



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

TALIA Sanae

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**Exploration du potentiel antioxydant,
antifongique et antidermatophyte des huiles
essentielles de *Laurus nobilis* L. et leur
valorisation par la formulation d'un produit
naturel.**

Soutenu le 30/Juin/2026

Devant le Jury composé de :

Président	BENAKRICHE Ben Mehel	Pr	U. Mostaganem
Examineur	DJIBAOUI Rachid	Pr	U. Mostaganem
Encadrant	ARABI Abed	MCA	U. Mostaganem
Co-encadreur	BENOTMANE Kamel	Doctorant	U. Relizane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de mes études.

À mes chères frangines et à mes chers frangins.

À toute ma grande famille.

À la famille Talia et à la famille Bedani.

À mes très chères amies.

À tous ceux qui me sont chers et qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

TALIA Sanae

Remerciements

Je rends grâce à Allah, le Tout-Puissant, pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'aboutissement de ce travail.

Mes sincères remerciements vont à mes parents pour leur soutien indéfectible et leurs encouragements tout au long de mon parcours.

*J'adresse mes remerciements au **Pr BENAKRICHE Ben Mehel**, Président du jury, dont l'excellence académique, la richesse des enseignements et l'engagement dans la transmission du savoir ont profondément marqué mon cursus universitaire.*

*Je remercie également **Pr DJIBAOUI Rachid**, examinateur de ce mémoire, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant d'évaluer ce travail.*

*J'exprime ma profonde gratitude à mon Encadrant, **Dr ARABI Abed**, pour la qualité de son encadrement, sa disponibilité constante, la pertinence de ses conseils ainsi que la rigueur scientifique avec laquelle il a guidé ce travail.*

*Enfin Mes vifs remerciements s'adressent également à Monsieur **BENOTHMANE Kamel**, dont la contribution, les conseils avisés et l'aide précieuse ont apporté une réelle valeur ajoutée à ce travail.*

يُعدّ داء فطريات الأظافر *Onychomycose* من أكثر الإصابات الفطرية شيوعًا، حيث تسببه أساسًا الفطريات الجلدية (*Trichophyton et Microsporum*) وبعض الخمائر مثل *Candida albicans* ونظرًا للقيود المرتبطة بالعلاجات المضادة للفطريات المتوفرة حاليًا، أصبح البحث عن بدائل طبيعية أكثر أمانًا وفعالية أمرًا ضروريًا. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للفطريات للزيوت الأساسية لنبات الغار (*Laurus nobilis* L.) ، بالإضافة إلى تطوير بخاخ طبيعي مضاد للفطريات اعتمادًا على هذه الزيوت.

تم استخراج الزيوت العطرية عن طريق التقطير ببخار الماء، حيث بلغ مردوده 0,49%. وأظهر التحليل الكيميائي وجود 41 مركبًا، كان أهمها الأوكالينبتول (39.08%) واللينالول (14.56%). كما أظهر الزيوت العطرية نشاطًا مضادًا للأكسدة بدرجة متوسطة في اختبار DPPH .

أما فيما يخص النشاط المضاد للفطريات، فقد أظهرت النتائج فعالية ملحوظة ضد الفطريات الجلدية وعزلات *Candida albicans*، حيث تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 17.4 و 67.5 مم، بينما تراوحت قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى بين 5 و 10 ملغ/مل، مما يدل على قدرة الزيوت العطرية على تثبيط نمو الفطريات والقضاء عليها.

كما تم تحضير بخاخ مضاد للفطريات اعتمادًا على الزيوت العطرية للغار، وتميز بثباته وتجانسه وملاءمته للاستعمال الجلدي، إذ تراوح الرقم الهيدروجيني له بين 5 و 5,5. وقد أظهر هذا البخاخ فعالية مضادة للفطريات مع أقطار تثبيط تراوحت بين 12 و 58.55 مم.

تؤكد هذه النتائج أن الزيوت العطرية لنبات الغار يمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للفطريات، مما يجعله مرشحًا واعدًا لتطوير مستحضرات طبيعية للمساهمة في علاج ومكافحة الالتهابات الفطرية، وخاصة فطريات الأظافر.

الكلمات المفتاحية: الغار (*Laurus nobilis* L.) ، الزيوت الأساسية، فطريات الأظافر . (*Microsporum* ، *Trichophyton*) ، *Candida albicans* ، البخاخ المضاد للفطريات.

Abstract

Onychomycosis is a chronic fungal infection of the nail mainly caused by dermatophytes (*Trichophyton* and *Microsporum*) and opportunistic yeasts such as *Candida albicans*. Due to the limitations of conventional antifungal treatments, essential oils have emerged as promising natural alternatives. This study aimed to investigate the antioxidant, antifungal, and antidermatophytic activities of *Laurus nobilis* L. essential oils and to valorize them through the development of an antifungal spray formulation.

The essential oils were obtained by steam distillation with a yield of 0.49%. GC-MS analysis identified 41 compounds, predominantly eucalyptol (39.08%) and linalool (14.56%). Antioxidant activity assessed by the DPPH assay showed an IC₅₀ value of 140.63 µg/ml, indicating moderate antioxidant potential. Antifungal activity was evaluated using the aromatogram method and by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC). The essential oils exhibited significant inhibitory effects against dermatophytes and *Candida albicans*, with inhibition zones ranging from 17.4 to 67.5 mm and MIC and MFC values between 5 and 10 mg/ml. An MFC/MIC ratio equal to 1 for most isolates indicated a predominantly fungicidal effect.

The developed spray formulation was stable, homogeneous, and suitable for topical application, with a pH ranging from 5 to 5.5. It demonstrated remarkable antifungal activity, producing inhibition zones between 12 and 58.55 mm. These findings highlight the potential of *Laurus nobilis* L. essential oils as natural antifungal agents and support their application in the development of therapeutic formulations for the management of fungal infections, particularly onychomycosis.

Keywords: *Laurus nobilis* L., essential oil, onychomycosis, dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*), *Candida albicans*, antifungal spray.

Résumé

L'onychomycose est une infection fongique chronique de l'ongle principalement causée par les dermatophytes (*Trichophyton* et *Microsporum*) et certaines levures opportunistes telles que *Candida albicans*. Face aux limites des traitements antifongiques conventionnels, les huiles essentielles représentent une alternative naturelle prometteuse. Cette étude a porté sur l'évaluation du potentiel antioxydant, antifongique et antidermatophyte des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., ainsi que sur leur valorisation sous forme d'un spray antifongique.

Les huiles essentielles ont été obtenues par entraînement à la vapeur d'eau avec un rendement de 0,49 %. L'analyse chromatographique (GC-MS) a permis d'identifier 41 composés, dominés par l'eucalyptol (39,08 %) et le linalol (14,56 %). L'activité antioxydante évaluée par le test DPPH a révélé une valeur d'IC₅₀ de 140,63 µg/ml, traduisant un potentiel antioxydant modéré. L'activité antifongique a été étudiée par aromatogramme et par détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et fongicides (CMF). Les huiles essentielles ont montré une inhibition importante de la croissance des dermatophytes et de *Candida albicans*, avec des diamètres de zones d'inhibition compris entre 17,4 et 67,5 mm et des valeurs de CMI et CMF variant de 5 à 10 mg/ml. Le rapport CMF/CMI égal à 1 pour la majorité des isolats indique une activité principalement fongicide.

La formulation développée sous forme de spray s'est révélée stable, homogène et compatible avec une application cutanée (pH 5–5,5). Elle a présenté une activité antifongique notable avec des zones d'inhibition comprises entre 12 et 58,55 mm. Ces résultats confirment le potentiel des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. comme source naturelle d'agents antifongiques et soutiennent leur valorisation dans le développement de formulations destinées à la prise en charge des infections fongiques, notamment l'onychomycose.

Mots-clés : *Laurus nobilis* L., huile essentielle, onychomycose, dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*), *Candida albicans*, spray antifongique.

Liste des Abréviations

A : Absorbance
ABTS : 2,2-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ATCC : American Type Culture Collection
ATP : Adénosine triphosphate
CARD9 : Caspase Recruitment Domain-containing protein 9
CLRs : C-type lectin receptors
CMF : Concentration minimale fongicide
CMI : Concentration minimale inhibitrice
CN / CP : Contrôle négatif / Contrôle positif
COX : Cyclooxygénase
CPG-MS : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
DLSO : Distal and Lateral Subungual Onychomycosis
DMADP : Diméthylallyl diphosphate
DMSO : Diméthylsulfoxyde
DPG : Dipropylène glycol
DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EHU : Établissement Hospitalo-Universitaire
ES : Extrêmement sensible
GN : Gélose nutritive
HEs : Huiles essentielles
IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50 % du radical DPPH
IL : Interleukine
IPP : Isopentényl diphosphate
L. : Linné
McF: McFarland)
MEP : Méthylérythritol phosphate
MH : Mueller-Hinton
MVA : Voie du mévalonate
NF-κB : Nuclear Factor kappa B
NIST : National Institute of Standards and Technology
PRRs : Pattern Recognition Receptors
PSWO : Proximal Subungual White Onychomycosis
RHEs : Rendement des huiles essentielles
ROS : Reactive Oxygen Species
S : Sensible
S.O. : Superficial Onychomycosis
SAB : Sabouraud
Th1 : Lymphocytes T helper 1
Th17 : Lymphocytes T helper 17
tr : Temps de rétention
TTC : Chlorure de triphényltétrazolium
UFC/ml : Unités Formant Colonie
URCOM : Unité de Recherche de Chimie Organique et Macromoléculaire

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01	Classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L.	4
Tableau 02	Principaux acides phénoliques identifiés chez <i>Laurus nobilis</i> L.	7
Tableau 03	Classification des principaux composés chimiques des huiles essentielles	20
Tableau 04	Classes d'antifongiques utilisées dans le traitement des dermatophytoses	28
Tableau 05	Origine de différentes espèces fongiques étudiées	40
Tableau 06	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. déterminée par GC-MS	55
Tableau 07	Diamètres des halos d'inhibition obtenus par l'aromatogramme des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis les isolats étudiés	63
Tableau 08	Concentration minimale inhibitrice (CMI) des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	67
Tableau 09	Concentration minimale fongicide (CMF) et rapport d'activité des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L	70
Tableau 10	Diamètres des halos d'inhibition obtenus par l'aromatogramme de la formulation naturelle de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis les isolats étudiés.	72

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure 01	Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L.	05
Figure 02	Différents organes de <i>Laurus nobilis</i> L. : arbre entier, feuille, fleurs et fruits (baies)	06
Figure 03	Principales fonctions biologiques des huiles essentielles chez les plantes	14
Figure 04	Principales structures impliquées dans la production des huiles essentielles chez les plantes	16
Figure 05	Montage d'hydrodistillation type Clevenger	17
Figure 06	Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	18
Figure 07	Dispositif d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes	19
Figure 08	Mécanisme d'infection dermatophyte	26
Figure 09	Les différentes formes cliniques de l'onychomycose unguéale.	31
Figure 10	Feuilles fraîches de <i>Laurus nobilis</i> L.	39
Figure 11	Dispositif d'extraction des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. par entraînement à la vapeur d'eau	41
Figure 12	Chromatographe Shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS-QP 2010-SE	43
Figure 13	Protocole d'isolement et de culture des isolats fongiques	44
Figure 14	Test d'aromatogramme par diffusion en milieu gélosé	46
Figure 15	Protocole de l'évaluation de la CMI par microdilution	48
Figure 16	Protocole de la détermination de la CMF sur milieu solide	50
Figure 17	Huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. extraites par entraînement à la vapeur d'eau	54
Figure 18	Profil chromatographique des composés volatils de <i>Laurus nobilis</i> L. par CG/MS	57
Figure 19	Évaluation de l'activité antiradicalaire de l'acide Ascorbique par Le test de DPPH	58
Figure 20	Évaluation de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. par le test DPPH	58
Figure 21	Aspect macroscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de <i>Candida albicans</i> après incubation de 48h sur gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol	59
Figure 22	Aspect macroscopique de <i>Trichophyton</i> (D2) et <i>Microsporum</i> (D1) après incubation de 7 jours sur gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol	60
Figure 23	Aspect microscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de <i>Candida albicans</i> après coloration de Gram au grossissement X 100.	61
Figure 24	Aspect microscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de <i>Candida albicans</i> après coloration au bleu de méthylène au grossissement X 100.	62
Figure 25	Aspect microscopique de <i>Microsporum</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2,) après coloration au bleu de lactophénol coton au grossissement X 100.	63
Figure 26	Aromatogramme des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis les isolats de <i>Candida albicans</i> par diffusion en milieu gélosé.	64
Figure 27	Aromatogramme des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis les dermatophytes, <i>Microsporum</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2) par diffusion en milieu gélosé.	65
Figure 28	Évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis les isolats fongique testées.	65
Figure 29	Concentration minimale inhibitrice des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporum</i> et <i>Trichophyton</i> .	67
Figure 30	Évaluation de la concentration minimale inhibitrice des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporum</i> et <i>Trichophyton</i> .	68
Figure 31	Concentration minimale fongicide des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	69
Figure 32	Concentration minimale fongicide des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Microsporum</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2)	70
Figure 33	La formulation obtenue se présentait sous forme d'une solution limpide	71
Figure 34	Activité antifongique du spray formulé par la méthode de diffusion en milieu gélosé	72

Table des Matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

Introduction	1
--------------	---

Partie Bibliographique

Chapitre 1. Cadre botanique, phytochimique et pharmacologique de *Laurus nobilis* L.

1.1. Généralités sur <i>Laurus nobilis</i> L.	4
1.1.1. Position systématique	4
1.1.2. Répartition géographique	5
1.1.3. Description botanique	5
1.1.4. Usages traditionnels et importance ethnobotanique	6
1.2. Composition phytochimique de l'espèce	7
1.2.1. Métabolites secondaires majeurs	7
1.2.1.1. Polyphénols	7
1.2.1.2. Flavonoides	8
1.2.1.3. Tanins	8
1.2.1.4. Terpénoïdes	8
1.2.2. Huiles essentielles	8
1.3. Activités pharmacologiques de <i>Laurus nobilis</i> L.	9
1.3.1. Activité antioxydante	9
1.3.2. Activité antimicrobienne	9
1.3.3. Activité anti-inflammatoire	9
1.3.4. Autres activités biologiques	10

Chapitre 2. Les huiles essentielles : origine végétale, composition chimique et propriétés biologiques.

2.1. Les huiles essentielles	12
2.1.1. Définition	12
2.1.2. Caractéristiques physicochimiques	12
2.1.3. Rôle biologique	13
2.2. Origine et biosynthèse des huiles essentielles	14
2.2.1. Structures sécréteuses	14
2.2.2. Mécanismes de synthèse	16
2.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
2.3.1. Extraction par hydrodistillation	16
2.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	17
2.3.3. Extraction par expression à froid	18
2.3.4. Extraction par solvants	18
2.3.5. Techniques d'extraction modernes (CO ₂ supercritique, micro-ondes)	18

2.4. Composition chimique des huiles essentielles	19
2.4.1. Principales classes de composés	19
2.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles	20
2.5.1. Activité antioxydante	20
2.5.2. Activité antibactérienne	20
2.5.3. Activité antifongique	21
2.5.4. Mécanismes d'action	21
2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles	22

Chapitre 3. Dermatophytose et valorisation des huiles essentielles en formulation thérapeutique.

3.1. Généralités sur les dermatophytoses	24
3.1.1. Définition	24
3.1.2. Agents responsables	24
3.1.3. Classification des dermatophytoses	25
3.2. Physiopathologie des dermatophytoses	25
3.2.1. Mécanisme de l'infection	25
3.2.2. Facteurs de virulence des dermatophytes	26
3.2.3. Réponse immunitaire de l'hôte	27
3.2.3.1. Réponse immunitaire innée de l'hôte	27
3.2.3.2. Réponse immunitaire adaptative de l'hôte	27
3.3. Traitement des dermatophytoses	27
3.3.1. Antifongiques conventionnels	27
3.3.2. Limite des traitements	28
3.3.3. Infections fongiques associées et co-infections	29
3.3.4. Onychomycose et traitement spécifique	30
3.4. Intérêt des huiles essentielles dans la lutte contre les dermatophytes	31
3.4.1. Activité antidermatophyte des huiles essentielles	31
3.4.2. Mécanismes d'action antifongique	32
3.4.3. Avantages par rapport aux antifongiques classiques	32
3.4.4. Limites et précautions d'utilisation	33
3.5. Valorisation des huiles essentielles en formulation thérapeutique	33
3.5.1. Forme galénique des huiles essentielles	33
3.5.2. Problèmes liés à l'utilisation des huiles essentielles	35
3.5.3. Stratégies d'amélioration	35

Partie Expérimentale

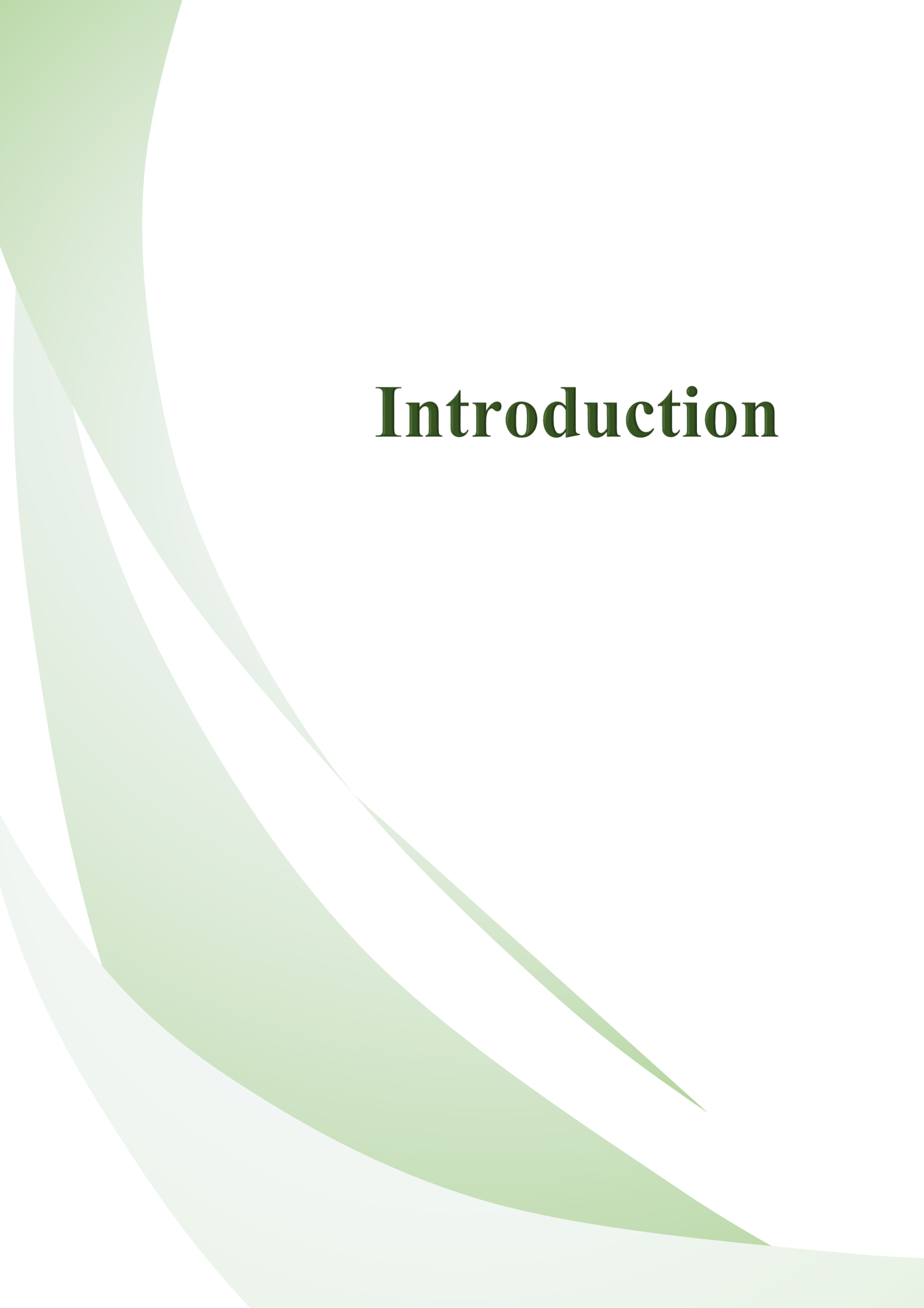
Chapitre 4. Matériel et méthodes

4.1. Objectif de l'étude	39
4.2. Matériel végétal	39
4.3. Isolats fongiques	40
4.4. Milieux de culture	40
4.5. Extraction des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	40
4.6. Détermination du rendement d'extraction des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	41
4.7. Caractérisation et identification chimiques des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	

par CPG-MS	42
4.8. Évaluation de l'activité Antioxydante des HES	43
4.9. Évaluation de l'activité antifongique des HES de <i>Laurus nobilis</i> L.	43
4.9.1. Réactivation et confirmation des isolats microbiens étudiés	43
4.9.2. Culture	43
4.9.3. Examen macroscopique	45
4.9.4. Examen microscopique	45
4.9.5. Test de diffusion en milieu solide (Aromatogramme)	45
4.9.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	47
4.9.7. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)	49
4.10. Formulation d'un produit antifongique à base des HES de <i>Laurus nobilis</i> L.	51
4.10.1. Synthèse de la formulation antifongique (Spray)	51
4.10.2. Évaluation de l'efficacité antifongique du produit formulé (Spray)	51

Chapitre 5. Résultats et discussion

5.1. Extraction des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	54
5.2. Caractérisation et identification chimiques des HES de <i>L. nobilis</i> L. par GC-MS	55
5.3. Évaluation de l'activité Antioxydante des HES	57
5.4. Évaluation de l'activité antifongique des HES de <i>Laurus nobilis</i> L.	59
5.4.1. Réactivation et confirmation des isolats microbiens étudiés	59
5.4.1.1. Examen macroscopique	59
5.4.1.2. Examen microscopique	60
5.4.2. Test de diffusion en milieu solide (Aromatogramme)	63
5.4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	66
5.4.4. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)	68
5.5. Formulation d'un produit antifongique à base des HES de <i>Laurus nobilis</i> L.	71
5.5.1. Synthèse de la formulation antifongique (Spray)	71
5.5.2. Évaluation de l'efficacité antifongique du produit formulé (Spray)	72
Conclusion	75
Références bibliographiques	
Annexes	

The background features several large, overlapping, curved shapes in various shades of green, resembling stylized leaves or petals, positioned primarily on the left side of the page. The word "Introduction" is centered in a dark green, bold, serif font.

Introduction

L'onychomycose est une infection fongique chronique de la tablette unguéale, caractérisée par une invasion progressive de la kératine par des agents fongiques kératinophiles (**Gupta et al., 2021**). Elle est principalement causée par des dermatophytes appartenant aux genres *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*, bien que l'implication croissante de levures opportunistes telles que *Candida albicans* soit également rapportée. Cette pathologie évolue lentement et entraîne des altérations morphologiques de l'ongle, incluant la dyschromie, l'hyperkératose sous-unguéale, l'épaississement de la tablette et parfois l'onycholyse (**Chanyachailert et al., 2023**).

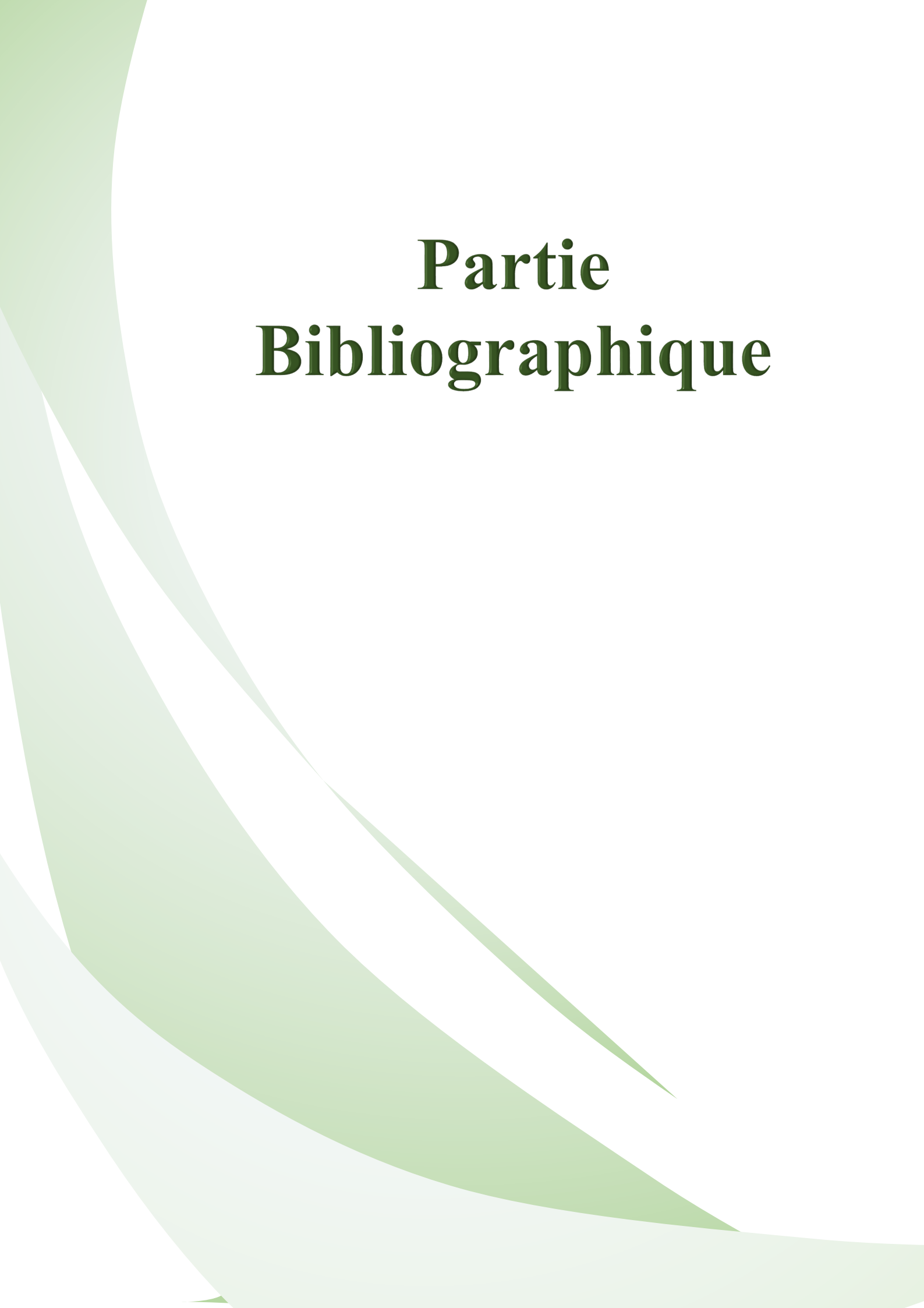
Malgré l'existence de traitements antifongiques systémiques et topiques, la prise en charge de l'onychomycose reste difficile. Leur efficacité est limitée par la durée prolongée des cures, les effets indésirables et l'émergence de résistances. Ces limites soulignent la nécessité de développer de nouvelles alternatives thérapeutiques naturelles et plus efficaces (**Nickles et al., 2022**). Dans ce contexte, dans quelle mesure les approches phytothérapeutiques reposant sur les métabolites secondaires d'origine végétale peuvent-elles constituer une stratégie thérapeutique efficace dans la prise en charge des infections fongiques cutanées et unguéales ?

Laurus nobilis L., plante aromatique méditerranéenne largement utilisée en phytothérapie traditionnelle (**Fang et al., 2005**), représente une espèce d'intérêt particulier. Elle est reconnue pour sa richesse en composés bioactifs tels que le 1,8-cinéole et le linalol, auxquels sont attribuées des activités antifongiques, antibactériennes et anti-inflammatoires. Ces propriétés suggèrent son potentiel dans la prise en charge des infections fongiques cutanées et unguéales, notamment l'onychomycose (**Caputo et al., 2017**).

Notre étude porte sur l'exploration du potentiel antioxydant, antifongique et antidermatophyte des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., ainsi que leur valorisation sous forme de produit naturel à visée thérapeutique.

Ce mémoire est structuré en deux parties. La première partie, bibliographique, comprend trois chapitres consacrés respectivement au cadre botanique et phytochimique de *Laurus nobilis* L., aux huiles essentielles (biosynthèse, composition et propriétés biologiques) et aux dermatophytoses ainsi qu'à la valorisation des huiles essentielles en formulation thérapeutique.

La seconde partie, expérimentale, présente le matériel et les méthodes utilisés, suivis des résultats et de la discussion.



Partie Bibliographique

Chapitre 1

*Cadre botanique,
phytochimique et
pharmacologique de Laurus
nobilis L.*





1.1. Généralités sur *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis L., communément appelé laurier noble, est une espèce végétale appartenant à la famille des Lauraceae, qui regroupe environ 2500 à 3500 espèces réparties principalement dans les régions tropicales et subtropicales, ainsi que dans le bassin méditerranéen. Arbuste dioïque, à feuillage persistant, l'espèce est originaire de la région méditerranéenne, où elle croît à l'état spontané, mais elle est aujourd'hui largement cultivée à travers le monde pour ses multiples usages (Borozan *et al.*, 2025).

Au-delà de son usage culinaire répandu comme épice et condiment, cette plante est traditionnellement employée dans plusieurs systèmes de médecine populaire pour traiter divers troubles, notamment digestifs, respiratoires et rhumatismaux.

D'un point de vue phytochimique, les feuilles de laurier constituent la partie la plus étudiée et la plus riche en métabolites secondaires (huile essentielle et composés bioactifs) qui confèrent à l'espèce des propriétés pharmacologiques variées, parmi lesquelles des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antifongiques, antidiabétiques et anticancéreuses (Paparella *et al.*, 2022).

1.1.1. Position systématique

Laurus nobilis L. appartient à l'ordre des Laurales, qui regroupe 9 familles et environ 3000 espèces. Parmi les principales familles de cet ordre figurent les Calycanthaceae, les Lauraceae et les Monimiaceae.

La famille des Lauraceae, comprend plus de 55 genres (Khodja *et al.*, 2023). Le genre *Laurus* ne compte quant à lui que deux à trois espèces reconnues, dont *Laurus nobilis* L., qui en constitue l'espèce type et la plus représentative.

Tableau 1. Classification botanique de *Laurus nobilis* L. (Miliani, 2018)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	Laurus nobilis L.

1.1.2. Répartition géographique

Le laurier se caractérise par une large plasticité écologique qui lui permet de s'adapter à divers contextes climatiques. Son développement optimal est néanmoins observé dans des sols bien drainés, à humidité modérée à élevée, avec un pH compris entre 4.5 et 8.2, et sous une atmosphère humide, notamment en milieu littoral.

À l'échelle mondiale, sa culture est répandue dans le bassin méditerranéen (Turquie, Algérie, Maroc, Portugal, France, Espagne, Grèce), ainsi qu'en Asie (Inde, Pakistan, Asie du Sud-Est), en Océanie (Australie, îles du Pacifique) et sur le continent américain (Amérique centrale, Mexique, sud des États-Unis, îles Canaries) (fig. 1) (**Khodja et al., 2023**).

