Cette activité antibiofilm est expliquée par Braga *et al.* (2008) et Dalleau *et al.* (2008) ayant affirmé que le thymol peut affecter la structure de la membrane cellulaires ainsi que la possibilité de formation des filaments viables de *C. albicans* au cours des premières étapes de l'organisation de biofilm.

D'autre part, Hammer *et al.* (2000) et Calderone et Fonzi(2001) et Pinto *et al.* (2008)Palmeira-de-oliveira *et al.* (2009) ; ont annoncé que la formation du tube germinatif est un changement morphologique considéré comme un mécanisme important pour la pathogénicité de *C. albicans*. En revanche, Bonchird et Flegel (1982) ont avéré que l'inhibition de la croissance sont les mêmes que soit pour les formes levures et mycéliennes.

En résumé global, toutes ces recherches dans cette étude ont démontré de manière concluante le potentiel antibiofilm des HEs de *T. capitata* et *S. aromaticum* ainsi que leurs composants majoritaires l'eugénol, le carvacrol, le thymol et le terpène envers *C. albicans*.

Conclusion

Conclusion

L'objectif assigné pour cette étude était d'évaluer l'effet inhibiteur des HE de *Syzygium aromaticum* et de *Thymbra capitata* vis-à-vis des souches de référence et cliniques de *Candida albicans* à l'état planctonique et biofilm.

Les HE testées ont été obtenues à partir du matériel végétal sèche par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger. Les souches sauvages de *Candida albicans* ont été collectées à partir des infections buccales et des racines dentaires.

A cause de la pandémie mondiale COVID-19, le travail assigné n'a pas pu être achevé. C'est pour cela, nous avons complété ce manuscrit par des résultats obtenus à partir des recherches ayant les même objectifs.

L'étude de l'activité antifongique des HE de *Syzygium aromaticum* et de *Thymbra capitata* a montré que tous les deux sont très efficaces envers les souches de *Candida albicans*, puisque les diamètres de zone d'inhibition ($D > 20$ mm) ainsi que les CMI, CMIB et CMEB déterminées sont très significatives selon les résultats des auteurs.

De mêmes, les analyses chromatographiques par CPG ont montrés que les deux HE de *Thymbra capitata* et de *Syzygium aromaticum* sont riches en phénols à savoir le carvacrol, le thymol et l'eugénol, respectivement. L'évaluation de l'activité antifongique de ces substances par les mêmes auteurs a montré que ces phénols sont très actifs voir même plus efficaces que leurs HE. Néanmoins, d'autres auteurs ont signalé une possibilité de synergie entre les composés d'HE vis-à-vis des souches de *Candida albicans*.

Vu les résultats étudiés, il serait intéressant de valoriser ces plantes aromatiques par l'élaboration des produits pharmaceutiques à base d'HE telle quelles bains de bouche et les solutions d'irrigation. Egalement, des études dans le même contexte seront très situables afin d'élargir cette étude sur d'autres HE locales ainsi que dans des traitements antifongiques *in vivo*.

Références bibliographiques

- Agarwal V., Lal P., Pruthi V. 2008. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia* 165 : 13–19.
- Agbo-Godeau S., Guedj A. 2005. Mycoses buccales. *EMC-stomatologie* 1 :30–41.
- Ahmad N., Alam M. K., Shehbaz A., Khan A., Mannan A., Hakim S. R., Bisht D., Owais M. 2005. Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *Journal of drug targeting* 13 : 555-561.
- Amarti F., Satrani B., Aafi A., Ghanmi M., Farah A., Aberchane M., El Ajjouri M., El Antry S., Chaouch A. 2008. Composition chimique et activité antimicrobienne des HE de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie* 6 :342–347.
- Anane S., Khalfallah F. 2007. Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives. *Pathologie biologique* 55:262-272.
- Arras G., Usai M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four post-harvest citrus pathogens: Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in sub-atmospheric pressure conditions. *Journal of food protection* 64(7): 1025-1029.
- Atanasova-Pancevska N., Bogdanov J., Kungulovski D. 2017. *In Vitro* Antimicrobial activity and chemical composition of two essential oils and eugenol from flower buds of *Eugeniacyrophyllata*. *Open biological sciences journal* 3 : 16-25.
- Ayoola G.A., Lawore F.M., Adelowotan T., Aibinu I.E., Adenipekun E., Coker H.A.B., Odugbemi T.O. 2008. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *African journal of microbiology research* 2 : 162-166.
- Banerjee S., Panda C.Kr., Das S. 2006. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. *Carcinogenesis* 27 (8) : 1645–1654.
- Beckloff N., Laube D., Castro T., Furgang D., Park S., Perlin D., Clements D., Tang H., Scott R.W., Tew G.N., Diamond G. 2007. Activity of an antimicrobial peptide mimetic against planktonic and biofilm cultures of oral pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 51(11) : 4125–4132.

