

DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par

**BOUBEKR Feryel Fatiha & CHAIBEDDRA Ikram**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

**Étude de la composition chimique et du  
potentiel antioxydant et antifongique des huiles  
essentielles de *Laurus nobilis* L.**

Soutenu le 03/Juillet/2025

Devant le Jury composé de :

Président	DJIBAOUI Rachid	Pr	U. Mostaganem
Encadrant	ARABI Abed	MCA	U. Mostaganem
Examinatrice	BENSLIMANE Sabria	MCB	U. Mostaganem

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail*

*En premier lieu à mes chers parents, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. Leur amour inconditionnel, leur patience, leur confiance et leurs encouragements.*

*À ma famille élargie, je souhaite également exprimer ma profonde gratitude,*

*À mes chères sœurs, mes frères et mes cousins,*

*À la famille Boubekr et à la famille Ouik, qui ont toujours été à mes côtés*

*À ma précieuse Khadija Jouri, Petite étoile dont le sourire éclaire mes journées,*

*À mes amis fidèles, merci pour votre soutien indéfectible, votre écoute attentive et les moments de joie partagés,*

*À mes enseignants et mon encadreur, pour leur transmission du savoir et leurs conseils avisés. Enfin, je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont croisées ma route et contribué, par leurs gestes, leurs paroles ou leur simple présence, à enrichir cette expérience unique qu'est le parcours universitaire.*

*À vous tous, je vous adresse mes plus sincères remerciements et toute ma reconnaissance.*

**Feryel Fatiha**

Je dédie ce mémoire :

À mes parents bien-aimés, qui ont été ma lumière dans les moments d'ombre, Ma force dans les instants de doute, Et mon inspiration dans les périodes de silence.

Pour leur amour infini, leur patience exemplaire et leur foi inébranlable en moi.

À ma famille, pour leur confiance et leur soutien à chaque étape de ma vie.

À mes frères et À ma chère sœur,

Pour leur soutien constant, leurs encouragements et les liens familiaux qui m'ont toujours porté,

À ma tante paternelle, ma tante maternelle, ma cousine paternelle et mes cousines maternel, merci pour votre soutien. Sans oublier mes neveux, pour les moments de joie et de rires partagés avec vous.

À mes amis sincères,

merci pour vos mots justes, votre écoute et votre présence rassurante, Nous avons vécu de beaux moments qui resteront des souvenirs inoubliables. Merci d'être là.

À mes enseignants et à mon encadreur,

Pour leur générosité intellectuelle, leurs conseils éclairés, merci pour votre disponibilité et votre soutien.

Et à toutes celles et ceux qui ont, d'une manière ou d'une autre, marqué ce parcours,

Je vous adresse ma profonde reconnaissance.

**Ikram**

# Remerciements

*Avant toute chose, nous rendons grâce à Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'achèvement de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.*

*En premier lieu, nos remerciements chaleureux vont à notre directeur de mémoire, **Docteur ARABI Abed**, pour sa disponibilité, ses conseils avisés, sa patience et l'encadrement rigoureux dont nous avons bénéficié tout au long de ce travail. Son expertise et sa bienveillance ont grandement facilité l'avancement de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également à Monsieur le **Professeur DJIBAOUI Rachid**, président du jury, et à Madame Dr. **BENSLIMANE Sabria**, examinatrice, qui nous font l'honneur de juger ce travail.*

*Nous remercions l'ensemble du personnel du laboratoire, en particulier TAHLAITI Amina.*

*Nous n'oublions pas nos familles, nos sœurs et nos frères pour leur soutien moral et leur présence constante tout au long de ce parcours, en particulier nos parents, pour leur amour inconditionnel, leur patience et leur soutien indéfectible. Leur confiance nous a toujours portés et donné la force d'aller de l'avant.*

*Enfin, nous remercions nos collègues, amis et camarades de promotion pour les échanges constructifs, l'entraide et les moments partagés tout au long de ce cursus.*

*À toutes et à tous, merci.*

عدوى الأظافر الفطرية (onychomycosis) هي عدوى فطرية شائعة تصيب الأظافر، تسببها بشكل رئيسي الفطريات الجلدية (dermatophytes) وبشكل متزايد الخمائر مثل كانديدا ألبكانس (*Candida albicans*). هذه الحالة غالبًا ما تكون متكررة ويصعب القضاء عليها، مما يشكل تحديًا علاجيًا حقيقيًا بسبب المقاومة المتزايدة للعقاقير المضادة للفطريات التقليدية. في هذا السياق، يُعتبر البحث عن بدائل طبيعية نهجًا واعدًا.

ركزت هذه الدراسة على تقييم النشاط المضاد للفطريات والنشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية المستخرجة من نبات الرند (*Laurus nobilis L.*)، وهي نبتة طبية غنية بالمركبات النشطة حيويًا. تم الحصول على الزيوت بواسطة التقطير ببخار الماء من عينات جُمعت من منطقة مستغانم، وتم تحليلها باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز مع مطياف الكتلة (GC-MS). وقد تم تحديد 41 مركبًا، كان من أبرزها الإيكالبيتول (39.08%) واللينالول (14.56%).

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام اختبار DPPH ، والذي أظهر قدرة عالية على التقاط الجذور الحرة ( $IC_{50} = 3.91$  ميكروغرام/مل). أما النشاط المضاد للفطريات فتم تقييمه *in vitro* ضد عدة سلالات من كانديدا ألبكانس والفطريات الجلدية، باستخدام طريقة الأروماتوغرام وتحديد قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركز القاتل الأدنى (MFC). أظهرت الزيوت الأساسية نشاطًا قويًا مضادًا للفطريات، حيث تراوحت مناطق التثبيط بين 17.40 و 67.5 ملغم، وكانت قيم MIC و MFC بين 0.62 و 10 ميكروغرام/مل.

تؤكد النتائج الإمكانية الفعالة للزيوت الأساسية لـ *Laurus nobilis L.* كبديل طبيعي أو مساعد فعال للعلاجات المضادة للفطريات التقليدية، خصوصًا في علاج عدوى الأظافر الفطرية. ومع ذلك، هناك حاجة إلى دراسات إضافية، وخاصة الدراسات السريرية، لتأكيد سلامتها وتحسين استخدامها العلاجي.

**الكلمات المفتاحية:** عدوى الأظافر الفطرية، الفطريات الجلدية، كانديدا ألبكانس، *Laurus nobilis L.* الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للفطريات.

## ***Abstract***

Onychomycosis is a common fungal infection of the nails, mainly caused by dermatophytes and, increasingly, by yeasts such as *Candida albicans*. This condition is often recurrent and difficult to eradicate, posing a real therapeutic challenge due to the growing resistance to conventional antifungal agents. In this context, exploring natural alternatives represents a promising approach.

This study focused on evaluating the antifungal and antioxidant activities of essential oils extracted from *Laurus nobilis* L., a medicinal plant rich in bioactive compounds. The oils were obtained by steam distillation from samples collected in the Mostaganem region and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The analysis identified 41 compounds, with eucalyptol (39.08%) and linalool (14.56%) as the main components.

Antioxidant activity was assessed using the DPPH assay, revealing a high free radical scavenging capacity ( $IC_{50} = 3.91 \mu\text{g/mL}$ ). Antifungal activity was evaluated *in vitro* against several strains of *Candida albicans* and dermatophytes, using the aromatogram method and determination of MIC and MFC values. The essential oils demonstrated strong antifungal activity, with inhibition zones ranging from 17.40 to 67.5 mm, and MIC and MFC values between 0.62 and 10  $\mu\text{g/ml}$ .

The results confirm the fungicidal potential of *Laurus nobilis* L., which could represent a natural alternative or an effective adjuvant to conventional antifungal treatments, particularly for onychomycosis. However, further studies, especially clinical ones, are needed to confirm its safety and optimize its therapeutic use.

**Keywords:** Onychomycosis, Dermatophytes, *Candida albicans*, *Laurus nobilis* L., Essential oils, Antioxidant activity, Antifungal activity.

## Résumé

L'onychomycose est une infection fongique fréquente des ongles, principalement causée par des dermatophytes et, de plus en plus, par des levures comme *Candida albicans*. Cette pathologie, souvent récidivante et difficile à éradiquer, représente un véritable défi thérapeutique en raison de la résistance croissante aux antifongiques conventionnels. Dans ce contexte, l'exploration d'alternatives naturelles constitue une voie prometteuse.

Ce travail a porté sur l'évaluation de l'activité antifongique et antioxydante des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., plante médicinale riche en composés bioactifs. Les huiles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau à partir d'échantillons collectés dans la région de Mostaganem, puis analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS). L'analyse a permis d'identifier 41 composés, dont les principaux sont l'eucalyptol (39,08 %) et le linalol (14,56 %).

L'activité antioxydante a été mesurée par la méthode DPPH, révélant un pouvoir piégeur de radicaux libres élevé ( $IC_{50} = 3,91 \mu\text{g/ml}$ ). L'activité antifongique a été évaluée *in vitro* contre plusieurs souches de *Candida albicans* et de dermatophytes, par aromatogramme et par détermination des CMI et CMF. Les huiles essentielles ont montré une forte activité antifongique, avec des zones d'inhibition allant de 17,40 à 67,5 mm, et des valeurs de CMI et CMF comprises entre 0,62 et 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Les résultats obtenus confirment le potentiel fongicide de *Laurus nobilis* L., qui pourrait représenter une alternative naturelle ou un adjuvant efficace aux traitements antifongiques classiques, particulièrement dans le cadre de l'onychomycose. Des études complémentaires, notamment cliniques, restent néanmoins nécessaires pour confirmer son innocuité et optimiser son usage thérapeutique.

**Mots clés :** Onychomycose, Dermatophytes, *Candida albicans*, *Laurus nobilis* L., Huiles essentielles, Activité antioxydante, activité antifongique.

# Liste des Abréviations

---

**A** : Absorbance  
**C** : *Candida albicans*  
**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute  
**CMB** : Concentration Minimale Bactéricide  
**CMF** : Concentration Minimale Fongicide  
**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice  
**CPG/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse  
**CSP** : Code de la Santé Publique  
**D** : Dermatophytes  
**D.L.S.O.** : Distal and Lateral Subungual Onychomycosis  
**DLS** : Sous unguéale disto-latérale  
**DLS** : Sous unguéale disto-latérale  
**DMSO** : Diméthylsulfoxyde  
**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl  
**ED** : Examen direct  
**EVE** : Entraînement à la vapeur d'eau  
**FC** : Flucytosine  
**Fig** : Figure  
**FMC** : Food Machinery Corporation-in-line  
**He** : Helium  
**HEs** : Huiles essentielles  
**HR** : Humidité relative  
**I** : Inhibition  
**JDE** : Jonction dermo-épidermique  
**L.** : Linée  
**LMBV** : Laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale  
**MD** : Maladie dermatophytique  
**MGG** : May-Grunwald-Giemsa  
**MH** : Muller-Hinton  
**MM** : Minéral minimumau  
**MND** : Moisissures non dermatophytes  
**NIST** : Institut national des normes et de la technologie  
**P.S.W.O** : Proximal Subungual White Onychomycosis  
**PAM** : Plantes aromatiques et médicinales  
**PDA** : Potato-Dextrose-Agar  
**RHEs** : Rendement des huiles essentielles  
**S.O** : Superficial Onychomycosis  
**SAB** : Sabouraud au Chloramphénicol  
**SFE** : Extraction par fluide supercritique  
**TTC** : Chlorure de triphényltétrazolium  
**URCOM** : Unité de Recherche de Chimie Organique et Macromoléculaire  
**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine  
**Vit c** : Vitamine C

# Liste des tableaux

---

N°	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	Classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L.	07
<b>Tableau 02</b>	Composition chimique de la plante <i>Laurus nobilis</i> L.	09
<b>Tableau 03</b>	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	21
<b>Tableau 04</b>	Origine de différentes espèces fongiques étudiées	46
<b>Tableau 05</b>	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	60
<b>Tableau 06</b>	Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. Sur les isolats étudiés.	69
<b>Tableau 07</b>	Concentration minimale inhibitrice (CMI) des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	74
<b>Tableau 08</b>	Concentration minimale fongicide (CMF) et rapport d'activité des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	76

# Liste des figures

N°	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	Répartition géographique de <i>Laurus nobilis</i> L.	<b>06</b>
<b>Figure 02</b>	Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i> L.	<b>07</b>
<b>Figure 03</b>	Les formes structurales (des différentes familles de plantes	<b>11</b>
<b>Figure 04</b>	Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes	<b>12</b>
<b>Figure 05</b>	Montage d'hydrodistillation type Clevenger	<b>12</b>
<b>Figure 06</b>	Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EVE)	<b>13</b>
<b>Figure 07</b>	Dispositif d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes	<b>14</b>
<b>Figure 08</b>	Schéma d'Expression au froid	<b>14</b>
<b>Figure 09</b>	Schéma du dispositif d'extraction des huiles essentielles par CO <sub>2</sub> supercritique	<b>15</b>
<b>Figure 10</b>	Structure de la peau	<b>24</b>
<b>Figure 11</b>	Schéma des quatre populations cellulaires composant l'épiderme	25
<b>Figure 12</b>	Morphologie des cellules de <i>Candida albicans</i> au grossissement ×1000	36
<b>Figure 13</b>	Onychodystrophie mycosique totale	42
<b>Figure 14</b>	Les différentes formes cliniques de l'onychomycose unguéale	43
<b>Figure 15</b>	Feuilles fraîches de <i>Laurus nobilis</i> L.	46
<b>Figure 16</b>	Dispositif d'extraction des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. par entraînement à la vapeur d'eau	47
<b>Figure 17</b>	Chromatographe Shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS- QP 2010-SE	49
<b>Figure 18</b>	Technique d'aromatogramme par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques	52
<b>Figure 19</b>	Protocole de la détermination de la CMI par microdilution	54
<b>Figure 20</b>	Protocole de la détermination de la CMF sur milieu solide	56
<b>Figure 21</b>	Huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. extraites par entraînement à la vapeur d'eau	58
<b>Figure 22</b>	Profil chromatographique des composés volatils de <i>Laurus nobilis</i> L. par CG/MS	61
<b>Figure 23</b>	Évaluation de l'activité anti-radicalaires de l'acide ascorbique par le test DPPH	63
<b>Figure 24</b>	Évaluation de l'activité anti-radicalaires des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. par le test DPPH	63
<b>Figure 25</b>	Aspect macroscopique des isolats (C1,C2,C3 et C4) de <i>Candida albicans</i>	64
<b>Figure 26</b>	Aspect macroscopique des isolats (C5,C6,C7 et C8) de <i>Candida albicans</i>	65

<b>Figure 27</b>	Aspect macroscopique de <i>Microsporium</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2)	65
<b>Figure 28</b>	Aspect microscopique des isolats (C, C2, C3, C4, C5, C6, C7 et C8) de <i>C. albicans</i>	67
<b>Figure 29</b>	Aspect microscopique de <i>Microsporium</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2)	68
<b>Figure 30</b>	Aromatogramme des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i> (C1,C2,C3 et C4) par diffusion en milieu gélosé (méthode des	70
<b>Figure 31</b>	Aromatogramme des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i> (C5,C6,C7 et C8) par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques)	71
<b>Figure 32</b>	Aromatogramme des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Microsporium</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2) par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques)	72
<b>Figure 33</b>	Concentration minimale inhibitrice des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium</i> et <i>Trichophyton</i>	73
<b>Figure 34.</b>	Représentation graphique de la concentration minimale inhibitrice des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium</i> et <i>Trichophyton</i> .	74
<b>Figure 35</b>	Concentration minimale fongicide des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	76
<b>Figure 36</b>	Concentration minimale fongicide des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Microsporium</i> (D1) et <i>Trichophyton</i> (D2)	77
<b>Figure 37.</b>	Représentation graphique de la concentration minimale fongicide des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. vis-à-vis <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium</i> et <i>Trichophyton</i> .	77

# Table des Matières

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1

## Partie Bibliographique

### Chapitre I : Laurier noble : Une plante médicinale aux propriétés précieuses

I.1. Généralités sur la plante	5
I.2. Historique	5
I.3. Répartition géographique	6
I.4. Description botanique	6
I.5. Position systématique	7
I.6. Culture et conservation	8
I.6.1. Conditions de croissance	8
I.6.2. Propagation	8
I.6.3. Récolte	9
I.7. Composition chimique	9
I.8. Les huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	10
I.8.1. Généralités	10
I.8.2. Disposition des huiles essentielles dans la plante	11
I.8.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	12
I.8.3.1. Hydrodistillation	12
I.8.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau	13
I.8.3.3. Extraction par micro-onde	13
I.8.3.4. Expression à froid	14
I.8.3.5. Extraction par solvants	15
I.8.3.6. L'enfleurage	15
I.8.3.7. Extraction par fluide supercritique (SFE)	15
I.8.4. Composition chimique des huiles essentielles	16
I.8.5. Les Propriétés biologiques des huiles essentielles	16
I.8.5.1. Activité antioxydante	16
I.8.5.2. Activité antibactérienne	17
I.8.5.3. Activité antifongique	17
I.8.5.4. Activité antivirale	18
I.8.5.5. Activité antiparasitaire	18
I.8.6. Domaine d'utilisations des huiles essentielles	18
I.8.6.1. Industrie Agro-alimentaire	18
I.8.6.2. Domaine médicinaux	18
I.8.6.3. Industrie de la parfumerie et du cosmétique	19
I.8.6.4. Pharmaceutique	19
I.8.7. Toxicité des huiles essentielles	19
I.8.8. Conservation des huiles essentielles	19
I.9. Huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	20
I.9.1. Composition chimique des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	20
I.9.2. Propriétés et mécanisme d'action des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	21
I.9.3. Utilisation des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L.	22
I.9.4. Toxicité des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L.	22

## Chapitre II : : Infections fongiques cutanées et unguéales

---

II.1. La peau	24
II.1.1. Généralité	24
II.1.2. Structure anatomique de la peau	24
.1.2.1. L'épiderme	25
.1.2.2. La jonction dermo-épidermique	25
.1.2.3. Le derme	26
.1.2.4. L'hypoderme	26
II.1.3. Voie de pénétration du médicament à travers la peau	27
II.1.3.1. La voie transépidermale	27
II.1.3.2. Voie des annexes cutanées	27
II.2. Dermatophytes	28
II.2.1. Définition	28
II.2.2. Morphologie	28
II.2.3. Classification	28
II.2.4. Pathogénie des dermatophytes	29
II.2.5. Maladies dermatophytiques	30
II.2.6. Origine des dermatophytes et contamination	30
II.2.6.1. Espèces anthropophiles	30
II.2.6.2. Espèces zoophiles	31
II.2.6.3. Espèces telluriques (géophiles)	31
II.2.7. Diagnostic biologique	31
II.2.7.1. Interrogatoire	31
II.2.7.2. Prélèvement	32
II.2.7.3. Examen microscopique direct	32
II.2.7.4. Culture conventionnelle	32
II.2.7.4.1. Milieux d'isolement	33
II.2.7.4.2. Milieux d'identification	33
II.2.8. Traitement	33
II.2.8.1. Médicaments systémiques	33
II.2.8.2. Médicaments topiques	34
II.2.9. Prévention	34
II.2.10. Résistance aux médicaments antifongiques	35
II.3. Candida albicans	35
II.3.1. Définition	35
II.3.2. Structure cellulaire et morphologie	36
II.3.3. Reproduction	37
II.3.4. Classification	37
II.3.5. Pathogénicité	37
II.3.5.1. Candidoses superficielles	37
II.3.5.2. Les candidoses profondes	38
II.3.6. Diagnostic	38
II.3.6.1. Prélèvements, acheminement, conservation	38
II.3.6.2. Examen direct (ED)	39
II.3.6.2.1. Prélèvements superficiels	39
II.3.6.2.2. Prélèvements profonds	39
II.3.6.3. Cultures	39
II.3.7. Traitement	40
II.3.8. Résistance aux antifongiques	40
II.3.8.1. Résistance aux polyènes	40
II.3.8.2. Résistance à la flucytosine	41
II.3.8.3. Résistance aux azolés	41
II.4. Onychomycose	41