En Algérie, cette espèce est principalement associée aux milieux humides. Elle se rencontre dans les aulnaies des régions d'Annaba, El Kala et de Guerbès-Senhadja à Skikda, ainsi que dans les dépressions interdunaires littorales. Sa présence est également signalée dans les formations riveraines le long des oueds et en périphérie des systèmes lacustres (**Mediouni Ben Jemâa et al., 2012**).

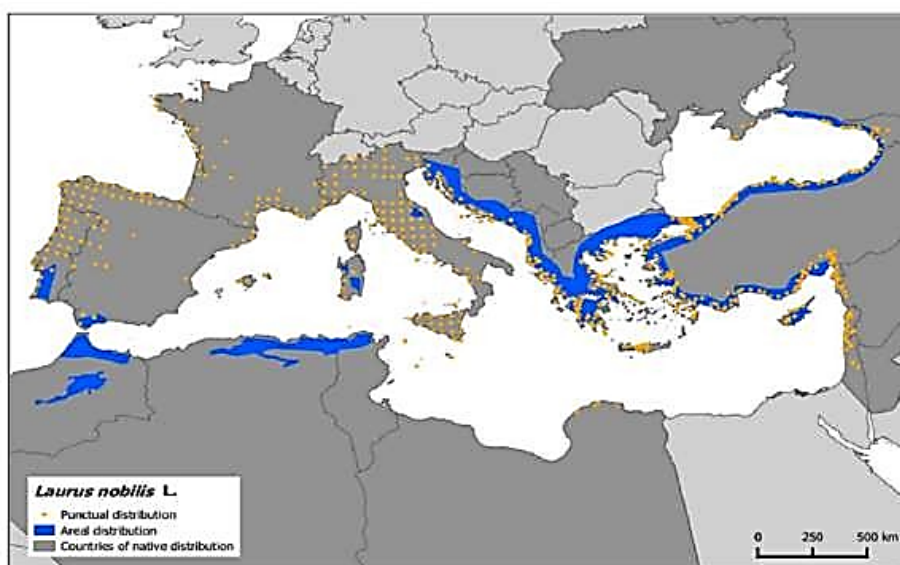


Figure 1. Répartition géographique de *Laurus nobilis* L. (**Paparella et al., 2022**)

1.1.3. Description botanique

Le laurier noble (*Laurus nobilis* L.) est un arbre ou arbuste (fig. 2) pouvant atteindre une hauteur d'environ 15 mètres. Son écorce est lisse et de couleur sombre. Les feuilles, alternes et lancéolées, mesurent généralement 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large ; elles sont portées par un pétiole court et présentent un limbe coriace, glabre et entier, de couleur vert foncé et brillant sur la face supérieure, plus pâle sur la face inférieure (**Briot, 2016**).

Les inflorescences se présentent sous forme d'ombelles axillaires, pédonculées et entourées d'un involucre de quatre bractées caduques ; les fleurs, de couleur blanc jaunâtre, sont odorantes. Le périanthe, pétaloïde et caduc, comprend quatre divisions obovales égales. L'androcée est formé de douze étamines disposées en deux verticilles, dont les anthères s'ouvrent par des valvules de la base vers le sommet. Le gynécée comporte un ovaire libre unique, entouré de deux à quatre staminodes tripartites, surmonté d'un style court et épais terminé par un stigmate subcapité. Le fruit est une drupe globuleuse d'environ 2 cm de diamètre, noire à maturité, dont la pulpe verte, grasse et aromatique renferme une seule graine (Taleb-Toudert, 2015).

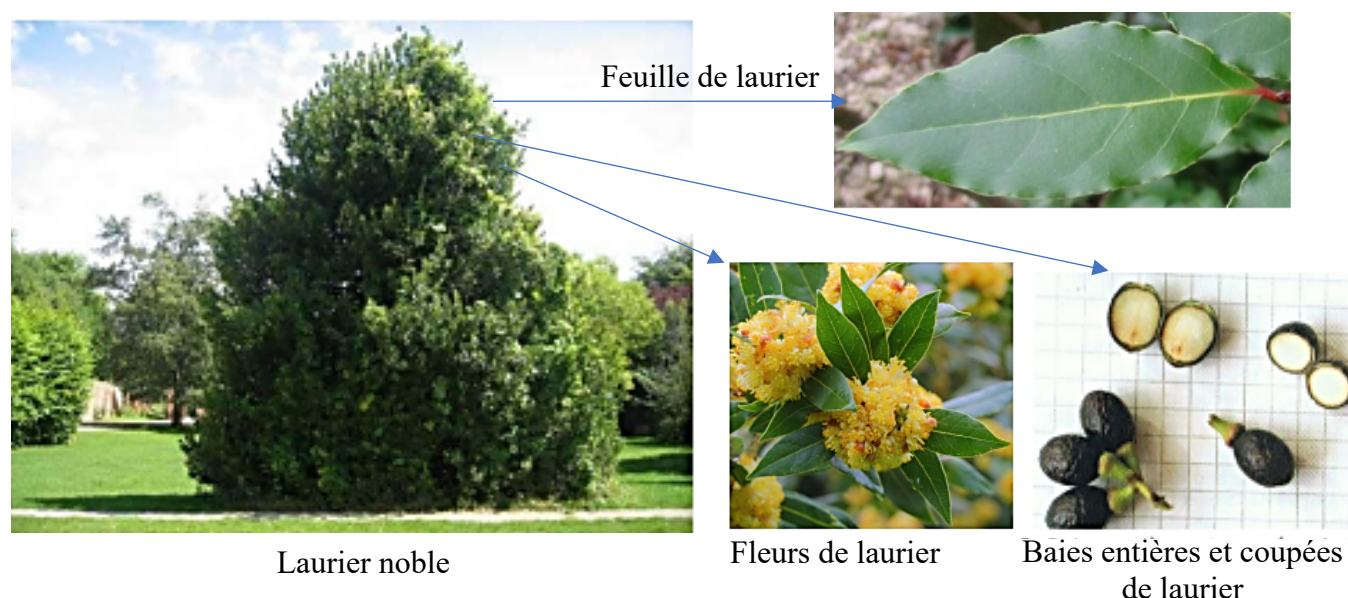


Figure 2. Différents organes de *Laurus nobilis* L. : arbre entier, feuille, fleurs et fruits (baies).
Royal Botanic Gardens, Kew (2026).

1.1.4. Usages traditionnels et importance ethnobotanique

Dans les régions méditerranéennes, le laurier noble (*Laurus nobilis* L.) occupe une place importante dans la médecine traditionnelle. Les études ethnobotaniques menées en Afrique du Nord, notamment en Tunisie, indiquent que cette espèce compte parmi les plantes les plus citées et les plus utilisées par les populations locales. Les travaux de Tabouii et al. (2026) montrent qu'elle est largement reconnue par les personnes interrogées et principalement employée dans le traitement des troubles digestifs, soulignant son rôle dans les systèmes de soins traditionnels où les préparations à base de plantes constituent souvent une première alternative thérapeutique.



Les usages traditionnels concernent principalement le traitement des affections courantes : les feuilles, parties les plus utilisées, sont généralement préparées en infusion ou en décoction pour soulager les troubles digestifs, les affections respiratoires ainsi que les douleurs rhumatismales. Selon **Jdaidi et al. (2022)**, elles constituent l'organe végétal le plus exploité et la principale source des effets thérapeutiques de la plante.

Ces usages empiriques trouvent par ailleurs un appui dans les analyses phytochimiques et pharmacologiques, qui ont mis en évidence des composés actifs responsables d'effets antimicrobiens, antioxydants et anti-inflammatoires (**Khodja et al., 2023**), confirmant ainsi la pertinence des pratiques traditionnelles associées à cette espèce.

1.2. Composition phytochimique de l'espèce

La composition phytochimique de *Laurus nobilis* L. est riche et diversifiée, regroupant principalement une huile essentielle, des composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques), des alcaloïdes et des lactones sesquiterpéniques (**Borozan et al., 2025**). Cette composition peut varier qualitativement et quantitativement en fonction de plusieurs facteurs, notamment la région de récolte, le stade de développement de la plante, la période de récolte, ainsi que la méthode d'extraction et le solvant employé (**Khodja et al., 2023**).

Les principales classes de métabolites secondaires identifiées chez cette espèce sont détaillées dans les sections suivantes.

1.2.1. Métabolites secondaires majeurs

1.2.1.1. Polyphénols

Les polyphénols constituent l'une des classes de métabolites secondaires les plus représentées chez *Laurus nobilis* L. Ils sont principalement constitués d'acides phénoliques, regroupant des acides phénoliques simples, des dérivés des acides cinnamiques, ainsi que des acides phénoliques complexes, tous reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et biologiques importantes (**Stefanova et al., 2020**).

Les principaux composés identifiés au sein de ces différentes classes sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Principaux acides phénoliques identifiés chez *Laurus nobilis* L. (**Stefanova et al., 2020**)

Classe de polyphénols	Composés identifiés
Acides phénoliques simples	Acide gallique, acide caféique, acide syringique
Dérivés des acides cinnamiques	Acide p-coumarique, acide cinnamique
Acides phénoliques complexes	Acide rosmarinique



1.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe importante de composés phénoliques chez *Laurus nobilis* L., parmi lesquels figurent le kaempférol, la quercétine, la lutéoline, l'apigénine et l'hespérette. Ces composés sont largement reconnus pour leurs activités biologiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, qui résultent principalement de leur capacité à neutraliser les radicaux libres et à moduler l'activité de certaines enzymes impliquées dans les processus inflammatoires (Konovalov et Alieva, 2019).

1.2.1.3. Tanins

Les feuilles de *Laurus nobilis* L., contiennent des tanins, notamment des proanthocyanidines, particulièrement abondants dans les extraits hydroalcooliques. Ces composés contribuent de manière significative aux propriétés biologiques de la plante : ils possèdent une activité antioxydante en piégeant les radicaux libres, ainsi qu'une activité antimicrobienne en perturbant les protéines membranaires et enzymatiques des microorganismes, ce qui inhibe leur croissance (Dobroslavić et al., 2022).

1.2.1.4. Terpénoïdes

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. est riche en terpénoïdes volatils, principalement des monoterpènes tels que le 1,8-cinéole, le sabinène et le linalol, qui en constituent les composants majoritaires. Ces molécules sont à l'origine des principales activités biologiques de l'huile essentielle, notamment ses effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants. La proportion de ces différents constituants peut toutefois varier de manière importante selon l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques et édaphiques, ainsi que la période de récolte (Paparella et al., 2022).

1.2.2. Huiles essentielles

L'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. se caractérise par une composition riche en composés terpéniques, dominée principalement par le 1,8-cinéole, le sabinène et le linalol, qui représentent généralement les constituants majoritaires identifiés dans la majorité des études chémotype (Paparella et al., 2022).

Sur le plan biologique, cette huile essentielle présente des propriétés importantes. Elle exerce une activité antimicrobienne notable, notamment contre certaines levures pathogènes telles que *Candida albicans*, ce qui suggère un potentiel intéressant dans la lutte contre les infections fongiques. Elle possède également une activité antioxydante significative, attribuée à sa capacité à piéger les radicaux libres et à limiter le stress oxydatif. Par ailleurs, des effets



anti-inflammatoires ont été mis en évidence, renforçant l'intérêt de cette huile essentielle dans des applications thérapeutiques et pharmaceutiques (**Jaradat et al., 2024**).

1.3. Activités pharmacologiques de *Laurus nobilis* L.

1.3.1. Activité antioxydante

Laurus nobilis L., présente une activité antioxydante significative, principalement attribuée à sa richesse en composés phénoliques et autres métabolites secondaires bioactifs. Ces composés exercent leur action en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS), contribuant ainsi à la réduction du stress oxydatif impliqué dans le vieillissement cellulaire et le développement de nombreuses pathologies chroniques (**Boroza et al., 2025**).

Le potentiel antioxydant de cette espèce a été mis en évidence par diverses études *in vitro*, à travers plusieurs méthodes d'évaluation, notamment les tests DPPH, ABTS et FRAP (**Boussaoudi et al., 2025**).

1.3.2. Activité antimicrobienne

Laurus nobilis L. présente une activité antimicrobienne notable contre un large éventail de microorganismes pathogènes, notamment des bactéries et des champignons. Cette activité est principalement attribuée à la présence de métabolites secondaires bioactifs tels que les flavonoïdes, les terpènes et les composés phénoliques. Ces substances exercent leurs effets antimicrobiens par différents mécanismes d'action, notamment la perturbation de l'intégrité de la membrane cellulaire, l'inhibition de certaines enzymes microbiennes et l'altération de la formation des biofilms, contribuant ainsi à limiter la croissance et la prolifération des microorganismes (**Sageer et al., 2024 ; Boroza et al., 2025**).

1.3.3. Activité anti-inflammatoire

Laurus nobilis L. possède des propriétés anti-inflammatoires intéressantes, attribuées principalement à la présence de divers composés bioactifs, notamment les flavonoïdes et les composés phénoliques. Ces substances exercent leur effet en modulant les voies de signalisation impliquées dans la réponse inflammatoire. Leur mécanisme d'action repose notamment sur l'inhibition de certaines enzymes pro-inflammatoires, telles que les cyclooxygénases (COX), ainsi que sur la réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi à l'atténuation des processus inflammatoires (**Ysrafil et al., 2023**).



1.3.4. Autres activités biologiques

Des études récentes ont montré que les extraits de *Laurus nobilis* L. favorisent le processus de cicatrisation en stimulant la migration et la prolifération cellulaires, tout en accélérant la régénération des tissus endommagés. Cette activité cicatrisante serait également associée à leur capacité à limiter le stress oxydatif et l'inflammation au niveau des lésions, créant ainsi un environnement favorable à la réparation tissulaire (**Calvo-Gómez et al., 2025**).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont mis en évidence le potentiel anticancéreux de cette espèce végétale. Les composés bioactifs qu'elle renferme sont capables d'induire l'apoptose des cellules tumorales, d'inhiber leur prolifération et de perturber certaines voies de signalisation impliquées dans la progression du cancer. Ces mécanismes contribuent à réduire la croissance tumorale et soulignent l'intérêt de *Laurus nobilis* L. comme source potentielle de molécules à visée anticancéreuse (**Wang et al., 2024**).

En outre, *Laurus nobilis* L. exerce des effets immunomodulateurs en influençant différents médiateurs de la réponse immunitaire. Ses métabolites secondaires participent à la régulation de la production des cytokines ainsi qu'à la modulation de plusieurs voies inflammatoires, contribuant ainsi au maintien de l'équilibre du système immunitaire. Ces propriétés pourraient être bénéfiques dans la prévention ou la prise en charge de diverses affections associées à des dysfonctionnements immunitaires (**Calvo-Gómez et al., 2025**).

Chapitre 2

Les huiles essentielles : origine végétale, composition chimique et propriétés biologiques.





2.1. Les huiles essentielles

2.1.1. Définition

Les huiles essentielles (HEs) sont définies comme des produits de composition organique complexe, obtenus à partir d'une matière végétale par des procédés physiques spécifiques tels que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau, ou l'expression mécanique à froid dans le cas des agrumes (**Cheung, 2021 ; Matera et al., 2023**).

Réparties dans différents organes végétaux (feuilles, fleurs, fruits, graines, racines et écorces), ces substances jouent un rôle crucial dans l'attraction des pollinisateurs par leurs arômes et dans la défense de la plante contre les herbivores, les insectes et les agents pathogènes (**Dudareva et al., 2013 ; Ahmed et al., 2024**). Leur composition, généralement dominée par des composés terpéniques (majoritairement des monoterpènes et sesquiterpènes) et de phénylpropanoïdes, confère à ces substances leurs propriétés organoleptiques caractéristiques et leurs multiples activités biologiques. Elles constituent aujourd'hui une ressource d'intérêt majeur dans les secteurs pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique et agricole, où elles sont envisagées comme alternatives potentielles aux substances chimiques conventionnelles (**Dhifi et al., 2016**).

2.1.2. Caractéristiques physicochimiques

L'une des caractéristiques les plus remarquables des huiles essentielles est leur volatilité élevée, responsable de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques. Cette propriété résulte de la présence de molécules capables de s'évaporer facilement à température ambiante. Toutefois, elle rend également les huiles essentielles sensibles aux pertes lors du stockage ou de la manipulation (**Lammari et al., 2020**).

La plupart des huiles essentielles sont liquides à température ambiante (**Rusdianto et al., 2020**), avec une couleur variant de l'incolore au jaune pâle, bien que certaines puissent présenter des teintes plus prononcées en fonction de leur composition. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, ce qui explique leur flottabilité lors des procédés de distillation. Cependant, certaines huiles riches en composés phénoliques ou en constituants oxygénés peuvent présenter une densité légèrement supérieure à celle de l'eau (**Godwin et al., 2019**).

Une autre propriété importante est leur faible solubilité dans l'eau. Les huiles essentielles sont constituées majoritairement de molécules hydrophobes qui ne se mélangent que très peu avec les milieux aqueux. Elles sont en revanche facilement solubles dans les solvants organiques tels que l'éthanol, l'hexane, l'éther ou le chloroforme.



Les huiles essentielles présentent également une odeur intense et caractéristique, constituant un critère important dans leur identification. Les composés majoritaires, tels que le limonène dans les agrumes, le thymol dans le thym ou le 1,8-cinéole dans l'eucalyptus, contribuent fortement au profil aromatique de chaque huile (**Aazza *et al.*, 2011**).

Les huiles essentielles sont aussi sensibles aux facteurs environnementaux tels que la lumière, l'oxygène, la chaleur et l'humidité. L'exposition prolongée à ces facteurs peut entraîner des réactions d'oxydation, d'isomérisation ou de polymérisation susceptibles d'altérer leur composition chimique et leurs propriétés biologiques.

Ainsi, les propriétés physicochimiques des huiles essentielles jouent un rôle déterminant dans leur stabilité, leur qualité et leur efficacité biologique. Leur maîtrise constitue une étape essentielle pour garantir une utilisation optimale dans les différents secteurs industriels et scientifiques (**Ben Miri, 2025**).

2.1.3. Rôle biologique

Loin de constituer de simples sous-produits du métabolisme secondaire, les huiles essentielles remplissent plusieurs fonctions écologiques essentielles contribuant à la survie, à l'adaptation et à la reproduction des espèces végétales. Ces composés volatils s'inscrivent dans les interactions complexes que les plantes entretiennent avec leur environnement biotique et abiotique.

L'un de leurs principaux rôles est la protection contre les agents pathogènes. De nombreux constituants possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales, limitant ainsi le développement des microorganismes susceptibles d'altérer les tissus végétaux et renforçant la résistance des plantes face aux agressions biologiques (**Ahmed *et al.*, 2024**).

Ces substances interviennent également dans la défense contre les herbivores et les insectes phytophages. Certaines molécules agissent comme répulsifs, inhibiteurs ou substances toxiques pour divers organismes nuisibles, réduisant ainsi les dommages causés par les insectes, les acariens ou certains animaux herbivores (**Ahmed *et al.*, 2024**). Par ailleurs, les composés volatils émis participent à l'attraction des pollinisateurs. Les fragrances florales facilitent la localisation des ressources par les abeilles, les papillons ou certains coléoptères, favorisant la pollinisation et assurant la reproduction des espèces végétales (**Dudareva *et al.*, 2013**).

Ces composés jouent également un rôle dans la communication chimique inter-végétale. Libérées lors d'une attaque par des herbivores, ils servent de signaux d'alerte

permettant aux plantes voisines d'activer les mécanismes de défense avant même d'être directement menacées.

Enfin, plusieurs études ont démontré leur implication dans la protection contre les stress environnementaux, notamment les rayonnements ultraviolets, les températures extrêmes, la sécheresse et le stress oxydatif. Les composés antioxydants présents contribuent à la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène générées en conditions de stress. Ainsi, bien au-delà de leur intérêt aromatique, les huiles essentielles constituent de véritables outils de défense, de communication et d'adaptation, permettant aux plantes de répondre efficacement aux contraintes de leur environnement (**Lammari *et al.*, 2020**).

La figure 3 résume de manière synthétique les principales fonctions biologiques des huiles essentielles, notamment la défense, la communication et l'adaptation des plantes à leur environnement.

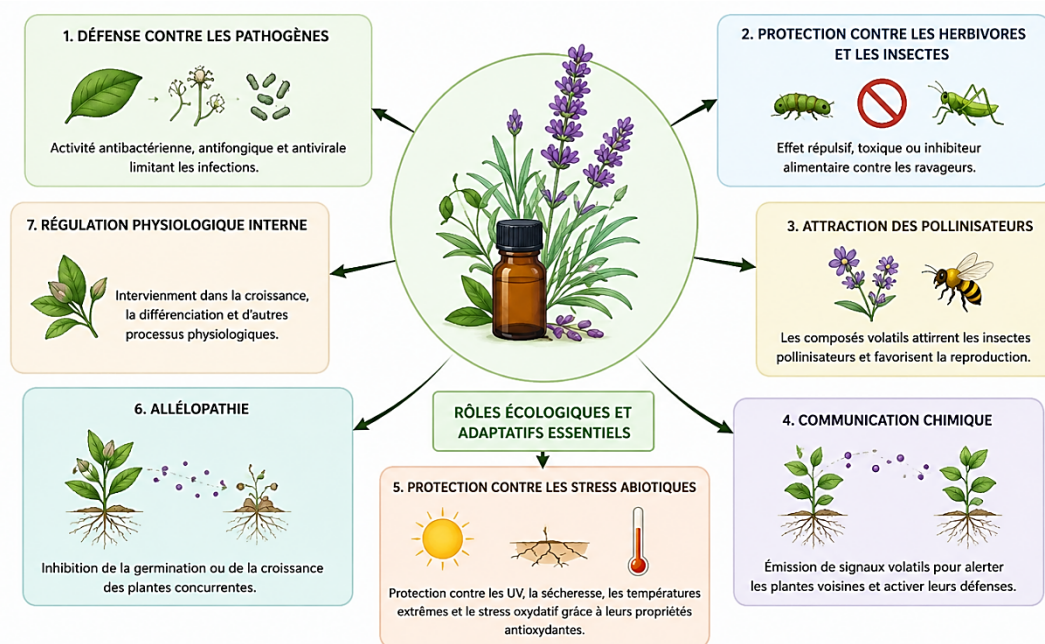


Figure 3. Principales fonctions biologiques des huiles essentielles chez les plantes (**Bakkali *et al.*, 2008**)

2.2. Origine et biosynthèse des huiles essentielles

2.2.1. Structures sécréteuses

Les huiles essentielles sont produites et stockées dans des structures anatomiques spécialisées appelées structures sécrétrices (fig. 4). La localisation et la morphologie de ces structures varient selon les familles botaniques et constituent souvent des caractères taxonomiques importants (**Rehman *et al.*, 2016**).



Chapitre 2. Les huiles essentielles : origine végétale, composition chimique et propriétés biologiques.

Les trichomes glandulaires figurent parmi les structures sécrétrices les plus répandues chez les plantes aromatiques, notamment dans la famille des Lamiaceae. Ces excroissances microscopiques de l'épiderme sont constituées d'une ou plusieurs cellules sécrétrices capables de produire et d'accumuler les huiles essentielles sous une cuticule spécialisée. Les genres *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum* et *Rosmarinus* présentent généralement une forte densité de trichomes glandulaires à la surface des feuilles et des fleurs (**Kowalski et al., 2019**).

Les poches sécrétrices résultent de la séparation de cellules adjacentes formant une cavité interne où s'accumulent les huiles essentielles. Ces structures sont particulièrement abondantes chez les espèces de la famille des Rutaceae, notamment les agrumes, où les petites cavités visibles dans l'épicarpe des oranges, des citrons et des mandarines constituent de véritables réservoirs de composés aromatiques.

Les canaux sécréteurs sont des structures tubulaires allongées formées par un ensemble de cellules sécrétrices entourant une lumière centrale dans laquelle les substances aromatiques sont stockées. Ces canaux sont fréquemment observés chez les Apiaceae, telles que le fenouil (*Foeniculum vulgare*), l'anis (*Pimpinella anisum*) et la coriandre (*Coriandrum sativum*).

Certaines plantes possèdent également des cellules sécrétrices isolées, appelées idioblastes, capables d'accumuler des huiles essentielles ou d'autres métabolites secondaires dans différents organes végétaux. C'est notamment le cas du laurier (*Laurus nobilis*, Lauraceae), dont les feuilles et les fruits renferment des idioblastes oléifères riches en composés terpéniques, conférant à cette espèce ses propriétés aromatiques caractéristiques (**Bottoni et al., 2021**).

La répartition et la densité de ces structures sécrétrices influencent directement le rendement en huile essentielle (**Mahmoud et al., 2021**). De manière générale, les organes les plus riches en trichomes, en poches ou en canaux sécréteurs sont privilégiés pour l'extraction. Ainsi, les feuilles de romarin et d'eucalyptus, les fleurs de lavande ou encore les zestes d'agrumes constituent des matières premières particulièrement riches en composés aromatiques.

La figure 4 présente de manière schématique les principales structures sécrétrices impliquées dans la biosynthèse, le stockage et la libération des huiles essentielles chez les plantes aromatiques.

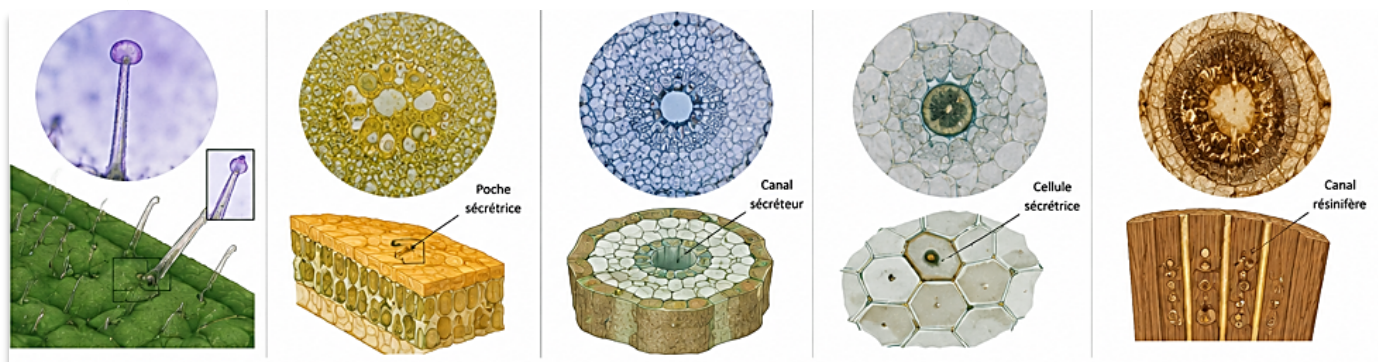


Figure 4. Principales structures impliquées dans la production des huiles essentielles chez les plantes.

2.2.2. Mécanismes de synthèse

La biosynthèse des huiles essentielles repose essentiellement sur la formation de deux précurseurs isopréniques, à savoir l'isopentényl diphosphate (IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP), qui constituent les unités fondamentales à l'origine de l'ensemble des composés terpéniques. Ces précurseurs sont générés par deux voies métaboliques distinctes et complémentaires : la voie du mévalonate (MVA), localisée au niveau du cytosol, et la voie du méthylérythritol phosphate (MEP), se déroulant dans les plastes. La voie MVA est principalement impliquée dans la biosynthèse des sesquiterpènes, tandis que la voie MEP intervient majoritairement dans la formation des monoterpènes, lesquels constituent généralement la fraction prédominante des huiles essentielles (Bergman et al., 2024).

2.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

2.3.1. Extraction par hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation repose sur la distillation simultanée de l'eau et des composés volatils présents dans le matériel végétal. Au cours de cette opération, la matière végétale est directement immergée dans l'eau contenue dans un ballon puis le mélange est porté à ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les structures sécrétrices se rompent progressivement, libérant les composés aromatiques qui sont entraînés par la vapeur d'eau. Le mélange constitué de vapeur d'eau et d'huile essentielle est ensuite dirigé vers un système de condensation où il est refroidi et liquéfié. Le distillat obtenu se sépare naturellement en deux phases non miscibles : une phase aqueuse, appelée hydrolat, et une phase organique correspondant à l'huile essentielle, dont l'isolement est rendu possible grâce à la différence de densité entre les deux phases. En laboratoire, cette technique est généralement réalisée à l'aide d'un appareil de Clevenger, qui assure la récupération continue de l'huile essentielle tout en permettant le

recyclage de l'eau condensée au sein du système de distillation (fig. 5) (**Hernandez Ochoa, 2005**).



Figure 5. Montage d'hydrodistillation type Clevenger (**Hernandez Ochoa, 2005**).

2.3.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode couramment utilisée pour l'extraction des HEs (fig. 6). Dans ce procédé, la matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau, mais elle est traversée par un courant de vapeur d'eau qui entraîne les composés volatils. Les vapeurs enrichies en molécules aromatiques sont ensuite condensées puis recueillies dans un dispositif appelé essencier, où le mélange se sépare en deux phases : une phase aqueuse et une phase organique correspondant à l'huile essentielle. Les composés les plus volatils, appelés fractions de tête, sont extraits en premier. Une durée d'environ 30 minutes suffit pour récupérer la majorité des composés volatils, pouvant atteindre jusqu'à 95 %, ce qui répond aux exigences de l'industrie et de la parfumerie, notamment pour la lavande. Toutefois, dans le domaine de l'aromathérapie, l'extraction est souvent prolongée afin de récupérer l'ensemble des constituants aromatiques présents (**Boukhatem et al., 2019**).

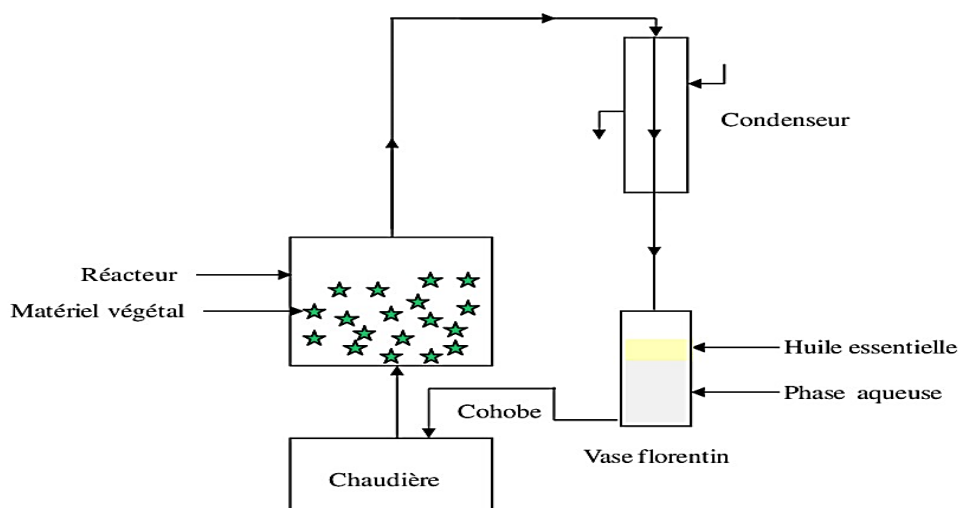


Figure 6. Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (**Boukhatem et al., 2019**).