-Belahcen El Ouali R .2016.Candidoses buccales chez l'enfant. Thèse pour doctorat en médecine, Université Mohammed V – Rabat, 148p.

-Benbelaid F. 2015. Effets des HE de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire. Thèse pour le diplôme de docteur en Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, Algeria, 122p.

-Benbelaid F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., Muselli A., Costa J. 2014. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. Asian pacific journal of tropical biomedicine 4(6): 463–472.

-Bennis S., Chami F., Chami N., Bouchikhi T., Remmal A. 2004.Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. Letters in applied microbiology 38 : 454-458.

-Beucher B.2007.Spécificité antigénique de l'Als3p de *Candida albicans* et implication de cette protéine dans l'interaction avec les constituants de l'hôte. Thèse pour doctorat en microbiologie, Université d'Angers, 143p.

-Bille J. 2005. Le diagnostic des infections fongiques invasives. Revue médicale suisse

-Bloch M .2013.La candidose chez l'immunodéprimé d'ordre secondaire .Thèse pour diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Lorraine, 96 p.

-Boisseau J .2010. Les irrigants en endodontie : données Actuelles. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université Nancy 1 – Henry Poincaré, 105p.

-Boonchird C., Flegel T.W. 1982. *In vitro* antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. Can. J. Microbiol 28: 1235-1241.

-Bonola E.2014. Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/enfant, traitements et conseils. Thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie, Université Claude Bernard – Lyon 1, France, 105p.

-Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. 2007.Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from tunisian *Thymus capitatus* Hoff et Link. Food chemistry 105: 146-155.

-Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B. 2009. Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des HE de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Agrosolution 20 (1): 44-48.

-Braga P.C., Culici M., Alfieri M., Sasso M.D.2008.Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. International journal of antimicrobial agents 31 : 472–477.

-Brunato D .2005. Les cellulites d'origine dentaire: classification, étiologie, bactériologie et traitement. Illustrations cliniques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université Henry Poincare Nancy 1,145 p.

-Calderone R. A., Fonzi W.A.2001.Virulence factors of *Candida albicans*. Trends in microbiology 9 (7): 327-335.

-Chambard F.2009. Les candidoses cutanéomuqueuses : physiopathologie et conseils à l'officine. Thèse pour de doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier. Grenoble ,148p.

-Chami F.2005.Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des HE d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la candidose vaginale sur des modèles de rat et desouris immunodéprimés .Thèse pour de doctorat d'état es-sciences, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, 126p.

-Cohen D. 2013. Les HE `a l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier ,Grenoble, 101p.

-Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F.1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. Letters in applied microbiology29:130–135.

-Coulibaly K. 2003.Le diagnostic étiologique de l'écoulement vaginal et évaluation de sa prise en charge syndromique par les prescripteurs. Aux centres de santé de référence des communes 5 et 6 du district de Bamako à propos de 200 cas. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, Université de Bamako, 76p.

-Cox D.V., Mann C.M., Markham J.L., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G. 2001. Determining the antimicrobial actions of tea tree oil. Molecules 6 : 87-91

-Dalleau S., Cateau E., Berges T., Berjeaud J.M., Imbert C.2008. *In vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms. International journal of antimicrobial agents 31 : 572–576.

-Develoux M., Bretagne S. 2005. Candidoses et levures diverses. EMC-maladies infectieuses 2 :119–139.

-Devkatte A. N., Zore G. B., Karuppayil S. M. 2005. Potential of plant oils as inhibitors of *Candida albicans* growth. FEMS yeast research 5: 867-873.

-Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani M.C., Desjobert J.M., Bolla J.M., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A. 2013. Phytochemical composition of *Corsican Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxicoinfectious pathogens. Food control 30 : 354-363

-Djordjevic D., Weidmann M., McLandsborough L.A. 2002. Microtiter plate assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation. Applied and environmental microbiology 68(6) :2950-2958.

-Dzamic A.M., Nikolic B.J., Giweli A.A., Mitic-Culafic D.S., Sokovic M.D., Ristic M.S., Knezevic-Vukcevic J.B., Marin P.D. 2015. Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion inhibition properties. Journal of applied microbiology 119 : 389-399.

-El Amri J., Elbadaoui K., Zair T., Bouharb H., Chakir S., Alaoui T. 2014. Étude de l'activité antibactérienne des HE de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de Silène vulgaris sur différentes souches testées. Journal of Applied Biosciences 82: 7481-7492.