## Partie Expérimentale

### Chapitre III : Matériel et méthode

---

III.1. Objectif .....	46
III.2. Matériel végétal .....	46
III.3. Isolats fongiques .....	46
III.4. Milieux de culture .....	47
III.5. Extraction des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	47
III.6. Détermination du rendement d'extraction des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	48
III.7. Caractérisation et identification chimiques des HEs de <i>L. nobilis</i> L. par CPG-MS .....	48
III.8. Activité Antioxydante .....	49
III.9. Revivification et confirmation des isolats microbiens étudiés .....	50
III.9.1. Culture .....	50
III.9.2. Examen macroscopique .....	50
III.9.3. Examen microscopique .....	50
III.10. Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	51
III.10.1. Aromatogramme .....	51
III.10.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	53
III.10.3. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) .....	55

### Chapitre IV : Résultats et discussion

---

IV.1. Extraction des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	58
IV.2. Caractérisation et identification chimiques des HEs de <i>L. nobilis</i> L. par CPG-MS .....	59
IV.3. Activité antioxydante .....	61
IV.4. Revivification et confirmation des isolats microbiens étudiées .....	64
IV.4.1. Examen macroscopique .....	64
IV.4.2. Examen microscopique après coloration au bleu de lactophénol coton .....	66
IV.5. Évaluation de l'activité antifongique de des huiles essentielles de <i>Laurus nobilis</i> L. ....	69
IV.5.1. Aromatogramme .....	69
IV.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) .....	73
IV.5.3. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) .....	75
Conclusion .....	79
Références bibliographiques	
Annexes	

# Introduction

---

L'onychomycose est une infection fongique chronique touchant principalement les ongles des pieds et, plus rarement, ceux des mains. Elle se manifeste par une décoloration, un épaissement de la tablette unguéale et parfois un décollement de l'ongle du lit unguéal, altérant ainsi l'esthétique et parfois la fonction de l'ongle. Cette pathologie, bien que rarement grave, est source de gêne physique et psychologique, notamment en raison de son caractère récidivant et de la difficulté de son éradication complète. Les agents pathogènes responsables de l'onychomycose sont majoritairement des dermatophytes, tels que *Microsporum*, *Trichophyton* ou encore *Epidermophyton*. Cependant, une augmentation notable des cas impliquant des levures, comme *Candida albicans*., ainsi que des moisissures non dermatophytes (MND), notamment *Aspergillus spp.* (**Chanyachailert et al., 2023**).

Malgré la disponibilité de traitements antifongiques systémiques et topiques, la prise en charge de l'onychomycose reste un véritable défi thérapeutique. On observe une recrudescence des cas de résistance aux antifongiques (**Ravindra et Miskeen, 2020**). Face à l'échec croissant des traitements antifongiques conventionnels de l'onychomycose, quelles sont les perspectives d'utilisation d'agents antifongiques naturels comme alternatives thérapeutiques efficaces et durables ?

L'usage de remèdes à base de plantes, bien qu'ancestral, connaît un regain d'intérêt dans la perspective de développer des agents antifongiques efficaces, bien tolérés et moins susceptibles d'induire une résistance. Plusieurs extraits végétaux ont montré une activité antifongique significative *in vitro*, notamment les huiles essentielles, contre des souches fongiques responsables d'onychomycose (**Quintana et al., 2021**). De plus, les huiles essentielles sont plus puissantes que les agents antimicrobiens, grâce à leur composition riche et diversifiée, ainsi qu'à leur faible toxicité (**Merghni et al., 2015**).

Le laurier noble (*Laurus nobilis* L.), plante méditerranéenne riche en composés bioactifs comme l'eucalyptol et le linalol, possède des propriétés antifongiques, antibactériennes et anti-inflammatoires (**Soković et al., 2010**).

Notre étude porte sur l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. contre deux espèces de dermatophytes (*Microsporum* et *Trichophyton*) et huit

souches de *Candida albicans*. Ce manuscrit est structuré en deux grandes parties. La première, de nature bibliographique, comprend deux chapitres : le premier consacré à *Laurus nobilis* L., et le second dédié aux infections fongiques cutanées et unguéales. La deuxième partie, expérimentale, comporte un chapitre présentant le matériel et les méthodes utilisés, suivi du chapitre des résultats et de la discussion.

# Partie bibliographique

---



# Chapitre 1. Laurier noble

---

Une plante médicinale aux propriétés précieuses.



## Chapitre I: Laurier noble : Une plante médicinale aux propriétés précieuse

### I.1. Généralités sur la plante

*Laurus nobilis* L. appelé aussi Laurier noble, est une plante médicinale et aromatique de la famille des lauracées, qui compte approximativement entre 2500 et 3500 espèces. Deux espèces appartiennent au genre *Laurus* : *Laurus azorica* et *Laurus nobilis*. La partie générique du binôme, *Laurus*, provient directement du terme latin pour l'arbre et est vraisemblablement dérivée d'un mot celtique plus ancien, blaur, signifiant vert. Quant à *nobilis*, il s'agit d'un mot latin qui veut dire noble et célèbre. On le désigne aussi comme laurier doux, laurier de baie, laurier grec, laurier vrai ou tout simplement laurier (**Paparella et al., 2022**).

Il s'agit d'un arbre à feuillage persistant qui se cultive dans diverses zones chaudes du globe, notamment dans les pays méditerranéens. Dans les États-Unis et l'Europe, *Laurus nobilis* L. est couramment cultivé en tant que plante décorative (**Mssillou et al., 2020**).

### I.2. Historique

*Laurus nobilis* L. est le véritable laurier de la mythologie grecque et romaine. Selon la légende, elle serait née de la métamorphose de Daphné, une nymphe poursuivie par le dieu Apollon. Apollon ceignit sa tête d'une couronne de feuilles de laurier et déclara l'arbre sacré. Depuis l'Antiquité, le laurier est ainsi devenu un symbole fort de victoire, de mérite, de sagesse et d'honneur (**Paparella et al., 2022**).

Dans l'époque moderne aussi, le laurier demeure un symbole de victoire. On peut simplement penser à la « Feuille de Laurier Argentée », qui est le plus grand honneur sportif depuis 1950 en République Fédérale d'Allemagne. Dans les facultés de médecine, la couronne qui ornait la tête des jeunes docteurs était constituée de rameaux de laurier feuillus accompagnés de baies, d'où l'appellation « baccalauréat » qui est toujours attribuée aujourd'hui au diplôme marquant la conclusion des études secondaires. L'origine du terme remonte à la racine latine «bacca lauri», qui veut dire baies de laurier. Le laurier est toujours un symbole de paix. Cette plante possède une particularité, elle reste verte durant l'hiver. Cette particularité a été considérée pour faire de cette plante un emblème d'immortalité. Habiter à proximité d'une forêt de lauriers était synonyme de bonne santé. D'ailleurs, les médecins grecs conseillaient son emploi pour se prémunir contre la peste ou d'autres affections. Par ailleurs, il était communément admis que la foudre n'atteignait jamais l'endroit où se trouvait un laurier. Dès l'Antiquité, Grecs et Romains faisaient pousser le

laurier dans l'ensemble des régions méditerranéennes. En effet, les feuilles et fleurs de laurier sont mentionnées dans un livre de recette par le gastronome romain Apicius « De re coquinaria » (Bekhti, 2021).

### I.3. Répartition géographique

Le laurier se cultive dans diverses conditions écologiques et climatiques. Des conditions propices à une croissance rapide requièrent un sol qui est bien drainé et humide, avec une acidité (pH) variant de 4,5 à 8,2, et une atmosphère humide proche de la mer. Le laurier est cultivé dans les pays suivants (fig. 1) : Turquie, Algérie, Maroc, Portugal, France, Espagne, Grèce, Inde, Pakistan, autres pays d'Asie du Sud-Est, certaines îles du Pacifique, Australie, Amérique centrale, Mexique et au sud des États-Unis ainsi que dans les îles Canaries (Khodja *et al.*, 2023).

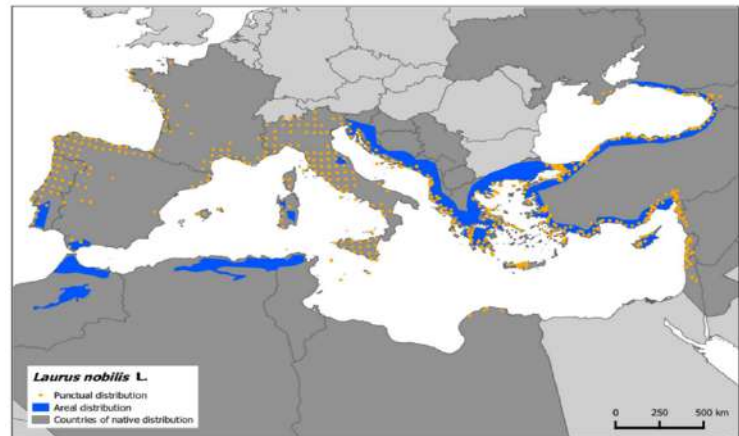


Figure 1. Répartition géographique de *Laurus nobilis* L. (Paparella *et al.*, 2022).

En Algérie, on trouve des buissons de laurier dans les aulnaies disséminées à travers les zones humides d'Annaba-El Kala et de Guerbès-Senhadja, les crêtes interdunaires côtières, les aulnaies riveraines développées le long des oueds et des marges des lacs (Mediouni Ben Jemâa *et al.*, 2012).

### I.4. Description botanique

L'arbre du laurier (*Laurus nobilis* L.) a la capacité de croissance jusqu'à 15 mètres de hauteur. Son écorce est lisse et noire, et son feuillage demeure constante. Les feuilles sont alternes, allongées, lancéolées ayant 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large. Elles sont courtement pétiolées. Le limbe est coriace, glabre et entier. Les feuilles présentent une couleur vert foncé et brillant sur le dessus, tandis que leur face inférieure est pâle. Les inflorescences sont des ombelles axillaires blanc jaunâtres. Les fleurs vert blanchâtres sont groupées à l'aisselle des feuilles en petits bouquets, prenant la forme de courtes panicules enveloppées par un involucre composé de bractées

caduques à quatre dents. Elles sont dioïques, odorantes et sont rassemblées en petites ombelles axillaires pédonculées et involuquées. Le périanthe pétaloïde caduc a quatre divisions obovales égales. L'androcée est formé de douze étamines réparties sur deux verticilles, à anthères s'ouvrant de la base au sommet par des valvules. Le gynécée est formé d'un unique ovaire libre, entouré par deux ou quatre staminodes tripartis. Le style est court, épais et à stigmate subcapité. Les fruits sont des drupes globuleuses, de 2 cm de longueur et d'un noir profond à maturité. La pulpe est verte grasse, parfumée et renfermant une graine (fig. 2) (Taleb-Toudert, 2015).



Figure 2. Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L. (Ouibrahim, 2015).

### I.5. Position systématique

Les Laurales représentent un ordre vaste qui regroupe 9 familles et approximativement 3000 espèces. Les principales familles de cet ordre sont les Calycanthaceae, les Lauraceae et les Monimiaceae. La famille des Lauraceae se compose de plus de 55 genres et compte entre 2 500 et 3 500 espèces (Khodja *et al.*, 2023).

Ce classement se réfère à la classification botanique élaborée par Quezel et Santa comme indique le tableau suivant :

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	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L.

## I.6. Culture et conservation

### I.6.1. Conditions de croissance

C'est une espèce qui préfère les hivers doux, où les températures ne tombent pas en dessous de -5°C. Les conditions idéales sont les endroits ensoleillés et protégés du vent, même si elle tolère l'ombre. En ce qui concerne l'humidité, la plante ne tolère pas la sécheresse prolongée : il lui faudra au minimum 600 mm de précipitations par an. À l'exception des sols trop acides, le laurier est capable de s'acclimater à tout type de sol. Il se développe aisément dans les sols profonds et humides toute l'année. Le sol type doit être riche en nutriments, en humus et en bases avec un pH proche de la neutralité (Bekhti, 2021).

### I.6.2. Propagation

La multiplication par semis est possible en automne, mais la meilleure technique reste le bouturage à la fin de l'été. Cependant, le pourcentage de récupération des boutures et des graines avec les deux techniques est très faible. L'utilisation de techniques de propagation *in vitro* peut offrir de grandes opportunités de culture en masse de cette espèce. En effet, cette technologie offre de nouvelles façons de produire de grandes quantités de matériel sélectionné. Par ailleurs, cette méthode ne se limite pas à une multiplication rapide : il a été démontré que les plantes auto-enracinées *in vitro*, multipliées par micropropagation, sont plus robustes et plus résistantes aux maladies. Plusieurs facteurs influencent le succès de la propagation *in vitro*, notamment la composition minérale, les milieux hormonaux et de culture, le génotype ainsi que l'âge des explants. Dans un premier temps, le travail proposé dans cette étude vise à tester l'effet de trois types de milieux de culture sur la germination des graines et la croissance des plantes. Ensuite, nous étudierons l'impact des hormones testées dans les milieux de culture sur le développement des plantules issues de la germination. Enfin, l'effet de différentes combinaisons d'hormones sur la capacité des microboutures à régénérer une plantule entière. L'acclimatation a également été suivie grâce à l'utilisation de deux types de substrats (Chourfi *et al.*, 2014).

Le séchage peut préserver à la fois les feuilles et les graines. Une étude a montré qu'une faible diminution de la teneur en humidité des graines augmentait la germination. Cela se produit lors de séchages lents et rapides. Il convient de noter qu'une réduction progressive de la teneur en humidité entraîne une réduction de la germination (Riabov *et al.*, 2020).

### I.6.3. Récolte

Les feuilles de laurier peuvent être récoltées toute l'année car la plante est persistante. Les baies sont récoltées à environ 40 % d'humidité lorsqu'elles atteignent la maturité physiologique. Pour un rendement maximal et une qualité de feuilles sèches optimale sont recommandées généralement une ou deux récoltes par an. Les conditions météorologiques telles que la rosée, une forte humidité et les pluies sont évitées pendant la récolte, car elles peuvent provoquer une détérioration et une décoloration. Les feuilles de laurier sont classées selon leur forme, leur taille, leur couleur et leur arôme avant d'être emballées. En fonction des diverses normes de qualité et les préférences des consommateurs, les feuilles sont emballées et conservées dans un endroit frais et sec. Les conditions de stockage suggérées pour les épices sont de 10 à 15 °C et de 55 à 65 % d'humidité relative (HR) (Paparella *et al.*, 2022).

### I.7. Composition chimique

La composition chimique de *Laurus nobilis* L. (tableau 2) peut varier qualitativement et quantitativement en fonction de la région de récolte, de la méthode d'extraction et du solvant utilisé pour la récupération des composés.

**Tableau 2.** Composition chimique de la plante *Laurus nobilis* L. (Khodja *et al.*, 2023).

Classes	Composés identifiés	Références
Huiles essentiels	1,8- Cinéole, Linalool, Sabinene, Terpinene-4-ol	(Chahal <i>et al.</i> , 2017).
Flavonoïdes	Kaempférol, quercétine, Lutéoline, Apigénine, hespéritine.	(Konovalov et Alieva, 2019)
Acides phénoliques	Acide gallique, Acide rosmarinique, Acide p-coumarique, Acide cinnamique, Acide syringique, Acide caféique.	(Bourebaba <i>et al.</i> , 2021 ; Dobroslavić <i>et al.</i> , 2021 ; Stefanova <i>et al.</i> , 2020)
Alcaloïdes	Boldine, réticuline, isodomeesticine, neolistine, actinodophnine, nor isodomeesticine, launobine, nandigérine, cryptodonine.	(Alejo-Armijo <i>et al.</i> , 2017).
Proanthocyanidines (Tanins)	Cinnamtannin B-1, Procyanidine B-2, procyanidine B-4	(Konovalov et Alieva, 2019).

## I.8. Les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

### I.8.1. Généralités

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges de molécules organiques volatiles liposolubles, traditionnellement obtenues par distillation à la vapeur d'eau de fruits, de fleurs, de feuilles, de tiges, de graines, de bois aromatiques et de racines, reproduisant généralement l'odeur de la plante dont elles sont issues. Des méthodes d'extraction comme la distillation sèche, le pressage mécanique, l'extraction par solvant, l'extraction par fluide supercritiques et d'autres techniques d'extraction à haut rendement, offrant des avantages pour des sources botaniques spécifiques (**Matera et al., 2023**).

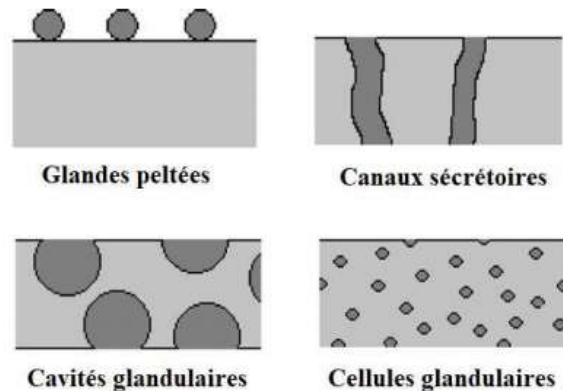
Il existe plusieurs définitions au terme "huiles essentielles" selon l'organisme de régulation.

Selon la Pharmacopée Européenne X<sup>ème</sup> édition : l'huile essentielle est un "Produit odorant, généralement de composition complexe, dérivé d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique adaptée sans chauffage. Les huiles essentielles sont les plus souvent séparées de la phase aqueuse à l'aide d'un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.". Selon la Pharmacopée Française XI<sup>ème</sup> édition : définis comme "Substance qui est fluide, volatile, odorante, de composition complexe produite par un appareil sécréteur.". Et selon le Code de la Santé Publique (CSP) : " On considère les huiles essentielles comme des préparations à base des plantes. Ce sont des produits odorants, généralement à composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par une mécanique appropriée sans chauffage."

Donc, les huiles essentielles sont des extraits aromatiques d'une plante aromatique. Le produit qui en résulte est fluide, volatil, odorant et de composition complexe. Les HEs contiennent des molécules aromatiques ayant une action sur la santé, qui sont à la base de l'aromathérapie (**Cheung, 2021**).

### I.8.2. Disposition des huiles essentielles dans la plante

Dans la majorité des plantes aromatiques et médicinales (PAM), les huiles essentielles sont générées au sein de poils fins situés à la surface des feuilles. Parfois, elles sont élaborées par les glandes de l'épiderme des fruits des agrumes ou sont accumulées dans les résines de certains conifères. L'accumulation et la synthèse de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures glandulaires spécialisées qui sont distinctes des vaisseaux conducteurs de sève. Ces structures (fig. 3) prennent plusieurs formes selon la famille botanique : des glandes peltées chez les Lamiaceae, des canaux glandulaires chez les Asteraceae, Apiaceae, Hypericaceae, Pinaceae et Coniferae, des grandes cavités pour les Rutaceae, et des cellules à parois peu perméables pour les rhizomes de gingembre, les noix de muscade, la racine de valériane, etc (**Ouled Taarabt, 2019**).