2.3.3. Extraction par expression à froid

L'expression à froid est une méthode utilisée surtout pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Elle se fait par un procédé mécanique qui permet de casser les sacs contenant l'huile, situés sous l'écorce du fruit, afin de récupérer leur contenu sans le modifier. Autrefois, cette extraction se faisait à la main, puis elle a été mécanisée au début du XX^e siècle pour diminuer les coûts et améliorer le rendement. Aujourd'hui, des systèmes modernes comme le procédé « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC) permettent d'extraire presque en même temps le jus et l'essence, sans qu'ils se mélangent. C'est pour cette raison que l'expression à froid est la méthode la plus adaptée pour les agrumes (**Boukhatem et al., 2019**).

2.3.4. Extraction par solvants

L'extraction par solvants est utilisée lorsque la plante contient une faible quantité d'huile essentielle ou lorsque les composés aromatiques sont sensibles à la chaleur. Dans cette méthode, la matière végétale est mise en contact avec un solvant organique capable de dissoudre les substances aromatiques. Après extraction, le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite, ce qui permet d'obtenir un extrait concentré. Le choix du solvant est important, il doit avoir un faible point d'ébullition afin de pouvoir être retiré facilement sans altérer les composés extraits (**Kant et al., 2022**).

2.3.5. Techniques d'extraction modernes (CO₂ supercritique, micro-ondes)

Les techniques modernes d'extraction ont été développées afin d'améliorer le rendement, de réduire le temps d'extraction et de préserver les composés sensibles à la chaleur. L'extraction au CO₂ supercritique repose sur l'utilisation du dioxyde de carbone à une

température et une pression supérieures à son point critique. Cet état lui confère un fort pouvoir solvant vis-à-vis des composés aromatiques et bioactifs. Après extraction, la réduction de la pression permet la séparation du CO₂ sous forme gazeuse, sans laisser de résidus dans l'extrait. Cette technique est reconnue pour sa sélectivité élevée, son efficacité d'extraction et sa capacité à préserver les composés thermolabiles, tout en fournissant des extraits de haute pureté (Arumugham *et al.*, 2021).

L'extraction par micro-ondes (fig. 7) est une technique qui utilise l'énergie des ondes électromagnétiques pour chauffer directement le mélange plante-extractant (eau ou solvant organique). Ce chauffage rapide et uniforme provoque la rupture des structures cellulaires et facilite la libération des composés volatils. Les vapeurs formées sont ensuite dirigées vers un système de condensation, puis récupérées dans un essencier. Cette méthode se distingue par sa rapidité, sa faible consommation d'énergie et sa capacité à préserver la qualité des composés extraits (Taroq, 2020).

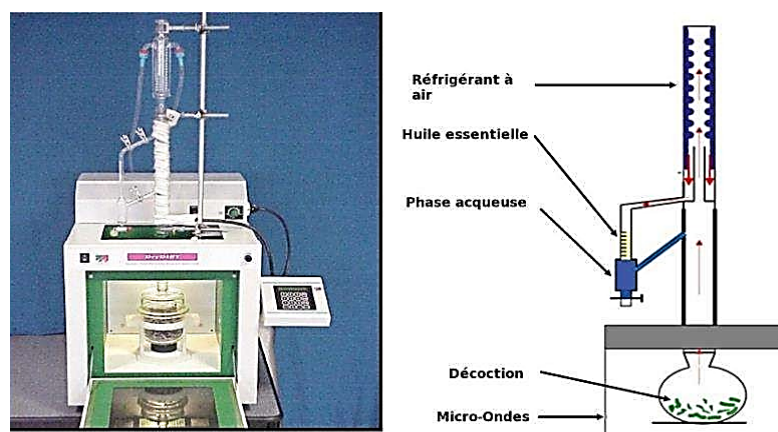


Figure 7. Dispositif d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes (Nebie, 2023)

2.4. Composition chimique des huiles essentielles

2.4.1. Principales classes de composés

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux grandes familles de composés chimiques (tableau 3) : les terpènes et les composés aromatiques. Les terpènes, qui représentent généralement la fraction majoritaire, comprennent principalement les monoterpènes (C₁₀), les sesquiterpènes (C₁₅) ainsi que leurs dérivés oxygénés, appelés terpénoïdes (Lammari *et al.*, 2020). Ces composés sont largement responsables des caractéristiques aromatiques et des propriétés biologiques associées aux huiles essentielles. Les composés aromatiques, essentiellement représentés par les phénylpropanoïdes, sont généralement présents en proportions plus faibles mais contribuent également à l'activité biologique et au profil olfactif de certaines huiles essentielles (Mohamadi, 2023).



Tableau 3. Classification des principaux composés chimiques des huiles essentielles (**Ben Miri, 2025**)

Classe	Description	Exemples	Référence
Monoterpènes	Composés terpéniques formés de deux unités isoprènes (C10), très volatils et souvent majoritaires dans les huiles essentielles	α -pinène, limonène, linalol	(Ben Miri, 2025)
Sesquiterpènes	Composés à trois unités isoprènes (C15), moins volatils et structuellement plus complexes	β -caryophyllène, humulène, farnésène	(Ben Miri, 2025)
Composés oxygénés	Dérivés des terpènes contenant des fonctions oxygénées : alcools, aldéhydes, cétones, esters, phénols	menthol, eugénol, camphre	(Bakkali <i>et al.</i>, 2008)

2.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont reconnues pour leurs nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles les activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques figurent parmi les plus étudiées. Ces activités suscitent un intérêt croissant dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique, en raison de leur capacité à contribuer à la protection des produits contre les altérations oxydatives et microbiologiques, tout en favorisant leur stabilité et leur conservation (**Ordoudi *et al.*, 2022**).

2.5.1. Activité antioxydante

Les huiles essentielles présentent une activité antioxydante notable, liée principalement à leur richesse en composés terpéniques et en molécules phénoliques capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène et de limiter les réactions d'oxydation cellulaire. Cette activité est essentiellement attribuée à la présence de constituants bioactifs tels que le thymol, le carvacrol, l'eugénol, le linalol et le 1,8-cinéole, reconnus pour leur capacité à réduire le stress oxydatif. De ce fait, les huiles essentielles constituent des alternatives naturelles aux antioxydants de synthèse et trouvent des applications variées dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (**Diniz do Nascimento *et al.*, 2020**).

2.5.2. Activité antibactérienne

Les propriétés antibactériennes des plantes aromatiques et médicinales sont largement reconnues et principalement attribuées à leurs huiles essentielles (HEs). Parmi les plus étudiées, figurent celles issues de la famille des Lamiaceae, notamment l'origan, le thym, la sauge et le romarin, largement utilisées également dans le domaine alimentaire.



Ces huiles essentielles sont riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol, auxquels est associée une forte activité antibactérienne. Leur mécanisme d'action repose essentiellement sur la nature hydrophobe de leurs constituants actifs, qui leur permet de s'insérer dans la bicouche phospholipidique de la membrane bactérienne et d'en perturber l'intégrité structurale (**Lammari et al., 2020**). Cette interaction se traduit par une augmentation de la perméabilité membranaire, entraînant la fuite des constituants cellulaires, une perturbation de l'homéostasie intracellulaire et une acidification du cytoplasme, ce qui inhibe les voies métaboliques essentielles, notamment la production d'énergie et la synthèse des composants cellulaires. À terme, ces altérations peuvent également affecter le matériel génétique et conduire à la mort de la cellule bactérienne (**Bounab, 2020**).

2.5.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles sont reconnues comme des agents antifongiques naturels efficaces contre divers champignons phytopathogènes, notamment *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, responsables de la détérioration des denrées alimentaires. Leur activité inhibitrice se manifeste à plusieurs niveaux : inhibition de la germination des spores, réduction de la croissance mycélienne et blocage de la sporulation. Ces effets résultent principalement de l'action de leurs composés volatils bioactifs, qui perturbent l'intégrité de la membrane cellulaire fongique et induisent des déséquilibres métaboliques conduisant à l'arrêt du développement fongique. De ce fait, les huiles essentielles représentent une alternative naturelle prometteuse aux fongicides chimiques dans les secteurs agroalimentaire et agricole (**Zimmermann et al., 2023**).

2.5.4. Mécanismes d'action

Les huiles essentielles exercent leurs effets biologiques principalement grâce à leurs composés lipophiles, capables d'interagir directement avec les membranes cellulaires des microorganismes. Leur action débute par une perturbation de la structure et de la perméabilité membranaire, entraînant des pertes d'ions, de protéines et de constituants intracellulaires essentiels. Cette altération provoque un déséquilibre de l'homéostasie cellulaire et conduit progressivement à l'inhibition de la croissance, voire à la lyse cellulaire. En parallèle, certaines molécules bioactives peuvent interférer avec les enzymes et les processus métaboliques vitaux, notamment la respiration cellulaire et la synthèse des parois. Elles peuvent également induire un stress oxydatif intracellulaire, contribuant à l'accumulation des dommages structuraux et fonctionnels (**Ghédira, 2024**).



2.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles trouvent des applications dans de nombreux secteurs, allant de l'industrie agroalimentaire aux domaines médical et pharmaceutique.

Dans l'industrie agroalimentaire, elles sont principalement exploitées comme arômes naturels et agents rehausseurs de goût dans des produits variés tels que les boissons, les liqueurs, les confiseries et les plats cuisinés. Leur utilisation dépend de leur profil aromatique : les huiles issues d'épices et d'aromates sont généralement privilégiées pour les préparations salées, tandis que celles dérivées des agrumes sont davantage employées dans les produits sucrés **(Deschepper, 2017)**.

Dans le secteur médical et pharmaceutique, les huiles essentielles remplissent plusieurs fonctions complémentaires. Elles interviennent comme excipients dans certaines formulations médicamenteuses afin d'améliorer l'acceptabilité ou de masquer l'amertume des principes actifs. Elles peuvent également faciliter la pénétration cutanée ou servir de sources de composés précurseurs en hémisynthèse, à l'image des citrals utilisés dans la synthèse de la vitamine A. Cette diversité d'applications confirme le rôle stratégique des huiles essentielles dans le développement de produits médicaux et thérapeutiques **(Ounoughi, 2021)**.

Chapitre 3

*Dermatophytose et
valorisation des huiles
essentielles en formulation
thérapeutique.*





3.1. Généralités sur les dermatophytoses

3.1.1. Définition

Les dermatophytoses, également appelées teignes ou tinéas selon la localisation anatomique concernée, sont définies comme des infections fongiques superficielles provoquées par des champignons microscopiques kératinophiles et kératinolytiques regroupés sous le terme générique de dermatophytes. Ces mycoses se distinguent des autres infections fongiques par leur tropisme strictement limité aux tissus kératinisés de l'hôte vivant, à savoir la couche cornée de l'épiderme, les ongles et les phanères (cheveux et poils), sans capacité d'invasion des tissus profonds ni des organes internes chez l'hôte immunocompétent. La pathogénicité des dermatophytes repose sur leur aptitude remarquable à utiliser la kératine comme source nutritive exclusive, grâce à un arsenal enzymatique spécialisé (**Deng et al., 2023**).

D'un point de vue nosologique, les dermatophytoses constituent un groupe hétérogène d'affections cutanées dont les manifestations cliniques, la sévérité et le pronostic varient en fonction de l'espèce fongique en cause, de la localisation anatomique de l'infection et du statut immunitaire de l'hôte (**Gupta et al., 2022**).

3.1.2. Agents responsables

Les agents responsables des dermatophytoses appartiennent à trois genres fongiques distincts : *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*, regroupés au sein de la famille des Arthrodermataceae et de la classe des Ascomycètes (**Gugnani, 2022**).

Le genre *Trichophyton*, le plus diversifié, comprend de nombreuses espèces pathogènes pour l'homme et l'animal, parmi lesquelles *Trichophyton rubrum* constitue l'espèce la plus fréquemment isolée à l'échelle mondiale, responsable de la majorité des onychomycoses et des épidermophyties (**Ramaraj et al., 2016**). *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton tonsurans* et *Trichophyton mentagrophytes* sont également d'une importance clinique et épidémiologique non négligeable. Le genre *Microsporum*, quant à lui, regroupe des espèces principalement impliquées dans les teignes du cuir chevelu, avec comme représentants majeurs *Microsporum canis*, d'origine zoophile, et *Microsporum audouinii*, d'origine anthropophile (**Coulibaly et al., 2016 ; Bassyouni et al., 2017**). Le genre *Epidermophyton*, le plus restreint, ne comprend qu'une seule espèce pathogène pour l'homme : *Epidermophyton floccosum*, dont le tropisme se limite à la peau glabre et aux ongles, sans atteinte des cheveux.

Sur le plan morphologique, ces champignons filamenteux sont caractérisés par la production de macroconidies et de microconidies dont la forme, la taille et l'arrangement constituent des critères d'identification essentiels en mycologie clinique.



3.1.3. Classification des dermatophytoses

Les dermatophytoses font l'objet de plusieurs systèmes de classification permettant une approche diagnostique et épidémiologique rigoureuse.

Selon leur réservoir naturel et leur mode de transmission habituel, les dermatophytes peuvent être répartis en trois principaux groupes: les espèces anthropophiles, adaptées à l'homme et transmises principalement d'un individu à un autre dans des contextes de promiscuité ou de partage d'objets contaminés; les espèces zoophiles, dont le réservoir principal est l'animal et qui se transmettent à l'homme par contact direct, provoquant généralement des lésions inflammatoires plus marquées ; et les espèces géophiles, retrouvées essentiellement dans le sol, contaminant l'hôte humain ou l'animal accidentellement, induisant des réactions inflammatoires intenses (**Moskaluk *et al.*, 2022**).

Les dermatophytoses sont également classifiées en fonction du site anatomique atteint (les teignes du cuir chevelu, les atteintes de la peau glabre, l'atteinte unguéale, etc.).

3.2. Physiopathologie des dermatophytoses

3.2.1. Mécanisme de l'infection

L'infection dermatophyte se déroule selon une séquence d'étapes successives bien décrites (fig. 8). La contamination débute par le contact de l'hôte avec des arthrospores ou des fragments mycéliens viables issus d'une source humaine, animale ou tellurique. Dans un premier temps, les éléments fongiques adhèrent à la surface cutanée grâce à des interactions spécifiques entre les adhésines fongiques et les composants de la kératine épidermique. La germination des arthrospores intervient ensuite dans un délai variable de quelques heures à quelques jours, sous l'influence de conditions favorables de température et d'humidité locale. La progression de l'infection repose sur la sécrétion de protéases kératinolytiques qui dégradent la kératine structurale de la couche cornée et libèrent les acides aminés nécessaires à la croissance fongique, permettant ainsi l'extension centrifuge des lésions cutanées (**Cheikhrouhou *et al.*, 2010**).

La diffusion de l'infection est contrôlée par l'équilibre entre la vitesse de progression du champignon et le taux de renouvellement épidermique, ce qui explique la morphologie caractéristique en bordure active et en centre cicatriciel des lésions annulaires observées en clinique.

La figure 8 illustre ce processus d'infection qui aboutit à la destruction progressive de la kératine et la formation des lésions caractéristiques des dermatophytes.

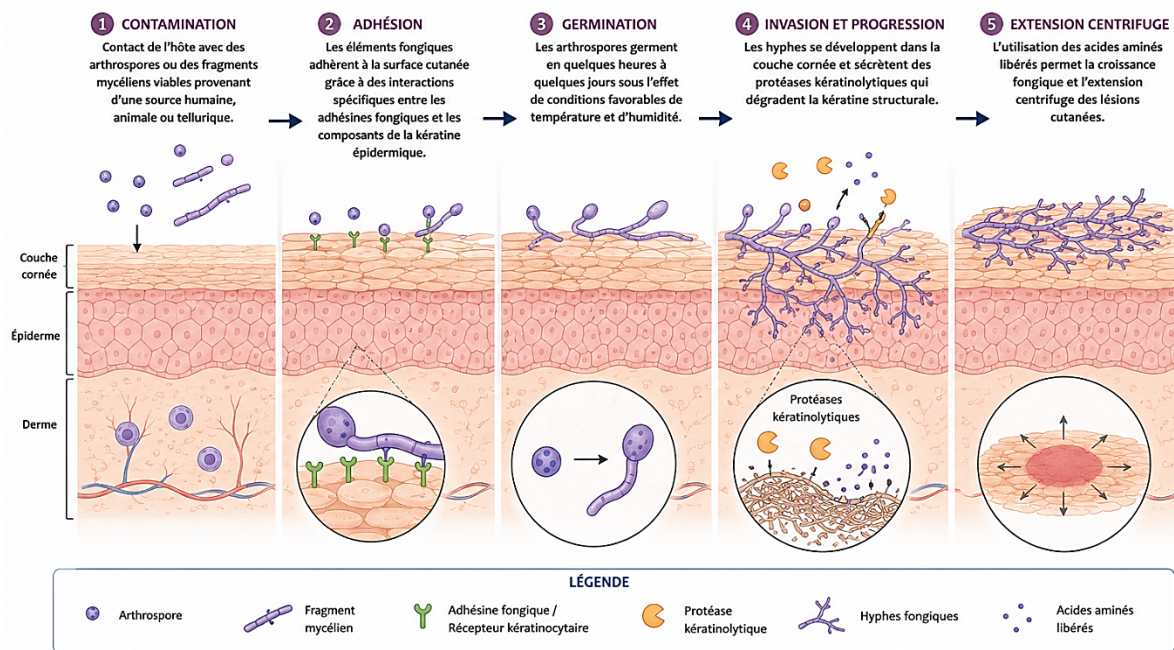


Figure 8. Mécanisme d'infection dermatophyte

3.2.2. Facteurs de virulence des dermatophytes

Les dermatophytes disposent d'un ensemble de facteurs de virulence qui conditionnent leur pouvoir pathogène. Les kératinases, ou protéases sérine et métalloprotéases, constituent les facteurs de virulence majeurs, permettant la dégradation de la kératine structurale des couches superficielles de la peau et des phanères. Des lipases et phospholipases complètent cet arsenal enzymatique en favorisant l'hydrolyse des lipides cutanés et en altérant l'intégrité de la barrière épidermique (Vite-Garín *et al.*, 2024).

La production de facteurs chélatants du fer, tels que les sidérophores, permet aux dermatophytes de capter le fer indispensable à leur croissance dans un environnement où ce nutriment est biologiquement peu disponible. Certaines espèces sécrètent également des toxines et des métabolites secondaires immunomodulateurs, dont le mannan fongique, qui exerce un effet inhibiteur sur la prolifération lymphocytaire et contribue à l'établissement d'une tolérance immunitaire locale favorisant la chronicité de l'infection.

Enfin, la capacité à former des biofilms sur les surfaces kératinisées confère aux dermatophytes une résistance accrue aux défenses immunitaires de l'hôte et aux agents antifongiques (Markantonatou *et al.*, 2023).



3.2.3. Réponse immunitaire de l'hôte

La réponse immunitaire de l'hôte face aux dermatophytes met en jeu des mécanismes innés et adaptatifs dont l'efficacité conditionne l'évolution vers la guérison ou la chronicité de l'infection.

3.2.3.1. Réponse immunitaire innée de l'hôte

La réponse immunitaire innée est initiée dès les premiers stades de l'infection par la reconnaissance des structures fongiques (PAMPs) par les récepteurs de l'immunité innée (PRRs), notamment les récepteurs de type Toll (TLR) et les lectines de type C exprimés par les kératinocytes, les cellules dendritiques et les macrophages. Cette reconnaissance déclenche la production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α) et de peptides antimicrobiens (défensines, cathélicidines) qui concourent à limiter la progression fongique (Sardana *et al.*, 2021 ; Deng *et al.*, 2023).

3.2.3.2. Réponse immunitaire adaptative de l'hôte

La réponse immunitaire adaptative est principalement de type cellulaire, avec une polarisation Th1 caractérisée par la production d'interféron-gamma (IFN- γ) et d'IL-17, cytokines essentielles à l'activation des macrophages et au recrutement des neutrophiles au sein du foyer infectieux. Les sujets développant une réponse immunitaire cellulaire efficace présentent généralement des infections aiguës et spontanément résolutives, tandis qu'une déviation vers un profil Th2, avec production d'IL-4 et d'IL-10, est associée aux formes chroniques et récidivantes (Deng *et al.*, 2023).

3.3. Traitement des dermatophytoses

3.3.1. Antifongiques conventionnels

La prise en charge thérapeutique des dermatophytoses repose sur l'utilisation d'agents antifongiques dont le choix est déterminé par la localisation anatomique de l'infection, l'espèce fongique en cause et l'étendue des lésions.

Les principales classes d'antifongiques conventionnels utilisées dans le traitement des dermatophytoses sont résumées dans le tableau 4.



Tableau 4. Classes d'antifongiques utilisées dans le traitement des dermatophytoses

Classe	Principaux agents	Mécanisme d'action	Voie d'administration	Indications principales
Allylamines	Terbinafine	Inhibition de la squalène époxydase → accumulation de squalène toxique + déplétion en ergostérol	Topique / Systémique (orale)	Onychomycoses, dermatophytoses étendues ; référence contre <i>T. rubrum</i>
Azols – Imidazolés	Kétoconazole, Miconazole, Clotrimazole, Éconazole	Inhibition de la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP450) → accumulation de stérols méthylés toxiques + déplétion en ergostérol	Topique	Formes cutanées localisées
Azols – Triazolés	Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole	Idem imidazolés	Systémique (orale)	Formes étendues, profondes ou réfractaires (Gupta et al., 2024)
Polyènes	Griséofulvine	Perturbation de la formation des microtubules fongiques → inhibition de la mitose	Systémique (orale)	Teignes du cuir chevelu chez l'enfant ; usage en déclin (Kettani et al., 2006)
Morpholines	Amorolfine	Inhibition de deux étapes de la biosynthèse de l'ergostérol	Topique (laque unguéale)	Onychomycoses dermatophytes localisées

L'ensemble de ces molécules cible prioritairement l'ergostérol ou sa biosynthèse, constituant ainsi la voie métabolique fongique la plus exploitée en thérapeutique antifongique conventionnelle.

3.3.2. Limite des traitements

Malgré la disponibilité de plusieurs classes d'antifongiques, le traitement des dermatophytoses se heurte à des obstacles cliniques et microbiologiques croissants qui compromettent l'efficacité thérapeutique et favorisent la récurrence des infections.

La **résistance aux antifongiques** représente l'enjeu majeur de la mycologie clinique moderne. Des souches de *Trichophyton indotineae*, présentent des niveaux élevés de résistance à la terbinafine, liés à des mutations ponctuelles du gène codant la squalène époxydase (SQLE), tandis que des résistances aux azols impliquant le gène *ERG11* et des transporteurs à efflux de type ABC ont également été rapportées (**Gupta et al., 2024**).

La **faible pénétration tissulaire des antifongiques** dans les structures kératinisées impose des durées de traitement prolongées, notamment dans les onychomycoses (six à douze mois pour les ongles des pieds), générant des problèmes d'adhérence et des coûts élevés. La **tolérance** constitue une contrainte supplémentaire, avec un risque d'hépatotoxicité pour la terbinafine et d'interactions médicamenteuses significatives pour les azols systémiques (**El Aiba et al., 2024**).

Enfin, les formes chroniques et récidivantes, fréquentes chez les patients immunodéprimés ou diabétiques, répondent insuffisamment aux schémas thérapeutiques



standards, soulignant l'urgence de développer des alternatives innovantes, notamment des agents d'origine naturelle aux propriétés antifongiques documentées.

3.3.3. Infections fongiques associées et co-infections

Les dermatophytoses peuvent être associées à d'autres infections fongiques opportunistes, rendant le diagnostic ainsi que la prise en charge thérapeutique plus complexes.

Parmi les microorganismes les plus fréquemment impliqués, *Candida albicans* occupe une place importante en raison de son potentiel opportuniste et de sa capacité à coloniser la peau, les muqueuses et les structures unguéales, en particulier chez les sujets immunodéprimés ou présentant une altération de la barrière cutanée (**Parambath et al., 2024**).

- ***Candida albicans* et candidoses associées**

Candida albicans est une levure commensale du microbiote humain, naturellement présente au niveau des muqueuses digestives, génitales et cutanées de l'hôte sain. Dans certaines conditions favorisantes, elle peut se comporter en pathogène opportuniste et provoquer des infections superficielles ou systémiques désignées sous le terme de candidoses.

Les co-infections associant dermatophytes et *Candida albicans* sont documentées, en particulier dans les localisations unguéales et les grands plis, où les conditions d'humidité et de macération créent un environnement propice au développement simultané des deux agents pathogènes (**Chami, 2005**). Dans ces contextes, *Candida albicans* peut aggraver les lésions cutanées préexistantes induites par les dermatophytes en altérant la barrière épidermique, amplifiant la réponse inflammatoire locale et en compliquant le tableau clinique par des surinfections bactériennes secondaires.

Sur le plan thérapeutique, l'association d'une dermatophytose et d'une candidose impose la mise en œuvre d'un traitement antifongique à spectre élargi, capable de cibler simultanément les deux agents pathogènes, ce qui oriente généralement vers l'utilisation des azolés à large spectre tels que le fluconazole ou l'itraconazole plutôt que vers la terbinafine, dont l'activité sur *Candida* est limitée.

La virulence de *Candida albicans* est aussi potentialisée par sa capacité à former des biofilms, à effectuer une transition morphologique entre forme levure et forme filamenteuse invasive, et à sécréter des protéases aspartiques (SAP) qui synergisent avec les kératinases des dermatophytes dans la dégradation des structures cutanées.



- **Autres champignons opportunistes et infections fongiques associées**

D'autres champignons opportunistes peuvent être impliqués dans des infections mixtes chez des patients présentant une dermatophytose active. *Malassezia furfur* et les espèces apparentées, peuvent coexister avec des dermatophytes dans des tableaux cliniques complexes associant teigne et dermatite séborrhéique. Cette coexistence est facilitée par le fait que les lésions induites par les dermatophytes altèrent le microenvironnement cutané et favorisent la prolifération des flores fongiques opportunistes (**White et al., 2014**).

Aspergillus spp., bien que principalement associés aux infections invasives pulmonaires chez l'immunodéprimé, peuvent être responsables d'atteintes unguéales (onychomycose aspergillaire) se surajoutant ou se confondant avec des onychomycoses dermatophytes, rendant le diagnostic mycologique et la conduite thérapeutique particulièrement complexes (**Bongomin et al., 2017**).

Des moisissures non-dermatophytes telles que *Fusarium* spp., *Scopulariopsis brevicaulis* et *Acremonium* spp. sont aussi de plus en plus fréquemment isolées dans des onychomycoses, soit en tant qu'agents pathogènes primaires, soit en association avec des dermatophytes dans des infections mixtes (**Gupta et al., 2024**).

3.3.4. Onychomycose et traitement spécifique

L'onychomycose est une infection fongique de l'ongle causée principalement par des dermatophytes, notamment *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale*, mais également par certaines levures du genre *Candida* et des moisissures non dermatophytes. Elle affecte plus fréquemment les ongles des pieds, où l'humidité, la chaleur et les microtraumatismes favorisent la prolifération des champignons. Cliniquement, elle se manifeste par une décoloration, un épaississement et une fragilisation de l'ongle, pouvant évoluer vers une dystrophie complète dans les formes sévères.

L'onychomycose se présente sous plusieurs formes cliniques (fig. 9), notamment les formes sous-unguéale distale et latérale, superficielle blanche, sous-unguéale proximale, endonyx et la dystrophique totale. Ces formes diffèrent par leur mode d'invasion et leur manifestations cliniques, ce qui influence la prise en charge thérapeutique. Ces variations influencent l'aspect de l'ongle ainsi que la localisation des lésions et orientent le choix du traitement. Le diagnostic repose sur l'examen clinique et doit être confirmé par des examens mycologiques afin d'identifier l'agent responsable et d'orienter le traitement (**Baran et Hay, 2014**).

Le traitement de l'onychomycose repose principalement sur les antifongiques. La terbinafine constitue le traitement oral de première intention en raison de sa forte efficacité clinique et mycologique, tandis que l'itraconazole et le fluconazole représentent des alternatives en cas de contre-indication, d'intolérance ou d'échec thérapeutique. Les traitements topiques, tels que le ciclopirox, l'amorolfine, l'efinaconazole et le tavaborole, sont indiqués dans les formes légères à modérées, limitées à une atteinte superficielle de l'ongle. Ils peuvent être utilisés seuls ou en association avec un traitement oral afin d'améliorer les résultats thérapeutiques (Leung *et al.*, 2020).

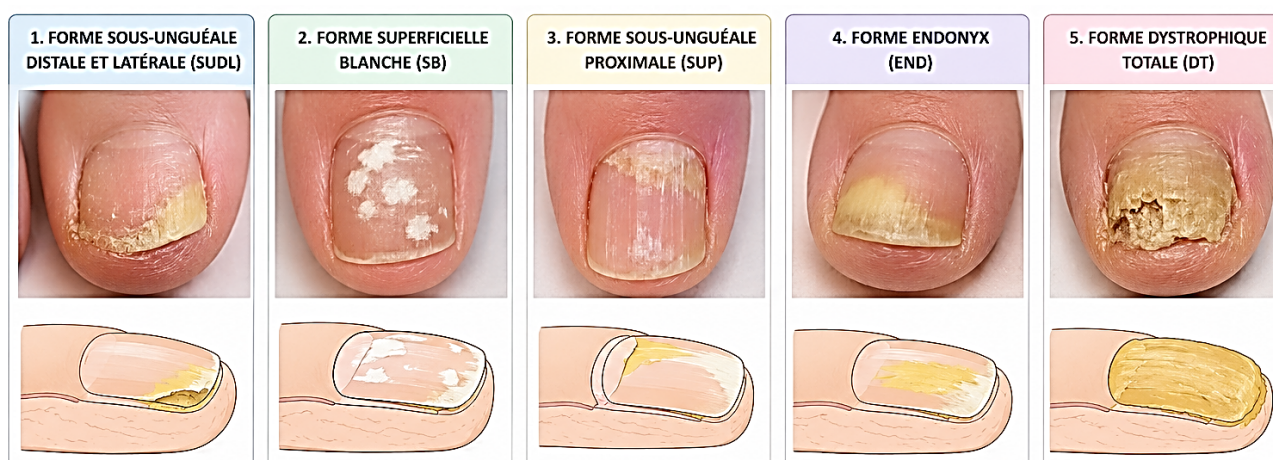


Figure 9. Les différentes formes cliniques de l'onychomycose unguéale.

3.4. Intérêt des huiles essentielles dans la lutte contre les dermatophytes

Les huiles essentielles (HEs) suscitent un intérêt croissant dans la lutte contre les dermatophytoses en raison de leurs propriétés antifongiques et de leur richesse en composés bioactifs. Ces derniers peuvent agir de manière synergique, contribuant ainsi à renforcer leur efficacité contre les dermatophytes (Parrish *et al.*, 2020).

3.4.1. Activité antidermatophyte des huiles essentielles

L'activité antifongique des huiles essentielles contre les dermatophytes a été largement démontrée *in vitro*, avec une efficacité variable selon leur composition chimique. Certaines huiles, notamment celles de cannelle, d'origan, de thym, de cassia et de coriandre, présentent une forte activité inhibitrice, entraînant un ralentissement significatif et prolongé de la croissance des dermatophytes (*Trichophyton*, *Microsporum*) (Parrish *et al.*, 2020).