-El Bouri R. 2014. Etude de L'effet fongitoxique de 37 extraits de plantes aromatiques et médicinales sur différentes espèces de *candida* en milieu liquide. Thèse pour doctorat en pharmacie, Université Mohammed V –Souissi– Rabat, Maroc, 174p.

-El-Jalel L. F.A., Elkady W. M., Gonaid M. H., El-Gareeb K. A. 2018. Difference in chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus capitatus* L. essential oil at different altitudes. Future journal of pharmaceutical sciences xxx : 1-5.

-El Jouhari F.Z. 2008. Particularisme des champignons dits « Émergents » en pathologie humaine. Thèse doctorat en pharmacie, Université Mohammed V, 177p.

-El Mansouri K. 2013. Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse pour doctorat en médecine, Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc, 107p.

-El-Shouny W. A., Ismail S., Elzawawy N., Hegazy S. 2016. Efficacy of herbal control of the yeasts isolated from autistic children. G.J.B.A.H.S 5(2):65-73.

- Fettah A., Djouamaa M., Lamara K. 2018. Évaluation-vitro d'une sous espèce de *Teucrium pallium* l . Cultivée dans la région de Beni Souik, Biskra. Courrier du savoir (26) : 357-362.
- Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Salgueiro L., Miguel M.G., Faleiro M.L. 2008. Portuguese *Thymbra* and *Thymus species* volatiles: chemical composition and biological activities. Current pharmaceutical design 14 : 3120–3140.
- Fu Y.J., Zu Y.G., Chen L.Y., Shi X.G., Wang Z., Sun S., Efferth T. 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination .Phytotherapy research 21 : 989–994
- Gauthier C.2007.Étude structure-fonction des transporteurs ABC de *Candida albicans* impliqués dans la résistance aux agents antifongiques. Thèse pour grade de Ph .D. en biologie moléculaire, Université de Montréal,249 p.
- Gauthier H.2017.Les bains de bouche. Apport du pharmacien dans leur usage et dispensation. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Poitiers,143p.
- Garg A., Singh S. 2011. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. Colloid and surfaces B: Biointerfaces 87 : 280-288.
- Gayoso C.W., Lima E.O., Oliveira V.T., Pereira F.O., Souza E.L., Lima I.O., Navarro D.F.2005. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia caryophyllata* essential oil and eugenol. Fitoterapia 76 : 247–249.
- Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. 2010.*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (*Myrtaceae*) giroflier. Phytothérapie 8 : 37-43.
- Guerineau A .2015.Evaluation du potentiel d'extraits de lichens et de fruits rouges contre des biofilms de *Candida* et *Malassezia*. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Poitiers, 85p.
- Giordani R., Kaloustian J. 2006.Action anticandidosique des HE: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. Phytothérapie (3) : 121-124.
- Hammer K. A., Carson C. F., Riley T.V.1998.*In-vitro* activity of essential oils, in particular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida spp*. Journal of antimicrobial chemotherapy 42(5): 591-595.

-Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V.1999.Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology* 86 : 985–990.

-Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V.2000. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits germ tube formation by *Candida albicans*. *Medical mycology* 38 : 355–362.

-He M., Du M., Fan M., Bian Z. 2007. *In vitro* activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia* 163 : 137-143.

-Heydel P.2016. Les infections endodontiques secondaires et persistantes : estimation des coûts en sante publique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université de Lorraine, 214p.

-Hili P., Evans C.S., Veness R.G. 1997. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulfoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in applied microbiology* 24 : 269–275.

-Inouye S., Tsuruoka T., Uchida K., Yamaguchi H. 2001.Effect of sealing and Tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. *Microbiol. Immunol*45(3) : 201-208.

-Kammalac T. N. 2014. Diversité génétique d'isolats de *Cryptococcus* et *Candida* issus des patients VIH positifs à Yaoundé et étude de leur sensibilité aux antifongiques et aux extraits de plantes. Thèse pour grade de docteur, Université Montpellier I et Université de Yaounde 1, 244p.

-Khadir A., Bendahou M., Benbelaid F., Abdoune M. A., Abdelouahid D. E. 2013. Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* Desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie*11(6) : 353-358.

-Khan M.S.A., Ahmad I. 2012. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of ethnopharmacology* 140 : 416-423.

-Kossonou Y. K., Kouakou-Kouame A.C.,Koffi A.C., Koffi Y.M., Tra Bi F. H., Tano K.2019.Activité antifongique *In Vitro* des extraits de cinq plantes locales sur colletotrichum higginsianum, *fusarium Oxysporum* et *rhizopus stolonifer*, agents pathogènes de la papaye (*carica papaya* L.) et de la tomate (*solanum lycopersicum* L.).*Scientific journal march. European* 15(9): 304 – 321.