**Figure 3.** Les formes structurales (des différentes familles de plantes) (**Ouled Taarabt, 2019**).

Les huiles essentielles sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante.

Ils peuvent être stockés dans tous les organes végétaux (fig. 4) :

- Les fleurs (Oranger, rose, lavande, menthe) ;
- Les feuilles (Eucalyptus, menthe, thym, laurier, sauge, aiguilles de pin, basilic) ;
- Les organes souterrains : racines, rhizomes (Gingembre) ;
- Les fruits (tels que le fenouil, le poivre et les épidermes de citrus) ;
- Les graines (comme la noix de muscade et la coriandre) ;
- Le bois et les écorces (par exemple, la cannelle, le camphrier et le bois de rose) ;
- Les poils sécréteurs épidermiques qui s'accumulent dans des cellules glandulaires spécialisées, situées à la surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule rencontrée souvent chez les Lamiaceae, les Myrtaceae et les Apiaceae (**Bounab, 2020**).

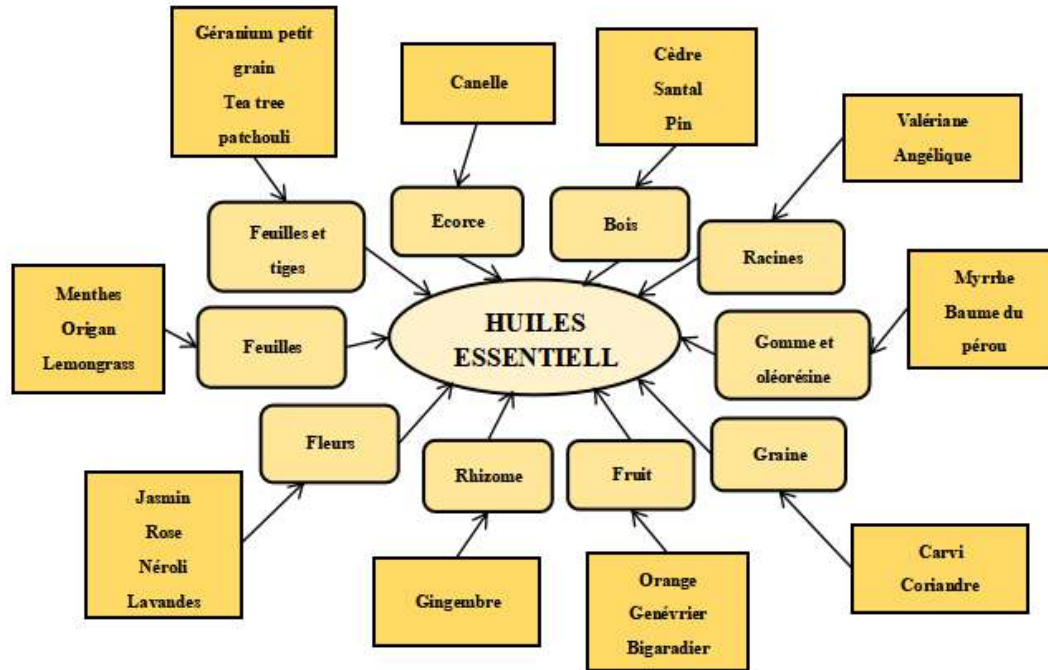


Figure 4. Exemples des huiles essentielles issues de différentes parties de plantes (Deschepper, 2017).

### I.8.3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

#### I.8.3.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation repose sur le principe de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la matière première végétale directement dans un appareil de type Clevenger (fig. 5) ou dans un alambic rempli aux trois quarts d'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition à la pression atmosphérique. Les vapeurs détruisent la structure des cellules végétales, libèrent les molécules qui s'y trouvent et entraînent les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'hydrolat par simple différence de densité, les HEs surnageant généralement au-dessus de l'hydrolat. Cette méthode est la plus simple, la plus répandue et

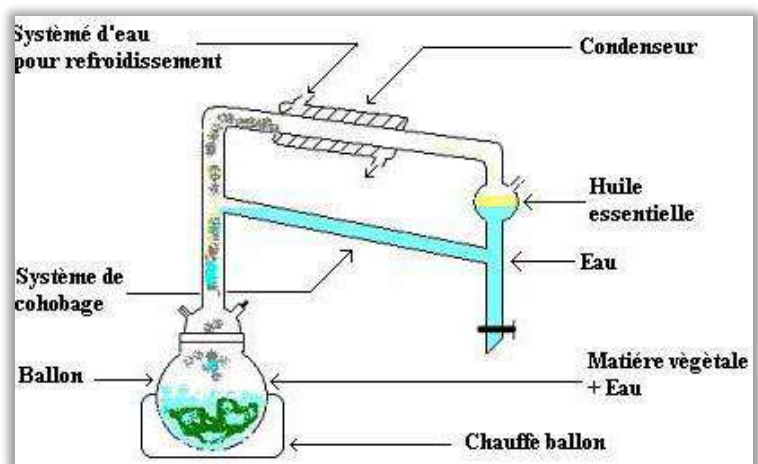


Figure 5. Montage d'hydrodistillation type Clevenger (Hernandez Ochoa, 2005).

la moins coûteuse. Cependant, malgré sa simplicité, elle peut apporter de nombreux artefacts. En effet, l'eau, l'acidité et la température du milieu peuvent induire des réactions d'hydrolyse, le réarrangement, la racémisation, l'oxydation, l'isomérisation, etc. De plus, certains organes végétaux comme les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas le traitement thermique par hydrodistillation (Nebie, 2023).

### I.8.3.2. Entraînement à la vapeur d'eau.

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HEs (fig. 6). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont d'abord condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (HEs). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité des HEs. Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux exigences de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils (Boukhatem *et al.*, 2019).

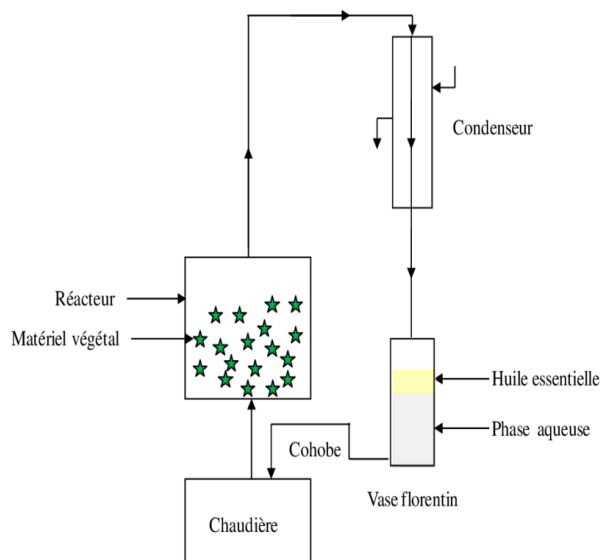


Figure 6. Schéma de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (EVE) (Boukhatem *et al.*, 2019).

### I.8.3.3. Extraction par micro-onde

Cette méthode consiste à chauffer l'extractant (eau ou solvant organique) mis en contact avec la plante sous l'énergie micro-ondes ce qui permet un chauffage homogène (fig. 7), les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Cette technique d'extraction offre une économie de temps et d'énergie considérable avec une qualité du produit obtenu (Taroq, 2020).

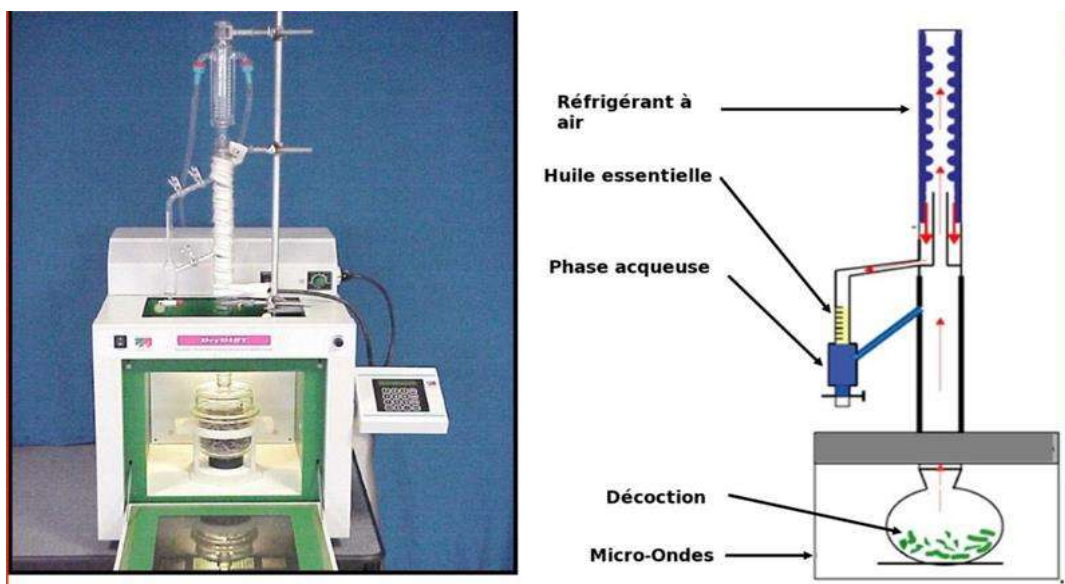


Figure 7. Dispositif d'extraction des huiles essentielles par micro-ondes (Nebie, 2023).

#### I.8.3.4. Expression à froid

Cette méthode est destinée à l'extraction des huiles essentielles présentes dans les péricarpes d'agrumes en les déchirant grâce à un processus mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en récupérer le contenu qui n'a subi aucune modification. Les essences de Citrus ont longtemps été extraites manuellement, la mécanisation et l'industrialisation de la méthode d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XX<sup>e</sup> siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes modernes tels que la « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences (fig. 8), d'autant que la distillation n'est plus une méthode très appropriée. Effectivement, la distillation génère des huiles aromatiques de qualité inférieure en raison de la présence importante d'aldéhydes, des composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (Boukhatem *et al.*, 2019).

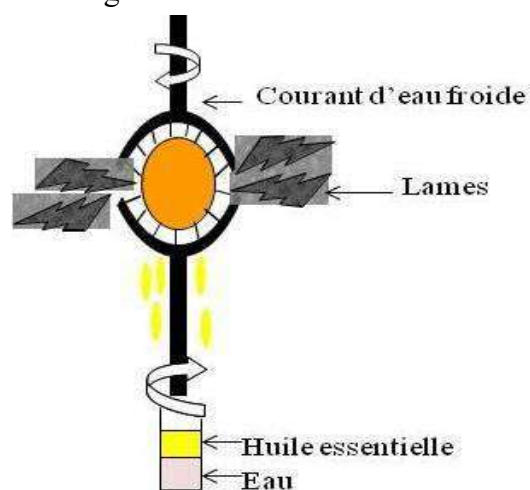


Figure 8. Schéma d'Expression au froid (Mnayer, 2014).

### I.8.3.5. Extraction par solvants

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une faible concentration en huile essentielle qui ne peuvent pas être extraites par hydrodistillation. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant, à bas point d'ébullition, qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse. Le solvant choisi devra posséder une stabilité face à la chaleur et une basse température d'ébullition pour faciliter son élimination (Taroq, 2020).

### I.8.3.6. L'enfleurage

La méthode d'enfleurage est généralement utilisée sur les fleurs qui, lorsqu'elles sont en contact avec des graisses absorbantes, les saturent en essence après quelques jours. Les pommades ainsi préparées sont soit employées telles quelles, dans la fabrication de cosmétiques, ou épuisées par l'alcool absolu ; en résultent des extraits alcooliques aux fleurs, concentrables en essences par évaporation sous vide (Franchomme *et al.*, 2001).

### I.8.3.7. Extraction par fluide supercritique (SFE)

SFE est une méthode dans laquelle un fluide supercritique (fig. 9), une substance qui partage les propriétés physiques du gaz et du liquide au-dessus de son point critique. Ces propriétés permettent la performance du gaz en termes de pouvoir de pénétration dans la matrice cellulaire, ainsi que les propriétés solvatantes du liquide. Le CO<sub>2</sub>, avec un point critique supérieur à 31,1 °C et 7 380 kPa, est le fluide supercritique le plus fréquemment utilisé en EFS. Il est inflammable, relativement non toxique, stable chimiquement, peu coûteux et produit une tension superficielle nulle. Sa température critique douce convient à l'extraction de composés thermolabiles. Cependant, comme il est apolaire, l'ajout de modificateurs polaires, tels que l'éthanol, le méthanol, l'acétate d'éthyle ou

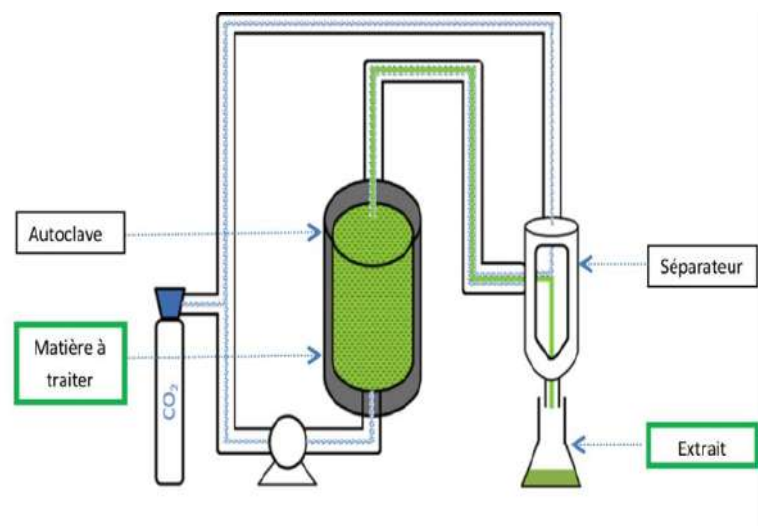


Figure 9. Schéma du dispositif d'extraction des huiles essentielles par CO<sub>2</sub> supercritique (Nebie, 2023).

l'acétone, est recommandé pour l'extraction de composés phénoliques polaires. Les rendements les plus élevés en composés phénoliques extraits par SFE à partir de diverses matières végétales sont obtenus avec des paramètres de pression comprise entre 50 et 600 bars, une température de 20 à 35 °C, et une durée de 5 à 180 minutes (**Dobroslavić et al., 2022**).

#### **I.8.4. Composition chimique des huiles essentielles**

Les composants des huiles essentielles appartiennent principalement à deux grandes familles chimiques : les hydrocarbures terpéniques (ou terpénoïdes), qui sont les molécules les plus fréquemment rencontrées (monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes...) et souvent porteurs de fonctions alcools, esters, aldéhydes, cétones, éthers-oxydes.... Les hydrocarbures aromatiques (benzoïdes ou phénylpropanoïdes), rencontrés en moindre quantité, qui possèdent généralement un cycle benzénique (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>), comme les phényles, les benzyles, les phényles-éthyles et les phényles-propyles, ainsi que des structures polycycliques, telles que le naphthalène et le benzo[a]pyrène (**Mohamadi, 2023**).

Les HEs contiennent des molécules volatiles qui dégagent une odeur, principalement provenant de la famille des terpénoïdes. Elles s'accumulent dans des glandes et tissus spécialisés des végétaux tels que les cellules épidermiques des pétales chez les Rosaceae et les Oleaceae, les glandes épidermiques des Lamiaceae, les poches sécrétrices des Rutaceae ou canaux sécréteurs des Apiaceae (anciennement Umbelliferae) (**Taleb-Toudert, 2015**).

#### **I.8.5. Les Propriétés biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent des propriétés biologiques. Certaines d'entre elles, notamment antioxydantes, antibactériennes, et antifongiques, possèdent une importance technologique, car elles peuvent indirectement contribuer positivement à la préservation des produits (**Ordoudi et al., 2022**).

##### **I.8.5.1. Activité antioxydante**

Le stress oxydatif est un des mécanismes majeurs impliqué dans le vieillissement cutané et les affections dermatologiques (**Plainfossé, 2019**). L'activité antioxydante de nombreuses huiles essentielles, comme les HEs de cannelle, de piment, de laurier et d'origan, présente un pouvoir anti-oxydant. Cette activité est attribuée à certains groupes fonctionnels en l'occurrence, les alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques, comme le linalol, le 1,8-cinéole, le

géraniol/nérol, le citronellal, ainsi que certains monoterpènes dont le  $\gamma$ -terpinène et l' $\alpha$ -terpinolène. Le pouvoir antioxydant des HEs est utilisé comme substitut dans la préservation des aliments (Touhami, 2017).

#### **I.8.5.2. Activité antibactérienne**

Depuis l'Antiquité les qualités antibactériennes des plantes aromatiques et médicinales sont reconnues. Ces propriétés sont dues à la fraction des HEs présentes dans les plantes. Les huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : l'Origan, le thym, la sauge, le romarin, le clou de girofle sont autant de plantes aromatiques fréquemment utilisées comme ingrédients alimentaires. Toutes les HEs de ces plantes ont une particularité commune ; elles sont riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces trois composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, notamment leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Ceci pourrait entraîner un changement de conformation de la membrane. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- ✓ Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité suivie de la perte des constituants cellulaires ;
- ✓ Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production d'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- ✓ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Bounab, 2020).

#### **I.8.5.3. Activité antifongique**

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être utilisés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les micro-organismes envahissant la denrée alimentaire. Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. Le pouvoir antifongique est dû à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HEs (Goudjil, 2016).

#### **I.8.5.4. Activité antivirale**

Les virus donnent lieu à des pathologies protéiformes dont certaines posent des problèmes pour l'instant non résolus par la science médicale. Les réponses classiques à ces infections étant très limitées, les huiles essentielles constituent une véritable manne pour traiter les troubles d'origine virale allant des plus banales aux plus redoutables. Des molécules (monoterpénols, monoterpénals, etc...) appartenant à de nombreuses familles chimiques ont révélé *in vitro* leur activité antivirale. Le couple synergique, cinéole-monoterpénol sera bénéfique pour traiter les pathologies virales touchant la sphère respiratoire (les plus répandues dans les régions tempérées) **(Franchomme *et al.*, 2001)**.

#### **I.8.5.5. Activité antiparasitaire**

Les huiles essentielles peuvent avoir une activité antiparasitaire, que les parasites soient internes comme les vers ou externes comme les poux. Cette activité est parasitifuge pour des HEs à oxydes terpéniques, aldéhydes ou phénols aromatiques. Elle est parasiticide pour les HEs à phénols-méthyléthers et à cétones terpéniques **(Cheung, 2021)**.

### **I.8.6. Domaine d'utilisations des huiles essentielles**

#### **I.8.6.1. Industrie Agro-alimentaire**

Les huiles essentielles sont finalement devenues des arômes naturels et des rehausseurs de goût dans divers domaines de l'agroalimentaire : liqueurs, boissons, confiseries, plats cuisinés ... S'il n'existe pas réellement de règle, on peut dire que les huiles essentielles plébiscitées pour des préparations salées sont issues d'épices et d'aromates tandis que les HEs d'agrumes seront préférées pour des parfums plus sucrés **(Deschepper, 2017)**.