Le terpinen-4-ol, principal constituant actif de certaines huiles essentielles, exerce une activité antifongique notable contre les dermatophytes. Ce composé lipophile interagit avec les phospholipides et les stérols de la membrane plasmique fongique, provoquant une



désorganisation de la bicouche lipidique. Cette altération entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire, suivie d'un déséquilibre osmotique et d'une fuite des constituants cytoplasmiques essentiels, conduisant à la lyse cellulaire. Par ailleurs, le terpinen-4-ol interfère avec la biosynthèse de l'ergostérol, stérol majeur de la membrane fongique impliqué dans le maintien de son intégrité et de sa fluidité. L'inhibition de cette voie métabolique compromet la stabilité structurale de la membrane et perturbe les fonctions cellulaires vitales, aboutissant à un effet fongistatique ou fongicide selon la concentration utilisée (**Roana et al., 2021**).

3.4.2. Mécanismes d'action antifongique

Les huiles essentielles (HEs) exercent leur activité antifongique selon des mécanismes multi-cibles impliquant principalement la paroi et la membrane fongiques. Elles perturbent la synthèse de la paroi en inhibant notamment la formation de la chitine et des β -glucanes, ce qui fragilise la structure cellulaire et limite la croissance fongique (**Leiva-Mora et al., 2025**).

Au niveau membranaire, leurs composés lipophiles s'insèrent dans la bicouche lipidique riche en ergostérol, entraînant une désorganisation de la membrane, une augmentation de sa perméabilité et une fuite des constituants intracellulaires, conduisant à la lyse cellulaire. Certaines molécules peuvent également inhiber la biosynthèse de l'ergostérol, accentuant ainsi l'altération de l'intégrité membranaire. Par ailleurs, les HEs induisent un stress oxydatif par la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), perturbent les fonctions mitochondriales en réduisant la production d'ATP, et inhibent les systèmes d'efflux, favorisant ainsi l'accumulation intracellulaire des composés toxiques. Enfin, elles interfèrent avec la germination des spores, la croissance hyphale et la formation de biofilms, réduisant ainsi la virulence et la capacité de colonisation des champignons (**Nazzaro et al., 2017**).

3.4.3. Avantages par rapport aux antifongiques classiques

Les huiles essentielles présentent plusieurs avantages par rapport aux antifongiques classiques, notamment en raison de leur mode d'action multi-cible, qui limite le développement de résistances. Elles peuvent également exercer des effets synergiques avec les antifongiques conventionnels tels que le fluconazole ou l'amphotéricine B, ce qui améliore l'efficacité thérapeutique et permet une réduction des doses administrées ainsi que la toxicité associée. Par ailleurs, leur richesse en composés bioactifs, notamment les terpènes et les composés phénoliques, leur confère une activité antifongique à large spectre, incluant des souches résistantes (**Jalendiran et al., 2026**).



3.4.4. Limites et précautions d'utilisation

L'utilisation des huiles essentielles (HEs) comme agents antifongiques présente plusieurs limites malgré leur potentiel thérapeutique. Leur composition chimique est en effet fortement variable, dépendant de l'espèce végétale, des conditions environnementales et des méthodes d'extraction, ce qui compromet la standardisation, la reproductibilité des résultats ainsi que le contrôle qualité des préparations (**Falleh *et al.*, 2020**). Par ailleurs, l'apparition potentielle de phénomènes de tolérance ou de résistance microbienne à des concentrations subinhibitrices a été suggéré, ce qui pourrait réduire leur efficacité à long terme (**Bakkali *et al.*, 2008**).

Sur le plan toxicologique, les HEs présentent une marge thérapeutique étroite car leur activité antifongique peut s'accompagner d'une cytotoxicité non négligeable, ce qui impose une optimisation rigoureuse des doses et des voies d'administration (**Allizond *et al.*, 2023**). Ainsi, leur valorisation en tant qu'agents antifongiques nécessite une approche multidisciplinaire intégrant la standardisation analytique, des évaluations biologiques rigoureuses et l'optimisation des formulations, afin de garantir une application clinique sûre et reproductible (**Espino *et al.*, 2019**).

3.5. Valorisation des huiles essentielles en formulation thérapeutique

La valorisation des huiles essentielles repose sur leur intégration dans des systèmes de formulation adaptés visant à améliorer leur stabilité, leur biodisponibilité et leur efficacité biologique. En raison de leur nature volatile, de leur sensibilité à l'oxydation et de leur faible solubilité aqueuse, différentes stratégies technologiques ont été développées afin de surmonter ces limitations et de permettre une application thérapeutique optimale.

Parmi ces approches, les techniques d'encapsulation occupent une place centrale, incluant notamment les nanoémulsions, les liposomes, les nanoparticules polymériques et les cyclodextrines, qui permettent de protéger les composés actifs, de contrôler leur libération et de réduire leur toxicité potentielle. Ces systèmes contribuent également à améliorer la diffusion des huiles essentielles au niveau des sites d'action biologiques, renforçant ainsi leur activité antifongique et antimicrobienne (**Albuquerque *et al.*, 2022**).

3.5.1. Forme galénique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont rarement appliquées à l'état pur sur la peau en raison de leur caractère volatil, de leur potentiel irritant et de leur instabilité physicochimique. Elles sont généralement incorporées dans des formes galéniques adaptées, telles que les crèmes, gels,



lotions ou pommades, afin d'améliorer leur stabilité, leur tolérance cutanée et leur efficacité thérapeutique (**Dontje et al., 2024**).

- **Crème**

Les crèmes sont des systèmes semi-solides de type émulsion, généralement huile-dans-eau, utilisés comme supports galéniques pour l'incorporation des huiles essentielles. Elles présentent une bonne tolérance cutanée et une capacité à solubiliser les composés lipophiles. Leur préparation repose sur un chauffage séparé des phases suivi d'une homogénéisation permettant d'assurer la stabilité du système.

L'incorporation des huiles essentielles peut modifier les propriétés physicochimiques de la formulation, notamment la viscosité, l'étalement et la stabilité de l'émulsion, tout en améliorant certaines propriétés fonctionnelles telles que l'activité antioxydante et les caractéristiques sensorielles. Ainsi, les crèmes constituent des vecteurs efficaces, alliant stabilité, efficacité biologique et acceptabilité cosmétique (**Aisyah et al., 2024**).

- **Gels**

Les gels sont des systèmes semi-solides constitués d'un réseau polymérique hydrophile ou hydroalcoolique capable d'immobiliser une phase liquide. Les huiles essentielles y sont souvent incorporées sous forme de nanoémulsions ou de nanoemulgels afin d'améliorer leur stabilité, leur homogénéité et leur efficacité cutanée. Cette stratégie permet de limiter les contraintes liées à leur volatilité, leur faible solubilité aqueuse et leur instabilité oxydative. Les nanoemulgels favorisent également une meilleure pénétration cutanée grâce à la réduction de la taille des gouttelettes. Par ailleurs, leur texture non grasse, leur effet rafraîchissant et leur tolérance dermatologique en font des systèmes particulièrement adaptés à la délivrance topique des huiles essentielles (**Yap et al., 2024**).

- **Lotions**

Les lotions sont des préparations liquides ou semi-liquides riches à base majoritairement aqueuse, destinées à une application cutanée sur de larges surfaces. Une étude récente a rapporté la formulation d'une lotion à base d'un mélange d'huiles essentielles (citronnelle, patchouli et sauge), développée comme alternative naturelle aux répulsifs synthétiques (**Sutthanont et al., 2026**). Cette formulation a montré une bonne tolérance cutanée, sans irritation ni réaction allergique, ainsi qu'une activité répulsive contre *Aedes aegypti*, avec une efficacité supérieure à 90 % pendant plusieurs heures. Ces résultats illustrent l'intérêt des lotions comme vecteurs efficaces pour l'application cutanée des huiles essentielles.



- **Pommades**

Les pommades sont des systèmes semi-solides à base grasse présentant un pouvoir occlusif élevé, formant un film protecteur à la surface cutanée. Elles réduisent la perte en eau transépidermique et favorisent ainsi une hydratation prolongée des tissus. Cette caractéristique permet également une libération progressive et prolongée des substances actives.

Les pommades sont particulièrement indiquées dans le traitement des affections cutanées sèches et des lésions superficielles nécessitant une action locale durable. Cependant, leur nature grasse peut limiter leur acceptabilité cosmétique et restreindre leur utilisation sur certaines zones inflammées ou exsudatives. Elles constituent néanmoins des systèmes efficaces de délivrance cutanée en raison de leur stabilité et de leur effet protecteur prolongé (**Man et al., 2022**).

3.5.2. Problèmes liés à l'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent plusieurs limites liées à leurs propriétés physicochimiques et toxicologiques. Leur richesse en composés volatils, notamment en monoterpènes, leur confère une forte volatilité, entraînant une perte rapide des constituants actifs et une diminution de leur efficacité biologique. Elles sont également instables et sensibles aux facteurs environnementaux tels que la lumière, la chaleur et l'oxygène, conditions favorisant leur dégradation et l'altération de leur activité. Par ailleurs, l'oxydation de certains constituants peut conduire à la formation de produits secondaires potentiellement irritants, responsables de réactions cutanées indésirables. Malgré leur origine naturelle, les huiles essentielles peuvent présenter une toxicité non négligeable, se manifestant par des réactions allergiques, des irritations cutanées ou encore des interactions avec certains systèmes enzymatiques impliqués dans le métabolisme des médicaments (**Zhu et al., 2026**).

3.5.3. Stratégies d'amélioration

Face aux contraintes liées aux propriétés physicochimiques des huiles essentielles, notamment leur forte volatilité, leur instabilité et leur faible solubilité en milieu aqueux, diverses approches technologiques ont été développées afin d'en optimiser l'utilisation. Parmi celles-ci, les techniques d'encapsulation occupent une place centrale en permettant un contrôle plus précis de leur libération.

Les systèmes d'encapsulation reposent sur différents types de matériaux, incluant des polymères naturels, des polymères synthétiques ainsi que des systèmes hybrides. Les polymères naturels, tels que les polysaccharides, les protéines et les lipides, sont



Chapitre 3. Dermatophytose et valorisation des huiles essentielles en formulation thérapeutique.

particulièrement privilégiés en raison de leur biocompatibilité et de leur aptitude à former des structures capables d'incorporer les huiles essentielles. Ces matériaux permettent notamment le développement de vecteurs nanostructurés, tels que les liposomes et les nanoparticules lipidiques, contribuant à la stabilisation des composés volatils.

Sur le plan technologique, plusieurs procédés sont utilisés pour l'élaboration de ces systèmes, notamment l'émulsification, la gélification, la précipitation, l'évaporation de solvant, ainsi que des techniques de séchage comme la lyophilisation et le séchage par atomisation. Parmi ces approches, l'émulsification est largement utilisée pour disperser la phase huileuse sous forme de fines gouttelettes dans une phase aqueuse à l'aide de tensioactifs, améliorant ainsi la stabilité et l'homogénéité des formulations. L'association de ces différentes stratégies permet d'optimiser les performances des systèmes développés. Ainsi, les techniques d'encapsulation contribuent à améliorer la stabilité, la biodisponibilité et l'efficacité biologique des huiles essentielles, tout en réduisant leurs effets indésirables et en élargissant leurs applications en formulation pharmaceutique et cosmétique (**Zhu et al., 2026**).



Partie Expérimentale

Chapitre 4

Matériel & Méthodes



4.1. Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. sur quelques isolats de *Candida albicans* et de dermatophytes, afin de vérifier l'efficacité de cette plante dans le traitement des infections fongiques, notamment l'onychomycose. Cette étude porte également sur l'exploration de son potentiel antioxydant, ainsi que sur sa valorisation à travers la formulation d'un produit naturel. (Spray).

4.2. Matériel végétal

Le matériel végétal (fig. 10) utilisé dans ce travail, est constitué des feuilles de *Laurus nobilis* L. à l'état frais. Les feuilles ont été récoltées en mois de février 2026 dans la région de Mostaganem. Les feuilles fraîches ont été acheminées vers le laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale de l'université de Mostaganem, où elles ont été lavées et sécher par la suite dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et à température ambiante.



Figure 10. Feuilles fraîches de *Laurus nobilis* L.



4.3. Isolats fongiques

Afin de démontrer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., deux isolats dermatophytes des genres *Microsporum* et *Trichophyton* et une souche ATCC et cinq isolats de l'espèce *Candida albicans* ont été utilisés (tableau 5).

Tableau 5. Origine de différentes espèces fongiques étudiées.

Code	Genre / espèce	Origine
C1	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale
C2	<i>Candida albicans</i>	Laboratoire d'analyses médicales El-Amine (Mostaganem)
C3		
C4		
C5		
C6		
D1	<i>Microsporum</i>	Service de dermatologie de EHU d'Oran (1 ^{er} Novembre 1954)
D2	<i>Trichophyton</i>	

4.4. Milieux de culture

Les milieux de culture liquides et solides utilisés dans cette étude sont : Muller-Hinton (MH), Gélose nutritive (GN), Sabouraud (SAB) et Sabouraud au chloramphénicol.

4.5. Extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

L'extraction des huiles essentielles de feuilles séchées de *Laurus nobilis* L. a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau pendant 3 heures selon la méthode montrée par (Cherrat, 2013).

Les 467 g des feuilles séchées ont été coupés en petits morceaux à l'aide d'un ciseau et déposé dans un extracteur rempli préalablement par 2500 ml d'eau distillée, le tout a été soumis à l'ébullition pendant 3 heures. Cette dernière a créé un courant de vapeurs qui en traversant les plantes fait éclater les cellules et entraîne avec elle les molécules volatiles. Après condensation, le mélange obtenu appelé distillat est décanté (fig. 11). A la fin de l'extraction, les huiles essentielles sont récupérées grâce à une pipette stérile, séchées et conservés à 4°C jusqu'à son utilisation.



Figure 11. Dispositif d'extraction des HEs de *Laurus nobilis* L. par entraînement à la vapeur d'eau.

4.6. Détermination du rendement d'extraction des HEs de *Laurus nobilis* L.

Le rendement correspond au rapport entre la quantité des huiles essentielles extraite et la masse de matière végétale sèche utilisée lors du procédé d'extraction (Miliani, 2018).

Le rendement est calculé selon l'équation suivante :

$$R_{HES} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

Où :

R_{HES} : Rendement des huiles essentielles en (%).

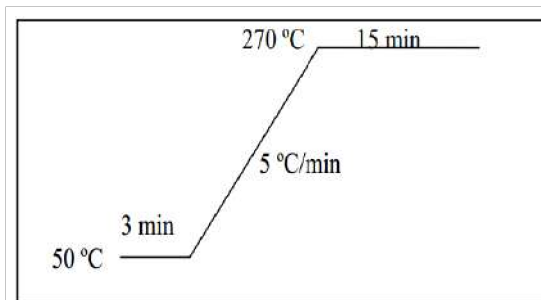
m_1 : Masse d'huile essentielle récupérée en (g) .

m_2 : Masse de la matière végétale sèche en (g).

4.7. Caractérisation et identification chimiques des HEs de *Laurus nobilis* L. par CPG-MS

L'analyse des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un chromatographe shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS-QP2010 SE (fig. 12) au niveau de l'Unité de Recherche de Chimie Organique et Macromoléculaire (URCOM), Université du Havre, France.

Les huiles essentielles ont d'abord été diluée à 1/100 (v/v) dans l'éthanol à 96°. La séparation des composés a été effectuée sur une colonne capillaire ZB-5MS (5% de phényle, 95% de diméthylsiloxane, 30 m × 0,25 mm, 0,25 µm d'épaisseur de film). Le gaz porteur utilisé était Helium (He) à un débit de 1 ml / min. Le volume d'injections était de 1 µl des huiles essentielles à base d'éthanol, injecté en mode fractionné (ratio divisé 1/50). La colonne a été programmée initialement à 50 °C pendant 3 min progressivement à 270°C avec une rampe de chauffage de 5 °C/min et maintenue par la suite pendant 15 min.



Le spectromètre de masse a fonctionné en mode d'impact électronique avec une énergie d'ionisation de 70 eV, l'analyseur est effectué dans la plage de balayage de 35-300 m/z. Les composants des huiles ont été identifiés par co-injection avec des normes (dans la mesure du possible) et confirmés par l'Institut national des normes et de la technologie (NIST) V.2.0 Bibliothèque GC-MS. La concentration relative de chaque composé dans les huiles essentielles a été exprimée en pourcentage par la normalisation de la zone de pointe (Babushok *et al.*, 2011).



Figure 12. Chromatographe Shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS-QP 2010-SE.



4.8. Évaluation de l'activité Antioxydante des HES

Le pouvoir de neutralisation des radicaux libres des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a été évalué en utilisant le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), selon la méthode décrite par **Huang *et al.* (2011)**.

Ce radical, de couleur violette en solution, présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles testées a été déterminé par comparaison avec un antioxydant de référence, l'acide ascorbique (vitamine C), une courbe d'étalonnage a été établie à partir de différentes concentrations d'acide ascorbique (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 mg/mL), préparées dans de l'éthanol absolu (96°). L'activité de piégeage du radical DPPH a été évaluée selon Amiri (2010), en mélangeant 100 µl de chaque dilution des HES (1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,06 et 0,03 %) avec 1300 µl de solution de DPPH. Après une incubation de 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, et le pouvoir de piégeage du DPPH des HES a été déterminé à l'aide de la formule suivante : $I (\%) = \frac{A_0 - A_S}{A_0} \times 100$

Où :

A0 est la valeur d'absorbance du témoin négatif

As est l'absorbance de l'échantillon testé après 30 minutes d'incubation.

Le témoin positif était l'acide ascorbique (standard de référence).

L'activité de piégeage du DPPH pour les échantillons a été exprimée en termes de IC50, qui représente la concentration nécessaire pour induire une activité de piégeage de 50 % du radical DPPH (**El Hajli *et al.*, 2024**).

4.9. Évaluation de l'activité antifongique des HES de *Laurus nobilis* L.

4.9.1. Réactivation et confirmation des isolats microbiens étudiés

Les isolats microbiologiques étudiés, issus de différents laboratoires, ont été transportés rapidement et dans des conditions appropriées vers le laboratoire de recherche en microbiologie et biologie végétale de l'université de Mostaganem. À leur arrivée, ils ont été réactivés, isolés puis confirmés afin d'assurer leur pureté avant leur utilisation dans les analyses expérimentales.

4.9.2. Culture

Pour les dermatophytes : Les isolats **D1** et **D2** ont été repiqués sur une gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol, puis incubés à 30 °C pendant 7 jours dans une étuve, selon la méthode décrite par **Teklebirhan *et al.* (2015)**.

Pour *Candida albicans* : Les six isolats ont étéensemencés sur des boîtes de Pétri contenant une gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol, puis incubés à 37 °C pendant 48 heures (**Olver *et al.*, 2002**).

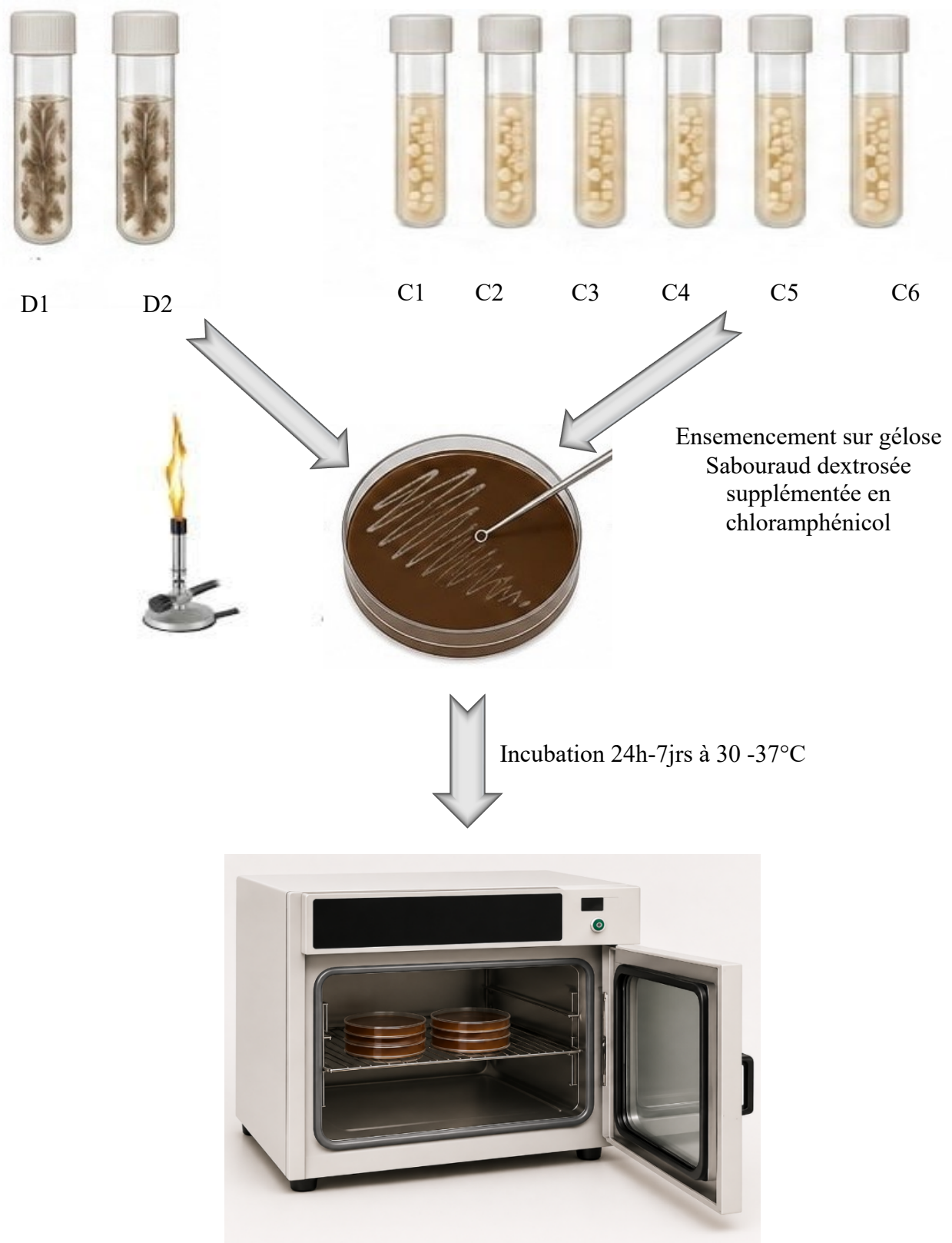


Figure 13. Protocole d'isolement et de culture des isolats fongiques



4.9.3. Examen macroscopique

Après incubation, les colonies fongiques obtenues ont fait l'objet d'un examen macroscopique à l'œil nu afin d'évaluer leurs caractéristiques morphologiques, notamment la couleur, la forme ainsi que l'aspect général des colonies (**Benmessaoud, 2025**). Les dermatophytes appartenant au genre *Microsporum* se caractérisent par des colonies blanches à aspect duveteux et étoilé, avec un revers jaune orangé, ainsi que par la présence de macroconidies fusiformes de grande taille associées à un mycélium cloisonné (**Marijon et al., 2020**). En parallèle, *Candida albicans* présente des colonies crémeuses, lisses, de couleur blanche à blanc crème, à surface brillante ou légèrement convexe. (**Quindós et al., 1992**).

4.9.4. Examen microscopique

L'examen microscopique est une étape essentielle dans l'étude morphologique des espèces microbiennes. Ce test est réalisé à l'état frais entre lame et lamelle et après une coloration appropriée (**Arabi, 2018**).

Dans cette étude, les préparations microscopiques ont été examinées au microscope optique aux grossissements 40X et 100X afin d'évaluer les caractéristiques morphologiques des isolats étudiés. Les dermatophytes ont été analysés après coloration au bleu de lactophénol coton, tandis que les isolats de *Candida albicans* ont été observés après coloration au bleu de méthylène. (**Benmessaoud, 2025**), ainsi que par la coloration de Gram (**Omar, 2001**).

4.9.5. Test de diffusion en milieu solide (méthode des disques- aromatoگرامme)

L'aromatoگرامme est une technique de diffusion en milieu gélosé permettant d'évaluer la sensibilité des micro-organismes aux huiles essentielles et d'apprécier leur activité antimicrobienne de manière fiable et reproductible. Elle repose sur la mesure du diamètre de la zone d'inhibition formée autour d'un disque imprégné des huiles essentielles (**Derbré et al., 2013**).

Dans ce travail, le test a été réalisé (fig. 14) sur des boîtes de Pétri coulées préalablement par une gélose Mueller-Hinton en surfusion à 45 °C (15 ml par boîte), après solidification la surface a été inoculée avec une suspension fongique ajustée à 0,5 McFarland ($\approx 10^8$ UFC/ml), puis des disques de 6 mm de diamètre de papier Whatman n°1 stériles, ont été déposés à l'aide d'une pince stérile et imbibés avec 15 μ l d'HEs pure, les boîtes ont été incubées par la suite à 37 °C pendant 24 h pour *Candida albicans* et à 30 °C pendant 7 jours pour les dermatophytes, et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse pour garantir la précision des résultats (**Mouas et al., 2017**).

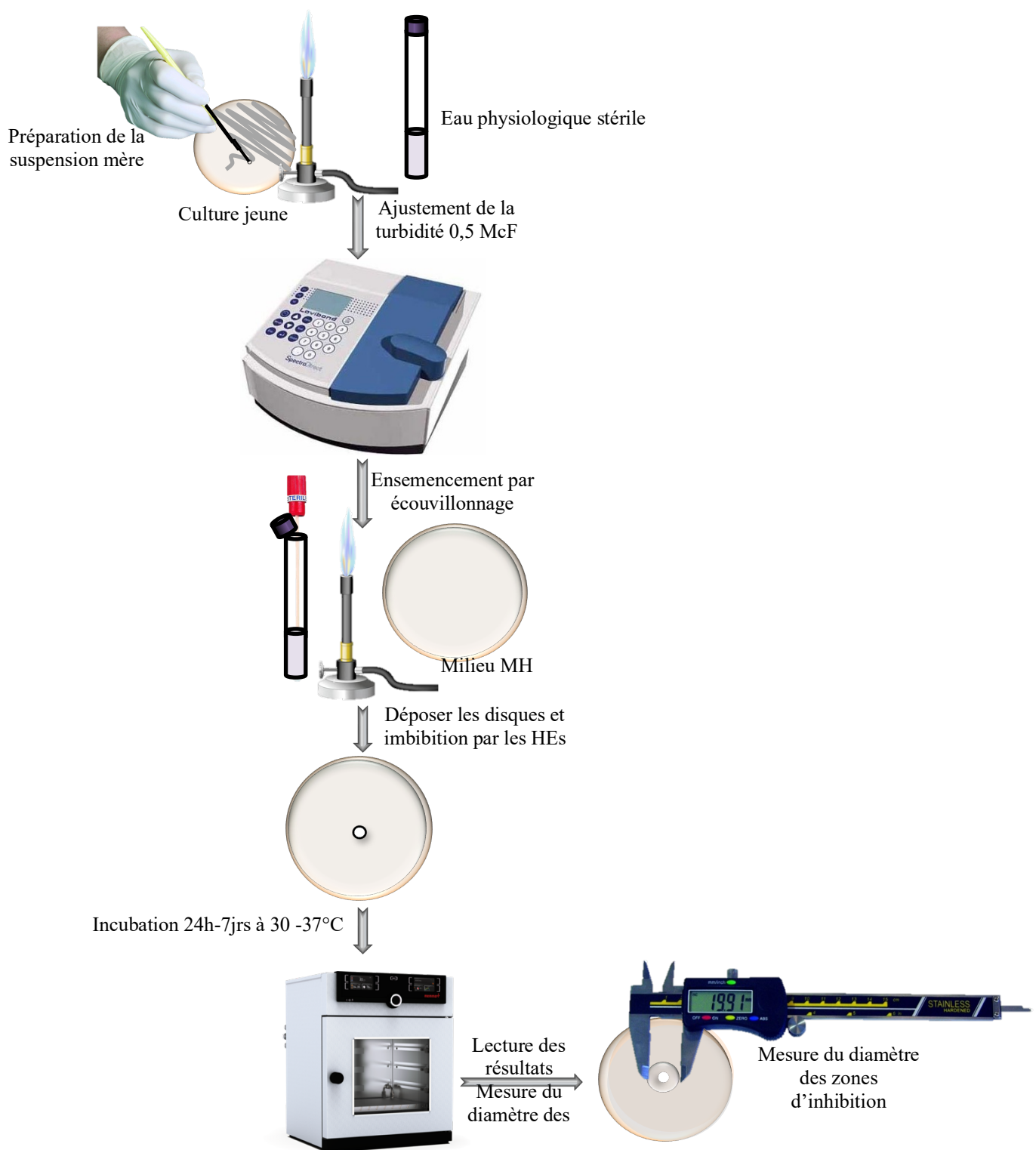


Figure 14. Test d'aromatogramme par diffusion en milieu gélosé



4.9.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

Cette technique consiste à incorporer de manière homogène différentes concentrations de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture, afin d'évaluer son effet inhibiteur sur les champignons étudiés et de déterminer la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance fongique visible.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide à l'aide de plaques de 96 puits (fig. 15). Une solution mère des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a été préparée dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO) à 10 %. Ensuite, 100 µl de milieu Sabouraud liquide ont été distribués dans neuf puits pour chaque isolat, les deux derniers étant réservés aux contrôles positif et négatif. Par la suite, 100 µl de la solution mère ont été introduits dans le premier puits de chaque série afin d'effectuer des dilutions successives au demi (1/2), permettant d'obtenir des concentrations finales comprises entre 20 et 0,31 µg/ml. Ensuite, 100 µl de chaque suspension fongique (C1 à C6, D1 et D2), préalablement préparée et ajustée au standard 0,5 McFarland, ont été ajoutés dans les puits correspondants, de manière à obtenir une concentration finale en cellules microbiennes de $0,5 \times 10^6$ UFC/ml, tandis que le contrôle positif contenait le milieu Sabouraud associé à l'inoculum fongique et le contrôle négatif uniquement le milieu de culture. Enfin, les plaques ont été incubées à 37 °C pendant 48 heures pour *Candida albicans* et à 30 °C pendant une semaine pour les dermatophytes.

Après incubation, la lecture s'effectue en ajoutant 40µl de la solution de 0,4% de chlorure de triphényltétrazolium (TTC) dans chaque puits. Ce dernier est un indicateur de viabilité cellulaire de couleur transparente et qui vire en rouge sous l'effet des métabolites microbien confirmant la croissance microbienne.

Après une réincubation de 2 heures dans les mêmes conditions, la CMI a été définie comme la plus faible concentration ne présentant aucune coloration rouge. Elle correspond ainsi à la concentration indicatrice de l'activité bactériostatique de l'agent antibactérien (Taroq, 2020).