- Lagane C .2007. Rôle 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 pour grade de docteur, Université Toulouse III –Paul Sabatier ,150p.
- Lamendin H., Toscano G., Requirand P. 2004.Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires. EMC-Dentisterie 1 : 179–192.
- Le Breton A., Hervé C., Pirnay P.2013.Informations et consentement au cours de soins dentaires associés à la recherche biomédicale. Santé publique 25 (6) :803 -812.
- Mann C.M., Markham J.L. 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of applied microbiology 84 : 538–544.
- Maury E. 2014.Etude du nombre de racines et de canaux a partir D'acquisitions C.B.C.T. dans une population Française. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université Toulouse III – Paul Sabatier, 112p.
- Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., Preuss H.G.2001.Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. Molecular and cellular biochemistry 228: 111–117.
- Marinho S.A., Teixeira A.B., Santos O.S., Cazanova R.F., Ferreira C.A.S., Cherubini K., Dias de Oliveira S. 2010.Identification of *Candida spp.* By phenotypic tests and PCR. Brazilian journal of microbiology 41: 286-294.
- Megdiche-Ksouri W., Saada M., Soumaya B., Snoussi M., Zaouali Y., Ksouri R. 2015. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. Journal of new sciences, agriculture and biotechnology 23(4) : 1046-1056.
- Memmou F.2015.Synthèse, études cinétiques et évaluation de l'activité de dérivés de l'eugénol. Composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle. Thèse pour doctorat en chimie, Université Aboubekr Belkaid de Tmemcen, Algeria, 183p.
- Mkaddem M.G., Romdhane M., Ibrahim H., Ennajar M., Lebrihi A., Mathieu F., Bouajila J. 2010.Essential oil of *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. From Matmata, Tunisia: gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial and antioxidant activities. Journal of medicinal food 13 (6) : 1500–1504.

-Nair P. N. R. 2006. On the causes of persistent apical periodontitis: a review. *International endodontic Journal* 39 : 249–281.

-Nicolas C. 2016. Épidémiologie des candidoses profondes au centre hospitalier universitaire de Rouen. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Rouen, 200p.

-Nzeako B.C., Lawati B.A. 2008. Comparative studies of antimicrobial potential of thyme and clove oil extracts with antifungal antibiotics on *Candida albicans*. *African journal of biotechnology* 7 (11) : 1612-1619.

-Oliveira M.J., Iani F.P.C., Oliveira C.B.A., Santos M.R., Souza P.S., Santos S.C., Seraphim J.C., Ferri P.H. 2005. Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical systematics and ecology* 33 : 275-285.

-Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Benlemlih M., Alaoui B. M. 2005. Approche thérapeutique des dermatophyties par les HE de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie* 1: 3-12.

-Özcan E.R., Yula E., Anoglu Z.A., Inci M. 2013. Antifungal activity of several root canal sealers against *Candida albicans*. *Acta odontologica scandinavica* 71: 1481–1485.

-Palmeira-de-Oliveira A., Gaspar C., Palmeira-de-Oliveira R., Silva-Dias A., Salgueiro L., Cavaleiro C., Pina-Vaz C., Martinez-de-Oliveira J., Queiroz J.A., Rodrigues A.G. 2012. The anti-*Candida* activity of *Thymra capitata* essential oil: effect upon pre-formed biofilm. *Journal of ethnopharmacology* 140 : 379– 383.

-Palmeira-de-Oliveira A., Salgueiro L., Palmeira-de-Oliveira R., Martinez-de-Oliveira J., Pina-Vaz C., Queiroz J.A., Rodrigues A.G. 2009. Anti-*Candida* activity of essential oils. *Mini-reviews in medicinal chemistry* 9 : 1292-1305.

-Pianetti C. 2015. Place du sérodiagnostic dans les infections fongiques invasives à *Candida*. Enquête sur la prescription des sérologies *Candida* au CHU de Nancy et comparaison de deux kits commerciaux ELISA pour la détection des antigènes mannanes et anticorps anti-mannanes. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Lorraine, 181p.

-Pinto E., Ribeiro I.C., Ferreira N.J., Fortes C.E., Fonseca P.A., Figueiral M.H. 2008. Correlation between enzyme production, germ tube formation and susceptibility to

fluconazole in *Candida species* isolated from patients with denture-related stomatitis and control individuals. *Journal oral pathol med* 37: 587–592.

-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. *Journal of medical microbiology* 58: 1454-1462.

-Rajabaly A .2015.Rôle et intérêt des différents produits conseils liés à l'hygiène et aux soins bucco-dentaire à l'officine .Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université de Limoges, 129p.

-Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A. 1993. Improved methods for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of essential oil research* 5 (2) : 179–184.

-Righetti S.2007.Le pharmacien face aux infections bactériennes buccales. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Henri Poincaré- Nancy 1,110p.