Dans l'industrie agroalimentaire, les HEs sont utilisées pour aromatiser une grande variété de produits **(Ordoudi *et al.*, 2022)**.

#### **I.8.6.2. Domaine médical**

Pour leurs propriétés médicinales l'utilisation historique des plantes en raison de leurs propriétés thérapeutiques avec les avancées techniques et scientifiques, mené à l'isolation de principes actifs. La phytothérapie est la médecine par les plantes, utilisées en partie ou en totalité, sous différentes formes (teintures mères, extraits fluides ou secs, poudres, infusions et décoction).

L'aromathérapie n'utilise que les principes actifs d'une partie de la plante, où ils sont fortement concentrés (Mouas, 2018).

### **I.8.6.3. Industrie de la parfumerie et du cosmétique**

Les huiles essentielles sont utilisées dans la fabrication de parfums, shampoings, gel-douches, crèmes, laits, déodorants corporels et dans d'autres produits d'entretien (savons, détergents, lessives, assouplissants de textile) (Nebie, 2023).

### **I.8.6.4. Pharmaceutique**

Des huiles essentielles peuvent également être de simples excipients dans des médicaments et servir d'arôme pour masquer le goût d'un principe actif, fonctionner en tant qu'agent de pénétration percutanée, ou encore comme source de précurseur l'hémisynthèse, tel que les citrals qui servent à la production de la vitamine A. En raison de leurs propriétés pharmacologiques, les huiles essentielles ont un rôle important dans le domaine médical (Ounoughi, 2021).

### **I.8.7. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles peuvent avoir des effets secondaires très graves, dus à leur pouvoir toxique, Par exemple, on peut citer l'effet irritant qui provient des huiles essentielles riches en thymol ou en carvacrole, l'effet allergène associé aux huiles essentielles riches en cinnamaldéhyde et l'effet phototoxique résultant des huiles essentielles qui contiennent des furocoumarine (Touhami, 2017). D'autres HEs ont un effet neurotoxique (les cétones telles que l' $\alpha$ -thujone sont toxiques pour les tissus nerveux) (Mouas, 2018).

### **I.8.8. Conservation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et extrêmement délicats, ce qui rend leur conservation difficile, pour limiter les risques de leurs dégradations et la modification de leurs propriétés. La durée de conservation des HEs varie entre 12 à 18 mois. Leur conditionnement doit se faire dans des flacons propres et secs, fait en aluminium, acier inoxydable ou en verre teinté, presque entièrement remplis ou sous atmosphère d'azote fermé de façon étanche et stocké à l'abri de la chaleur et de la lumière (Ounoughi, 2021).

## I.9. Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

### I.9.1. Composition chimique des HEs de *Laurus nobilis* L.

Les huiles essentielles de laurier noble (*Laurus nobilis* L.) est distillée à partir des feuilles et rameaux fleuris de l'arbuste de laurier noble. C'est une huile essentielle liquide peu colorée, d'un jaune pâle et d'une fragrance épicée caractéristique du laurier. De qualité officinale, elle contient plus de 50 composés (tableau 3), dont les principaux sont : 35 à 45 % de 1,8-cinéole de la famille des oxydes terpéniques, 15 à 25 % d'alcools terpéniques tels que le linalol et l' $\alpha$ -terpinéol, le terpinène-4-ol, ainsi qu'environ 15 % de terpènes dont de l' $\alpha$ - et du  $\beta$ -pinène ainsi que du sabinène. 10 % d'esters terpéniques tels que l'acétate et le formiate de terpinyle. Dans une moindre mesure puisqu'ils sont évalués à moins de 5 % chacun, cette HEs contient aussi du  $\beta$ -caryophyllène, de l'eugénol et du méthyleugénol (Cheung, 2021).

**Tableau 3.** Composition chimique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. (Caputo et al.,2017).

N°	Composé	%	Ri <sup>a</sup>	Ri <sup>b</sup>	Identification <sup>c</sup>
1	pentanoate de méthyle	0,1	850	828	1,2
2	isovalérate d'éthyle	0,1	853	858	1,2
3	$\alpha$ -thuyène	0,7	916	930	1,2
4	$\alpha$ -pinène	5,8	922	939	1,2,3
5	Camphène	0,8	935	954	1,2
6	Sabinène	12,2	962	975	1,2
7	$\beta$ -pinène	1,4	980	979	1,2,3
8	$\alpha$ -phellandrène	0,5	991	1002	1,2,3
9	$\delta$ -2-carène	0,4	997	1002	1,2
10	$\alpha$ -terpinène	0,6	1004	1017	1,2,3
11	<i>o</i> -Cymène	0,3	1013	1026	1,2
12	1,8-cinéole	31,9	1016	1031	1,2,3
13	( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimène	0,2	1028	1037	1,2
14	( <i>E</i> )- $\beta$ -ocimène	0,2	1038	1050	1,2
15	$\gamma$ -terpinène	1,0	1048	1059	1,2,3
16	hydrate de <i>cis</i> -sabinène	0,3	1057	1070	1,2
17	$\rho$ -Mentha-3,8-diène	0,5	1077	1072	1,2
18	hydrate de <i>trans</i> -sabinène	10,2	1093	1098	1,2
19	Linalol	0,1	1096	1096	1,2,3
20	<i>exo</i> -Fenchol	0,1	1111	1121	1,2
21	<i>allo</i> -Ocimène	0,2	1118	1132	1,2
22	<i>trans</i> -Sabinol	0,2	1128	1142	1,2
23	Camphre	0,2	1133	1146	1,2,3
24	Oxyde de $\beta$ -pinène	0,1	1147	1159	1,2
25	Isobornéol	0,5	1155	1160	1,2
26	<i>iso</i> -isopulégol	0,6	1157	1159	1,2
27	<i>néoiso</i> -isopulégol	2,5	1165	1171	1,2
28	$\alpha$ -terpinéol	3,3	1180	1188	1,2,3

29	<i>cis</i> -carvéol	0,2	1219	1229	1,2
30	<i>cis</i> - <i>p</i> -Mentha-1(7),8-diène-2-ol	0,1	1232	1230	1,2
31	acétate d'hydrate de <i>trans</i> -sabinène	0,7	1246	1256	1,2
32	2-(1 <i>E</i> )-propényl-phénol	0,1	1265	1267	1,2
33	acétate de néo -3-thujanol	0,4	1275	1276	1,2
34	$\alpha$ -terpinène-7-al	0,3	1284	1285	1,2
35	acétate d'iso -verbanol	0,3	1306	1309	1,2
36	acétate d' $\alpha$ -terpinyle	5,9	1340	1349	1,2
37	Eugénol	1,6	1347	1359	1,2,3
38	Cyclosatifène	0,1	1360	1371	1,2
39	Longicylène	0,2	1373	1374	1,2
40	$\beta$ -Élémène	0,4	1381	1390	1,2
41	Méthyl-eugénol	3,3	1394	1403	1,2,3
42	$\beta$ -Funébrène	0,5	1408	1414	1,2
43	<i>cis</i> -thujopsène	0,2	1427	1431	1,2
44	Spirolépinène	0,1	1445	1451	1,2
45	<i>allo</i> -aromadendrene	0,1	1449	1460	1,2,3
46	$\gamma$ -Himachalène	0,1	1474	1482	1,2
47	<i>a</i> -amorphène	0,1	1483	1484	1,2
48	$\delta$ -amorphène	0,1	1502	1512	1,2
49	$\delta$ -cadinène	0,2	1512	1523	1,2
50	Élémicine	0,5	1546	1557	1,2
51	Spathulénol	0,4	1563	1578	1,2,3
52	Oxyde de caryophyllène	0,3	1572	1583	1,2,3
53	Thujopsan-2- $\alpha$ -ol	0,1	1580	1587	1,2
54	Viridiflorol	0,2	1591	1592	1,2
55	Érémoligénol	0,1	1630	1631	1,2
	<b>Total</b>	<b>91,6</b>			
	Hydrocarbures monoterpènes	34,0			
	Monoterpènes oxygénés	48,6			
	Hydrocarbures sesquiterpéniques	3,2			
	Sesquiterpènes oxygénés	0,2			
	Composés phénoliques	5,6			

<sup>a</sup> Indice de rétention linéaire sur colonne HP-5MS ; <sup>b</sup> Indice de rétention linéaire sur colonne HP Innowax ;  
<sup>c</sup> Méthode d'identification : 1 = indice de rétention linéaire ; 2 = identification basée sur la comparaison des spectres de masse ; 3 = Co-injection avec des composés standards.

### I.9.2. Propriétés et mécanisme d'action des HEs de *Laurus nobilis* L.

Les huiles essentielles de laurier noble possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques et antalgique, ce qui en fait une alliée de choix contre les douleurs. Elle est également anti-infectieuse à large spectre d'action (antibactérienne et antivirale), immunostimulante, mucolytique et expectorante grâce au 1,8- cinéole. Elle possède aussi des propriétés antioxydante et antiputréfiante, antiproliférative (et légèrement cytotoxique dans les cas de cancers par exemple), anti-œdémateuse, insectifuge, hypoglycémiant, anticonvulsivante et rééquilibrante nerveuse (Cheung, 2021).

### **I.9.3. Utilisation des HEs de *Laurus nobilis* L.**

Traditionnellement, les feuilles de *Laurus nobilis* L. sont utilisées comme épices dans la cuisine méditerranéenne (**Dobroslavić et al., 2022**). Sont largement utilisées pour les soins capillaires pour leur activité antipelliculaire et également pour le traitement externe du psoriasis (**Nafis et al., 2020**).

Les huiles essentielles issues des feuilles de *L. nobilis* L. sont utilisées pour les bains antirhumatismaux et en frictions pour les foulures, abcès, ulcères, gale, pelade, pédiculose, psoriasis et mycoses. On l'utilise également contre la chute des cheveux. De plus, elles sont utilisées par l'industrie cosmétique, et en parfumerie. Les HEs de *Laurus nobilis* L. entrent dans la composition du végébon vétérinaire pour les affections de la peau et de la mamelle (**Miliani, 2018**). En outre, il a été utilisé pour soulager les douleurs liées aux hémorroïdes et aux rhumatismes. Il possède également des propriétés diurétiques et antifongiques (**Caputo et al., 2017**).

En raison de la présence de plusieurs molécules antioxydantes dans le laurier, diverses activités biologiques et pharmacologiques ont été signalées par les chercheurs, notamment des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antivirales et insecticides (**Khodja et al. 2023**).

### **I.9.4. Toxicité des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.**

Pour prévenir tout risque potentiel de toxicité lors des tests biologiques, des essais de toxicité étaient indispensables. La toxicité aiguë de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. chez les souris femelles et mâles a établi sa classification parmi les huiles légèrement toxiques par voie orale (**Miliani, 2018**).

# Chapitre 2.

---

Infections fongiques cutanées  
et unguéales.



## Chapitre II: Infections fongiques cutanées et unguéales

Les infections fongiques de la peau et des ongles, comme l'onychomycose, sont fréquentes et impliquent principalement les dermatophytes, mais aussi les levures du genre *Candida*. Ces affections, souvent chroniques, nécessitent une bonne compréhension des agents en cause pour un diagnostic et un traitement efficace.

### II.1. La peau

#### II.1.1. Généralité

La peau, dit aussi tégument (du latin *tegumentum*, couverture), est la plus lourde et l'organe le plus développé de l'organisme, pesant 4 kg et recouvrant une surface de 2 m<sup>2</sup>. L'épaisseur de la peau est de 2 mm en moyenne, mais elle peut aller de 1 mm aux paupières (peau fine) à 4 mm aux paumes et plantes (peau épaisse) (Mélissopoulos et Levacher, 2012). La peau est l'organe qui recouvre l'organisme humain et qui a la fonction de protéger celui-ci des agressions extérieures (physiques, chimiques ou infectieuses), et de la déshydratation. La peau a également un rôle dans le maintien de la température corporelle par adaptation du calibre des capillaires périphériques et par production de la sueur (Faway, 2018).

#### II.1.2. Structure anatomique de la peau

La peau est formée de quatre couches superposées (fig. 10) qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, l'épiderme, la jonction dermo-épidermique, le derme et l'hypoderme (Causse, 2011).

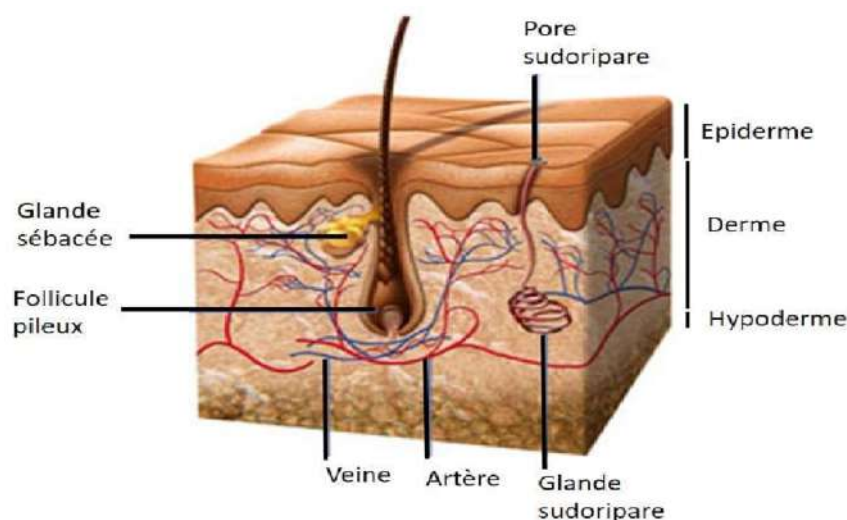


Figure 10. Structure de la peau (Del bino-nokin, 2022)

### II.1.2.1. L'épiderme

L'épiderme est un épithélium de revêtement, stratifié, pavimenteux et non vascularisé. Il est constitué en général de 4 types cellulaires (fig. 11) ; les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel :

- **Kératinocytes** : remplis de kératine (protéine qui entre également dans la constitution des cheveux et des ongles) et de lipides.
- **Mélanocytes** : produisent la mélanine responsable de la pigmentation de la peau.
- **Cellules de Langerhans** : participent au système immunitaire de la peau. L'épiderme se divise lui-même en cinq couches.
- **Cellules de Merkel** : Elles constituent la population cellulaire mineure de l'épiderme. Elles sont relativement nombreuses au niveau des lèvres, des paumes et de la face dorsale des pieds (Prost-Squarcioni, 2005).

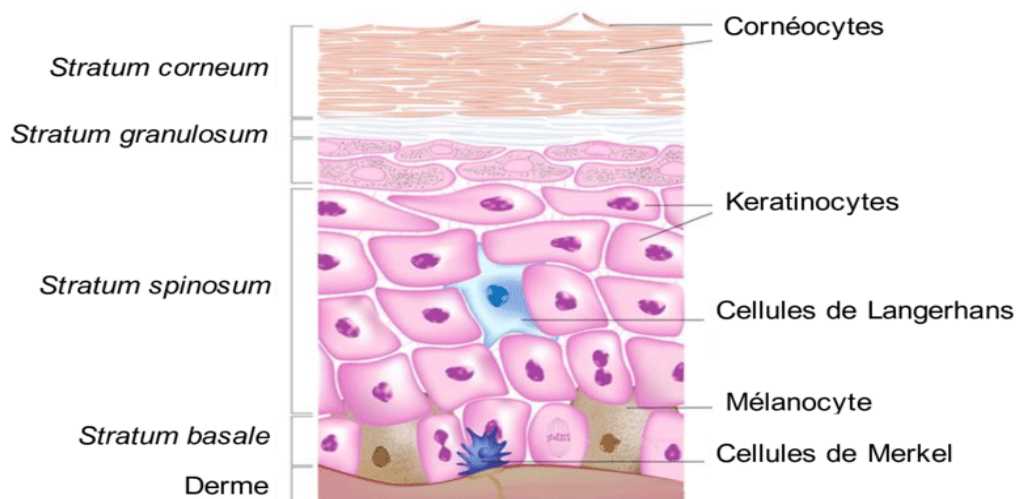


Figure 11. Schéma des quatre populations cellulaires composant l'épiderme (Twarog, 2017).

### II.1.2.2. La jonction dermo-épidermique

Le derme et l'épiderme sont reliés par une matrice extracellulaire spécialisée appelée jonction dermo-épidermique (JDE). Les protéines matricielles qui la constituent sont organisées en un réseau complexe qui joue un rôle structural et contribue également à la communication continue avec les cellules. On y trouve des laminines, des collagènes, des protéoglycanes et des protéines matricielles. Ces protéines possèdent des sites de liaison aux cytokines et facteurs de croissance qui leur donnent la possibilité de moduler des processus cellulaires tels que la

prolifération, la différenciation ou la migration qui sont essentiels pour le maintien de l'homéostasie tissulaire. La JDE possède une lecture microarchitecture caractérisée par un modèle d'ondulation généré par les crêtes épidermiques et les papilles dermiques. Cette tendance permet d'élargir la surface de contact derme-épiderme, améliorant ainsi la résistance mécanique du JDE et l'adhésion entre les tissus (**Garnier et al., 2019**).

### II.1.2.3. Le derme

Le derme constitue un tissu conjonctif, il s'agit de la plus épaisse partie intérieure, qui supporte l'épiderme et couvre le réseau vasculaire et les fibres nerveuses. Le derme se divise en deux couches :

- **Le derme papillaire (derme superficiel)** : Couche intermédiaire riche en terminaisons nerveuses et en symbiose permanente avec l'épiderme, dont il est séparé par la jonction dermo-épidermique
- **Le derme réticulaire (derme moyen et profond)** : Un tissu conjonctif épais créé par un réseau de fibres élastiques.
- Le derme abrite des types variés de cellules :
  - **Les fibroblastes** : des cellules responsables de la production du collagène, une protéine fondamentale à l'élasticité des tissus
  - **Les histiocytes et mastocytes** : qui jouent un rôle primordial dans les réactions immunitaires de la peau.

### II.1.2.4. L'hypoderme

L'hypoderme est la couche externe la plus profonde de la peau. Il s'agit d'un tissu conjonctif lâche bien vasculariser et contenant du tissu adipeux en quantité variable en fonction de sa localisation anatomique. L'hypoderme a une fonction dans la protection du corps des chocs physiques et de la variation de température et constitue une réserve adipeuse (**Allam, 2020**).

### II.1.3. Voie de pénétration du médicament à travers la peau

Il existe deux voies possibles de pénétration du médicament à travers la peau :

#### II.1.3.1. Voie transépidermale

➤ **Voie intercellulaire** : Le passage intercellulaire à travers le stratum corneum se fait par diffusion dans les lipides intercellulaires. Même si le chemin parcouru est plus long et tortueux, cette voie est la plus rapide pour de nombreux composés car leur coefficient de diffusion dans le milieu intercellulaire est plus grand. Il s'agit d'un milieu lipidique continu, structuré en bicouches. Il offre donc à la fois des régions hydrophiles et lipophiles qui correspondent - 19 - aux voies de passage des composés lipophiles et hydrophiles.

➤ **Voie transcellulaire** : Le passage transcellulaire est plus rarement emprunté. Il ferait intervenir la voie des cornéodesmosomes qui réalisent des pontages entre les cellules et peuvent, étant donné leur nature protéique, devenir suffisamment amphiphiles. Les substances empruntant cette voie doivent être capable de s'intégrer à la double couche de phospholipides constituants les membranes cellulaires pour pouvoir y pénétrer (Twarog, 2017).