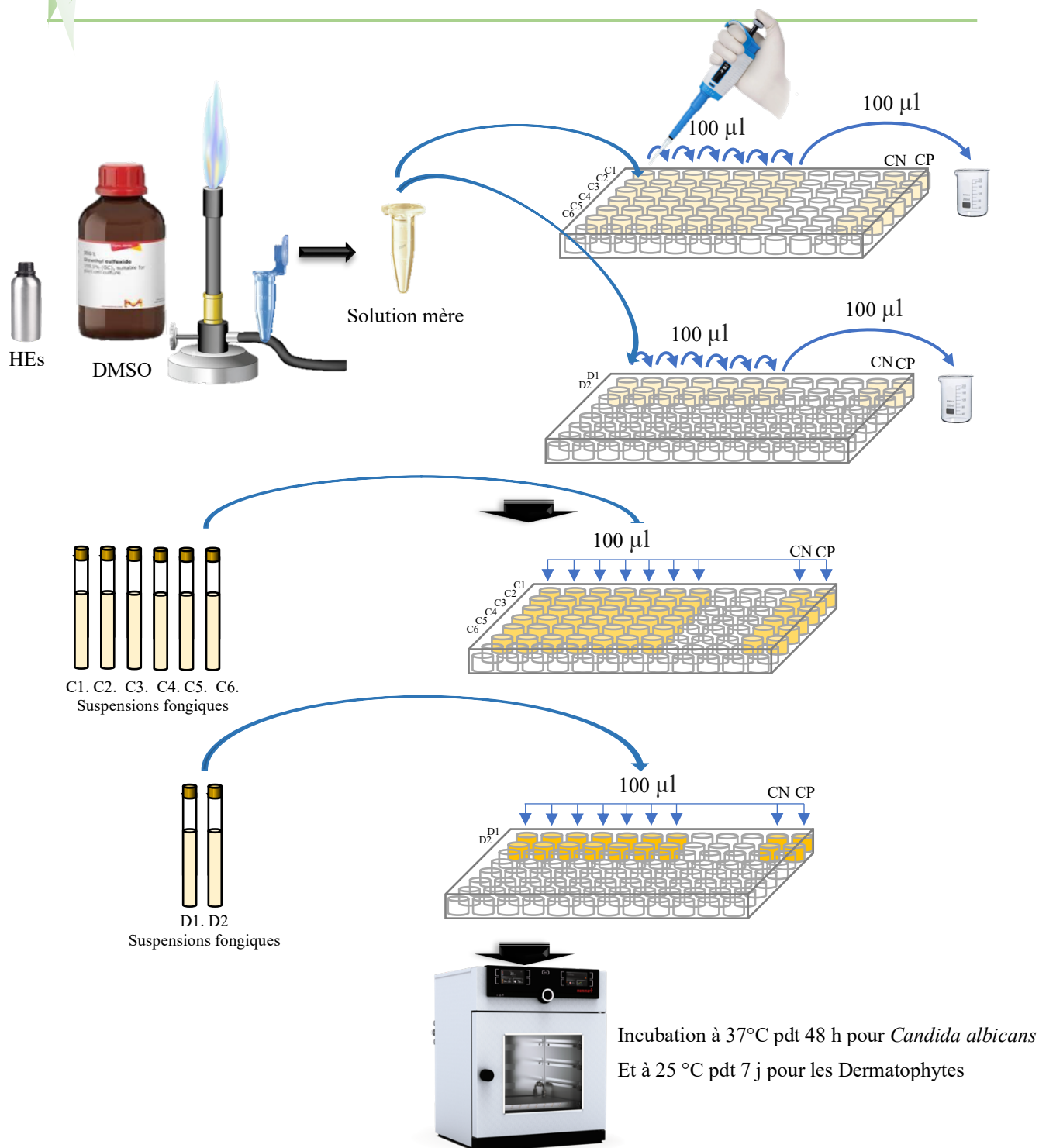


Figure 15. Protocole de l'évaluation de la CMI par microdilution.



4.9.7. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

La détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) a été réalisée en complément de celle de la concentration minimale inhibitrice (CMI). Dans un premier temps, une série de dilutions décimales successives de l'inoculum fongique a été préparée à partir de la suspension mère afin d'obtenir différentes concentrations microbiennes. Après cette dilution, les stries qui ne présentant aucune croissance fongique visible ont été retenues pour la détermination de la CMF.

À cet effet, un repiquage par stries du contenu de chaque puits, à l'aide d'une anse de platine calibrée (1 μ l), a été effectué sur des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé approprié préalablement solidifié (fig. 16). Les boîtes ont ensuite été incubées à des températures comprises entre 30 et 37 °C pendant 48 à 72 heures, selon la souche fongique étudiée. Les concentrations pour lesquelles aucune reprise de croissance n'a été observée sur le milieu gélosé ont été retenues comme correspondant à la CMF (**Rizwana *et al.*, 2019**).

La concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration d'huile essentielle capable d'éliminer plus de 99,9 % de l'inoculum microbien initial, soit moins de 0,1 % de cellules survivantes. Elle permet ainsi de mettre en évidence l'effet fongicide des huiles essentielles (**Chebaibi *et al.*, 2015**).

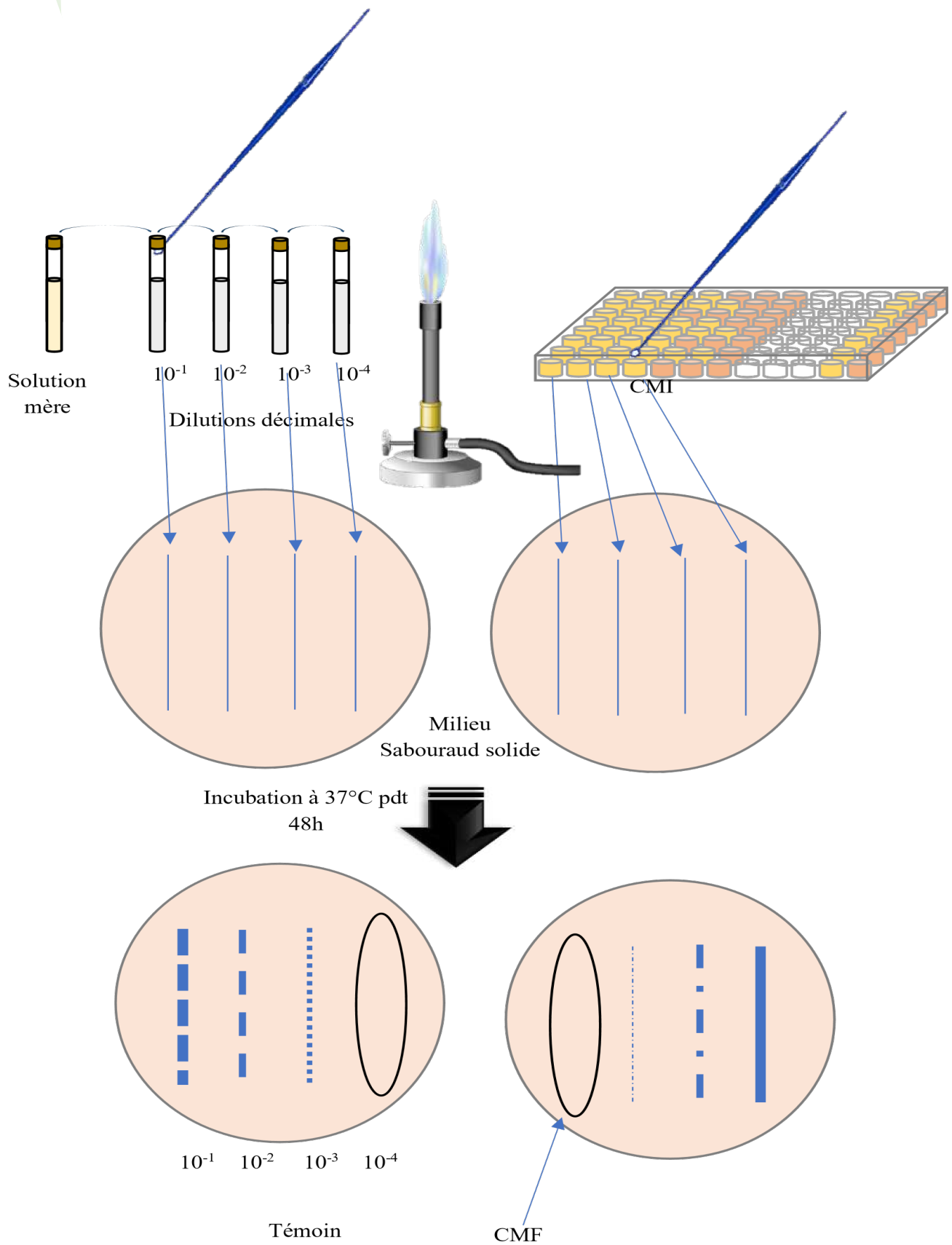


Figure n° 16. Protocole de la détermination de la CMF sur milieu solide.

4.10. Formulation d'un produit antifongique à base des HEs de *Laurus nobilis* L.

Les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. présentent un intérêt thérapeutique considérable grâce à leur richesse en composés bioactifs à activité antifongique (**Peixoto et al., 2017**). Dans cette étude, une formulation naturelle formulée à partir des HEs de *Laurus nobilis* L. sous forme de spray a été élaborée afin d'évaluer son efficacité contre différentes souches fongiques pathogènes.

4.10.1. Synthèse de la formulation antifongique (Spray)

La formulation du spray antifongique a été réalisée selon une méthodologie adaptée de travaux portant sur le développement de systèmes galéniques à base des huiles essentielles. La préparation a été effectuée dans des conditions aseptiques afin de garantir la stabilité microbiologique du produit. La formulation a consisté en l'incorporation de 300 µl des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., Diluées dans dipropylène glycol (DPG) utilisé comme agent solubilisant, et de l'éthanol à 70°. Le volume final a été complété avec de l'eau distillée stérile. L'ensemble a été homogénéisé par agitation magnétique jusqu'à obtention d'une solution limpide et stable. Le pH de la formulation a été mesuré et ajusté entre 5 et 5,5 à l'aide d'un pH-mètre, ce qui est compatible avec une application cutanée et une bonne stabilité des composés volatils.

4.10.2. Évaluation de l'efficacité antifongique du produit formulé (Spray)

L'activité antifongique du produit formulé a été évaluée *in vitro* par la méthode d'aromatogramme sur milieu gélosé, basée sur la diffusion des composés actifs et la mesure des zones d'inhibition autour des disques imprégnés (**Derbré et al., 2013**). Le test a été réalisé sur des boîtes de Pétri contenant 15 ml de gélose Mueller-Hinton (MH) coulée en surfusion à 45 °C. Après solidification du milieu, la surface des boîtes a étéensemencée par écouvillonnage à l'aide de suspensions fongiques ajusté à une turbidité de 0,5 McFarland ($\approx 10^8$ UFC/ml). La formulation naturelle contenant les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., utilisée comme formulation test, la formulation témoin dépourvue des huiles essentielles ainsi que l'antifongique commercial à base d'éconazole employé comme contrôle positif ont été stérilisés par filtration membranaire à l'aide d'une seringue stérile munie d'un micofiltre (0,22 µm) afin d'éviter toute contamination microbienne. Des disques stériles de papier Whatman n°1 (6 mm de diamètre) ont ensuite été imbibés avec les différentes préparations puis déposés à la surface des milieux préalablement inoculés. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h pour les souches de *Candida albicans* et à 30 °C pendant 7 jours pour les dermatophytes.



L'activité antifongique a ensuite été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres (mm) à l'aide d'un pied à coulisse afin d'assurer la précision des résultats (**Mouas *et al.*, 2017**).

Chapitre 5

Résultats & Discussion



5.1. Extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

Après l'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. (fig.17) par entraînement à la vapeur d'eau pendant 3 heures à partir de 467 g de matière végétale sèche, nous avons obtenu un rendement des huiles essentielles, calculer comme suit :

$$R_{HES} = \frac{2.30_g}{467_g} \times 100$$

$$R_{HES} = 0.49 \%$$



Figure 17. Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. extraites par entraînement à la vapeur d'eau.

Le rendement obtenu pour l'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. dans notre étude était de 0,49 %. Cette valeur reste relativement proche de celle rapportée par **Ferhat *et al.* (2018)**, qui ont obtenu un rendement de 0,70 % à partir des feuilles de laurier noble provenant de la région de Tizi-Ouzou. La différence observée pourrait être attribuée à plusieurs facteurs tels que l'origine géographique de la plante, les conditions climatiques, la période de récolte, le degré de séchage des feuilles ainsi que les conditions expérimentales d'extraction (**Goudjil, 2016**).



5.2. Caractérisation et identification chimiques des HEs de *L. nobilis* L. par GC-MS

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles sèches de *Laurus nobilis* L., présentée dans le tableau 6, a révélé la présence de 41 composés identifiés par analyse chromatographique.

Tableau 6. Composition chimique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. déterminée par GC-MS.

N°	Composé	tr	Area	%
1	2-Hexenal, (E)-	6,17	167719	0,19
2	3-Hexen-1-ol, (Z)-	6,239	341744	0,39
3	Isopentyl acetate	6,608	90328	0,1
4	1-hexanol	6,752	103658	0,12
5	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	8,424	72232	0,08
6	.alpha.-Phellandrene	8,833	455834	0,52
7	alpha pinene	9,09	5424228	6,22
8	camphene	9,693	1337903	1,53
9	Sabinene	10,554	4447664	5,1
10	beta Pinene	10,714	4216058	4,84
11	b-Myrcene	11,182	231660	0,27
12	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	11,666	195567	0,22
13	.alpha.-Phellandrene	11,764	74493	0,09
14	alpha-Terpinene	12,142	419653	0,48
15	o-Cymene	12,404	545964	0,63
16	limonene	12,568	1516136	1,74
17	eucalyptol	12,669	34070463	39,08
18	gamma terpinene	13,582	773667	0,89
19	Sabinene hydrate, cis-	13,989	152601	0,18
20	terpinolene	14,5	208262	0,24
21	Linalool	14,998	12694158	14,56
22	d-Terpineol	17,272	183284	0,21
23	borneol	17,327	323497	0,37
24	terpinene-4-ol	17,593	1843935	2,12
25	alpha terpineol	18,041	1614434	1,85
26	Nerol	18,923	152865	0,18
27	Pulegone	19,34	90085	0,1
28	Linalyl formiate	19,674	180117	0,21
29	thymol	20,561	197408	0,23
30	Bornyl acetate	20,707	795601	0,91
31	Carvacrol	20,811	115566	0,13
32	isothymol	21,052	309381	0,35
33	Pseudolimonene	21,515	290232	0,33
34	a-Terpinyol acetate	22,435	5754010	6,6
35	Eugenol	22,548	911908	1,05

36	b-Elemene	23,63	117138	0,13
37	Methyl eugenol	23,835	3042696	3,49
38	beta Caryophyllene	24,462	391891	0,45
39	Germacrene B	27,542	116441	0,13
40	Caryophyllene beta	28,524	421721	0,48
41	-9-epi-.beta.-Caryophyllene	30,217	421821	0,48
	Total			96,47
	Monoterpènes Hydrocarburés			22,88
	Monoterpénols			19,47
	Oxyde Monoterpéniques			39,08
	Esters			8,12
	Sesquiterpènes Et Sesquiterpénols			1,67
	Phénols Et Méthyl-Phénols			5,25
Tr : temps de rétention Area : aire sous la courbe chromatographique % : pourcentage relatif dans HEs				

L'analyse chromatographique des HEs de *Laurus nobilis* L. a permis l'identification de 41 composés représentant 96,47 % de la composition totale. Les principaux composés identifiés (fig. 18) sont l'eucalyptol (39,08 %), le linalool (14,56 %), l'acétate d' α -terpinyle (6,60 %), l' α -pinène (6,22 %), le sabinène (5,10 %), le β -pinène (4,84 %), le méthyl-eugénol (3,49 %) et le terpinène-4-ol (2,12 %). Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par **Fidan et al. (2019)**, qui ont identifiés 40 composés, dont les principaux constituants étaient le l'eucalyptol (41,02 %), l'acétate d' α -terpinyle (14,4 %), le méthyl-eugénol (6,03%), linalool (4,9 %), l' α -pinène (2,6 %), le β -pinène (2,5 %) et le terpinene-4-ol (2,4 %). De même, **d'Alimi et al. (2021)** qui ont repéré 17 composés, dont les composés abondants sont ; l'eucalyptol (46,56 %), l'acétate d' α -terpinyle (13,99 %), le sabinène (7,69), l' α pinène (5,75), le linalool (5,50), le Méthyle eugénol (5,36 %) et le β -pinène (3,97). De nombreuses études ont montré que les principaux constituants des différentes huiles essentielles de laurier sont le 1,8-cinéole (eucalyptol), le Méthyle eugénol et l'acétate d' α -terpinol.

Cette légère variabilité de la composition chimique entre les huiles essentielles d'une même espèce végétale pourrait être due aux facteurs génétiques, à la zone de collecte, au stade de développement de la plante, à la saison et/ou de l'environnement de la plante et aux réactions dans le temps, au sein de la plante (**Nebie, 2023**).

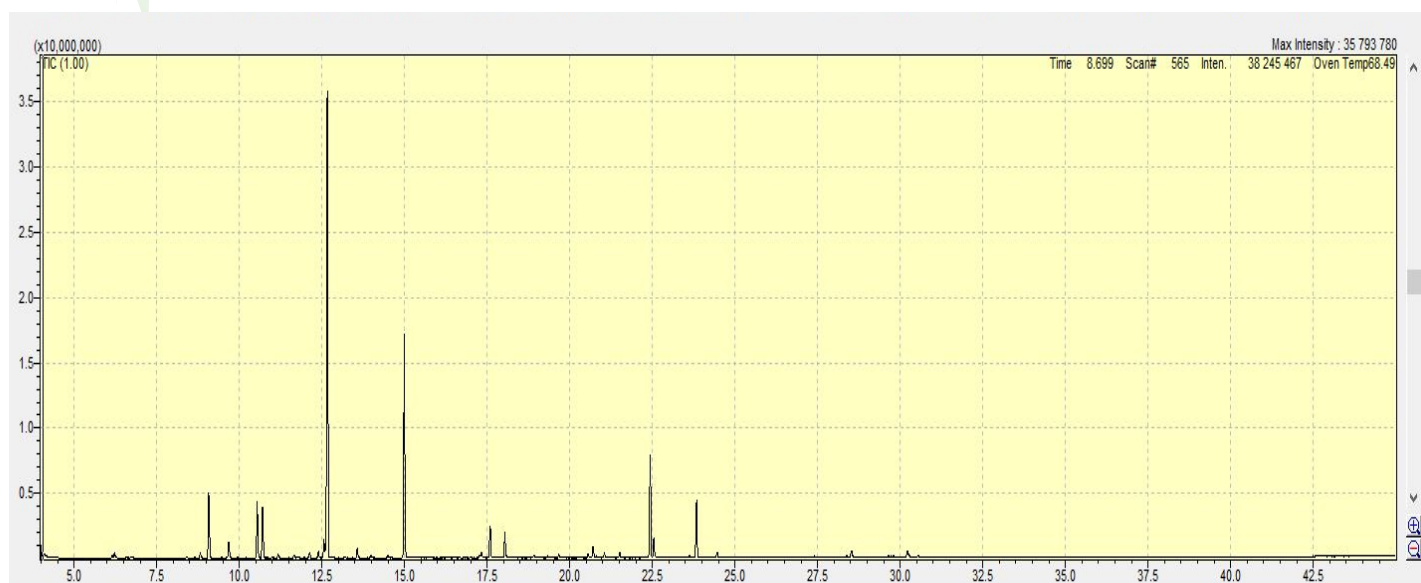


Figure 18. Profil chromatographique des composés volatils de *Laurus nobilis* L. par CG/MS.

5.3. Évaluation de l'activité Antioxydante des HEs

Le DPPH est un radical libre stable couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits. Sa forte sensibilité permet de mettre en évidence la capacité des composés actifs à piéger les radicaux libres, même à de faibles concentrations. (Miliani, 2018).

Dans ce travail, l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a été déterminée par la méthode de réduction du radical DPPH, suivie par spectrophotométrie UV-visible à 517 nm. Cette méthode repose sur la diminution de l'absorbance du DPPH, accompagnée d'un changement de coloration, reflétant la capacité des molécules antioxydantes à neutraliser les radicaux libres.

Les résultats obtenus mettent en évidence une activité anti-radicalaire dose-dépendante des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. (fig.20), Avec une IC_{50} de 140,63 $\mu\text{g/ml}$, les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. ont montré une activité modérée de piégeage du radical libre DPPH, significativement inférieure à celle de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 2,95 \mu\text{g/ml}$), utilisé comme antioxydant de référence. Cette activité antioxydante peut être attribuée à la présence de composés terpéniques majoritaires, notamment le 1,8-cinéole, l' α -pinène et le limonène, reconnus pour leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par Mssillou *et al.* (2020), qui ont évalué l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. par le test DPPH et ont obtenu une IC_{50} de $82,01 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$. Bien que l'activité observée dans notre étude soit plus faible, les deux travaux confirment le potentiel antioxydant de ces huiles essentielles.

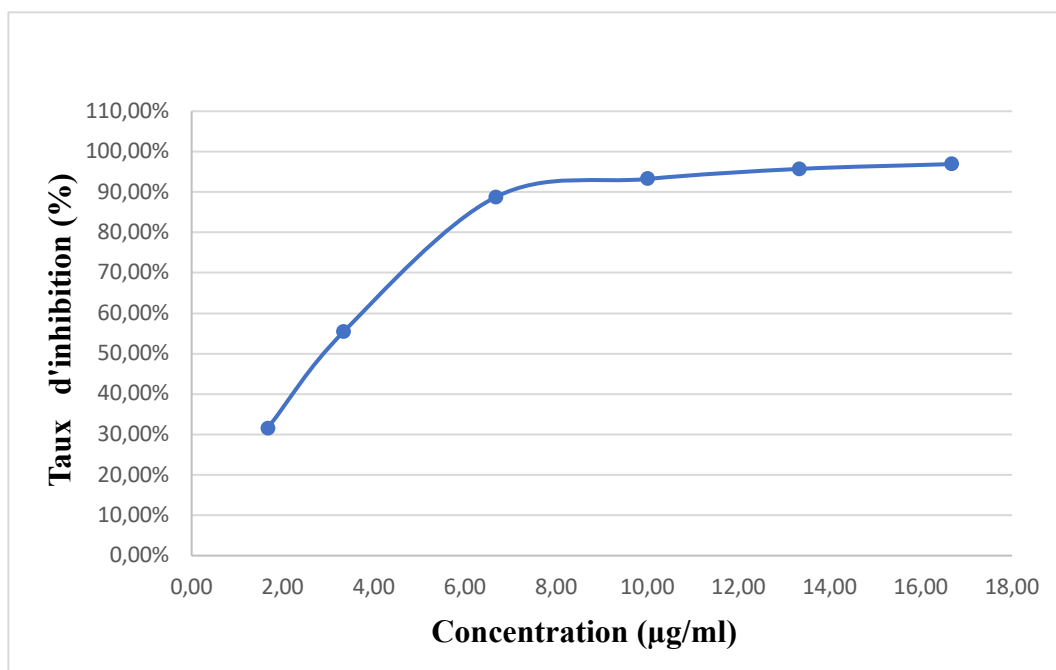


Figure 19. Évaluation de l'activité antiradicalaire de l'acide Ascorbique par Le test de DPPH.

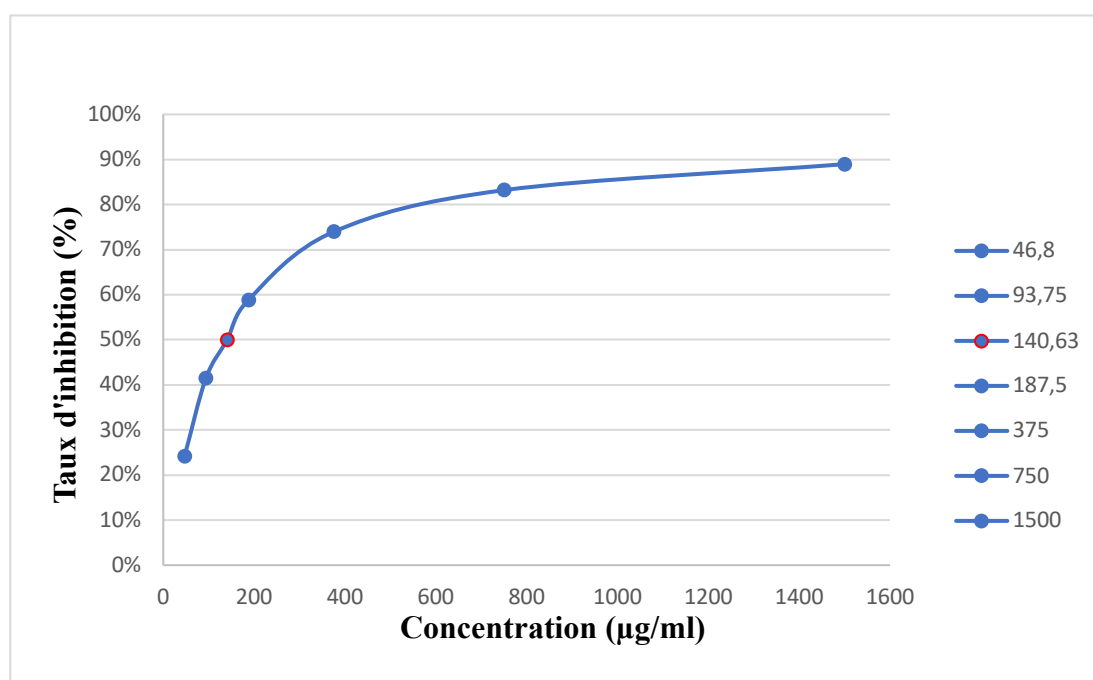


Figure 20. Évaluation de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. par le test DPPH.

5.4. Évaluation de l'activité antifongique des HEs de *Laurus nobilis* L.

5.4.1. Réactivation et confirmation des isolats microbiens étudiés

5.4.1.1. Examen macroscopique

Après incubation des cultures à 30 -37°C pendant 24h-7jrs, l'observation macroscopique a permis de mettre en évidence des caractères morphologiques distinctifs selon les espèces étudiées. Les colonies de *Candida albicans* (fig. 21) se caractérisent par un aspect blanc, crémeux et lisse, parfois légèrement rugueux (Ackah Bognan, 2009).

Concernant les dermatophytes (fig. 22), les espèces du genre *Microsporum* présentent des colonies blanches, duveteuses et étoilées, associées à un revers jaune orangé. En revanche, les espèces du genre *Trichophyton* développent des colonies blanches, bombées et duveteuses, avec un revers variant du jaune au brun (Marijon *et al.*, 2020).

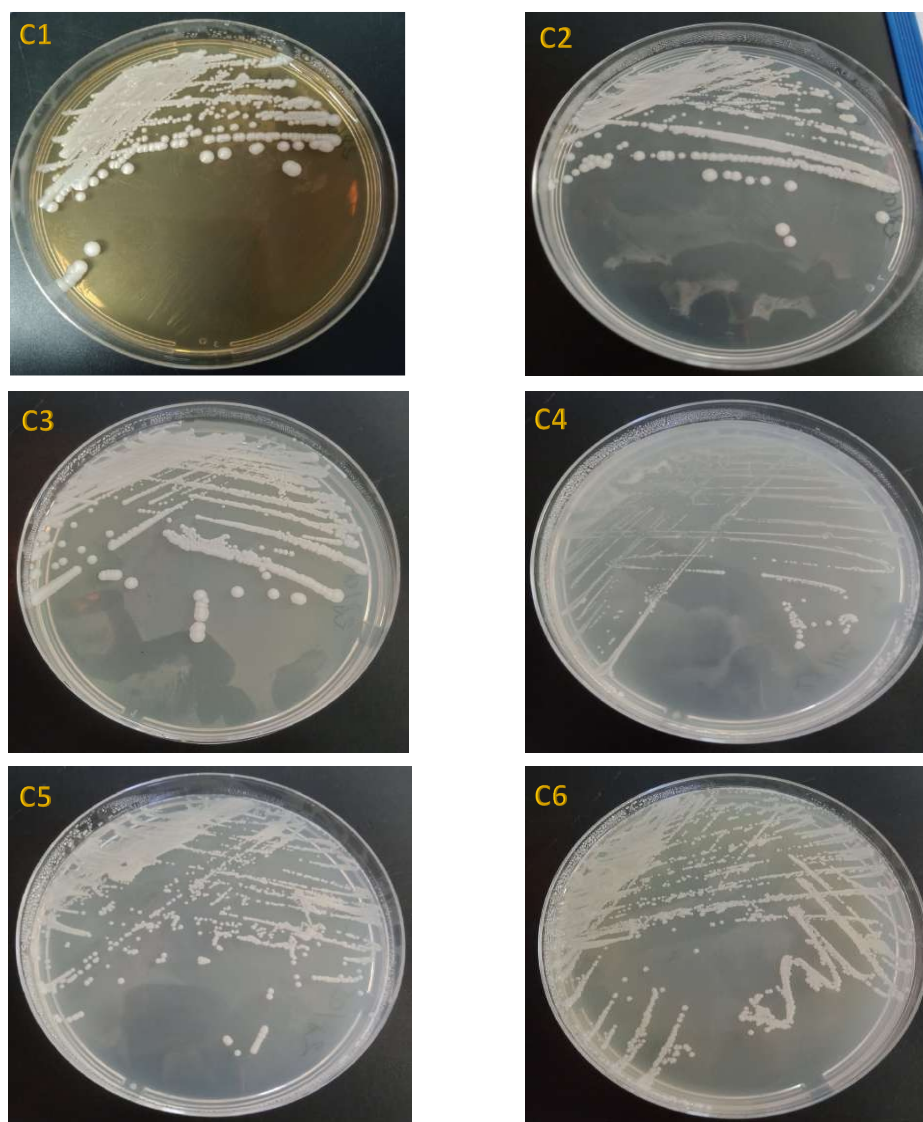
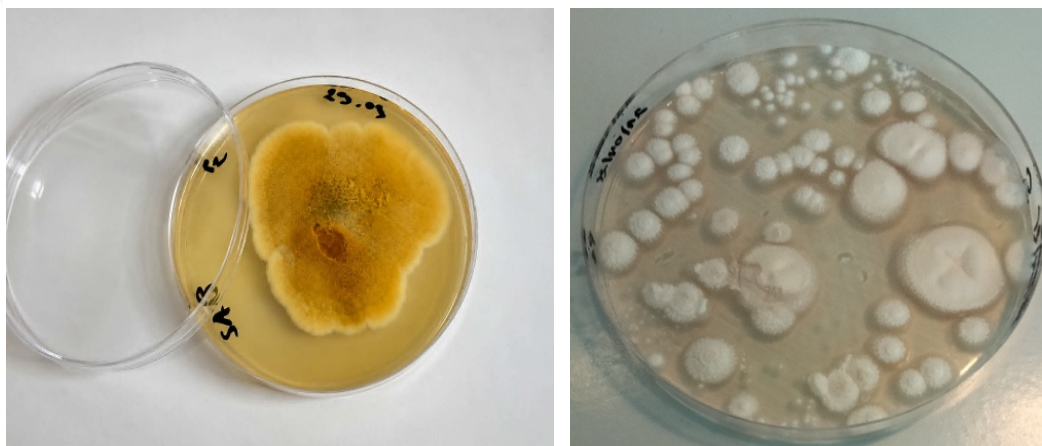


Figure 21. Aspect macroscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de *Candida albicans* après incubation de 48h sur gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol..



D2 : *Trichophyton*

D1 : *Microsporum*

Figure 22. Aspect macroscopique de *Trichophyton* (D2) et *Microsporum* (D1) après incubation de 7 jours sur gélose Sabouraud dextrosée supplémentée en chloramphénicol.