-Ripert C. 2013.Mycologie médicale. Tec & doc-Lavoisier. Paris.

-Sakkas H., Gousia P., Economou V., Petsios S., Papadopoulou C. 2016. Antifungal activity of four essential oils against *Candida* clinical isolates. *Asian journal of ethnopharmacology and medicinal foods* 2 (1) : 22-25.

-Salgueiro L.R., Cavaleiro C., Pinto E., Pina-Vaz C., Rodrigues A.G., Palmeira A., Tavares C., Costa-de-Oliveira S., Goncalves M.J., Martinez-de-Oliveira J.2003. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Origanum virens* *Candida Species*. *Planta Medica* 69 : 871–874.

-Salgueiro L.R., Pinto E., Goncalves M.J., Pina-Vaz C., Cavaleiro C., Rodrigues A.G., Palmeira A., Tavares C., Costa-de-Oliveira S., Martinez-de-Oliveira J. 2004. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra capitata*. *Planta medica* 70 : 572–575.

-Sanogo Y. T.2015.Etat de sante bucco-dentaire des élèves de 6 a 12 ans dans les écoles publiques de mancourani a sikasso : 521 CAS. Thèse pour grade de docteur en chirurgie dentaire, Université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako, 111p.

-Singh-Sangwan N., Farooqi A.H.A., Singh-Sangwan R. 1994. Effect of drought stress on growth and essential metabolite in lemongrass. *New Phytol* 128: 173-179.

-Sitterlé E. 2018.La candidose cutanéomuqueuse chronique: un modèle d'étude de l'adaptation génomique chez *Candida albicans*. Thèse pour doctorat en microbiologie, Université Sorbonne Paris Cité ,266p.

-Sixou M ., Diouf A ., Alvares D .2007.Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. Antibiotiques 9 : 181-188.

-Smith M.D., Navilliat P.L. 1996. A new protocol for antimicrobial testing of oils. Proceedings Int .Symp .Medicinal and aromatic 28 : 31–37.

-Sudbery P., Gow N., Berman J. 2004.The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. Trends in microbiology 12(7) :317-324.

-Sullivan D. J ., Moran G.P., Pinjon E., Al-Mosaid A., Stokes C., Vaughan C., Coleman D.C. 2004.Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. FEMS yeast research 4 : 369-376.

-Turek C., Stintzing F. C. 2012. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. Food research international 46 : 341–353.

-Trebosc Rouch E.2015.Amélioration de l'hygiène buccodentaire par le conseil en officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Toulouse III Paul Sabatier, 214 p.

-Youcef –Ali M.2014.Etude de l'activité anti-*Candida albicans* des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse pour le diplôme de doctorat en troisième cycleen Biotechnologies, Biologie et Environnement, Université Constantine 1,131p.

Annexes

Annexe 1

1- *Syzygium aromaticum* (Ghedira *et al.*, 2010)

Embranchement : Spermatophytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotyledonae

Sous classe : Rosidae

Ordre:Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Syzygium*

Espèce : *Syzygium aromaticum*

Nom commun : Koronfilالقرنفل



Figure 9: *Syzygium aromaticum* (Memmu, 2015)

2- *Thymbra capitata* : (Benbelaid ,2015)

Règne: Plantae

Embranchement: Spermaphytes

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Eudicots

Ordre: Lamiales

Famille: Lamiaceae

Genre Espèce: *Thymbra capitata*

Nom commun : Zâitra الزعيرة



Figure 10: *Thymbra capitata* (Benbelaid ,2015)

Annexe 3

Les références utilisées dans le chapitre Résultats et discussions :

-Agarwal V., Lal P., Pruthi V. 2008. Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia* 165 : 13–19.

-Ahmad N., Alam M. K., Shehbaz A., Khan A., Mannan A., Hakim S. R., Bisht D., Owais M. 2005. Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *Journal of drug targeting* 13 : 555-561.

-Amarti F., Satrani B., Aafi A., Ghanmi M., Farah A., Aberchane M., El Ajjouri M., El Antry S., Chaouch A. 2008. Composition chimique et activité antimicrobienne des HE de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie* 6 :342–347.

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

-Arras G., Usai M. 2001. Fungitoxic activity of 12 essential oils against four post-harvest citrus pathogens: Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in sub-atmospheric pressure conditions. *Journal of food protection* 64(7): 1025-1029.

-Atanasova-Pancevska N., Bogdanov J., Kungulovski D. 2017. *In Vitro* Antimicrobial activity and chemical composition of two essential oils and eugenol from flower buds of *Eugeniacyrophyllata*. *Open biological sciences journal* 3 : 16-25.