#### II.1.3.2. Voie des annexes cutanées

➤ **Passage transfolliculaire** : Les follicules pilosébacés, localisés dans les invaginations profondes de l'épiderme, permettent à certaines molécules d'atteindre les couches profondes de la peau, jusqu'au derme réticulaire. Comme la couche cornée y est peu développée, la pénétration des substances y est facilitée.

➤ **Passage via le canal sudoripare des glandes eccrines** : Bien que théoriquement possible, cette voie de pénétration reste marginale et rarement démontrée, car les molécules doivent diffuser à contre-courant du flux de sueur dirigé vers la surface cutanée. Néanmoins, elle est exploitée dans le cas du chlorure d'aluminium, dont les ions pénètrent dans les canaux sudoraux, provoquant leur obstruction et réduisant ainsi la production de sueur. Ce mécanisme justifie son utilisation comme agent antitranspirant (Schaefer et Lademann, 2001).

## II.2. Dermatophytes

### II.2.1. Définition

Les dermatophytes sont un groupe spécial des champignons kératiniques qui ont la fonction de survivre sur des matières riches en kératine trouvées dans le sol ou dans les tissus humains ou animaux comme la peau, les cheveux et les ongles (**Al-Janabi et Al-Khikani, 2020**).

Ils sont responsables d'un large spectre d'infections superficielles regroupées sous le terme de dermatophytoses (**El Aiba et al., 2024**). Chez l'homme, les phanères et la peau sont les lieux d'antichambre privilégiés de ces agents fongiques baptisés à la fois kératinophiles et kératinolytiques (**Etcheverria, 2022**). A peu près 40 espèces diverses incluses dans les trois genres majeurs de *Trichophyton*, *Microsporum* et *Epidermophyton*. D'après des caractères morphologiques, tous les genres prennent en compte une forme anamorphe de la classe *Hyphomycetes* du phylum *Deuteromycota* (champignons imparfaits) (**Al-Janabi et Al-Khikani, 2020**).

### II.2.2. Morphologie

Les dermatophytes sont des champignons microscopiques avec une morphologie variable en fonction de leur mode de reproduction. En reproduction sexuée, ils sont des champignons filamenteux à thalle septé formant des ascospores. En reproduction asexuée, ils se reproduisent solitaire et forment deux types de spores, nommés conidies (ou aleuries pour les dermatophytes, en raison de leur mode de production thallique solitaire). Il s'agit de spores unicellulaires, les microconidies ou microaleuries, et de spores pluricellulaires, tronquées à la base et cloisonnées transversalement, les macroconidies ou macroaleuries (**Bekkaye et Abdelkader, 2024**).

### II.2.3. Classification

Les dermatophytes appartiennent à la classe *Ascomycètes* qui signifie une reproduction sexuée par l'intermédiaire de spores, à famille des *Arthrodermataceae* et à ordre des *Onygenales*. Mais en pratique de laboratoire, la forme sexuée de ces champignons est très rarement trouvée. Par conséquent, leur classement repose sur la reproduction asexuée.

La dernière classification utilisée est la classification d'Emmons (1934), elle reconnaît trois genres : - Le genre *Microsporum* ; - Le genre *Trichophyton* ; - Le genre *Epidermophyton* (Causse, 2011).

Règne	Fungi (champignons)
Division	Ascomycota
Classe	Eurotiomycetes
Ordre	Onygenales
Famille	Arthrodermataceae
Genre	<b><i>Trichophyton</i></b>
	<b><i>Microsporum</i></b>
	<b><i>Epidermophyton</i></b>

Les dermatophytes sont généralement classés en trois groupes d'après leur habitat : les anthropophiles (environnants humains), les zoophiles (environnants animaux) et les géophiles (environnants dans le sol). La distinction entre ces groupes peut être floue, car les espèces peuvent s'adapter à certains hôtes et changer d'habitat de prédilection. La division en groupe est pratique, due à la probabilité que le type de dermatophyte ait une incidence sur la présentation clinique. Plus de 40 espèces des trois groupes ci-dessus sont susceptibles d'infecter l'homme (Moskaluk et Vande Woude, 2022).

#### II.2.4. Pathogénie des dermatophytes

La capacité des dermatophytes à produire diverses protéines ou enzymes joue un rôle important dans l'invasion des couches kératiniques de la peau. Certains de ces enzymes, tels que les kératinases, les adhésines, les lipases, les phosphatases, les ADNases et protéases non spécifiques, contribuent aux dermatophytes à accomplir plusieurs des fonctions pathogènes, tels que fixation et pénétration de la couche cornée de la peau, le contournement du système immunitaire de l'hôte et la récupération des nutriments. La nature acide de la peau induit la synthèse de facteurs de transcription sensibles à l'acide, notamment PacC et Hfs1, chez les dermatophytes pour l'établissement d'un environnement qui favorise l'adaptation des champignons à un tel pH acide et leur donne suffisamment de temps pour augmenter leur pH après la dégradation de la kératine, ce qui entraîne une activité accrue des protéases enzymatiques. La dermatophytose est également provoquée par le contact entre des

arthrospores viables ou des structures hyphales fongiques et la surface cutanée humaine, qui à leur tour facilitent l'adhésion et la germination pour l'établissement de l'infection dans des conditions favorables (Al-Janabi et Al-Khikani, 2020). Sur le plan histologique, les lésions cutanées causées par la dermatophytoses se manifestent par la présence de filaments mycéliens et d'arthrospores à la surface de la peau. En général, l'incubation de cette infection cutanée chez l'humain dure entre une et deux semaines. L'humidité et la chaleur constituent les principaux facteurs favorisant son développement (Faway, 2018).

Cependant, la dermatophytoses peut être aggravée par plusieurs facteurs, tels que la surpopulation, le port de vêtements occlusifs, l'urbanisation croissante, un faible statut socio-économique, le contact avec les animaux et une mauvaise hygiène (Al-Janabi et Al-Khikani, 2020).

### II.2.5. Maladies dermatophytiques

La maladie dermatophytique (MD) est une infection cutanéoviscérale chronique causé par les dermatophytes, majoritairement *Trichophyton violaceum*. Cette maladie orpheline est décrite pour la plupart en Afrique du Nord et en relation avec un fort taux de consanguinité. La consanguinité et les familles évoquent une transmission autosomique récessive. La chronicité de l'évolution et les rechutes à l'arrêt des traitements antifongiques évoquent un déficit immunitaire cellulaire. La quête de l'immunité cellulaire et la commercialisation des nouvelles molécules antifongiques donnent un nouvel espoir dans la gestion de ces patients. Dans une vision de la MD (Abdelmalek *et al.*, 2010).

### II.2.6. Origine des dermatophytes et contamination

Les dermatophytes sont rencontrés dans 3 milieux types qui dépendent de l'origine de la contamination humaine :

#### II.2.6.1. Espèces anthropophiles

Il s'agit de parasites obligatoires hautement adaptés à l'homme, présentent des lésions discrètes généralement bien tolérées ou inaperçues. La contamination se fait par les spores (arthrospores), étrangement résistantes, qui sont aussi sur les lésions elles-mêmes, dans les débris de doigt, de squame, de cheveux. Elles sont capables de survivre des mois ou même

des années dans l'environnement extérieur, et surtout dans l'environnement du malade, ce qui favorise leur récontamination (**Diarra, 2020**). La répartition est cosmopolite et la transmission pour ces espèces reste interhumaine. La contamination est accomplie soit par contact direct, soit par l'intermédiaire d'objet comme les taies d'oreillers, bonnets ou casquettes et des objets de coiffure (peignes, brosses à cheveux, tondeuses, instruments de nattage) (**Chabassea et Audonneau, 2013**).

#### **II.2.6.2. Espèces zoophiles**

Se transmettent accidentellement à l'homme par le contact d'un animal d'élevage ou de compagnie contaminé ou par l'intermédiaire de ses poils parasités. Les dermatophytes zoophiles sont des espèces peu ou pas adaptées à l'homme. Elle se fait de façons accidentelles dans un contexte professionnel, chez les éleveurs, vétérinaires, personnelles des abattoirs. Par exemple, *Trichophyton verrucosum* est transmis par les bovins atteints de dartre. Les animaux sauvages peuvent être asymptomatiques ou malades avec des plaques de teignes. Les animaux malades vont entraîner des épidémies familiales (teignes tondantes du cuir chevelu chez les enfants, associées à des épidermophyties bien dessinées, folliculites, sycosis de la barbe chez les adultes, rarement des teignes du cuir chevelu chez les femmes âgées) (**Diarra, 2020**).

#### **II.2.6.3. Espèces telluriques (géophiles)**

Ce sont la plupart des espèces saprophytes, qui vivent aux dépens de la kératine «morte», issue du sol (fragments de poils, plumes, sabots, carapace d'insecte) et sont transmis à l'homme à l'occasion de travaux de jardinage ou par l'intermédiaire d'animaux. Seuls *Microsporum gypseum*, et *T. mentagrophytes* (à la fois géophile et zoophile) peuvent être considérés comme d'authentiques pathogènes lorsque le contexte clinique s'y prête (**Chabassea et Audonneau, 2021**).

### **II.2.7 Diagnostic biologique**

#### **II.2.7.1 Interrogatoire**

Tout d'abord, il convient de recueillir par écrit les données de l'anamnèse afin de clarifier l'histoire de la lésion, son évolution et la présence d'autres localisations. Il est également important d'établir le contexte épidémiologique : pratiques sportives, présence d'un animal de

compagnie, profession exposée (maître-nageur), pathologie sous-jacente. Cependant, la question essentielle est celle de la prise d'un traitement antifongique. En effet, si l'on souhaite que le grattage permette d'isoler le dermatophyte suspect, il faut respecter un délai thérapeutique de 15 jours en cas d'utilisation d'un antifongique topique de type crème ou pommade, et de trois mois en cas de prise d'un antifongique systémique (griséofulvine, terbinafine) ou d'application d'un vernis (Leslé *et al.*, 2013).

#### II.2.7.2. Prélèvement

Le prélèvement doit être de bonne qualité, en quantité suffisante et réalisé si possible par le biologiste lui-même (ou un dermatologue). Il doit également être réalisé avant la mise en place d'un traitement (local ou général) ou à distance de celui-ci (en moyenne : 1 mois pour les crèmes, 3 mois pour les vernis à ongles, 2 à 3 mois pour les traitements oraux) (Brans, 2015). Il est convenable, en outre, de respecter un principe primordial, à savoir accomplir le prélèvement à l'endroit de la jonction entre la zone saine et la zone infectée, où se trouvent les parties les plus actives du champignon (Chabassea et Piheta, 2008).

#### II.2.7.3 Examen microscopique direct

Cet examen repose sur l'observation microscopique directe des prélèvements cliniques, généralement après un montage à l'hydroxyde de potassium (KOH), suivie d'une identification morphologique du champignon. Cette technique exige une certaine expertise de l'opérateur pour reconnaître les structures fongiques, avec un taux de faux négatifs estimé entre 5 et 15 % (Bao *et al.*, 2018).

#### II.2.7.4. Culture conventionnelle

La culture est une étape complémentaire essentielle de l'examen direct. Car l'isolement en culture du dermatophytes et son identification sont d'importance, car la prophylaxie et le traitement peuvent varier selon l'espèce isolée (Chabassea et Piheta, 2008).

La culture des dermatophytes met en œuvre deux étapes successives et complémentaires, avec deux types de milieux aux fonctionnalités distinctes.

#### II.2.7.4.1. Milieux d'isolement

La mise en culture des prélèvements, étape indispensable pour le diagnostic d'espèce, doit être systématique. Le milieu de référence pour les dermatophytes est le milieu de Sabouraud additionné d'un antibiotique et de cycloheximide (Actidione®). Ce dernier inhibe la croissance de la plupart des moisissures et aide ainsi à l'isolement des dermatophytes (Chabasse et Guiguen, 2019).

#### II.2.7.4.2. Milieux d'identification

Ces milieux sont utilisés lorsque les cultures des milieux d'isolement ne mettent pas en avant des fructifications ou des spores nécessaires à l'identification précise du champignon. Le repiquage d'un fragment de la culture issu sur milieu d'isolement, sur un milieu (généralement dépourvu de sucres) est plus favorable au développement des spores. Le choix des milieux est en fonction de l'espèce fongique souhaitée ou de la nature du prélèvement (à savoir Le milieu de Borelli, milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar), le milieu de Baxter, le milieu de Takashio (Sabouraud dilué), de même que la gélose au malt et l'eau gélosée) (Brans, 2015 ; Leslé *et al.*, 2013). La température d'incubation pour les prélèvements de mycoses superficielles comprise entre 25 et 30°C. Toutefois, certaines espèces, en particulier celles à croissance très lente, requièrent une température plus élevée (*Trichophyton verrucosum*, qui se développe de manière optimale à 32°C) (Brans, 2015).

### II.2.8. Traitement

#### II.2.8.1. Médicaments systémiques

Les antifongiques systémiques sont, La terbinafine (Lamisil®), l'itraconazole (Sporanox®) et le fluconazole (Diflucan®) qui on les trois traitements recommandés dans le traitement de l'onychomycose.

La tolérance à ces antifongiques est bonne, lorsqu'on la compare aux anciennes molécules : griséofulvine et kétoconazole. D'après plusieurs études, la terbinafine est considérée comme le traitement de choix (1), sur base de 2 arguments : dose minimale d'efficacité in vitro et pourcentage réduit de récurrences à l'arrêt du traitement. La terbinafine exerce un effet fongicide. Avec un traitement pendant 6 semaines pour les mains et 12 semaines pour les pieds. Le spectre

d'action se limite aux dermatophytes ; la terbinafine ne constitue dès lors pas le premier choix si l'infection mycosique comporte des levures opportunistes. La terbinafine est en général bien tolérée. Les effets indésirables sont des manifestations gastrointestinales, des réactions cutanées, une altération du goût. L'itraconazole constitue également un excellent choix. Bien que considéré comme fongistatique, il peut atteindre des concentrations fongicides. Son spectre d'action est plus large et s'étend aux levures. Il est donc recommandé en cas d'infection mycosique mixte (Vogeleer, 2005).

### II.2.8.2. Médicaments topiques

Cinq familles d'antifongiques sont utilisables : imidazolé, amorolfine, hydroxypyridone, allylamines et polyène. Le bifonazole 1% est un imidazolé, mélange à l'urée à 40% permet d'amollir la tablette unguéale afin de faciliter son découpage, puis le bifonazole est appliqué seul jusqu'à repousse complète de l'ongle. La guérison mycologique est obtenue dans 50 à 60 % des cas (Yahyaoui, 2017).

### II.2.9 Prévention

La prévention des infections fongiques repose sur plusieurs mesures essentielles, notamment :

- Couper les ongles et tient-les courts.

Éviter de prendre des douches collectives et ne remplacera pas les serviettes et le reste du matériel.

- Utilisation des claies en plastique (retenant moins les squames plantaires).
- Utiliser l'hypochlorite de soude pour nettoyer les sols des douches collectives.
- Traitement de l'animal domestique qui est la source principale de l'infection (*M. canis*).
- Pour prévenir la récurrence d'une dermatophytose plantaire ou interdigitale Conseiller
- les athlètes et les maîtres-nageurs doivent prendre une fois par semaine un topique azolé (éconazole, bifonazole) ou un topique terbinafine une fois par mois (Bekkaye et Abdelkader, 2024).

### II.2.10. Résistance aux médicaments antifongiques

Les azolés antifongiques tels que l'itraconazole et le fluconazole sont aisément utilisés pour combattre les infections superficielles fongiques à base de dermatophytes. Des tests *in vitro* plus récents, indiquent des concentrations minimales inhibitrices élevées. Ces résultats soulèvent des questions quant à son adéquation comme traitement de premier choix et suggèrent que des essais cliniques supplémentaires sont nécessaires pour valider son efficacité. La résistance aux azolés pourrait être associée à la surexpression de gènes codant pour les transporteurs ABC, entraînant une expulsion accrue de plusieurs médicaments hors de la cellule, ce qui réduit leur accumulation et leur efficacité. Les allylamines, dont la terbinafine, sont des médiateurs antifongiques majeurs qui sont utilisés afin de guérir la dermatophytose, une infection superficielle fongique commune de la peau, des cheveux et des ongles. La résistance aux allylamines, bien qu'elle soit moins fréquente que la résistance aux azolés, est une préoccupation émergente des infections dermatophytiques. La terbinafine agit en bloquant la squalèneépoxydase, une enzyme essentielle à la biosynthèse de l'ergostérol (Yamada *et al.*, 2017).

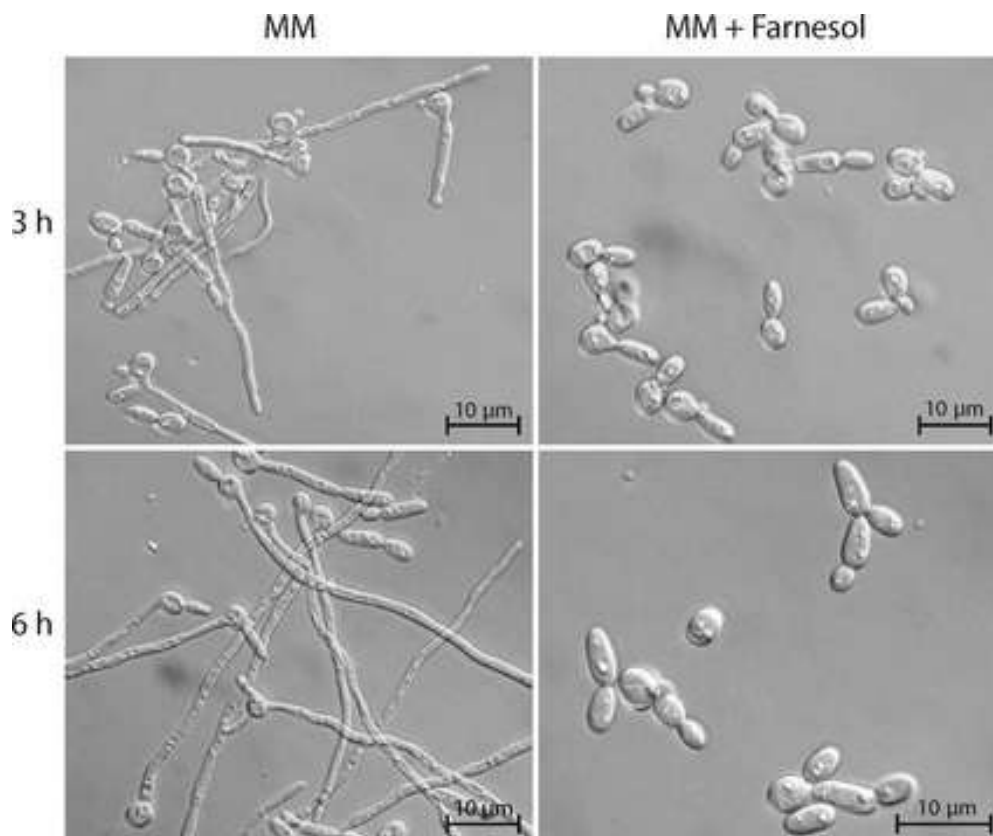
## II.3. *Candida albicans*

### II.3.1. Définition

*Candida albicans* (*C. Albicans*), est un micro-organisme eucaryote appartenant au groupe des champignons unicellulaires (Tazi, 2011). Un microchampignon, également appelé levure, on les retrouve naturellement dans les muqueuses du corps humain, c'est-à-dire dans la bouche, le tube digestif, l'œsophage et sur la peau et au niveau des muqueuses génitales (Albert, 2022). Il est identifié comme étant l'agent principal des candidoses avec une chance d'être associé, pour certaines d'entre elles, au port de prothèses (irritation mécanique ou réaction allergique à la base matérielle des prothèses), ou à une infection bactérienne. Il possède une capacité forte à s'adhérer à toutes les formes de surfaces biotiques (dentaire et muqueuse) et abiotiques (prothèses dentaires, implants, matériaux de reconstitution dentaire) (Tazi, 2011).