5.4.1.2. Examen microscopique

L'observation microscopique représente une étape fondamentale dans l'identification des champignons, puisqu'elle permet d'étudier la morphologie des cellules microbiennes à l'état frais ou après coloration. Après coloration de Gram, *Candida albicans* se présente (fig. 23) sous forme de levures Gram positives, de couleur violette, ovoïdes et bourgeonnantes, parfois accompagnées de pseudohyphes (Procop *et al.*, 2017). Selon Ackah Bognan (2009), cette levure est caractérisée par des cellules ovoïdes à bourgeonnement multilatéral. Dans notre étude, l'examen microscopique de *Candida albicans* (fig. 24) a mis en évidence des cellules ovoïdes bourgeonnantes.

Concernant les dermatophytes, l'analyse microscopique a révélé la présence d'un mycélium fin et septé ainsi que de structures de reproduction caractéristiques telles que les macroconidies et les microconidies (Verma *et al.*, 2018). Les observations obtenues (fig. 25) ont montré que le genre *Microsporum* se caractérise par des macroconidies fusiformes associées à un mycélium cloisonné, tandis que le genre *Trichophyton* présente des microconidies rondes ou piriformes disposées le long des hyphes, accompagnées d'un mycélium fin et septé (Marijon *et al.*, 2020).

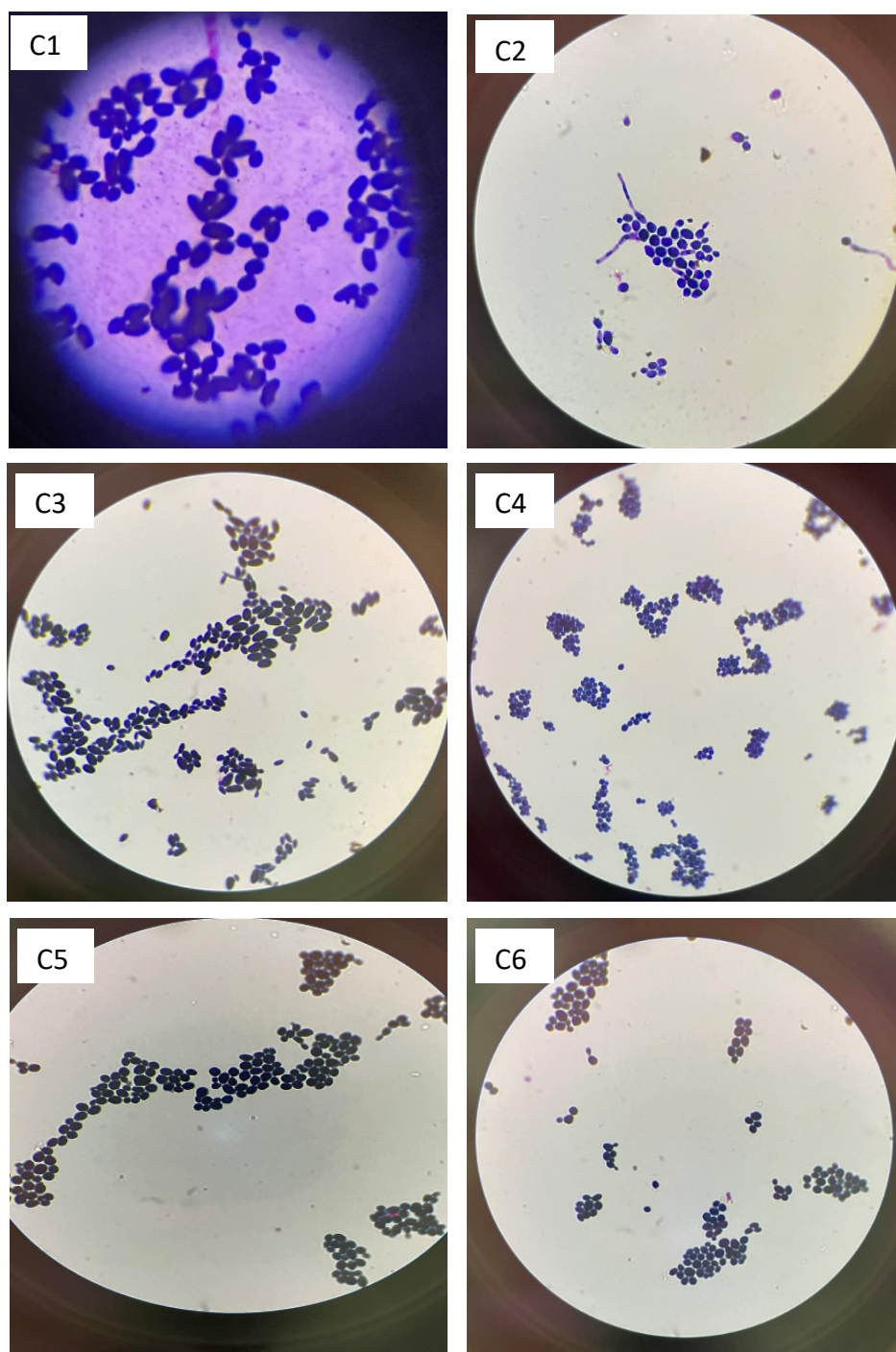


Figure 23. Aspect microscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de *Candida albicans* après coloration de Gram au grossissement X 100.

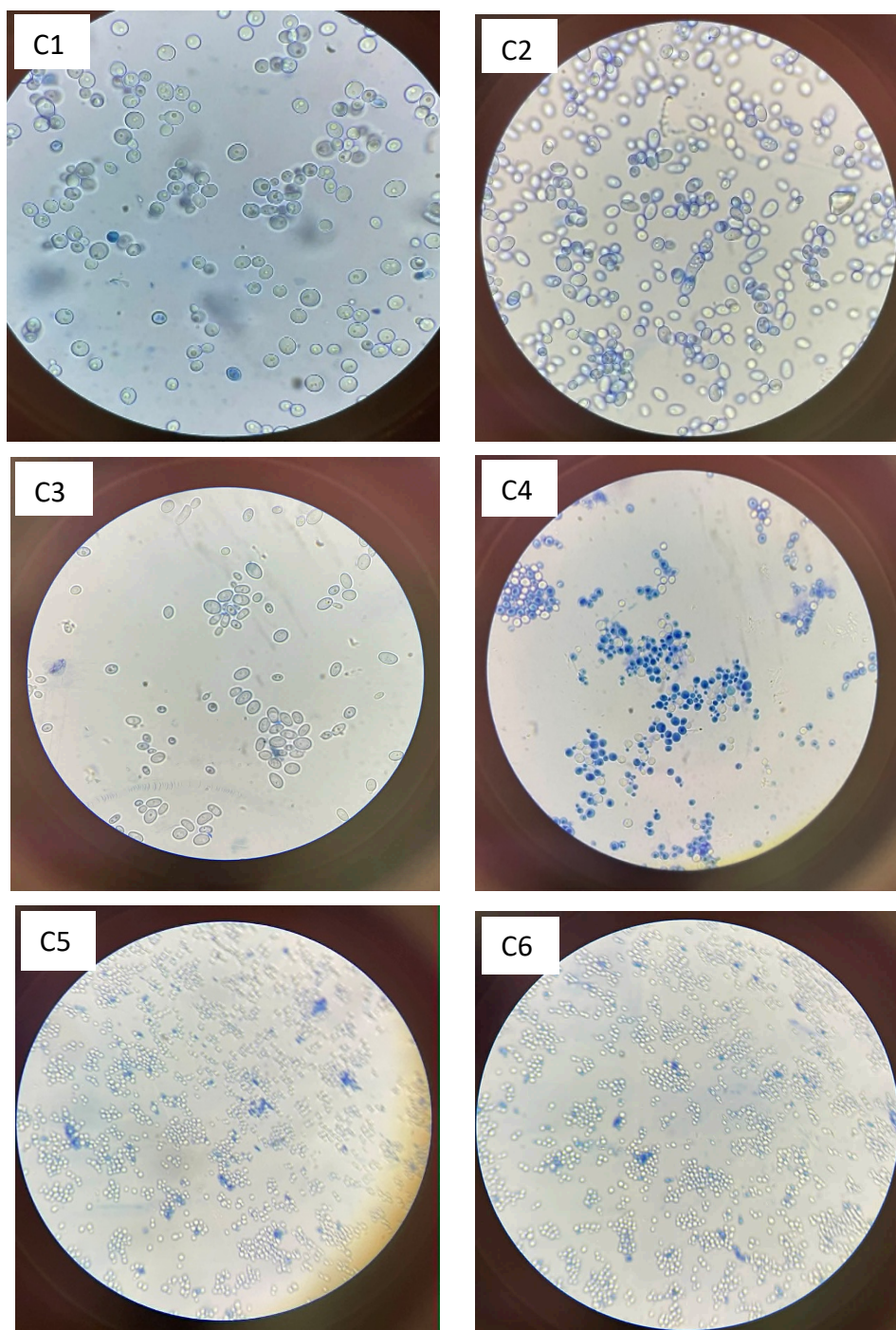


Figure 24. Aspect microscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5 et C6) de *Candida albicans* après coloration au bleu de méthylène au grossissement X 100.

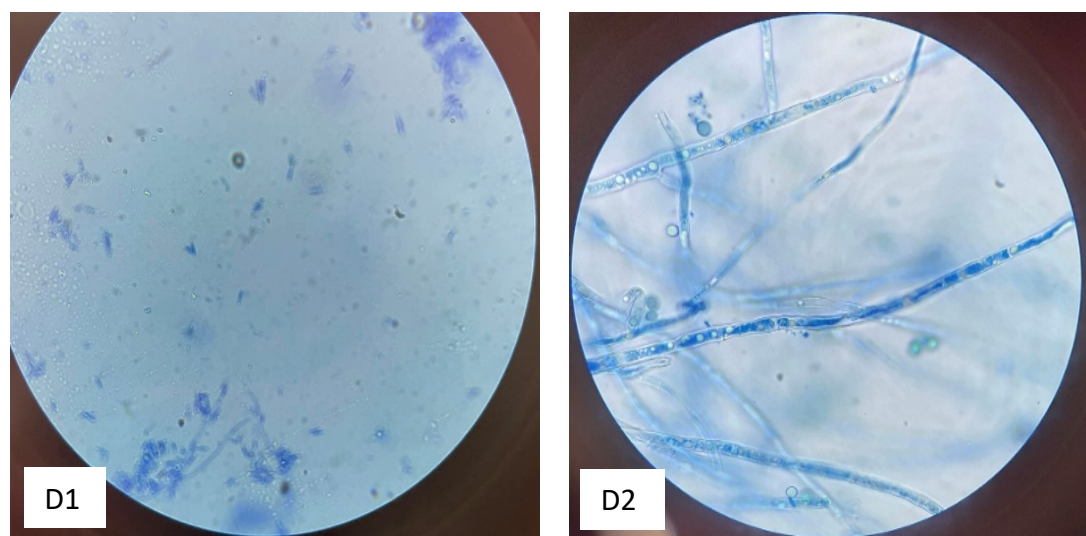


Figure 25. Aspect microscopique de *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2,) après coloration au bleu de lactophénol coton au grossissement X 100.

5.4.2. Test de diffusion en milieu solide (méthode des disques – aromatoگرامme)

Les résultats présentés dans le tableau 7 montrent que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. possèdent une activité antifongique notable, comme en témoignent les diamètres des zones d'inhibition observés. La sensibilité aux différentes huiles a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition comme suit : non sensible pour les diamètres ($\emptyset \leq 8$ mm), sensible (+) pour les diamètres ($9 \text{ mm} \leq \emptyset \leq 14$ mm), très sensible (++) pour les diamètres de ($15 \text{ mm} \leq \emptyset \leq 19$ mm) et extrêmement sensible (+++) pour les diamètres ($\emptyset \geq 20$ mm) (Ponce *et al.*, 2003). La sensibilité variable des isolats (fig. 28), pourrait être liée à des différences physiologiques et structurales entre les souches, influençant leur réponse aux composés bioactifs des huiles essentielles.

Tableau 7. Diamètres des halos d'inhibition obtenus par l'aromatoگرامme des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis les isolats étudiés.

Isolats		Zones d'inhibition en (mm)		Résultats de sensibilité
		HEs	Éconazole	
C1	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	35,1	40	ES
C2	<i>Candida albicans</i>	38,8	26 .7	ES
C3		38,9	30.12	ES
C4		17,4	31.25	ES
C5		30,4	27.03	ES
C6		50	30.79	ES
D1	<i>Microsporium</i>	39,6	17.79	ES
D2	<i>Trichophyton</i>	67.5	47.40	ES

ES : extrêmement sensible

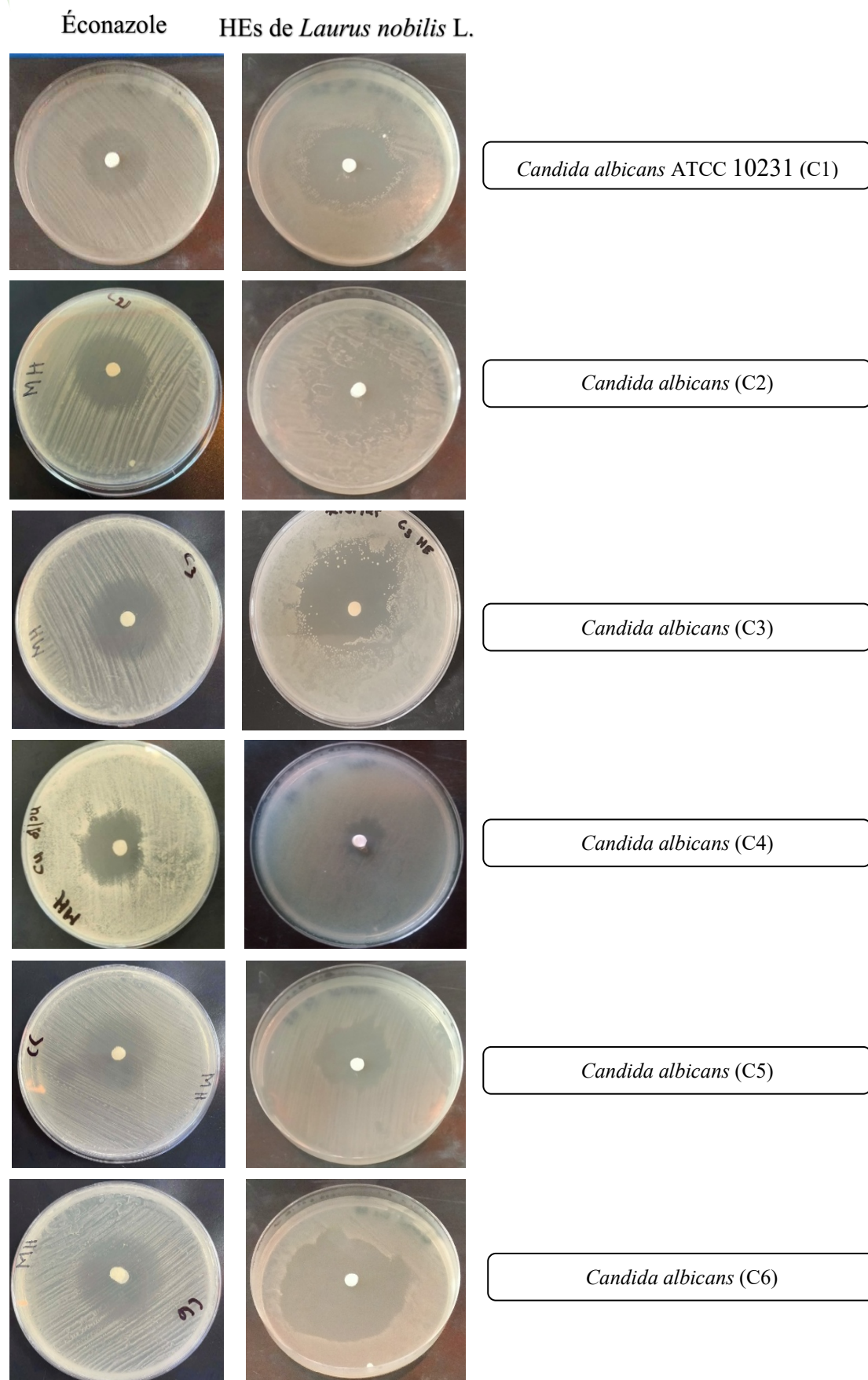


Figure 26. Aromatogramme des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis les isolats de *Candida albicans* par diffusion en milieu gélosé.

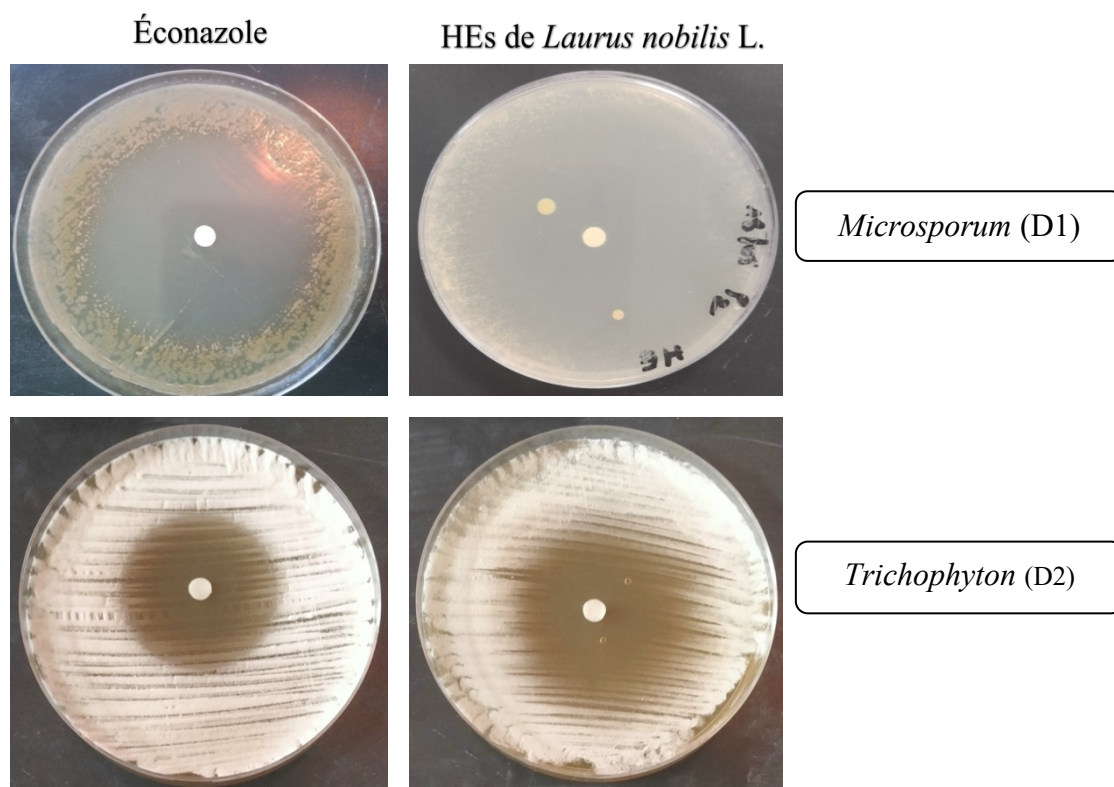


Figure 27. Aromatogramme des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis les dermatophytes, *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2) par diffusion en milieu gélosé.

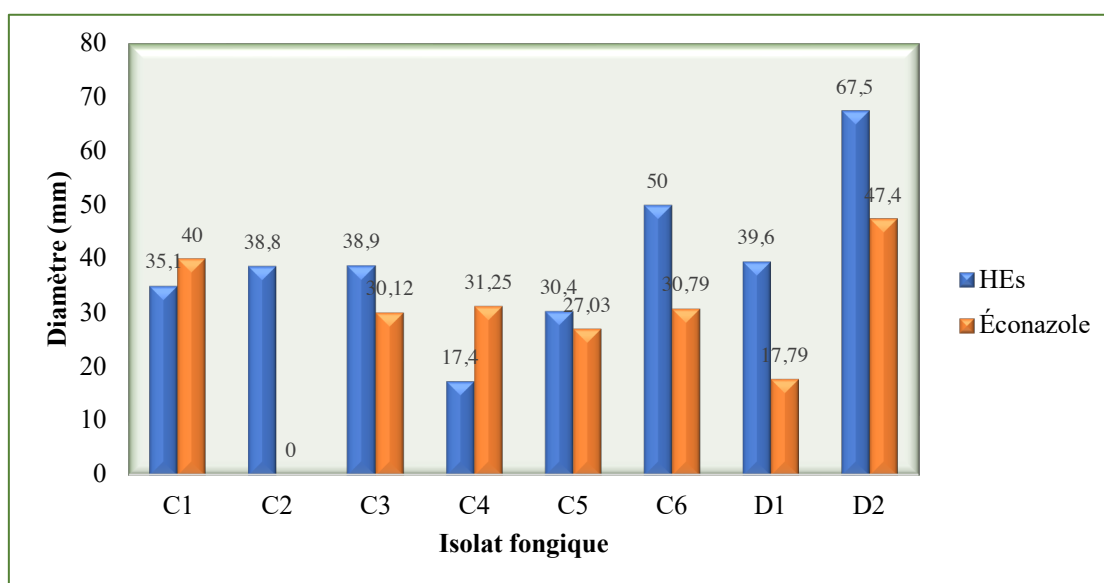


Figure 28. Évaluation de l'activité antimicrobienne des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis les isolats fongique testées.



Les données du tableau 6 indiquent que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. possèdent une activité antifongique importante vis-à-vis les différentes souches testées. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus varient entre 17,4 mm et 67,5 mm, traduisant une sensibilité élevée de l'ensemble des isolats, classés comme extrêmement sensibles (ES). Ces résultats sont supérieurs à ceux rapportés par **Guedouari et al. (2016)**, qui ont observé une zone d'inhibition de 21 mm contre *Candida albicans*, ainsi qu'à ceux de **Mkaddem Guedri et al. (2020)**, qui ont rapporté des diamètres d'inhibition atteignant 35 mm contre cette même levure. Par ailleurs, les résultats obtenus vis-à-vis les dermatophytes sont en accord avec les observations de **Parrish et al. (2020)**, qui ont évalué l'activité antifongique de plusieurs huiles essentielles contre différentes espèces de *Microsporum* et *Trichophyton* par la méthode de diffusion sur gélose, dont les zones d'inhibition comprises entre 31 et 71,9 mm correspondent à une activité antifongique modérée à forte, ce qui confirme le potentiel antifongique mis en évidence dans ce travail. Cette activité antifongique pourrait s'expliquer par la richesse des huiles essentielles en composés bioactifs, notamment le 1,8-cinéole (eucalyptol), reconnu pour son potentiel antifongique (**Guedouari et al., 2016**).

5.4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

L'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. est illustrée par les valeurs de CMI rapportées dans le tableau 8, qui varient de 5 à 10 mg/ml (fig. 29 et 30). Ces résultats traduisent une activité antifongique observable avec une efficacité variable. Ils sont comparables à ceux rapportés par **Ouibrahim et al. (2015)** qui ont trouvé des valeurs de CMI variant de 0,68 à 1,08 mg/ml vis-à-vis *Candida albicans*. De même, **Mssillou Ismail et al. (2020)** ont observé des valeurs comprises entre 0,05 et 0,46 mg/ml sur différents champignons filamenteux. Par ailleurs, **Belasli et al. (2020)** ont rapporté une CMI de 1,75 mg/ml.

La présence de monoterpènes oxygénés, en particulier le 1,8-cinéole (eucalyptol), pourrait contribuer à l'efficacité antifongique observée, en raison de leurs effets inhibiteurs sur la croissance fongique (**Caputo et al., 2017**).

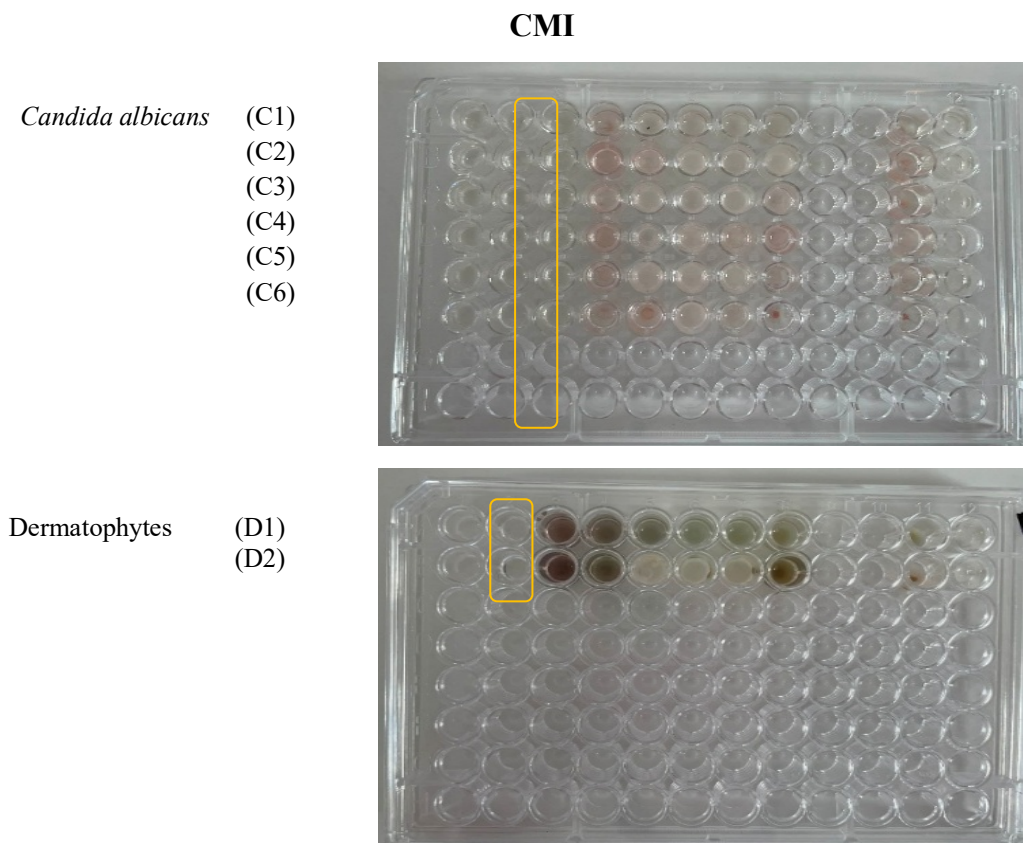


Figure 29. Concentration minimale inhibitrice des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis de *Candida albicans*, *Microsporum* et *Trichophyton*.

Tableau 8. Concentration minimale inhibitrice (CMI) des HEs de *Laurus nobilis* L.

Isolats		Huiles essentielles en mg/ml								
		20	10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	Control Positif	Control Négatif
Candida albicans	C1	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C2	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C3	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C4	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C5	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C6	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Dermatophytes	D1	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	D2	-	-	+	+	+	+	+	+	-

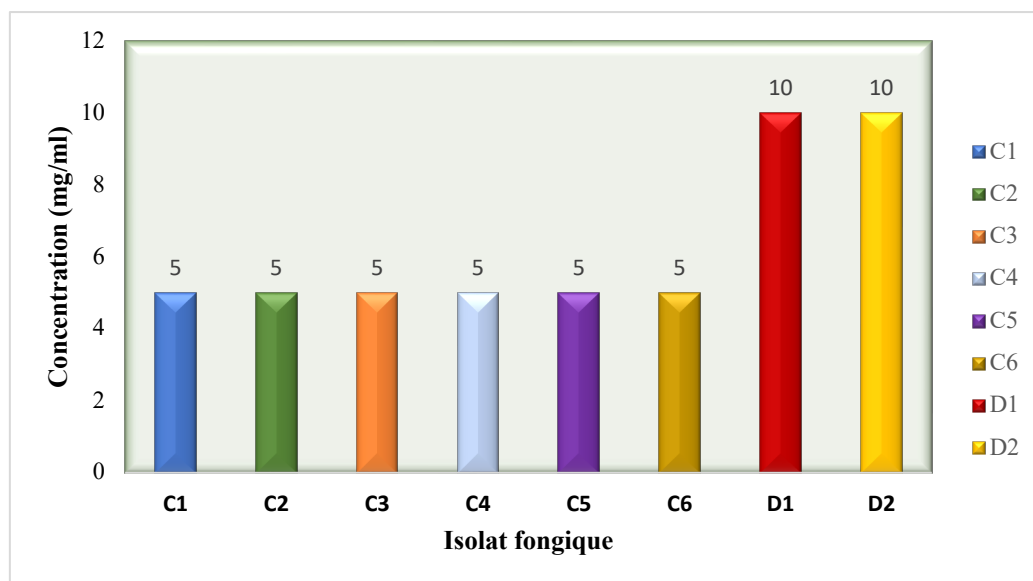


Figure 30. Évaluation de la concentration minimale inhibitrice des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis de *Candida albicans*, *Microsporum* et *Trichophyton*.

5.4.4. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

La concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration des huiles essentielles capables de tuer au moins 99,9 % de l'inoculum microbien initial. Elle est déterminée par repiquage puits sans aucune croissance visible et correspond à la première concentration maintenue les 0,1% de survivants (Chebaibi *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus (fig. 31 et 32), révèlent une activité fongicide notable des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis des isolats de *Candida albicans* et des dermatophytes étudiés (tableau 9), à travers la détermination de la concentration minimale fongicide (CMF). Les valeurs de CMF obtenues sont comprises entre 5 et 20mg/ml. Les rapports CMF/CMI déterminés sont compris entre 1 et 4. Les valeurs obtenues sont cohérentes avec celles rapportées par Park *et al.* (2009), qui ont montré es CMF comprises entre 1,25 et 5 mg/ml contre des espèces du genre *Trichophyton*. De même, Aazza *et al.* (2011) qui ont révélé des CMF variant de 2,5 à 10 mg/ml contre plusieurs champignons pathogènes. Donc, les valeurs obtenues dans notre étude s'inscrivent dans la gamme des concentrations antifongiques décrites et confirment le potentiel antifongique d'HEs de *Laurus nobilis* L.

Le potentiel antifongique de ces huiles essentielles est lié à leurs composés majeurs volatils, notamment le 1,8-cinéole (eucalyptol) (Bakkali *et al.*, 2008).