-Ayoola G.A., Lawore F.M., Adelowotan T., Aibinu I.E., Adenipekun E., Coker H.A.B., Odugbemi T.O. 2008. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *African journal of microbiology research* 2 : 162-166.

-Banerjee S., Panda C.Kr., Das S.2006. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. *Carcinogenesis* 27(8) : 1645–1654.

-Beckloff N., Laube D., Castro T., Furgang D., Park S., Perlin D., Clements D., Tang H., Scott R.W., Tew G.N., Diamond G. 2007. Activity of an antimicrobial peptide mimetic against planktonic and biofilm cultures of oral pathogens. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 51(11) : 4125–4132.

-Benbelaid F. 2015. Effets des HE de quelques plantes aromatiques sur *Enterococcus faecalis* responsable d'infections d'origine dentaire, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, Algeria, 122p.

-Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., Muselli A., Costa J. 2014. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. Asian pacific journal of tropical biomedicine 4(6): 463–472.

-Bennis S., Chami F., Chami N., Bouchikhi T., Remmal A. 2004. Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. Letters in applied microbiology 38 : 454-458.

-Bille J. 2005. Le diagnostic des infections fongiques invasives. Revue médicale suisse 1

-Boonchird C., Flegel T.W.1982. *In vitro* antifungal activity of eugenol and vanillin against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. Can. J. Microbiol28: 1235-1241.

-Bonola E. 2014. Principales candidoses rencontrées chez les femmes enceintes et les femmes allaitantes, conséquences d'une transmission mère/enfant, traitements et conseils. Thèse pour le diplôme de docteur en pharmacie, Université Claude Bernard – Lyon 1, France, 105p.

-Bounatirou S., Smiti S., Miguel M.G., Faleiro L., Rejeb M.N., Neffati M., Costa M.M., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G. 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from tunisian *Thymus capitatus* Hoff et Link. Food chemistry 105: 146-155.

-Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A., Satrani B. 2009. Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des HE de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Agrosolution 20 (1): 44-48.

-Braga P.C., Culici M., Alfieri M., Sasso M.D. 2008. Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. International journal of antimicrobial agents 31 : 472–477.

-Calderone R. A., Fonzi W.A.2001. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends in microbiology 9 (7): 327-335

-Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E., Palmas F. 1999. *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. Letters in applied microbiology29:130–135.

-Cox D.V., Mann C.M., Markham J.L., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G. 2001. Determining the antimicrobial actions of Tea Tree oil. *Molecules* 6 : 87-91

-Dalleau S., Cateau E., Berges T., Berjeaud J.M., Imbert C. 2008. *In vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms. *International journal of antimicrobial agents* 31 : 572–576.

-Devkotte A. N., Zore G. B., Karuppayil S. M. 2005. Potential of plant oils as inhibitors of *Candida albicans* growth. *FEMS yeast research* 5 : 867-873.

-Djabou N., Lorenzi V., Guinoiseau E., Andreani S., Giuliani M.C., Desjobert J.M., Bolla J.M., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A. 2013. Phytochemical composition of *Corsican Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxic-infectious pathogens. *Food control* 30 : 354-363

-Dzamic A.M., Nikolic B.J., Giweli A.A., Mitic-Culafic D.S., Sokovic M.D., Ristic M.S., Knezevic-Vukcevic J.B., Marin P.D. 2015. Libyan *Thymus capitatus* essential oil: antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and colon pathogen adhesion inhibition properties. *Journal of applied microbiology* 119: 389-399.

-El-Jalel L. F.A., Elkady W. M., Gonaid M. H., El-Gareeb K. A. 2018. Difference in chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus capitatus* L. essential oil at different altitudes. *Future journal of pharmaceutical sciences* xxx : 1-5.

-El-Shouny W. A., Ismail S., Elzawawy N., Hegazy S. 2016. Efficacy of herbal control of the yeasts isolated from autistic children. *G.J.B.A.H.S* 5(2):65-73.

-Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Salgueiro L., Miguel M.G., Faleiro M.L. 2008. Portuguese *Thymbra* and *Thymus species* volatiles: chemical composition and biological activities. *Current pharmaceutical design* 14 : 3120–3140.

-Fu Y.J., Zu Y.G., Chen L.Y., Shi X.G., Wang Z., Sun S., Efferth T. 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy research* 21 : 989–994.

-Garg A., Singh S. 2011. Enhancement in antifungal activity of eugenol in immunosuppressed rats through lipid nanocarriers. *Colloid and surfaces B: Biointerfaces* 87 : 280-288.

-Gayoso C.W., Lima E.O., Oliveira V.T., Pereira F.O., Souza E.L., Lima I.O., Navarro D.F.2005. Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. *Fitoterapia* 76 : 247–249.

-Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. 2010.*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (*Myrtaceae*) Giroflier. *Phytothérapie* 8 : 37-43.