### II.3.2. Structure cellulaire et morphologie

*Candida albicans*, est doté d'un noyau, d'une double membrane nucléaire, de chromosomes, de mitochondries et d'inclusions lipidiques. C'est une levure aérobie, non capsulée, non pigmentée. Cette levure diploïde dont le matériel génétique se divise en huit chromosomes. Au plan morphologique, cette levure mesure entre 3 et 15  $\mu\text{m}$  (fig. 12). Elle présente un polymorphisme, observé aussi bien *in vitro* et *in vivo*, qui lui permettent d'échapper aux défenses associées à l'immunité cellulaire. Il existe également dans ces cellules des phosphatases, oxydases et peroxydases de type enzyme, le seul organe qui distingue la levure d'une cellule eucaryote « classique » étant la présence d'un système vaculo-vésiculaire, développé en relation avec le cycle cellulaire et la division et révélant en grande partie la synthèse de la paroi. Cette dernière donne à la levure sa forme et sa stabilité mécanique, et elle est également une zone de contact cellule-milieu (Youcef Ali, 2014).



### II.3.3. Reproduction

Se multiplie asexuellement par bourgeonnements multilatéraux d'une cellule-mère (le blastospore), créant ainsi des colonies blanches à crème.

### II.3.4. Classification

*C. albicans* est un membre du royaume Mycètes (fungi), phylum des ascomycètes, le plus grand phylum de mycètes, avec la caractérisation qu'un tel phylum développe des structures spécialisées appelées asques, qui hébergent les spores formées au cours du processus de méiose. Il existe deux sous-phylums majeurs des ascomycètes : les euascomycètes, les incluent champignons à mycélium (hyphes) comme *Neurospora crassa*, et saccharomycotina en incluant l'ordre des hémiascomycètes, ou l'ordre des levures bourgeonnantes comme *Saccharomyces cerevisiae*. Il convient de souligner que dans le cadre de la classification classique en taxonomie, celle-ci était basée sur la morphologie (Znaidi, 2009).

Règne	Fungi (champignons)
Division	Ascomycota
Classe	Saccharomycetes
Ordre	Saccharomycetaceae
Famille	Saccharomycetaceae
Genre	<i>Candida</i>
Espèce	<b><i>Candida albicans</i></b>

### II.3.5. Pathogénicité

Plusieurs espèces de *Candida* sont pathogènes, les cinq plus courantes sont : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* et *C. krusei*, et elles sont responsables de 90 % des occurrences. L'espèce *C. albicans* est responsable de la moitié des infections. Elle est responsable de deux types de maladies : les candidoses superficielles et les candidoses systémiques ou « candidémies » (Albert, 2022).

#### II.3.5.1 Candidoses superficielles

Les candidoses superficielles sont des infections locales touchant principalement les muqueuses vulvo-vaginales, buccales et oropharyngées mais peuvent aussi être cutanées (Albert, 2022).

Les changements du couvert cutané encouragent l'apparition des candidoses. Ils peuvent résulter tout d'abord de fréquents contacts avec l'eau, de traumatismes mécaniques ou chimiques. Les traumatismes de la cuticule sont à l'origine de l'apparition des candidoses unguéales appelées par des termes génériques onychomycoses induites dans 90% des cas par *C. albicans* (**Chami, 2005**).

L'onychomycose est la plus fréquente des maladies infectieuses des ongles et est responsable d'environ 50 % des consultations pour maladies unguéales. Elle dépend du sexe et de l'âge, plus fréquente chez l'homme et augmentant avec le vieillissement, où il peut avoir une fréquence de moins de 40 %. Les prédispositions comprennent le diabète sucré, un artériopathie périphérique, une immunosuppression due au VIH ou au recours à des immunosuppresseurs (**Piraccini et Alessandrini, 2015**).

### II.3.5.2. Les candidoses profondes

Les candidémies également appelées systémiques sont des infections profondes et déphasées qui peuvent être mortelles à l'organisme. Ils apparaissent en majorité chez des sujets dont le système immunitaire est très affaibli (**Albert, 2022**). Ils apparaissent en premier lieu chez des patients hospitalisés dans des unités de soins intensifs, en services de réanimation médicale ainsi que dans des unités d'onco-hématologie. A ce titre, elles occupent désormais le 4<sup>ème</sup> rang des infections nosocomiales en Europe et aux Etats-Unis (**Lagane, 2007**).

Plusieurs facteurs de virulence ont été proposés :

- L'adhérence aux surfaces (On parle d'adhésines)
- La formation de mycéliums vrais et de pseudomycéliums
- L'interférence avec des complément
- Les enzymes : (la sécrétion d'enzyme hydrolytiques) (**Lagane, 2007**).

### II.3.6. Diagnostic

#### II.3.6.1. Prélèvements, acheminement, conservation

Le diagnostic de mycose repose sur un prélèvement de qualité, c'est-à-dire fonctionnel, en quantité adéquate et récupéré à l'abri dans un conteneur stérile. En raison de la vitesse de croissance des levures et de la flore bactérienne, le prélèvement doit être expédié

immédiatement vers les laboratoires ; à défaut, il est conservé à + 4 °C. Les prélèvements cutanéomuqueux seront réalisés d'autant mieux par le biologiste lui-même et à distance de tout traitement antifongique local ou général.

### II.3.6.2. Examen direct (ED)

Première étape de laboratoire, permet de guider rapidement le diagnostic et d'éventuellement la thérapie.

#### II.3.6.2.1. Prélèvements superficiels

L'ED est effectué pour un échantillon, immédiatement après le prélèvement. Il consiste à observer au microscope entre lame et lamelle une suspension de prélèvement dans une goutte d'eau physiologique, additionnée ou non de bleu de méthylène ou parfois l'utilisation d'autres colorations, tels que ; May-Grunwald-Giemsa (MGG), coloration de Gram, Noir chlorazol (Jabri, 2022).

#### II.3.6.2.2. Prélèvements profonds

Étalements, appositions sur lamelles et cyto-centrifugation spots sont réalisés à partir des prélèvements de localisation profonde (liquide pleural, articulaire, biopsies tissulaires). Les frottis sont chauffés à la chaleur ou à l'alcool et colorés au May-Grünwald-Giemsa (MGG), ou imprimés à l'argentique). Le fait de signaler des levures bourgeonnantes, avec ou sans filaments, dans des produits biologiques qui en règle générale sont stériles permet de déclarer la pathogénie du champignon, ainsi que l'analyse histologique.

### II.3.6.3. Cultures

La levure *Candida* est facile à cultiver, et de nombreux milieux de culture utilisés en laboratoire de microbiologie (géloses normales, géloses sanguines, bouillon cœur-cerveille...) favorisent sa croissance. Cependant, le milieu Sabouraud est le plus adapté à la culture des champignons. Les boîtes de Pétri offrent une surface d'ensemencement plus importante que les tubes ; elles permettent un bon isolement des colonies et l'observation des associations de levures. *Candida albicans* étant l'espèce la plus isolée et considérée comme la plus virulente, la méthode de diagnostic consiste avant tout à l'identifier (Piheta et Marot, 2013).

### II.3.7. Traitement

Les antifongiques habituellement utilisés appartiennent à trois familles :

- les antifongiques polyéniques dont la tête de ligne est l'amphotéricine B (Fungizone®). Cette substance a longtemps été le « gold standard » pour traiter les infections fongiques systémiques. C'est parce qu'elle a quasi toutes les espèces de *Candida* dans son large spectre ;
- les analogues nucléosidiques, que l'on représente par la 5-fluorocytosine (Ancotil®). Ils ont toujours été étroitement limités à leur usage en raison de leur toxicité médullaire potentielle et du développement rapide de résistances, surtout en cas de monothérapie.
- les azolés dérivés : les seuls utiles dans les candidoses profondes sont les triazolés : d'abord le fluconazole (Triflucan®) et l'itraconazole (Sporanox®) en raison de leur faible toxicité et de leur spectre étendu. Deux autres médicaments sont employés : le voriconazole, nouveau triazolé et la caspofungine, qui est représentant d'une nouvelle génération d'antifongiques : les inhibiteurs des composants de la paroi fongique (Kettani *et al.*, 2006).

### II.3.8. Résistance aux antifongiques

#### II.3.8.1. Résistance aux polyènes

La résistance acquise à l'amphotéricine B est encore très exceptionnelle. Il faut signaler que les méthodes de référence telles que celle du CLSI ne sont pas très efficaces pour la recherche des résistances à l'amphotéricine B. Au contraire, la méthode d'Etest apparaît plus applicable à cette recherche. Le mécanisme en jeu pourrait être le résultat d'une perte de l'ergostérol, la cible de l'antifongique. Cette disparition peut être la conséquence d'un blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol par mutation d'un gène qui doit s'accompagner de la mise en place d'une voie métabolique accessoire permettant la synthèse d'autres stérols membranaires indispensables à la survie de la cellule fongique. Ainsi, il a été démontré que des mutations de l'enzyme delta-5,6-désaturase (codée par le gène *erg3*) étaient responsables d'une résistance à l'amphotéricine B chez des isolats cliniques de *C. albicans*. Chez les isolats présentant ce type de mutation, on observe une résistance croisée au fluconazole et, pour certains isolats, une réduction de la virulence (Dannaouia, 2013).

### II.3.8.2. Résistance à la flucytosine

La résistance à la 5-FC serait apparemment moins largement diffusée. Une déficience ou une extinction d'activité des enzymes requises à l'action antifongique de la flucytosine, ou une dérégulation de la voie de biosynthèse de pyrimidines pourraient être à l'origine de la résistance microbienne à la flucytosine (**Gauthier, 2007**).

### II.3.8.3. Résistance aux azolés

La résistance acquise aux azolés des *Candida* est un phénomène extrêmement ancien qui a fait l'objet d'une importante recherche en particulier chez les patients infectés de sida présentant des candidoses muqueuses récidivantes. Les mécanismes de la résistance aux azolés sont variés et on peut les répartir en quatre grandes catégories (modification de la cible, surproduction de la cible par des mécanismes différents, phénomène d'efflux et altération d'autres étapes de la voie de synthèse de l'ergostérol) (**Gauthier, 2007**).

## II.4. Onychomycose

L'onychomycose présente plusieurs formes cliniques distinctes (fig. 13) : sous-unguéale distale et latérale, superficielle blanche, sous-unguéale proximale, endonyx et dystrophique totale, chacune caractérisée par un trajet d'invasion et des signes cutanés spécifiques. Ces variantes influencent aussi bien le diagnostic (aspect de l'ongle, localisation des lésions) que la stratégie thérapeutique à adopter. Le dépistage repose sur l'examen clinique, confirmé par des analyses mycologiques. La prise en charge dépend du type (fig. 14), de la sévérité et de l'agent pathogène responsable. Une classification actualisée, basée sur ces critères cliniques, est essentielle pour adapter les traitements et améliorer les résultats (**Baran et Hay, 2014**).

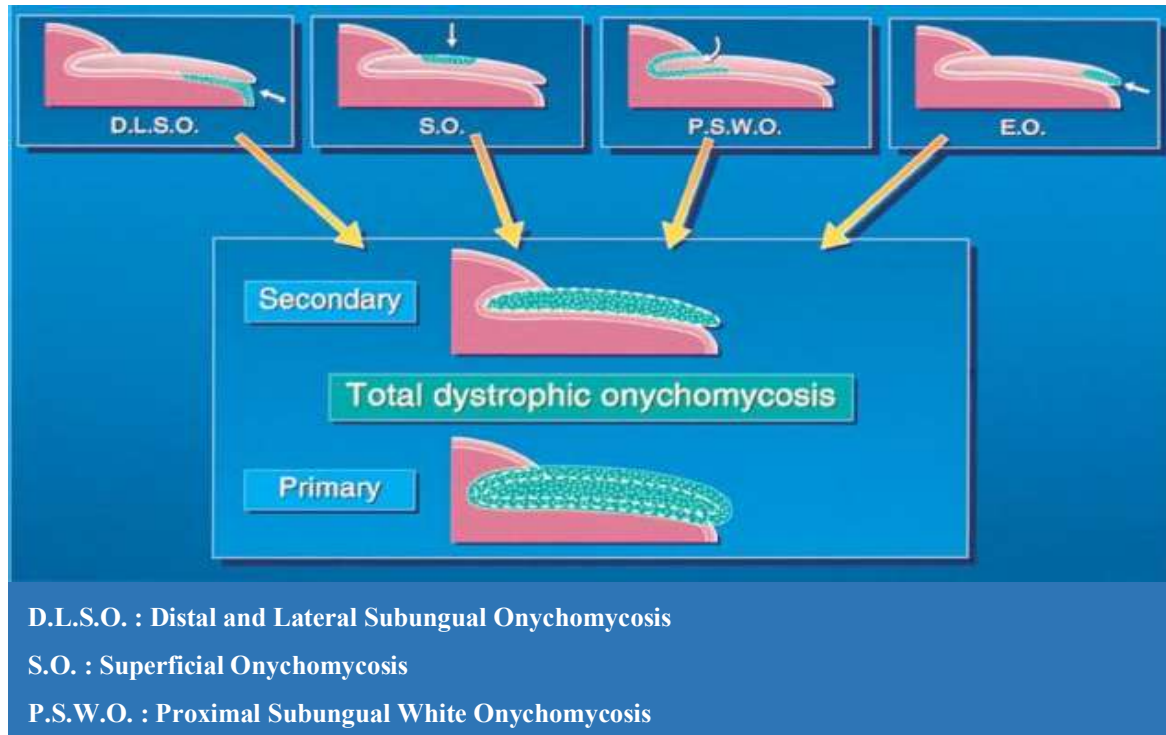
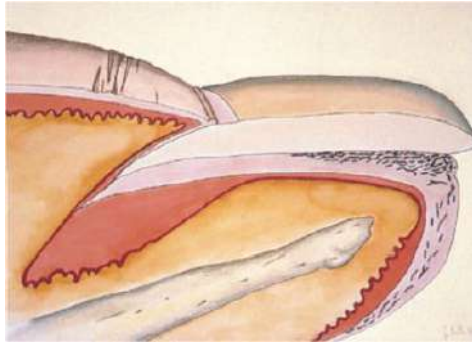


Figure 13. Onychodystrophie mycosique totale (Robert *et al.*, 1999).



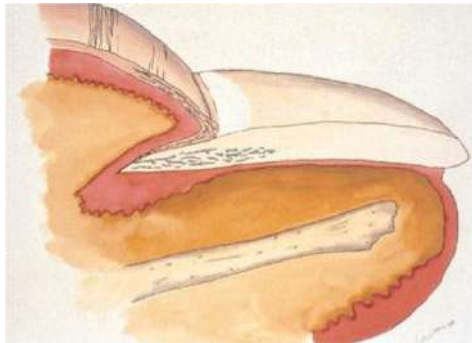
Onychomycose sous unguéale disto-latérale (DLS)



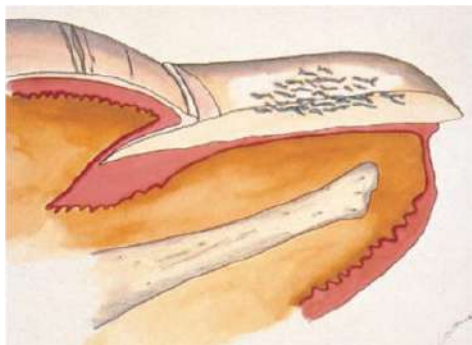
Onychomycose DLS à *T. rubrum*



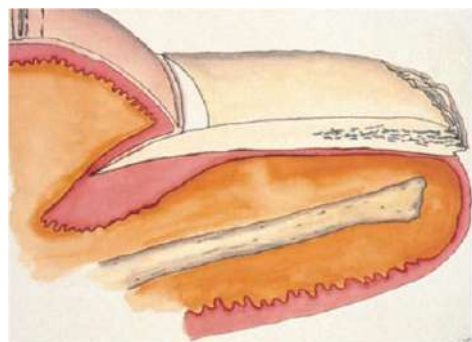
Onychomycose DLS à *C. albicans*



Onychomycose proximale sous unguéale



Onychomycose superficielle



Onychomycose Endonyx



Onychomycose endonyx à *T. soudanense*

Figure 14. Les différentes formes cliniques de l'onychomycose unguéale (Robert *et al.*, 1999).

# Partie Expérimentale

---

# Chapitre III. Matériel et Méthodes

---



## Chapitre III : Matériel et méthodes

### III.1. Objectif

L'objectif de notre travail était l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. sur quelques isolats de *Candida albicans* et des dermatophytes, dont le but est de mesurer l'efficacité de cette plante sur le traitement de l'infection fongique en particulier l'onychomycose.

### III.2. Matériel végétal

Le matériel végétal (fig. 15) utilisé dans ce travail, est constitué des feuilles de *Laurus nobilis* L. à l'état frais. Les feuilles ont été récoltées en mois de Mars 2025 dans la région de Mostaganem. Les feuilles fraîches ont été acheminées vers le laboratoire, 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 15.** Feuilles fraîches de *Laurus nobilis* L.

### III.3. Isolats fongiques

Afin de démontrer l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., deux isolats dermatophytiques des genres *Microsporum* et *Trichophyton* et une souche ATCC et sept isolats de l'espèce *Candida albicans* ont été utilisés. Les espèces fongiques étudiées (tableau 4) ont été isolées au niveau du laboratoire d'analyses médicales (El-Amine).

**Tableau 4.** Origine de différentes espèces fongiques étudiées.

Code	Genre / espèce	Origine
D1	<i>Microsporum</i>	Laboratoire d'analyses médicales El-Amine (Mostaganem)
D2	<i>Trichophyton</i>	
C1	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	
C2	<i>Candida albicans</i>	
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		

#### III.4. Milieux de culture

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

#### III.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 1112 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 tous ont été soumis à l'ébullition pendant 3heurs. 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. 16). A la fin de l'extraction, les huiles essentielles sont récupérées grâce à une pipette stérile et conservés à 4°C jusqu'au son utilisation.



**Figure 16.** Dispositif d'extraction des HEs de *Laurus nobilis* L. par entraînement a la vapeur d'eau.

### III.6. Détermination du rendement d'extraction des HEs de *Laurus nobilis* L.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des huiles essentielles obtenues après l'extraction et la masse végétale traitée (Miliani, 2018).

Le rendement est calculé selon l'équation suivante :

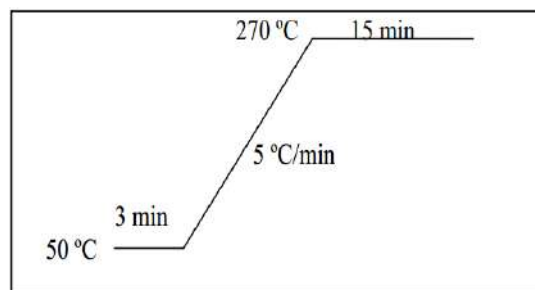
$$R_{HEs} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

$R_{HEs}$  : Rendement des huiles essentielles en (%),  
 $m_1$  : Masse d'huile essentielle récupérée en (g),  
 $m_2$  : Masse de la matière végétale sèche en (g).