CMF

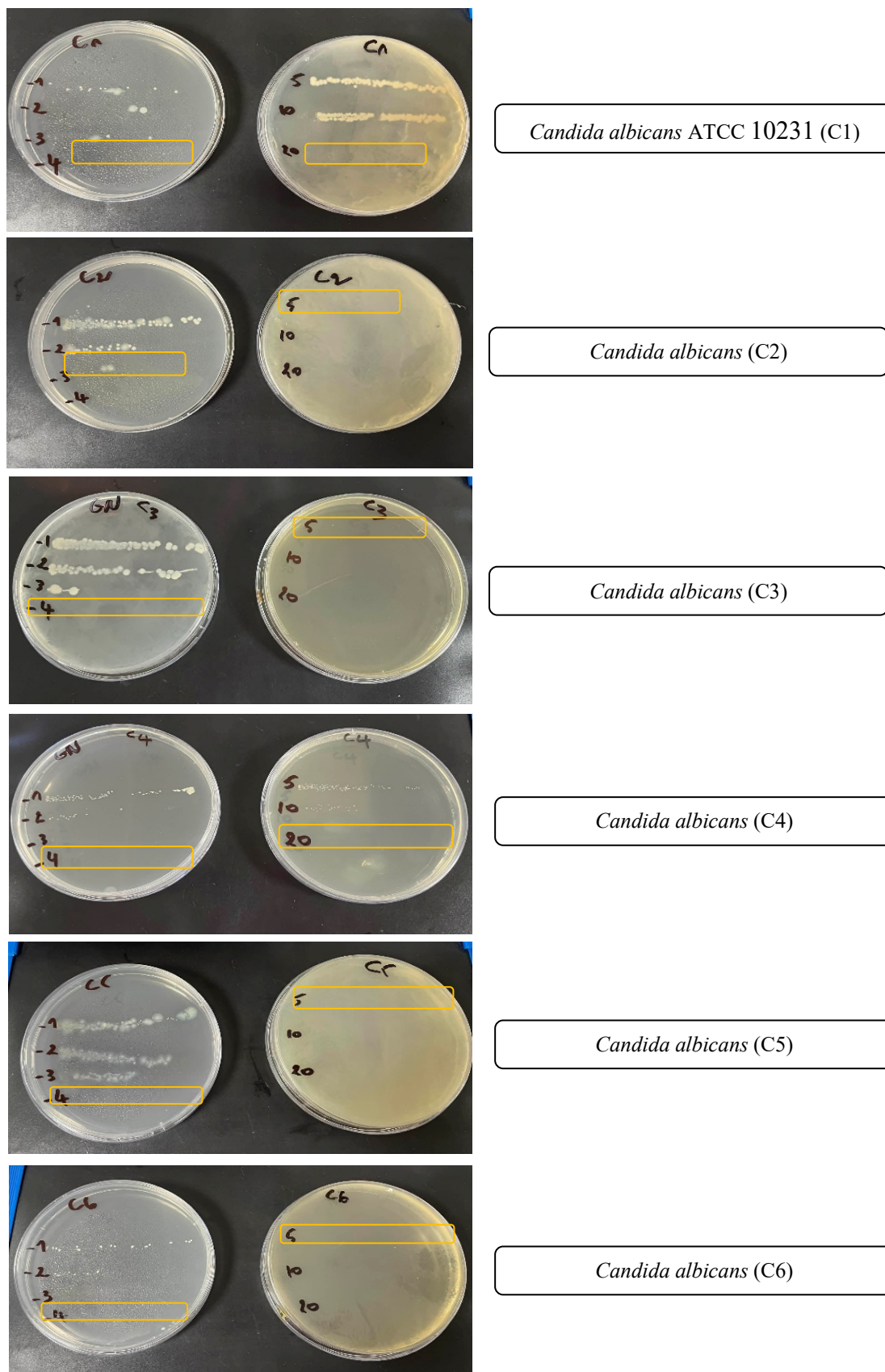


Figure 31. Concentration minimale fongicide des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans*.

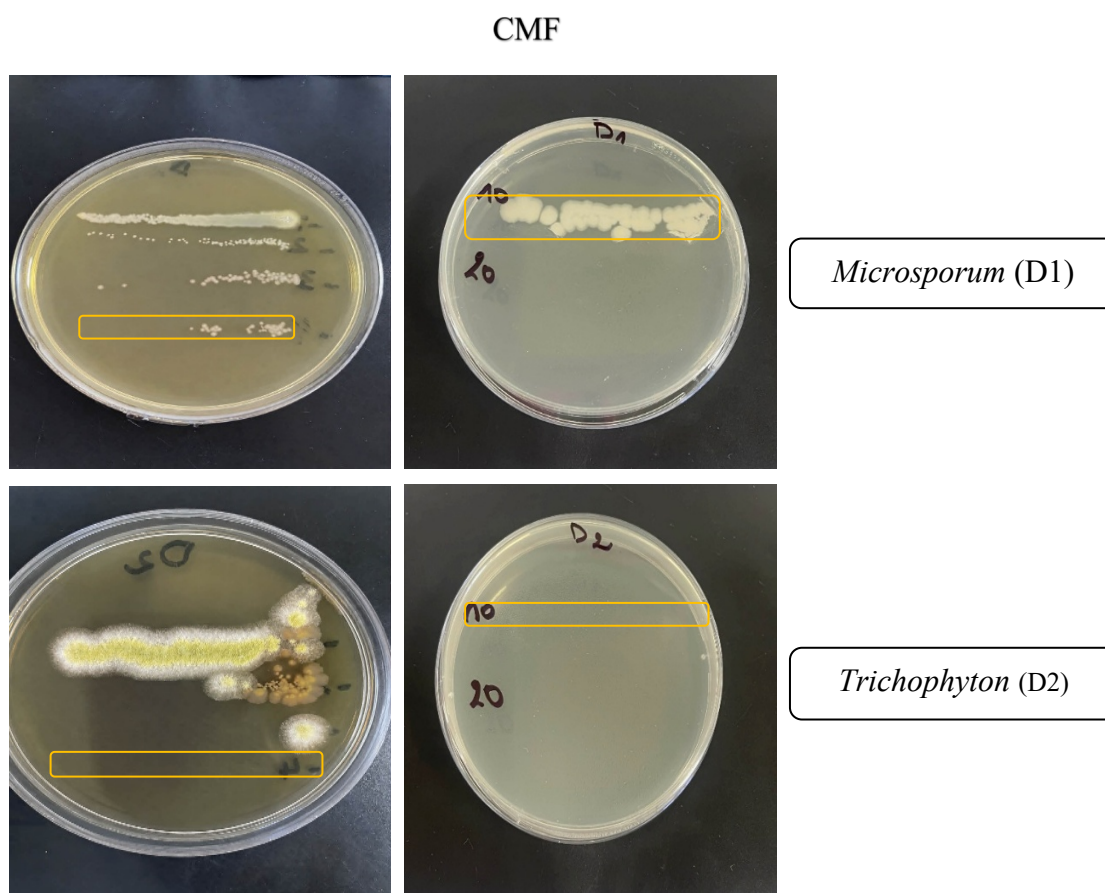


Figure 32. Concentration minimale fongicide des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2).

Tableau 9. Concentration minimale fongicide (CMF) et rapport d'activité des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

	Isolats	CMI mg/ml	CMF mg/ml	CMF/CMI	Activité
<i>Candida albicans</i>	C1	5	20	4	Fongicide
	C2	5	5	1	
	C3	5	5	1	
	C4	5	20	4	
	C5	5	5	1	
	C6	5	5	1	
Dermatophytes	D1	10	10	1	
	D2	10	10	1	

5.5. Formulation d'un produit antifongique à base des HEs de *Laurus nobilis* L.

5.5.1. Synthèse de la formulation antifongique (Spray)

La formulation obtenue se présentait sous forme d'une solution limpide (fig. 33), homogène et physiquement stable, sans apparition de précipité ni séparation de phases après homogénéisation. L'incorporation de 300 μ L d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L., en présence de dipropylène glycol (DPG) et d'éthanol à 70 %, a permis d'améliorer la dispersion des huiles essentielles dans la phase aqueuse et d'obtenir une préparation stable. Le pH final, ajusté entre 5 et 5,5, est compatible avec le pH physiologique cutané et contribue également à la stabilité des composés volatils. Globalement, la formulation élaborée présente des caractéristiques physicochimiques satisfaisantes, traduisant une bonne homogénéité et une stabilité apparente du système, l'association du DPG et de l'éthanol jouant un rôle clé dans la solubilisation des HEs et la limitation des phénomènes d'instabilité liés à son caractère hydrophobe.



Figure 33. La formulation obtenue se présentait sous forme d'une solution limpide.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de **Ru et al. (2022)**, qui ont développé une nanoémulsion à base d'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. et étudié son application sur des fruits frais coupés de type muskmelon. Ces auteurs ont démontré que la nanoémulsification des huiles essentielles, associée à l'utilisation de co-solvants et d'agents tensioactifs appropriés, améliore significativement la stabilité physicochimique du système ainsi que la dispersion des composés hydrophobes, en réduisant la tension interfaciale entre les phases aqueuse et huileuse.

5.5.2. Évaluation de l'efficacité antifongique du produit formulé (Spray)

L'activité antifongique du spray formulé à base des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a montré une inhibition de la croissance des souches testées, incluant *Candida albicans* et les dermatophytes (fig. 34), Se traduisant par la formation de halos d'inhibition nettement visibles, dont les diamètres varient entre 12 mm et 58,55 mm (tableau 10). où le produit commercial (Éconazole 1 %) a montré une activité antifongique légèrement supérieure, se traduisant par des zones d'inhibition dont les diamètres étaient compris entre 13,5 mm et 65 mm.

Tableau 10. Diamètres des halos d'inhibition obtenus par l'aromatogramme de la formulation naturelle de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis les isolats étudiés.

Isolats		Zones d'inhibition en (mm)		Résultats de sensibilité
		Spray	Éconazole1%	
C1	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	30	65	ES
C2	<i>Candida albicans</i>	26	55	ES
C3		12	35.2	S
C4		14	30	S
C5		23	33	ES
C6		30.2	26.9	ES
D1	<i>Microsporum</i>	33,75	13,5	ES
D2	<i>Trichophyton</i>	58,55	38,3	ES

S : sensible
ES : extrêmement sensible

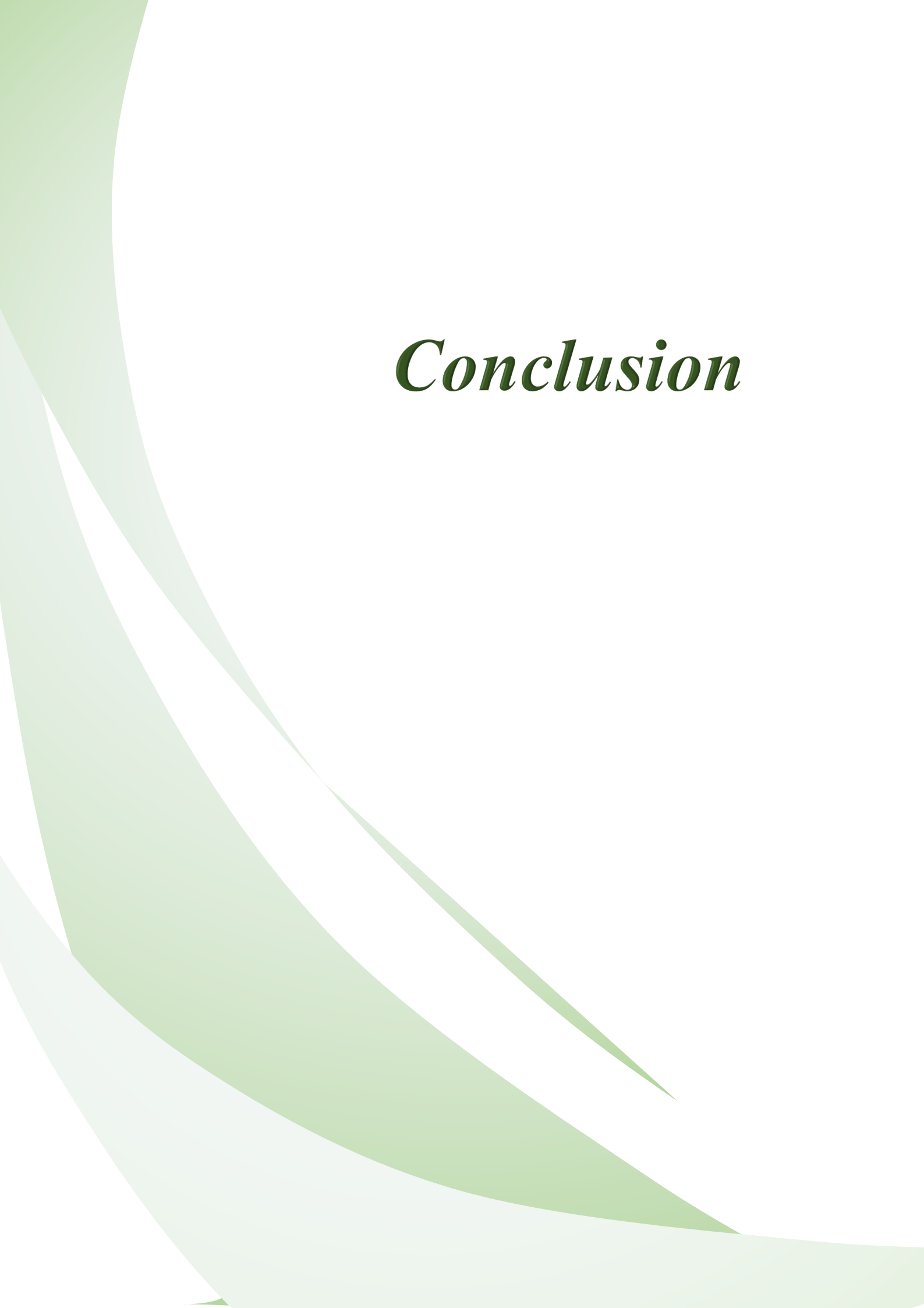


Figure 34. Activité antifongique du spray formulé vis-à-vis par la méthode de diffusion en milieu gélosé.



Ces résultats sont en accord avec **Herrera-Rodríguez *et al.* (2018)** ont montré que les émulsions d'huiles essentielles présentent une activité antifongique significative contre *Candida albicans*, influencée par le type d'émulsifiant et la stabilité du système. De plus., **Singh *et al.* (2023)** ont démontré que les micro-emulgels à base des huiles essentielles renforcent l'activité antifongique par une libération contrôlée et une meilleure pénétration des composés actifs.

L'activité antifongique de l'éconazole 1 % est plus élevée par rapport à la formulation à base des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. s'explique principalement par la nature du produit de référence. L'éconazole est un antifongique de synthèse constitué d'un principe actif parfaitement défini ce qui lui confère une efficacité ciblée, constante et fortement reproductible. À l'inverse, notre travail porte sur des huiles essentielles brutes, dont l'activité dépend de la synergie entre leurs différents constituants chimiques. Dans ce contexte, le principe actif n'est pas totalement individualisé. Toutefois, une analyse chromatographique plus approfondie permettrait d'identifier avec précision les composés responsables de l'activité antifongique. ce qui pourrait optimiser l'efficacité de ce spray.



Conclusion

Ce travail s'inscrit dans l'exploration du potentiel antioxydant, antifongique et antidermatophyte des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., ainsi que dans leur valorisation en tant que produit naturel. Il a consisté à étudier leur composition chimique et à évaluer leurs activités biologiques, notamment antioxydante et antifongique, sur plusieurs isolats de *Candida albicans* et de dermatophytes (*Microsporum* et *Trichophyton*). L'objectif principal était d'évaluer leur efficacité potentielle dans la prise en charge des infections fongiques, notamment l'onychomycose, en vue de leur valorisation comme formulation thérapeutique naturelle.

Les huiles essentielles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau, puis leur composition chimique a été caractérisée par chromatographe shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS-QP2010 SE. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical libre DPPH. L'activité antifongique *in vitro* a été étudiée qualitativement par la méthode de l'aromatogramme, fondée sur la mise en évidence de zones d'inhibition, et quantitativement par la détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF) par la méthode des microdilutions. Par ailleurs, une formulation antifongique sous forme de spray à base des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a été développée selon une approche galénique, dans des conditions aseptiques, avec optimisation de la composition et du pH afin d'assurer la stabilité et l'homogénéité du produit. Enfin, l'efficacité antifongique de cette formulation a été évaluée *in vitro* sur différents isolats fongiques à travers des tests d'aromatogramme, permettant d'apprécier son activité inhibitrice et son potentiel comme agent antifongique naturel.

L'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a permis d'obtenir un rendement de 0,49 %. L'analyse chromatographique a mis en évidence la présence de 41 composés, dominés principalement par l'eucalyptol (39,08 %) et le linalol (14,56 %).

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode DPPH a révélé une capacité de piégeage des radicaux libres avec une valeur d'IC₅₀ de 140,63 µg/ml. Bien que cette activité soit inférieure à celle de la vitamine C utilisée comme référence (IC₅₀ = 2,95 µg/ml), elle traduit un potentiel antioxydant modéré des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. dû à la présence de composés bioactifs à propriétés antioxydantes.

Sur le plan antifongique, Les huiles essentielles ont démontré une inhibition notable de la croissance des dermatophytes et des souches de *Candida albicans*, avec des diamètres de zones d'inhibition compris entre 17,4 et 67,5 mm. Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) et de concentration minimale fongicide (CMF) étaient comprises entre 5 et

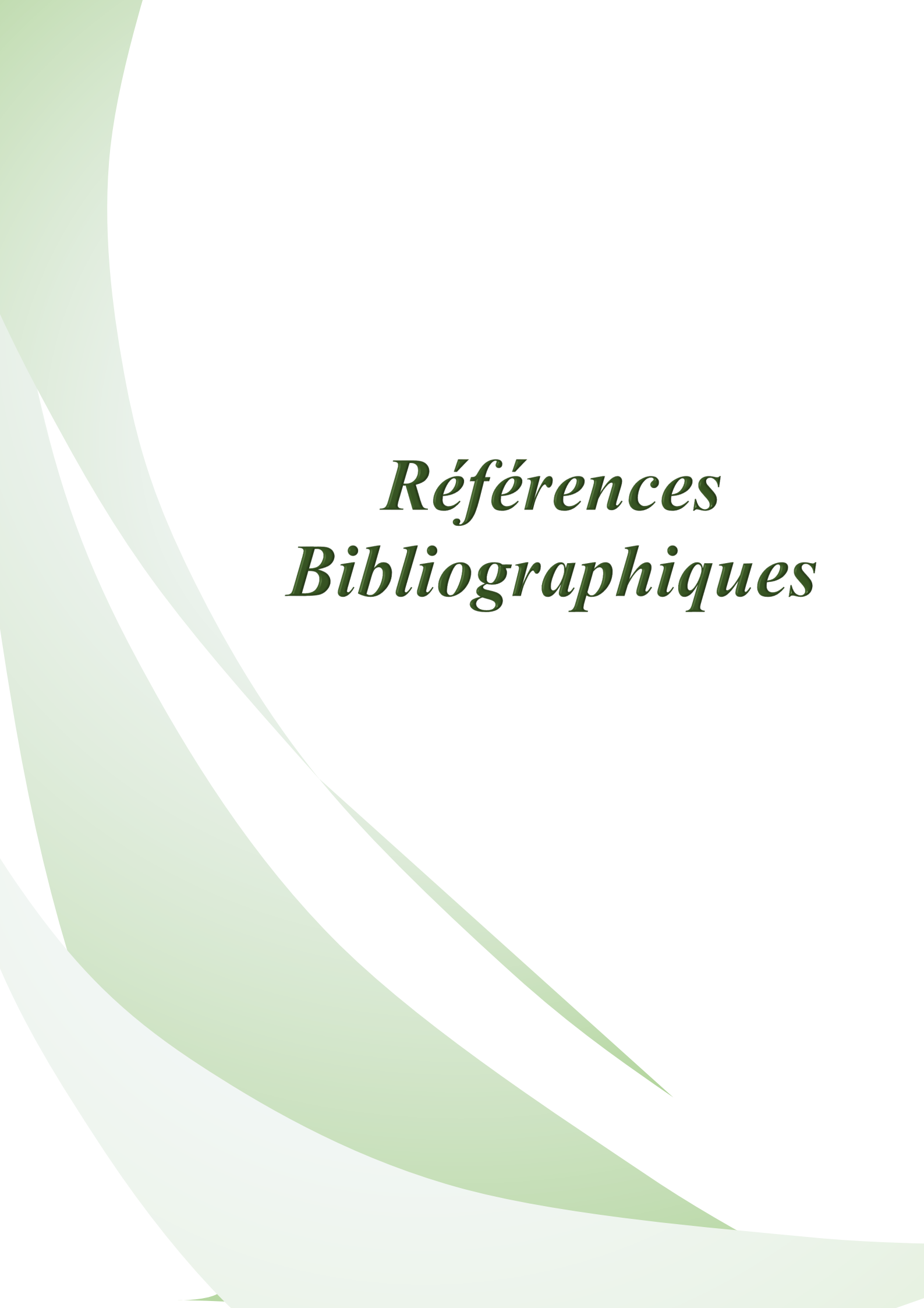
10 mg/ml. Par ailleurs, le rapport CMF/CMI égal à 1 pour la majorité des isolats témoigne d'une activité principalement fongicide, traduisant l'efficacité des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

La formulation antifongique (spray) obtenue s'est présentée sous la forme d'une solution limpide, homogène et stable, avec un pH compris entre 5 et 5,5 compatible avec une application cutanée. Elle a exercé une activité antifongique notable avec la présence des diamètres des zones d'inhibition variant de 12 à 58,55mm.

Globalement, les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. ont montré des activités antioxydante et antifongique intéressantes, attribuées notamment à leur richesse en eucalyptol et en linalol. La formulation d'un spray antifongique stable et actif renforce leur potentiel comme alternative naturelle pour la lutte contre les infections fongiques, en particulier l'onychomycose.

Comme perspectives, et afin de valoriser d'avantage les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. ainsi que le spray antifongique développé, il serait pertinent d'entreprendre des études complémentaires, notamment :

- Des essais *in vivo* et cliniques afin de confirmer l'efficacité thérapeutique de la formulation chez l'homme,
- L'évaluation de sa toxicité et de son innocuité à court et à long terme afin de garantir son utilisation en toute sécurité,
- Isoler et identifier les composés actifs des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. par des techniques chromatographiques et spectroscopiques afin de valoriser leur potentiel antifongique naturel.



Références Bibliographiques

- **Aazza, S.,** Lyoussi, B., & Miguel, M. G. (2011). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 16(9), 7672–7690.
- **Ackah, J. A. A. B.** (2009). Évaluation et essai d'optimisation de l'activité antifongique de *Terminalia catappa* Linné (Combretaceae) de la pharmacopée ivoirienne sur la croissance in vitro de *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Trichophyton mentagrophytes* [Thèse de doctorat, Université de Cocody-Abidjan].
- **Ahmed, S.,** Jamil Sh., and Ahmed Siddiqui, M.A. (2024). Secondary metabolites-God-gifted arsenal for plants, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 13(1): 38-43
- **Aisyah, Y.,** Irfan, Yunita, D., & Ikhwana, Y. (2024). Formulation and characteristics of skin cream with the addition of essential oil blend. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1297(1), 012080. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1297/1/012080>
- **Allizond, V.,** Cavallo, L., Roana, J., Mandras, N., Cuffini, A. M., Tullio, V., & Banche, G. (2023). *In vitro* antifungal activity of selected essential oils against drug-resistant clinical *Aspergillus* spp. strains. *Molecules*, 28(21), 7259. <https://doi.org/10.3390/molecules28217259>
- **Arabi, A.** (2018). Effet antimicrobien des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L. sur quelques espèces bactériennes multirésistantes de la microflore digestive humaine [Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem]. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.
- **Arumugham, T.,** Rambabu, K., Hasan, S. W., Show, P. L., Rinklebe, J., & Banat, F. (2021). Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications – A review. *Chemosphere*, 271, 129525. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129525>
- **Babushok, V. I.,** Linstrom, P. J., & Zenkevich, I. G. (2011). Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 40(4), 043101. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>
- **Bakkali, F.,** Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- **Baran, R.,** et Hay, R. (2014). Nouvelle classification clinique des onychomycoses. *Journal de Mycologie Médicale*, 24(4), 247-260. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.10.00>
- Bassyouni, R.H., El-Sherbiny, N.A., Abd El Raheem, T.A., & Mohammed, B.H. (2017). Changing in the Epidemiology of Tinea Capitis among School Children in Egypt. *Annals of dermatology*, 29(1), 13–19.
- **Belasli, A.,** Ben Miri, Y., Aboudaou, M., Aït Ouahioune, L., Montañes, L., Ariño, A., & Djenane, D. (2020). Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.): Potential use as wheat preservative. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 4717–4729. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1650>
- **Ben Miri, Y.** (2025). Essential oils: chemical composition and diverse biological activities: A comprehensive review. *Natural Product Communications*, 20(1). <https://doi.org/10.1177/1934578X241311790>
- **Benmessaoud, A.** (2025). Recherche des inhibiteurs de quorum sensing de *Candida albicans* à partir des plantes médicinales locales [Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli de Mascara].
- **Bergman, M. E.,** Kortbeek, R. W. J., Gutensohn, M., & Dudareva, N. (2024). Plant terpenoid biosynthetic network and its multiple layers of regulation. *Progress in Lipid Research*, 95, 101287. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2024.101287>
- **Bongomin, F.,** Batac, C.R., Richardson, M.D., & Denning, D.W. (2018). A Review of Onychomycosis Due to *Aspergillus* Species. *Mycopathologia*, 183(3), 485–493.
- **Borozan, A.B.,** Bordean, D.M., Misca, C., Beluborozan, V., Popescu, S., Moldovan, C., Dumbrava, D.G., Lăcătuș M. (2025). *Laurus nobilis* L. phytochemical profile, bioactivity and less known or unexplored aspects. A short review, *JOURNAL of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 29(2), 419-428.
- **Bottoni, M.,** Milani, F., Mozzo, M., Radice Kolloffel, D. A., Papini, A., Fratini, F., Maggi, F., & Santagostini, L. (2021). Sub-Tissue Localization of Phytochemicals in *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl. Growing in Northern Italy. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(5), 1008.
- **Boukhatem, M. N.,** Ferhat, A., et Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9(2), 1653–1659.
- **Bounab, S.** (2020). Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales [Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1].
- **Boussaoudi, I.,** Farihi, A., Ousman, B. M., Benoutman, A., Bouhrim, M., Shahat Hussein, A. A., Herqash, R. N., Sakar, E. H., Lamarti, A., & El Mtili, N. (2025). Phytochemical composition and antioxidant efficacy of *Laurus nobilis* L.: impact of sex, plant stage, and extraction solvents. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 9, 1579216. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1579216>

- **Briot, C.** (2016). Le laurier noble, plante des héros : aspects historiques, botaniques et thérapeutiques. Hal-01770854.
- **Caputo, L.,** F. Nazzaro, LF Souza, L. Aliberti, L. De Martino, F. Fratianni, R. Coppola et V. De Feo. (2017). *Laurus nobilis* : Composition de l'Huile Essentielle et Ses Activités Biologiques. *Molécules* , 22 (6), 930. <https://doi.org/10.3390/molecules22060930>
- **Caputo, L.,** Nazzaro, F., Souza, L. F., Aliberti, L., De Martino, L., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). *Laurus nobilis*: Composition of essential oil and its biological activities. *Molécules*, 22(6), 930. <https://doi.org/10.3390/molecules22060930>
- **Chami, N.,** Bennis, S., Chami, F., Aboussekhra, A., & Remmal, A. (2005). Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo. *Oral Microbiology and Immunology*, 20(2), 106–111. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.2004.00202.x>
- **Chanyachailert P,** Leeyaphan C, Bunyaratavej S. Cutaneous. (2023) .Fungal Infections Caused by Dermatophytes and Non-Dermatophytes: An Updated Comprehensive Review of Epidemiology, Clinical Presentations, and Diagnostic Testing. *J Fungi (Basel)*. 14;9(6):669. doi: 10.3390/jof9060669. PMID: 37367605; PMCID: PMC10302839
- **Chebaibi, A.,** Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., et Ed-Dra, A. (2015). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 402 409. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0996-1>
- **Cheikhrouhou, F.,** Makni, F., & Ayadi, A. (2010). *La maladie dermatophytique : revue de la littérature*. *Journal de Mycologie Médicale*, 20(1), 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2010.01.003>
- **Cherrat, L.** (2013). Évaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de cinq plantes aromatiques et médicinales du Maroc, et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire (Thèse de doctorat no 74, Université Abdelmalek Essaâdi – Faculté des Sciences et Techniques de Tanger).
- **Cheung, L.** (2021). Douleurs relevant du conseil officinal : efficacité des huiles essentielles et rôle du pharmacien [Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Bordeaux].
- **Coulibaly, O.,** Kone, A.K., Niaré-Doumbo, S., Goïta, S., Gaudart, J., Djimdé, A.A., Piarroux, R., Doumbo, O.K., Thera, M.A., & Ranque, S. (2016). Dermatophytosis among Schoolchildren in Three Eco-Climatic Zones of Mali. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(4), e0004675.
- **Deng, R.,** Wang, X., & Li, R. (2023). *Dermatophyte infection: From fungal pathogenicity to host immune responses*. *Frontiers in Immunology*, 14, 1285887. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1285887>
- **Derbré, S.,** Licznar-Fajardo, P., et Sfeir, J. (2013). Intérêt des huiles essentielles dans les angines à *Streptococcus pyogenes*. *Actualités Pharmaceutiques*, 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.09.011>
- **Deschepper, R.** (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie [Thèse de doctorat, Université de Lille].
- **Dhifi, W.,** Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 3(4), 25.
- **Diniz do Nascimento, L.,** de Moraes, A. A. B., da Costa, K. S., Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Costa, C. M. L., Neves Cruz, J., de Aguiar Andrade, E. H., & Faria, L. J. G. (2020). Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. *Biomolecules*, 10(7), 988. <https://doi.org/10.3390/biom10070988>
- **Dobrosłavić, E.,** Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., & Elez Garofulić, I. (2022). Isolation of *Laurus nobilis* leaf polyphenols: A review on current techniques and future perspectives. *Foods*, 11(2), 235. <https://doi.org/10.3390/foods11020235>
- **Dontje, A. E. W. K.,** Schuiling-Veninga, C. C. M., van Hunsel, F. P. A. M., Ekhardt, C., Demirci, F., & Woerdenbag, H. J. (2024). *The therapeutic potential of essential oils in managing inflammatory skin conditions: A scoping review*. *Pharmaceutics*, 17(5), 571. <https://doi.org/10.3390/ph17050571>
- **Dudareva, N.,** Klempien, A., Muhlemann, J. K., & Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *The New phytologist*, 198(1), 16–32.
- **El Aiba, Y.,** Moreno-Sabater, A., Dannaoui, E., & Morio, F. (2024). *Résistance des dermatophytes à la terbinafine et émergence de Trichophyton indotineae*. *Revue de biologie médicale*, 376(1), 13–22. <https://doi.org/10.3917/rbm.376.001>
- **El Hajli, F.,** Kachmar, M. R., Assouguem, A., Ullah, R., Bari, A., Hammani, K., Chakir, S., Lahlali, R., Ait Barka, E., & Echchgadda, G. (2024). Phytochemical analysis, in vitro antioxidant and antifungal activities

of extracts and essential oil derived from *Artemisia herba-alba* Asso. *Open Chemistry*, 22(1), 20230200. <https://doi.org/10.1515/chem-2023-0200>