-Giordani R., Kaloustian J. 2006.Action anticandidosique des HE: leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques. *Phytothérapie* (3) : 121-124.

-Hammer K. A., Carson C. F.,Riley T.V.1998.*In-vitro* activity of essential oils, inparticular *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and tea tree oil products, against *Candida spp.* *Journal of antimicrobial chemotherapy* 42(5): 591-595.

-Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V.1999.Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology* 86 : 985–990.

-He M., Du M., Fan M., Bian Z. 2007. *In vitro* activity of eugenol against *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia* 163 : 137-143.

-Hili P., Evans C.S., Veness R.G. 1997. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulfoxide on the activity of cinnamon oil. *Letters in applied microbiology* 24 : 269–275.

-Inouye S., Tsuruoka T., Uchida K., Yamaguchi H. 2001.Effect of sealing and Tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. *Microbiol. Immunol* 45(3) : 201-208.

-Kammalac T. N. 2014. Diversité génétique d'isolats de *Cryptococcus* et *Candida* issus des patients VIH positifs à Yaoundé et étude de leur sensibilité aux antifongiques et aux extraits de plantes. Thèse pour grade de docteur, Université Montpellier I et Université de Yaounde 1, 244p.

-Khadir A., Bendahou M., Benbelaid F., Abdoune M. A., Abdelouahid D. E. 2013. Pouvoir antimicrobien de *Thymus lanceolatus* desf., récolté en Algérie. *Phytothérapie* 11(6) : 353-358.

-Khan M.S.A., Ahmad I.2012. Biofilm inhibition by *Cymbopogon citratus* and *Syzygium aromaticum* essential oils in the strains of *Candida albicans*. *Journal of ethnopharmacology* 140 : 416-423.

-Mann C.M., Markham J.L. 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of applied microbiology* 84 : 538–544.

-Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur N.A., Echard B.W., Bagchi D., Preuss H.G. 2001. Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and cellular biochemistry* 228: 111–117.

-Megdiche-Ksouri W., Saada M., Soumaya B., Snoussi M., Zaouali Y., Ksouri R. 2015. Potential use of wild *Thymus algeriensis* and *Thymus capitatus* as source of antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of new sciences, agriculture and biotechnology* 23(4) : 1046-1056.

-Mkaddem M.G., Romdhane M., Ibrahim H., Ennajar M., Lebrihi A., Mathieu F., Bouajila J. 2010. Essential Oil of *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. From Matmata, Tunisia: gas chromatography-mass spectrometry analysis and antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of medicinal food* 13 (6) : 1500–1504.

-Nzeako B.C., Lawati B.A. 2008. Comparative studies of antimicrobial potential of thyme and clove oil extracts with antifungal antibiotics on *Candida albicans*. *African journal of biotechnology* 7 (11) : 1612-1619.

-Oliveira M.J., Iani F.P.C., Oliveira C.B.A., Santos M.R., Souza P.S., Santos S.C., Seraphin J.C., Ferri P.H. 2005. Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical systematics and ecology* 33 : 275-285.

-Palmeira-de-Oliveira A., Gaspar C., Palmeira-de-Oliveira R., Silva-Dias A., Salgueiro L., Cavaleiro C., Pina-Vaz C., Martinez-de-Oliveira J., Queiroz J.A., Rodrigues A.G. 2012. The anti-*Candida* activity of *Thymbra capitata* essential oil: effect upon pre-formed biofilm. *Journal of ethnopharmacology* 140 : 379– 383.

-Palmeira-de-Oliveira A., Salgueiro L., Palmeira-de-Oliveira R., Martinez-de-Oliveira J., Pina-Vaz C., Queiroz J.A., Rodrigues A.G. 2009. Anti-*Candida* activity of essential oils. *Mini-reviews in medicinal chemistry* 9 : 1292-1305.

-Pianetti C. 2015. Place du sérodiagnostic dans les infections fongiques invasives à *Candida*. Enquête sur la prescription des sérologies *Candida* au CHU de Nancy et comparaison de deux kits commerciaux ELISA pour la détection des antigènes mannanes et

anticorps anti-mannanes. Thèse pour le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université de Lorraine, 181p.

-Pinto E., Ribeiro I.C., Ferreira N.J., Fortes C.E., Fonseca P.A., Figueiral M.H. 2008. Correlation between enzyme production, germ tube formation and susceptibility to fluconazole in *Candida species* isolated from patients with denture-related stomatitis and control individuals. *Journal oral pathol med* 37: 587–592.

-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. *Journal of medical microbiology* 58: 1454-1462.

-Remmal A., Bouchikhi T., Rhayour K., Ettayebi M., Tantaoui-Elaraki A. 1993. Improved methods for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *Journal of essential oil research* 5 (2) :179–184.