### III.7. Caractérisation et identification chimiques des HEs de *L. 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. 17) au niveau de l'Unité de Recherche de Chimie Organique et Macromoléculaire (URCOM), Université du Havre, France.

Les huiles essentielles ont d'abord été diluées 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 l'huile essentielle a été exprimée en pourcentage par la normalisation de la zone de pointe (Babushok *et al.*, 2011).



**Figure 17.** Chromatographe Shimadzu GC-2010 connecté à un spectromètre de masse MS-OP 2010-SE.

### III.8. Activité Antioxydante

L'évaluation préliminaire de l'activité antioxydante des échantillons a été réalisée en utilisant la méthode du radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH, de couleur violette en solution, présente un maximum d'absorption à 515 nm. Le pouvoir antioxydant des HEs testées a été estimé par comparaison avec un antioxydant standard (Acide ascorbique : Vit C). Une courbe d'étalonnage a été élaborée avec des concentrations préparées à la base de l'éthanol absolu (99,8%) et de l'acide ascorbiques (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 et 100 mg/ml). L'activité du balayage du radical DPPH a été mesurée, où 100 µl de chacune des dilutions des HEs testées à différentes concentrations (20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 et 0,6 %) sont mélangées avec 1300 µl d'une solution de DPPH. Après une période d'incubation de 30 minutes à l'ombre et à la température du laboratoire, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 515nm. L'inhibition du radical libre DPPH par l'acide ascorbique a été également analysée pour comparaison. La cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour l'acide ascorbique et les HEs étudiées, ont été calculés pourcentage [I(%)] comme suit :

$$I (\%) = 100 \times (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}$$

Où « le blanc » correspond à l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sauf le composé à tester) et « l'échantillon » à l'absorbance du composé à tester (Amiri, 2010).

La cinétique des réactions des HEs et de l'acide ascorbique avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en HEs et en acide ascorbique, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin des réactions afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50% (**Ismaili et al., 2017**).

### III.9. Revivification et confirmation des isolats microbiens étudiés

Les isolats fournis par le laboratoire sont transportés directement et rapidement au niveau du laboratoire de recherche de microbiologie et de biologie végétale (LMBV) de l'université de Mostaganem.

#### III.9.1. Culture

- **Pour les dermatophytes** : Les isolats D1 et D2 ont été repiqués sur une gélose dextrose de Sabouroud contenant du chloramphénicol et incubé dans une étuve de 25°C pendant 7 jours (**Teklebirhan et al., 2015**).
- **Pour *Candida albicans*** : Les huit isolats ont étéensemencées sur des boîtes de pétri contenant de la gélose sabouroud au chloramphénicol et incubées à 37°C pendant 48 heures.

#### III.9.2. Examen macroscopique

Après incubation, les colonies des champignons obtenues ont été observées à l'œil nu pour déterminer leurs caractéristiques morphologiques, incluant la couleur, la forme et l'aspect général (**Benmessaoud, 2025**).

#### III.9.3. Examen microscopique

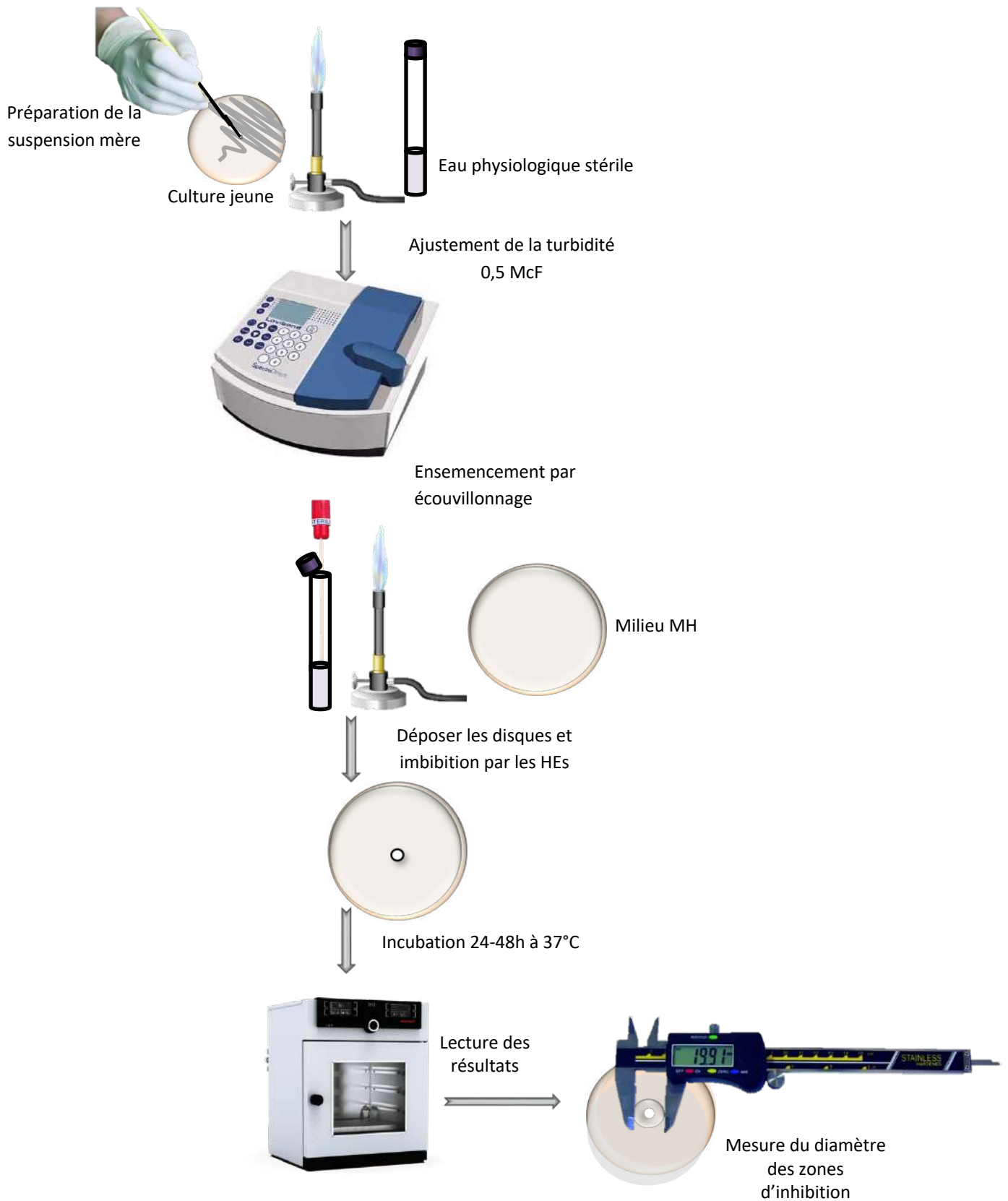
L'observation microscopique, permet d'étudier l'aspect morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Elle comprend l'examen à l'état frais (examen entre lame et lamelle) et l'examen après coloration (**Arabi, 2018**). Nos isolats ont été examinés au microscope optique après coloration au bleu de lactophénol. Pour déterminer les caractéristiques microscopiques, des frottis ont été réalisés et colorés au bleu de lactophénol coton. Les préparations ont été examinées au microscope optique avec un objectif 40x puis 100x. Les cellules de *Candida albicans* se distinguent par leur forme ovoïde et leur bourgeonnement multilatéral, avec des dimensions généralement comprises entre 3 et 6 µm de long (**Benmessaoud, 2025**). Tandis que les dermatophytes pour *Microsporum* ont des colonies blanches du ventouses étoilées, avec verso pigment Jaune orangé, des macroconidies de grande taille en fuseau, et possèdent un mycélium cloisonné (**Marijon et al., 2020**).

### III.10. Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

#### III.10.1. Aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode par diffusion en milieu gélosé qui permet d'étudier la sensibilité des micro-organismes aux HEs et de déterminer leur pouvoir antimicrobien de manière fiable et reproductible, en mesurant le diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'huile essentielle (Derbré *et al.*, 2013).

Pour effectuer ce test (fig. 18), une gélose de Mueller Hinton en surfusion (45°C) est coulée dans des boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte puis laissées refroidir. L'inoculum fongique, ajusté à une turbidité de 0.5 McFarland ( $10^7$  UFC/ml), a été étalé sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas en stries serrées par écouvillonnage. Puis des disques stériles de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre ont été déposés (un disque par boîte) à l'aide d'une pince stérile. Par une micropipette les disques ont été imbibés par 15 µl des HEs (pure). Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température du réfrigérateur pendant 15 mn et incubées à une température de 37°C pendant 24 heures pour *Candida albicans* et 25°C pour les dermatophytes pendant une semaine. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm autour des disques. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles (Mouas *et al.*, 2017).



**Figure 18.** Technique d'aromatogramme par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).

### III.10.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des HEs de *L. nobilis* L.

Cette technique consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié. Elle a pour but de déterminer la concentration la plus faible de l'agent antimicrobien qui inhibe la croissance des champignons testés.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la technique de micro-dilution en milieu liquide dans des plaques de 96 puits (fig. 19). Une solution mère des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a été préparée dans du DMSO à raison de 10%. En parallèle, 100 µl de milieu sabouraud liquide ont été déposés dans 9 puits pour chaque isolat dont les 2 derniers puits réservés pour le contrôle positif et négatif. 100 µl de la solution mère des huiles essentielles préalablement préparée ont été transférés dans le premier puits de chaque rangée de la plaque, pour effectuer une dilution des huiles essentielles successives en cascade 1/2 allant de 10 à 0.15 µg/ml. Ensuite 100 µl de chacun des inoculum fongiques préparé et ajusté auparavant (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, D1 et D2), ont été ajoutés. Le contrôle positif est préparé de 100µl du milieu Sabouraud liquide et 100µl de la suspension fongique. Quant au négatif il est préparé seulement de 100µl du milieu. Les plaques sont ensuite fermées par couvercles et incubées à 37°C pendant 48 h pour les *Candida albicans* et 25°C pour les dermatophytes pendant 1 semaine.

Après incubation, la lecture s'effectue en ajoutant 40µl de la solution 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 2 h de réincubation dans les mêmes conditions, la CMI a été déterminé comme la concentration la plus faible qui ne produit pas de couleur rouge. Donc la CMI est la valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique d'un antibactérien (**Taroq, 2020**).

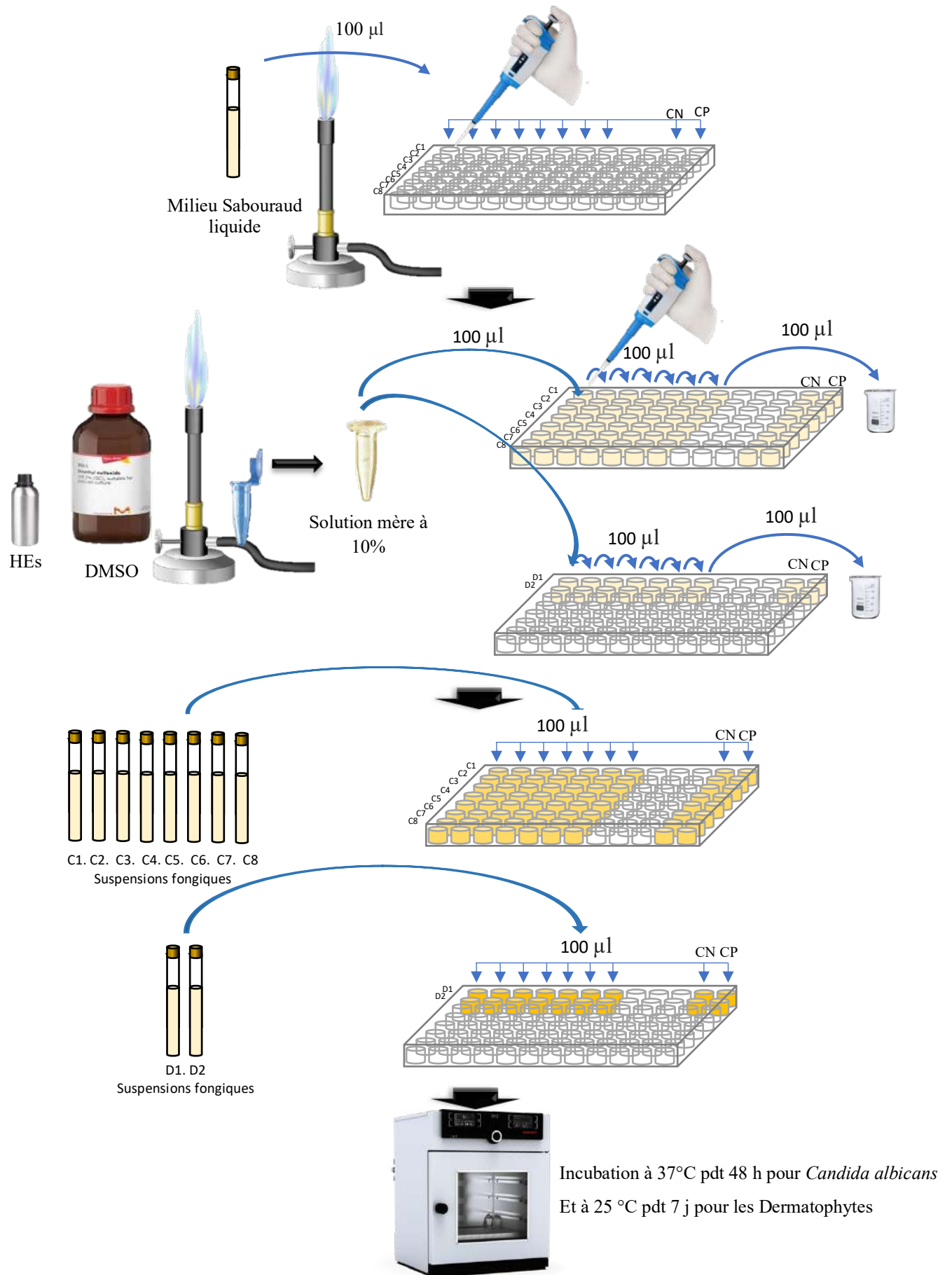


Figure 19. Protocole de la détermination de la CMI par microdilution.

### III.10.3. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

La concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,1% de survivants). Elle définit l'effet bactéricide ou fongicide d'une huile essentielle.

**(Chebaibi *et al.*,2015)**

Le test de la détermination de la concentration minimale fongicide (CMF) a été réalisé en complément du dosage de la CMI. Les puits contenant les concentrations des HES supérieures ou égale à la CMI vont servir pour la détermination de la CMF. Pour ce faire, un ensemencement par stries de chaque puits a été effectué sur une boîte de Petri contenant du milieu gélosé de MH (fig. 20). Les boîtes sont incubées par la suite à 37°C et pendant 48 h pour *Candida albicans* et à 25 ± 2 °C pendant 1 semaine pour les dermatophytes. Les concentrations n'ayant montré aucune croissance sur les milieux gélosés ont été considérées comme les CMF **(Rizwana *et al.*, 2019)**.

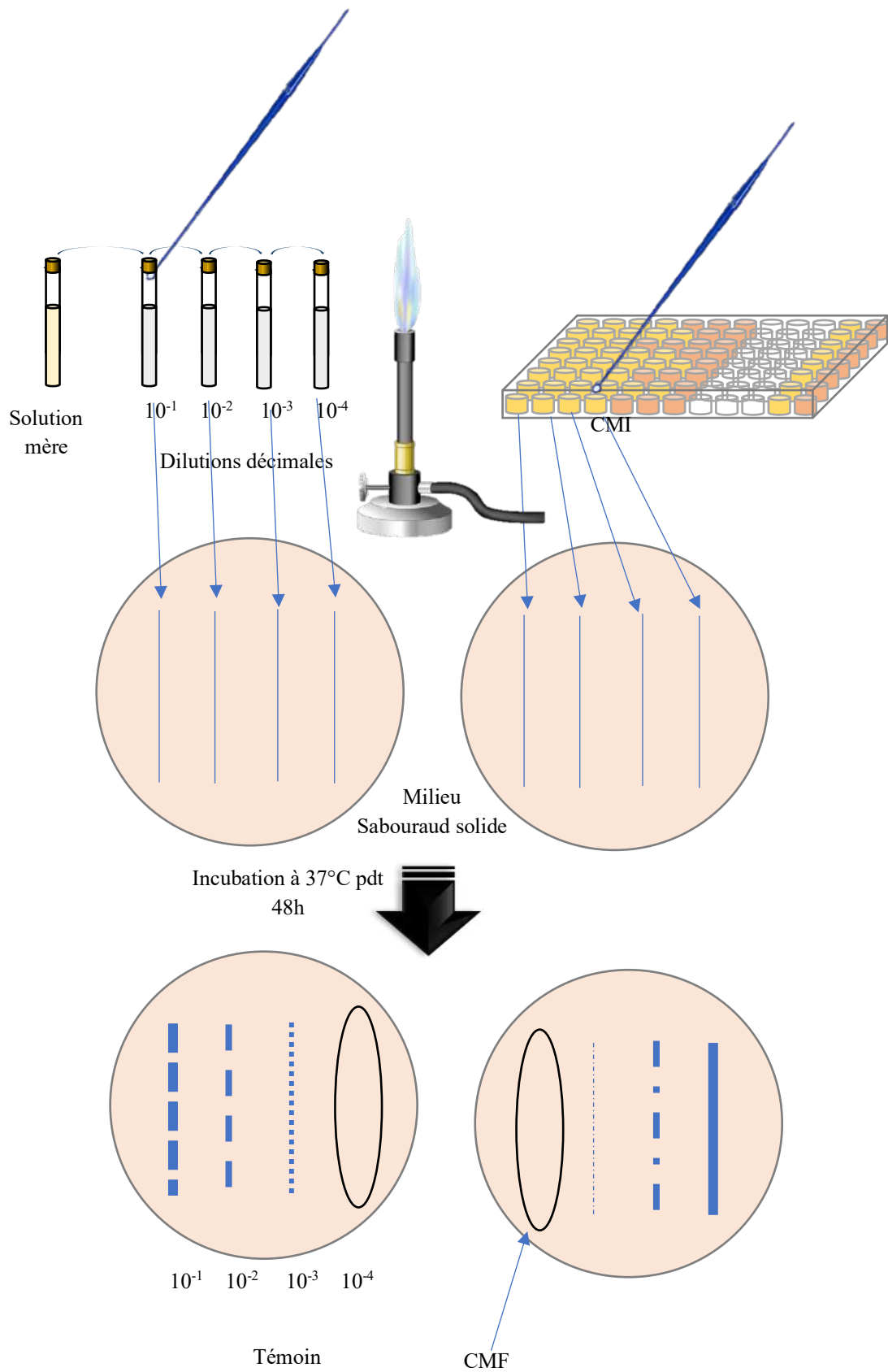


Figure 20. Protocole de la détermination de la CMF sur milieu solide.