- **Espino, M.**, González, M. J., Pérez, A., & Bravo, L. (2019). *Essential oils: A review on analytical methods and challenges in chemical characterization*. *Journal of Essential Oil Research*, 31(5), 1–15. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1571420>
- **Falleh, H.**, Ben Jemaa, M., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. *Food Chemistry*, 330, 127268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268>
- **Fang, F.**, Sang, S., Chen, K. Y., Gossiau, A., Ho, C. T., & Rosen, R. T. (2005). Isolation and identification of cytotoxic compounds from bay leaf (*Laurus nobilis*). *Food Chemistry*, 93(3), 497–501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.10.029>
- **Ferhat, Z.**, Houacine, S. S., & Yessad, M. (2018). Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill : composition chimique et activités antimicrobienne et antioxydante. *Algerian Annals of Agronomy*, 30(2), 19–30.
- **Ghédira, K.** (2024). Mechanism of antibacterial action of essential oils. *Phytothérapie*, 22(2), 89–99. <https://doi.org/10.3166/phyto-2024-0405>
- **Godwin, A. O.**, Adedayo, F. E., & Oluwayemisi, A. E. (2019). Physicochemical properties of essential oils of ginger (*Zingiber officinale*), African nutmeg (*Monodora myristica*) and ashanti black pepper (*Piper guineense*). *Advance Journal of Food Science and Technology*, 17(4), 58–64.
- **Goudjil, M. B.** (2016). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques [Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla].
- **Gueddouari, R.**, & Nareb, M. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Laurus nobilis* leaves from Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 28(9), 2069–2072. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2016.19903>
- **Gugnani H.C.** (2022). Dermatomycoses in animals in the Indian subcontinent, the Middle East, Kenya and Brazil. *Res Vet Sci Med.* 2, 8.
- **Gupta, A. K.**, Renaud, H. J., Quinlan, E. M., Shear, N. H., & Piguet, V. (2021). The growing problem of antifungal resistance in onychomycosis and other superficial mycoses. *American Journal of Clinical Dermatology*, 22(2), 149–157. <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00580-6>
- **Gupta, A.K.**, Wang, T., Cooper, E.A., Summerbell, R.C., Piguet, V., Tosti, A., & Piraccini, B.M. (2024). A comprehensive review of nondermatophyte mould onychomycosis: Epidemiology, diagnosis and management. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV*, 38(3), 480–495.
- **Gupta, C.**, Das, S., Gaurav, V., Singh, P.K., Rai, G., Datt, S., Tigga, R.A., Pandhi, D., Bhattacharya, S.N., Ansari, M.A., & Dar, S.A. (2023). Review on host-pathogen interaction in dermatophyte infections. *Journal de mycologie medicale*, 33(1), 101331.
- **Hernandez Ochoa, L. R.** (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné “solvant/actif” d’origine végétale (Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, numéro 2264). Toulouse, France
- **Herrera-Rodríguez, S. E.**, López-Rivera, R. J., García-Márquez, E., Estarrón-Espinosa, M., & Espinosa-Andrews, H. (2019). Mexican oregano (*Lippia graveolens*) essential oil-in-water emulsions: Impact of emulsifier type on the antifungal activity of *Candida albicans*. *Food Science and Biotechnology*, 28(2), 441–448. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0499-6>
- **Huang, B.**, Ke, H., He, J., Ban, X., Zeng, H. (2011). Extracts of *Halenia elliptica* exhibit antioxidant properties in vitro and in vivo. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49:185–90. doi: 10.1016/j.fct.2010.10.015.
- **Jalendiran, H.**, Roy, A., Sathiyarayanan, S., Geethanarayanan, S., Selvam, A. G. K., Vijayasekaran, H., Ramaiah, S., & Anbarasu, A. (2026). *Essential oils as nature-engineered antifungals: A comprehensive review of pharmacological mechanisms, drug synergism, and advanced formulation strategies*. *Frontiers in Pharmacology*, 17, 1799031. <https://doi.org/10.3389/fphar.2026.1799031>
- **Jaradat, N.**, Hawash, M., Qaoud, M. T., Al-Maharik, N., Qadi, M., Hussein, F., Issa, L., Saleh, A., Saleh, L., & Jadallah, A. (2024). *Biological, phytochemical and molecular docking characteristics of Laurus nobilis L. fresh leaves essential oil from Palestine*. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24, 223. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04528-9>
- **Jdaidi, N.**, Selmi, H., Aloui, F., & Chaabane, A. (2022). Ethno botanical study of some rare medicinal species in Tunisia: Case of *Laurus nobilis* L. CRRST. <https://doi.org/10.57219/crrst.2022.1.1.0024>

- **Kant, R., & Kumar, A.** (2022). Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100829. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100829>
- **Khodja, Y. K.,** Bachir-bey, M., Belmouhoub, M., Ladjouzi, R., Dahmoune, F., & Khettal, B. (2023). The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of *Laurus nobilis* L. leaves: A review. *International Journal of Secondary Metabolite*, 10(2), 269–296. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1171836>
- **Konovalov, D. A., & Alieva, N. M.** (2019). Phenolic compounds of *Laurus nobilis* (review). *Pharmacy & Pharmacology*, 7(5), 244–259. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2019-7-5-244-259>
- **Kowalski, R.,** Kowalska, G., Jankowska, M., Nawrocka, A., Kałwa, K., Pankiewicz, U., & Włodarczyk-Stasiak, M. (2019). Secretory structures and essential oil composition of selected industrial species of Lamiaceae. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 18(2), 63–74.
- **Lammari, N.,** Louaer, O., Meniai, A. H., & Elaissari, A. (2020). Encapsulation of Essential Oils via Nanoprecipitation Process: Overview, Progress, Challenges and Prospects. *Pharmaceutics*, 12(5), 431.
- **Leiva-Mora, M.,** Bustillos, D., Arteaga, C., Hidalgo, K., GuevaraFreire, D., López-Hernández, O., Saa, L.R., Padilla, P.S., Bustillos, A. (2025). Antifungal Mechanisms of Plant Essential Oils: A Comprehensive Literature Review for Biofungicide Development. *Agriculture*, 15, 2303.
- **Leung, M. H. Y.,** Lee, P. K. H., & Kachroo, A. (2020). *Antifungal and cytotoxic activities of essential oils against pathogenic fungi: A review of mechanisms and applications*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 10, 545913. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.545913>
- **Man, Y., & Liu, C.** (2022). *Review of Ointment Formulations in Modern Pharmaceutics*. **Scientific Journal of Technology**, 4(5), 72–76. <https://doi.org/10.54691/sjt.v4i5.762>
- **Marijon, A.,** Hodille, E., et Jourdy, Y. (2020). Mycoses à champignons filamenteux. In J. Dupont et M. Durand (Éds.), *Parasitologie et Mycologie médicale* (pp. 45–62). Presses Universitaires de France. <https://doi.org/10.xxxx/yyyy>
- **Markantonatou, A.M.,** Samaras, K., & Vyzantiadis, T.A. (2023). Dermatophytic Biofilms: Characteristics, Significance and Treatment Approaches. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 9(2), 228.
- **Matera, R.,** Lucchi, E. et Valgimigli, L. (2023). Les huiles essentielles végétales comme ingrédients fonctionnels et sains des nutraceutiques et compléments alimentaires : une revue. *Molecules*, 28 (2), 901. <https://doi.org/10.3390/molecules28020901>
- **Mediouni Ben Jemâa, J.,** Tersim, N., Taleb Toudert, K., et Khouja, M. L. (2012). Activités insecticides des huiles essentielles de feuilles de *Laurus nobilis* L. de Tunisie, d'Algérie et du Maroc, et composition chimique comparée. *Journal of Stored Products Research*, 48, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2011.10.003>
- **Miliani, A.** (2018). Étude phytochimique des feuilles de laurier noble (*Laurus nobilis* L.) : effets biologiques et pharmacologiques (Thèse de doctorat, Université Saad Dahleb – Blida 1, Algérie). 514 pages. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1098323>
- **Mkaddem Guedri, M.,** Romdhane, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., et Bouajila, J. (2020). Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Tunisian, France and Austrian *Laurus nobilis* (Lauraceae) essential oils. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 1929–1940. <https://doi.org/10.15835/48412145>
- **Mohammed, H. A.,** Sulaiman, G. M., Al-Saffar, A. Z., Mohsin, M. H., Khan, R. A., Hadi, N. A., Ismael, S. B., Elshibani, F., Ismail, A., & Abomughaid, M. M. (2025). Aromatic volatile compounds of essential oils: Distribution, chemical perspective, biological activity, and clinical applications. *Food Science & Nutrition*. <https://doi.org/10.1002/fsn3.70825>
- **Moskaluk, A. E.,** et VandeWoude, S. (2022). Current topics in dermatophyte classification and clinical diagnosis. *Pathogens*, 957. <https://doi.org/10.3390/pathogens11090957>
- **Mouas, Y.,** Benrebiha, F. Z., et Chaouia, C. (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 363–370.
- **Mssillou, I.,** Hamamouch, N., Agour, A., El Ghouizi, A., Lyoussi, B., et Derwich, E. (2020). Chemical composition, antioxidant activity, and antifungal effects of essential oil from *Laurus nobilis* L. flowers growing in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020, Article ID 8819311, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2020/8819311>
- **Nazzaro, F.,** Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceutics*, 10(4), 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- **Nebie, B.** (2023). Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par codistillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso [Thèse de doctorat, Université Nazi Boni]

- **Nickles, M. A.,** Lio, P. A., & Mervak, J. E. (2022). Complementary and alternative therapies for onychomycosis: A systematic review of the clinical evidence. *Skin Appendage Disorders*, 8(4), 269–279. <https://doi.org/10.1159/000521703>
- **Olver, W. J.,** Stafford, J., Cheetham, P., & Boswell, T. C. (2002). Comparison of *Candida* ID medium with Sabouraud-chloramphenicol agar for the isolation of yeasts from clinical haematology surveillance specimens. *Journal of Medical Microbiology*, 51(3), 221–224. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-51-3-221>
- **Omar, S.,** Al Wabel, N. A., & Abdulla, M. A. (2001). *Antifungal activity of selected medicinal plant extracts against Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology*, 74(3), 283–289.
- **Ordoudi, S. A.,** Papapostolou, M., Nenadis, N., Mantzouridou, F. T., & Tsimidou, M. Z. (2022). Bay Laurel (*Laurus nobilis* L.) essential oil as a food preservative source: Chemistry, quality control, activity assessment, and applications to olive industry products. *Foods*, 11(5), Article 752. <https://doi.org/10.3390/foods11050752>
- **Ouibrahim, A.** (2015). Évaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba].
- **Ounoughi, A.** (2021). Valorisation des espèces végétales de l'Est algérien : Étude phytochimique, caryologique et activités biologiques des huiles essentielles [Thèse de doctorat, Université Larbi Ben M'hidi, Oum El Bouaghi].
- **Paparella, A.,** Nawade, B., Shaltiel-Harpaz, L., et Ibdah, M. (2022). Revue de la botanique, de la composition volatile, des aspects biochimiques et moléculaires et des usages traditionnels de *Laurus nobilis*. *Plants*, 11 (9), 1209. <https://doi.org/10.3390/plants11091209>
- **Parambath, F. C.,** Enoch, D. A., Maphanga, T. G., & Denning, D. W. (2024). Diagnosis of invasive candidiasis in adults: A narrative review. *Medical Mycology*, 62, myae045. <https://doi.org/10.1093/mmy/myae045>
- **Park, M. J.,** Gwak, K. S., Yang, I., Kim, K. W., Jeung, E. B., Chang, J. W., & Choi, I. G. (2009). Effect of citral, eugenol, nerolidol and α -terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia*, 80(5), 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2009.03.00>
- **Parrish, N.,** Fisher, S. L., Gartling, A., Craig, D., Boire, N., Khuvis, J., Riedel, S., & Zhang, S. (2020). Activity of various essential oils against clinical dermatophytes of *Microsporum* and *Trichophyton*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 545913. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.545913>
- **Parrish, N.,** Fisher, S. L., Gartling, A., Craig, D., Boire, N., Khuvis, J., Riedel, S., & Zhang, S. (2020). Activity of various essential oils against clinical dermatophytes of *Microsporum* and *Trichophyton*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 545913. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.545913>
- **Peixoto, L. R.,** Rosalen, P. L., Silva Ferreira, G. L., Freires, I. A., Galbiatti de Carvalho, F., Castellano, L. R., & Dias de Castro, R. (2017). Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of *Laurus nobilis* Linnaeus essential oil against *Candida* spp. *Archives of Oral Biology*, 73, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.013>
- **Ponce, A. G.,** Fritz, R., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36(7), 679–684
- **Procop, G. W.,** Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C., & Woods, G. L. (2017). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology* (7th ed.). Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- **Quindós, G.,** Pontón, J., Cisterna, R., & Mackenzie, D. W. (1992). Value of detection of antibodies to *Candida albicans* germ tube in the diagnosis of systemic candidosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 11(3), 178–183. <https://doi.org/10.1007/BF01963834>
- **Ramaraj, V.,** Vijayaraman, R.S., Rangarajan, S., Kindo, A.J. (2016). Incidence and prevalence of dermatophytosis in and around Chennai, Tamilnadu, India, *Int J Res Med Sci.*4(3), 695-700.
- **Rehman, R.,** Hanif, M. A., Mushtaq, Z., Mochona, B., & Qi, X. (2016). Biosynthetic factories of essential oils: The aromatic plants. *Natural Products Chemistry & Research*, 4(4), 227.
- **Rizwana, H.,** Al Kubaisi, N., Al-Meghailaith, N. N., Moubayed, N. M. S., et Albasher, G. (2019). Evaluation of chemical composition, antibacterial, antifungal, and cytotoxic activity of *Laurus nobilis* L grown in Saudi Arabia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(4), 2073–2085. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.4.19>
- **Royal Botanic Gardens,** Kew. (2026). *Laurus nobilis* L. Plants of the World Online. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:300544-2>

- **Ru, Q.**, Hu, Q., Dai, C., Zhang, X., & Wang, Y. (2022). Formulation of *Laurus nobilis* essential oil nanoemulsion system and its application in fresh-cut muskmelons. *Coatings*, 12(2), 159. <https://doi.org/10.3390/coatings12020159>
- **Rusdianto, A.S.**, Wiyono, A.E., Fiana, F.H. (2020). Aromatherapy Oil Massage Formulation from Essential Oil: Tuberose Flower (*Polianthes Tuberosa*) And Lime Oil (*Citrus Aurantifolia*), *International Journal of Food, Agriculture, and Natural Resources*, 1(2), 21-27.
- Sardana, K., Gupta, A., & Mathachan, S.R. (2021). Immunopathogenesis of Dermatophytoses and Factors Leading to Recalcitrant Infections. *Indian dermatology online journal*, 12(3), 389–399.
- **Singh, S.**, Chauhan, S. B., Gupta, C., Singh, I., Gupta, A., Sharma, S., Kawish, S. M., Rahman, S., & Iqbal, M. (2023). Design and characterization of citronella oil-loaded micro-emulgel for the treatment of *Candida albicans* infection. *Gels*, 9(10), 799. <https://doi.org/10.3390/gels9100799>
- **Stefanova, G.**, Girova, T., Gochev, V., Stoyanova, M., Petkova, Z., Stoyanova, A., & Zheljazkov, V. D. (2020). Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece and Georgia and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon*, 6(12), e05491. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05491>
- **Sutthanont, N.**, Sukphopetch, P., Rungruang, R., Leanpolchareanchai, J., & Srisawat, R. (2026). Formulation and evaluation of topical essential oil lotion as repellent against *Aedes aegypti*. *Current Research in Parasitology and Vector-Borne Diseases*, 9, 100354. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2026.100354>
- **Taleb-Toudert, K.** (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien) : Évaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) [Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].
- **Taroq, A.** (2020). Étude du potentiel antibactérien et antioxydant in vitro et exploration des effets pharmacologiques in vivo du *Laurus nobilis* L. et *Syzygium aromaticum* L. [Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès]
- **Taroq, A.** (2020). Étude du potentiel antibactérien et antioxydant in vitro et exploration des effets pharmacologiques in vivo du *Laurus nobilis* L. et *Syzygium aromaticum* L. [Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar El Mahraz – Fès].
- **Teklebirhan, G.**, et Bitew, A. (2015). Prevalence of dermatophytic infection and the spectrum of dermatophytes in patients attending a tertiary hospital in Addis Ababa, Ethiopia. *International Journal of Microbiology*, 2015, Article 653419. <https://doi.org/10.1155/2015/653419>
- **Verma, S.**, Verma, G., Sharma, S., Sharma, V., Negi, A., Gupta, A., & Tegta, G. R. (2018). Dermatophytosis in the Sub-Himalayan region – Is *Epidermophyton floccosum* re-emerging? *Journal of Medical Science and Clinical Research (JMSCR)*, 6(3), 33–36.
- **Vite-Garín, T.**, Estrada-Cruz, N. A., Hernández-Castro, R., Flores-Venado, C. E., Martínez-Castañón, M., & Pinto-Almazán, R. (2024). Remarkable phenotypic virulence factors of *Microsporum canis* and their associated genes: A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2533. <https://doi.org/10.3390/ijms25052533>
- **White, T.C.**, Findley, K., Dawson, T.L., Jr, Scheynius, A., Boekhout, T., Cuomo, C.A., Xu, J., & Saunders, C.W. (2014). Fungi on the skin: dermatophytes and *Malassezia*. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 4(8), a019802.
- **Yap, X. F.**, Saw, S. H., Lim, V., & Tan, C. X. (2024). Plant essential oil nanoemulgel as a cosmeceutical ingredient: A review. *Cosmetics*, 11(4), 116. <https://doi.org/10.3390/cosmetics11040116>
- **Ysrafil, Y.**, Sapiun, Z., Slamet, N. S., Mohamad, F., Hartati, H., Damiti, S. A., Alexandra, F. D., Rahman, S., Masyeni, S., Harapan, H., Mamada, S. S., Emran, T. B., & Nainu, F. (2023). Anti-inflammatory activities of flavonoid derivates. *ADMET and DMPK*, 11(3), 331–359. <https://doi.org/10.5599/admet.1918>
- **Zhu, R.**, Morkos, B., & Liu, L. (2026). Therapeutic potentials and encapsulation strategies of essential oils. *Processes*, 14(2), 335. <https://doi.org/10.3390/pr14020335>
- **Zimmermann, S.**, Hübner, M., Huber, C., & Lang, C. (2023). Antifungal activity and mechanisms of essential oils: membrane disruption and metabolic effects in phytopathogenic fungi. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1204567. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1204567>



Annexe

A green book with the word "Annexe" written in white cursive script on its cover. The book is shown at an angle, revealing its thickness. The background features large, flowing, abstract green shapes on a white background.

SABOURAUD AGAR

56519 - 56524 - 64494

GÉLOSE / MILIEU D'ISOLEMENT DES CHAMPIGNONS**IVD****1- APPLICATION**

La gélose Sabouraud (Sabouraud Agar) est utilisée pour l'isolement et la culture des champignons.

Cette gélose est recommandée pour :

- L'isolement des champignons à partir de prélèvements biologiques ne contenant pas de flore bactérienne associée. Dans le cas de prélèvements présentant une flore polymicrobienne (fongique et bactérienne), il est préférable d'utiliser les milieux :
 - Sabouraud + chloramphénicol
 - Sabouraud + gentamycine
- La culture des champignons en vue de leur identification.
- Les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques (milieu recommandé par le Codex de la Pharmacopée Française) ou alimentaires. Dans ce dernier cas, il faut laisser les tubes à l'étuve ou à la température du laboratoire pendant 15 jours.

Ce milieu peut également servir de base pour la préparation de milieux enrichis : milieux au sang, milieux vitaminés...

2- PRINCIPE

La gélose de Sabouraud, en apportant les éléments indispensables à leur développement (peptones et glucose), favorise la croissance des champignons.

3- PRÉSENTATION

- Milieu prêt à l'emploi (à répartir)
 - 6 flacons de 100 ml (**SAB**) code 56519
 - 25 tubes inclinés de 8 ml code 56524
- Milieu déshydraté
 - flacon de 500 g code 64494

4- COMPOSITION THÉORIQUE (en g/l d'eau distillée)

Cette gélose est préparée selon la formule théorique du milieu C de la Pharmacopée Européenne (1).

Peptones	10
Glucose	40
Agar	15

Préparation du milieu :

Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.

Mettre **42 grammes** de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile. Attendre 5 minutes puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Ajuster si nécessaire le pH à 5,8. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes, répartir en tubes ou en boîtes de Petri.

5- CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi (à répartir) : à + 2 - 8°C.
- Milieu déshydraté : flacon soigneusement fermé dans un endroit sec à +15-25°C.

La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

Annexes

MUELLER-HINTON REF 56137 - 63824 - 63901 - 64884 - 64888

MUELLER-HINTON + BLOOD REF 63825 - 63902

MUELLER-HINTON + HORSE BLOOD + β -NAD REF 63524 - 63525

MILIEU DE CULTURE POUR L'ETUDE DE LA SENSIBILITE AUX AGENTS
ANTIMICROBIENS



2016/12

1- APPLICATION

La gélose Mueller-Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose.

2- PRINCIPE

La standardisation du milieu de Mueller-Hinton est nécessaire pour obtenir des résultats fiables au niveau de l'antibiogramme. Celle-ci concerne la composition du milieu avec des concentrations limites de CaCl_2 , MgCl_2 et ZnCl_2 .

En effet, il est reconnu que des variations dans les concentrations de cations Mg^{2+} et Ca^{2+} affectent les résultats obtenus (diamètres et concentrations minimales inhibitrices ou C.M.I.) sur les *Pseudomonas aeruginosa* avec les aminosides et sur les staphylocoques avec la tétracycline^(3, 4, 5, 6).

De plus, la faible teneur en thymidine diminue les phénomènes de repousse autour des disques de triméthoprim-sulfamides et de triméthoprim seul.

3- PRESENTATION

- Milieu prêt à l'emploi :
 - coffret de 20 boîtes de Petri rondes (90 mm) (MH) code 63824
 - coffret de 10 boîtes de Petri carrées (120 mm) (MH) code 63901
- Milieu prêt à l'emploi (à répartir) :
 - 6 flacons de 200 ml (MH) code 56137
- Milieu déshydraté :
 - flacon de 500 g code 64884
 - fût de 5 kg code 64888
- Milieu au sang de mouton prêt à l'emploi :
 - coffret de 20 boîtes de Petri rondes (90 mm) (MHB) code 63825
 - coffret de 10 boîtes de Petri carrées (120 mm) (MHB) code 63902
- Milieu au sang de cheval additionné de β -NAD prêt à l'emploi :
 - coffret de 20 boîtes de Petri rondes (90 mm) (MHF) code 63524
 - coffret de 10 boîtes de Petri carrées (120 mm) (MHF) code 63525

4- COMPOSITION THEORIQUE (en g/l d'eau distillée)*

Le milieu Mueller-Hinton avec ou sans addition de sang de mouton ou de cheval est préparé selon la formule décrite par W.H.O.^(1, 2).

Peptones	3,0
Hydrolysat de caséine	17,5
Agar	15
Ca^{2+}	20 - 25 mg/L
Mg^{2+}	10 - 12,5 mg/L
pH final	7,4 $\pm$ 0,2
Suppléments : + 5% sang de mouton (pour le milieu MHB) ou 5% sang de cheval (pour le milieu MHF)	
β -NAD (pour le milieu MHF)	20 mg/L

β -NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

* formule adaptée pour assurer les meilleures performances du milieu.

BIO-RAD

Annexes

Préparation du milieu :

Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.

Mettre **35 grammes** de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau fraîchement distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Stériliser à l'autoclave à $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 15 minutes. Répartir dans des tubes ou dans des flacons stériles.

Au moment de l'emploi, faire fondre le milieu au bain-marie bouillant et répartir en boîtes de Petri rondes l'intégralité du flacon ou des tubes. L'épaisseur de la couche de gélose doit être de 4 mm. Sécher les boîtes 30 min à 37°C . Le volume de Mueller-Hinton permettant d'obtenir exactement une épaisseur de 4 mm est de 25 ml pour une boîte de 90 mm, de 60 ml pour une boîte carrée de 120 mm, de 70 ml pour une boîte ronde de 150 mm.

Au moment de l'emploi (avant la répartition), il est possible d'ajouter :

- 5 % de sang de mouton ou de cheval pour le milieu Mueller-Hinton au sang.
- 5 % de chlorure de sodium (NaCl) pour le milieu Mueller-Hinton hypersalé.

5- CONSERVATION

- Milieu prêt à l'emploi : à $+2-20^{\circ}\text{C}$
- Milieu prêt à l'emploi (à répartir) : à $+2-25^{\circ}\text{C}$
- Milieu au sang prêt à l'emploi : à $+2-8^{\circ}\text{C}$
- Milieu déshydraté : flacon soigneusement fermé dans un endroit sec à $+15-25^{\circ}\text{C}$.

La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur le conditionnement.

6- UTILISATION

Matériel :

Matériel fourni : Milieu Mueller-Hinton avec ou sans addition de sang de mouton ou de cheval

Matériel spécifique non fourni :

- Témoin d'opacité équivalent au standard Mac Farland 0.5
- Matériel de laboratoire nécessaire pour la réalisation des antibiogrammes par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Précautions d'utilisation : Suivre les instructions d'utilisation des recommandations en vigueur CLSI ^(7,8), CA-SFM ⁽⁹⁾, EUCAST ^(10,11,12). Observer à tout moment les techniques et précautions en vigueur en matière de protection contre les dangers microbiologiques.

Ensemencement :

A partir d'une culture pure et fraîche prélevée sur milieu gélosé, préparer une suspension d'une opacité équivalente au standard de Mac Farland 0.5. Le protocole de standardisation de l'inoculum est décrit dans les différentes recommandations émises par le CLSI, le CA-SFM ou l'EUCAST pour la méthode en diffusion et la méthode de dilution en gélose.

Si le milieu est conservé à 4°C , le ramener à température ambiante ($18-30^{\circ}\text{C}$).

Si un excès d'humidité est observé en surface, il est conseillé, avant utilisation, de sécher les boîtes pendant 10 à 30 min à l'étuve à 35°C .

METHODE EN DIFFUSION

Ensemencement par inondation (méthode préconisée par le CA-SFM) :

A partir de l'inoculum standardisé, suivre la procédure indiquée par le CA-SFM concernant la dilution de la suspension initiale en fonction des espèces bactériennes testées.

Inonder la boîte entière avec la suspension obtenue puis enlever l'excès de suspension.

Ensemencement par écouvillonnage (méthode de Kirby-Bauer préconisée par le CLSI, le CA-SFM ou l'EUCAST) :

A partir de l'inoculum standardisé, suivre les recommandations du CLSI pour ensemer la boîte :

- Plonger un écouvillon stérile, non toxique dans la suspension.
- L'essorer doucement sur les parois.
- Ensemencer la boîte à l'aide de l'écouvillon afin d'obtenir une culture de colonies confluentes.

Appliquer les disques à l'aide d'un distributeur ou à la pince en appuyant légèrement.

METHODE DE DILUTION EN GELOSE

L'ensemencement et le protocole opératoire sont détaillés dans les recommandations du CLSI et du CA-SFM.

Incubation :

Suivre les recommandations en vigueur du CLSI ou du CA-SFM ou de l'EUCAST.

Les conditions d'incubation varient selon l'espèce bactérienne testée.

7- INTERPRETATION DES RESULTATS

L'interprétation du test de sensibilité aux antibiotiques selon la méthode des disques ou la méthode de dilution en gélose est détaillée dans les mises à jour périodiques du CA-SFM, du CLSI ou de l'EUCAST.

FICHE DE DONNÉES DE SÉCURITÉ

conformément au Règlement (CE) No. 1907/2006

Version 6.7
Date de révision 10.04.2024
Date d'impression 10.07.2024**RUBRIQUE 1: Identification de la substance/du mélange et de la société/l'entreprise****1.1 Identificateurs de produit**

Nom du produit : Bleu de lactophénol, Solution

Code Produit : 61335

Marque : Sigma-Aldrich

No REACH : Ce produit est un mélange. Numéro d'Enregistrement REACH
voir paragraphe 3.**1.2 Utilisations identifiées pertinentes de la substance ou du mélange et utilisations déconseillées**

Utilisations identifiées : Substances chimiques de laboratoire, Fabrication de substances

1.3 Renseignements concernant le fournisseur de la fiche de données de sécuritéSociété : Merck Life Science S.A.S
80 Rue de Luzais
F-38297 SAINT QUENTIN FALLAVIER CEDEX**1.4 Numéro d'appel d'urgence**Numéro d'Appel : +33 (0)9 75 18 14 07 (CHEMTREC)
d'Urgence : +33 (0)1 45 42 59 59 (I.N.R.S.)**RUBRIQUE 2: Identification des dangers****2.1 Classification de la substance ou du mélange**

Toxicité aiguë, (Catégorie 4) H302: Nocif en cas d'ingestion.

Toxicité aiguë, (Catégorie 4) H332: Nocif par inhalation.

Corrosion cutanée, (Sous-catégorie 1B) H314: Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

Lésions oculaires graves, (Catégorie 1) H318: Provoque de graves lésions des yeux.

Mutagénicité sur les cellules germinales, (Catégorie 2) H341: Susceptible d'induire des anomalies génétiques.

Consignes d'élimination

Éliminer l'emballage conformément à la réglementation en vigueur. Les solutions usagées et les solutions dont la date de péremption est dépassée doivent être traitées comme des déchets dangereux, en respectant les directives locales relatives à l'élimination des déchets. Pour commander les instructions sur l'élimination des déchets, cliquer sur le Quick Link « Hints for Disposal of Microscopy Products » sur www.microscopy-products.com. Au sein de l'UE s'applique le règlement (CE) n° 1272/2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) N° 1907/2006.

Réactifs auxiliaires

Art. 103699	Huile pour immersion Type N selon ISO 8036 pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml
Art. 104699	Huile pour immersions pour la microscopie	flacon compte-gouttes de 100 ml, 100 ml, 500 ml
Art. 108000	Sputofluor® pour la microscopie	1 l

Classification des matières dangereuses

Art. 1.13741.0100

Tenir compte de la classification des matières dangereuses indiquées sur l'étiquette et les indications de la fiche de données de sécurité. La fiche de données de sécurité est disponible sur le site web et sur demande.

ATTENTION : contient des substances CMR. Veuillez respecter les consignes de sécurité dans la fiche de sécurité correspondante s.v.p.

Composants principaux du produit

Art. 1.13741.0100

C.I. 42780	1 g/l
C ₂ H ₅ OH	204 g/l
CH ₂ CH(OH)COOH	247 g/l
CH ₂ (OH)CH(OH)CH ₂ (OH)	502 g/l
1 l = 1,16 kg	

Autres produits d'IVD

Art. 100820	Méthénamine kit pour argenter selon Gomori pour la détection des structures argentaffines dans les tissus histologiques	1 set
Art. 101383	Eosine-bleu de méthylène en solution selon Wright pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 2,5 l
Art. 109204	Azur-éosine-bleu de méthylène selon Giemsa en solution pour la microscopie	100 ml, 500 ml, 1 l, 2,5 l

Remarque générale

Si un incident grave s'est produit durant ou par suite de l'utilisation, veuillez informer de celui-ci le fabricant et/ou son mandataire et votre autorité nationale.

Littérature

Mikrobiologische Diagnostik, Friedrich Burkhardt, 1992, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York



Respectez les consignes d'utilisation



Fabricant



N° catalogue



Code de lot



Attention : observez la documentation complémentaire



Utilisable jusqu'à
AAAA-MM-JJ



Limitation de température

Status: 2020-Jul-16

Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany,
Tel. +49(0)6151 72-2440
www.microscopy-products.com

EMD Millipore Corporation, 400 Summit Drive
Burlington MA 01803, USA, Tel. +1-978-715-4321
Sigma-Aldrich Canada Co. or Millipore (Canada) Ltd.
2345 Winton Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 5G8
Phone: +1-800-365-1400