-Ripert C. 2013. *Mycologie médicale*. Tec & doc-Lavoisier. Paris.

-Sakkas H., Gousia P., Economou V., Petsios S., Papadopoulou C. 2016. Antifungal activity of four essential oils against *Candida* clinical isolates. *Asian journal of ethnopharmacology and medicinal foods* 2 (1) : 22-25.

-Salgueiro L.R., Cavaleiro C., Pinto E., Pina-Vaz C., Rodrigues A.G., Palmeira A., Tavares C., Costa-de-Oliveira S., Goncalves M.J., Martinez-de-Oliveira J. 2003. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Origanum virens* on *Candida Species*. *Planta Medica* 69 : 871–874.

-Salgueiro L.R., Pinto E., Goncalves M.J., Pina-Vaz C., Cavaleiro C., Rodrigues A.G., Palmeira A., Tavares C., Costa-de-Oliveira S., Martinez-de-Oliveira J. 2004. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Thymbra capitata*. *Planta medica* 70 : 572–575.

-Singh-Sangwan N., Farooqi A.H.A., Singh-Sangwan R. 1994. Effect of drought stress on growth and essential metabolite in lemongrass. *New Phytol* 128: 173-179.

-Smith M.D., Navilliat P.L. 1996. A new protocol for antimicrobial testing of oils. *Journal of Microbiological Methods* 28 : 31–37.

-Sudbery P., Gow N., Berman J. 2004. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. Trends in microbiology 12(7) :317-324.

-Sullivan D. J ., Moran G.P., Pinjon E., Al-Mosaid A., Stokes C., Vaughan C., Coleman D.C. 2004. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. FEMS yeast research 4 : 369-376.

-Turek C., Stintzing F. C. 2012. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. Food research international 46 : 341–353.

ملخص

تعتبر التهابات جذر الأسنان مشكلة حقيقية للصحة العامة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للفطريات للزيتين الأساسيين لكل من *Syzygium aromaticum* و *Thymbra capitata* تجاه المبيضات البيضاء العامل المسبب لهذه الإلتهابات في كلتا حالتها في حالة العوالق والبيوفيلم. بعد مقارنة مختلف النتائج التي حصل عليها أهم الباحثين عن تأثير هذين الزيتين ومكوناتهما الرئيسية: الأوجينول، الكارفكرول، الثيمول والترينين حيث أظهروا دائماً أقطار تقريباً متشابهة لمناطق التثبيط < 20 ملم ، مع قيم مختلفة لت.م.أ (تركيز المثبط أدنى) (ت.م.أ.ب) تركيز المثبط أدنى (ت.م.أ.ب)، ويرجع الاختلاف في القيم إلى عدة أسباب منهجية وبيئية ، ومع ذلك أثبتت كل مختلف هذه القيم فعاليتهم الشديدة ضد المبيضات البيضاء.

الكلمات الرئيسية: التهابات جذر الأسنان، المبيضات البيضاء، الزيوت الأساسية، *Syzygium aromaticum*، *Thymbra capitata*.

Résumé

Les infections des racines dentaires constituent un véritable problème de santé publique. Le but de cette étude est l'évaluation de l'activité antifongique des HE de *Syzygium aromaticum* et de *Thymbra capitata* envers *Candida albicans* l'agent Causale à cette infection à l'état planctonique et biofilm. Après le comparant des différents résultats obtenus par les plus importants des chercheurs pour ces deux huiles et leurs composants majoritaires l'eugénol, le carvacrol, le thymol et le terpène ont montrent que toujours les diamètres de zone d'inhibition presque analogues ($D > 20$ mm) avec des valeurs de CMI et CMIB différentes, cela est dû à plusieurs raisons méthodologiques et écologiques, cependant, toutes ces différentes valeurs se sont avérées très efficaces contre *Candida albicans*.

Mots clés : Infections des racines dentaires ; *Candida albicans* ; Huiles essentielles ; *Thymbra capitata* ; *Syzygium aromaticum*.

Summary

Dental root infections constitute a real public health problem. The aim of this study is the evaluation of the antifungal activity of essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Thymbra capitata* towards *Candida albicans* the causal agent of this infection with planktonic state and biofilm. After comparing the different results obtained by the most important researchers for these two oils and their major components eugenol, carvacrol, thymol and terpene have always shown that the diameters of the inhibition zone are almost similar ($D > 20$ mm) with different MIC and CMIB values, this is due to several methodological and ecological reasons. However, all of these different values have been shown to be very effective against *Candida albicans*.

Keywords: Tooth root infections; *Candida albicans*; Essential oils; *Thymbra capitata*; *Syzygium aromaticum*.