# Chapitre IV. Résultats et Discussion

---



## IV. Résultats et discussion

### IV.1. Extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. :

Après l'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. (fig. 21) par entraînement à la vapeur d'eau pendant 3 heures à partir de 1,112 Kg de matière végétale sèche, nous avons obtenu un rendement des huiles essentielles, calculer comme suit :

$$R_{HEs} = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \Leftrightarrow R_{HEs} = \frac{5.89}{1112} \times 100$$

$$R_{HEs} = 0.53 \%$$

Avec :

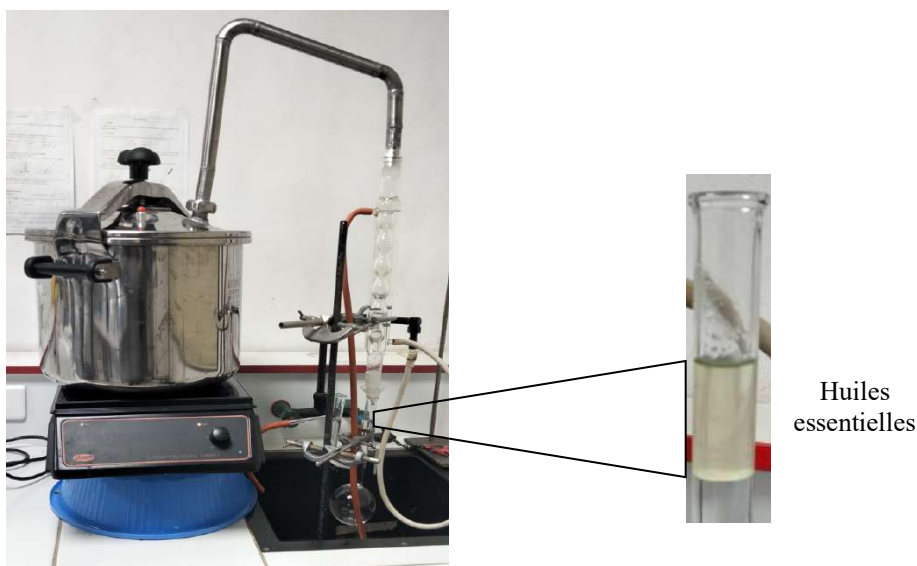
$R_{HEs}$  : Rendement des huiles essentielles en (%),

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

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

Le rendement de l'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., était de 0,53%. En comparant avec d'autres régions de l'Algérie, notre résultat est proche à celui de l'étude d'Ouibrahim *et al.* (2013) qui a trouvé une valeur de 0,6% pour le laurier de la région d'El-Kala.

Il faut noter que le rendement des HES dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction (Goudjil., 2016).



**Figure 21.** Huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. extraites par entrainement à la vapeur d'eau.

## IV.2. Caractérisation et identification chimiques des HEs de *L. nobilis* L. par CPG-MS

Les résultats de la composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir des feuilles sèches de *Laurus nobilis* L., sont illustrés dans le tableau 5. La technique chromatographique a permis d'identifier 41 composés.

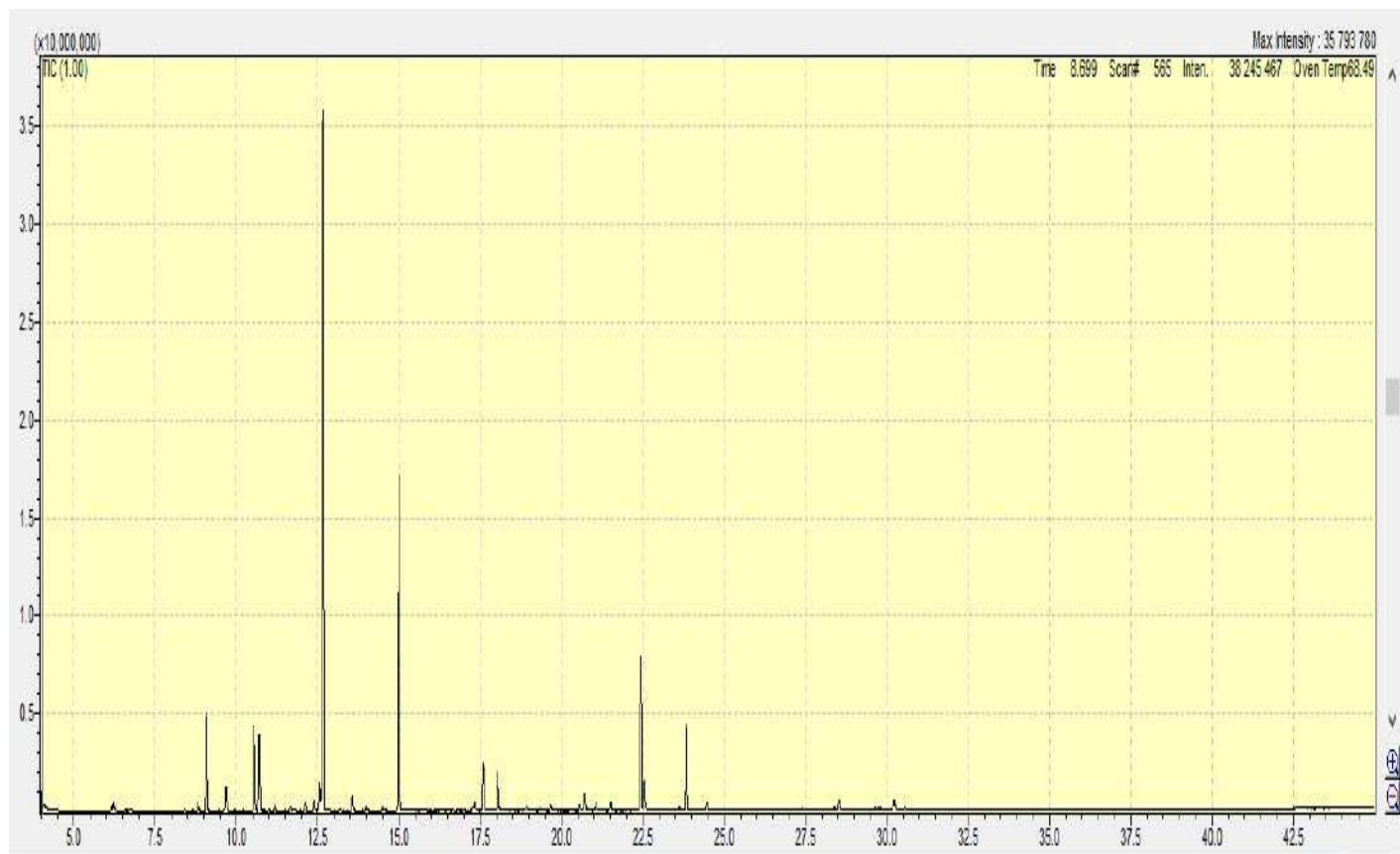
**Tableau 5.** Composition chimique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

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-Terpinyl 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	Beta Caryophyllene	24,462	391891	0,45
40	Germacrene B	27,542	116441	0,13
41	Caryophyllene Beta	28,524	421721	0,48
<b>Total</b>				82
Monoterpènes Hydrocarburés				22,40
Moonoterpénols				19,29
Oxyde Monoterpéniques				39,50
Esters				7,82
Sesquiterpènes Et Sesquiterpénols				1,06
Phénols Et Méthyl-Phénols				5,25
tr=temps de rétention, area= aire sous la courbe chromatographique, %= pourcentage relatif dans les huiles essentielles				

Les résultats montrent que 41 constituants, représentant 82 % de la teneur totale, ont été identifiés dans l'HEs des feuilles sèches de *Laurus nobilis* L. Les principaux constituants (fig. 22) des huiles essentielles étaient l'eucalyptol (39,08 %), le linalool (14,56%), d'alpha-terpinényle acétate (6,6%), l' $\alpha$ -pinène (6,22%), le  $\beta$ -pinène (4,84%), le Méthyle eugénol (3,49%) et le terpinene-4-c (2,12%). Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par **Fidan et al. (2019)**, qui ont identifiés 40 constituants, dont les principaux constituants étaient le l'eucalyptol (41,02 %), l'acétate d' $\alpha$ -terpinényle (14,4 %), le méthyle eugenol (6,03%), le  $\beta$ -linalool (4,9 %), l' $\alpha$ -pinène (2,6 %), le  $\beta$ -pinene (2,5 %) et le terpinene-4-ol (2,4 %). Par rapport aux résultats d'**Alimi et al. (2021)** qui ont repéré 17 composants, dont les composants abondants sont ; l'eucalyptol (46,56 %), l'acétate d' $\alpha$ -terpinényle (13,99 %), le sabinène (7,69), l' $\alpha$ -pinène (5,75), le linalool (5,50), le Méthyle eugénol (5,36 %) et le  $\beta$ -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' $\alpha$ -terpinol. Nos résultats viennent confirmer ces observations.

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).



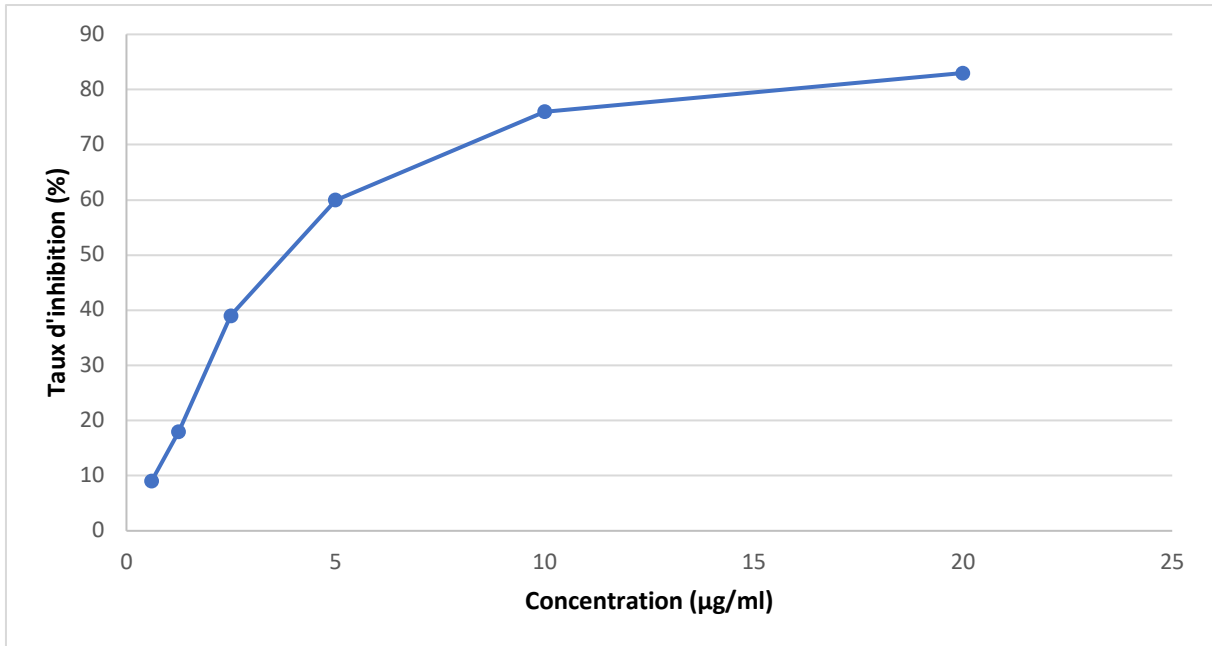
**Figure 22.** Profil chromatographique des composés volatils de *Laurus nobilis* L. par CG/MS

### IV.3. Activité antioxydante

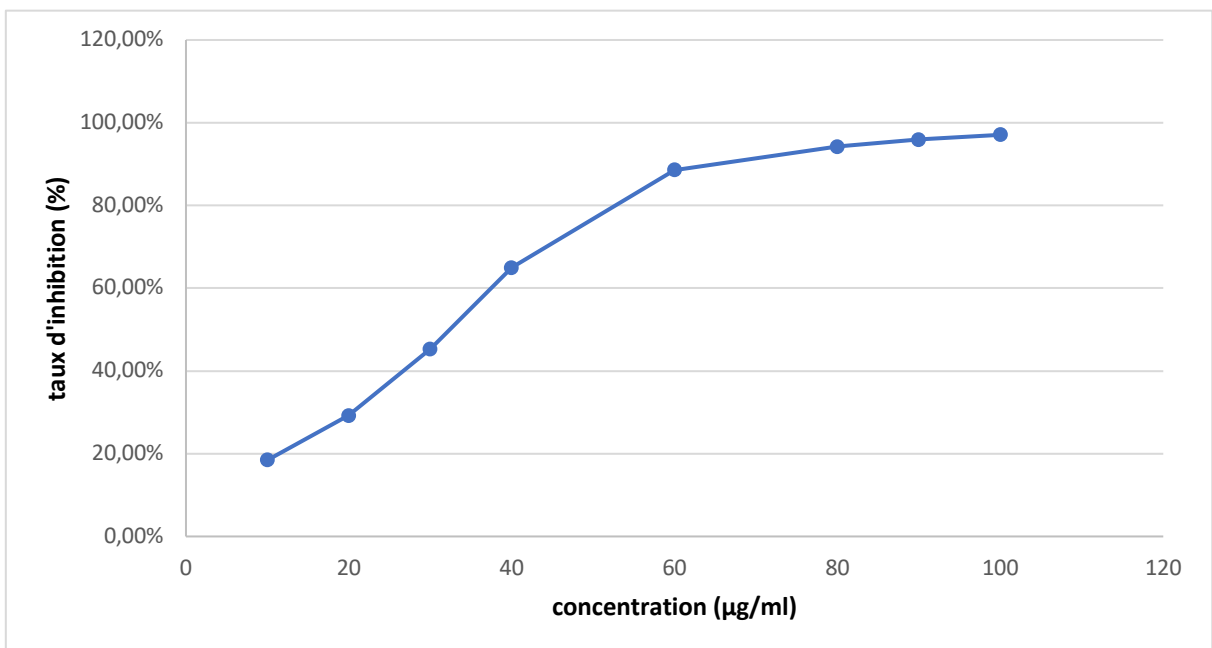
Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage des extraits grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à de faibles concentrations (Miliani, 2018).

L'activité antioxydante des huiles essentielles vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 515 nm. En suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par sa décoloration après l'addition de l'antioxydant. Les résultats montrent que l'activité anti-radicalaire des huiles essentielles est très importante et dose-dépendante. L'huile essentielle de *Lorus nobilis* L. a montré une très forte activité anti-radicalaire (fig. 24), où les 50% du DPPH sont inhibés ( $IC_{50} = 3.91 \mu\text{g/ml}$ ). Les HEs de notre

plante ont une forte activité antiradicalaire supérieure à celle de l'acide ascorbique (fig. 23) ( $IC_{50} = 27,55 \mu\text{g/ml}$ ), utilisé comme un antioxydant de référence. Cette activité est aussi enregistrée dans les travaux élaborés par **Taroq (2020)**, où le DPPH a été inhibé à une  $IC_{50}$  égale à  $0,48 \mu\text{g/ml}$ . Par rapport aux résultats de **Mssillou et al. (2020)** a été montré un pouvoir réducteur du DPPH ( $CI_{50} = 82,01 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$ ) moins que celui de notre étude, comparativement à l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 1,16 \pm 0,0001 \mu\text{g/ml}$ ). Une faible concentration inhibitrice indique une forte activité piègeuse. Une substance peut être considérée comme antioxydante si sa  $CI_{50}$  ne dépasse pas  $5 \text{ mg/ml}$ . Dans cette étude, l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. a démontré sa forte capacité antioxydante est due au composé principal des huiles essentielles (le 1,8-cinéole).



**Figure 23.** Évaluation de l'activité antiradicalaire de l'acide ascorbique par le test DPPH.

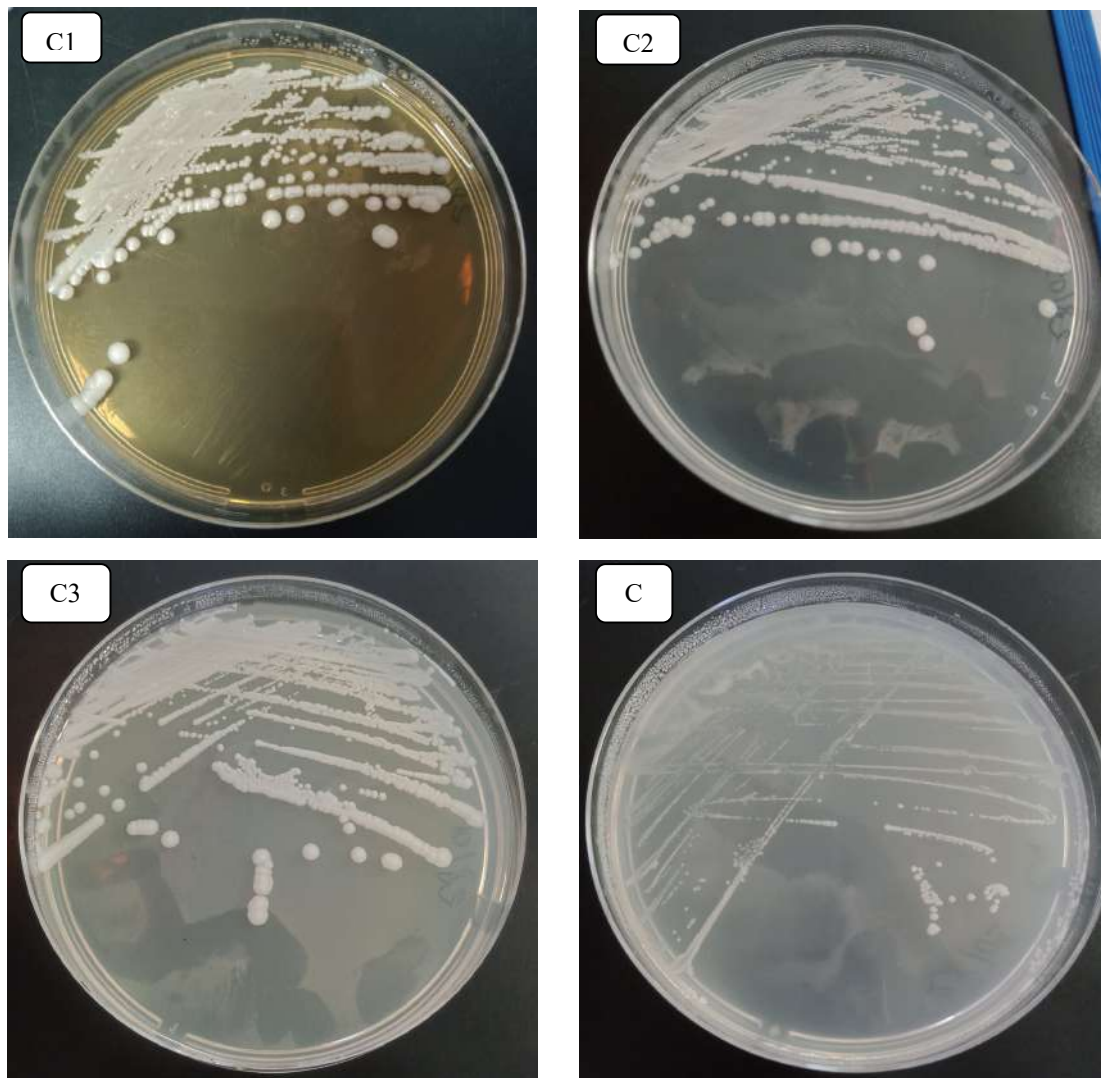


**Figure 24.** Évaluation de l'activité antiradicalaire des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. par le test DPPH.

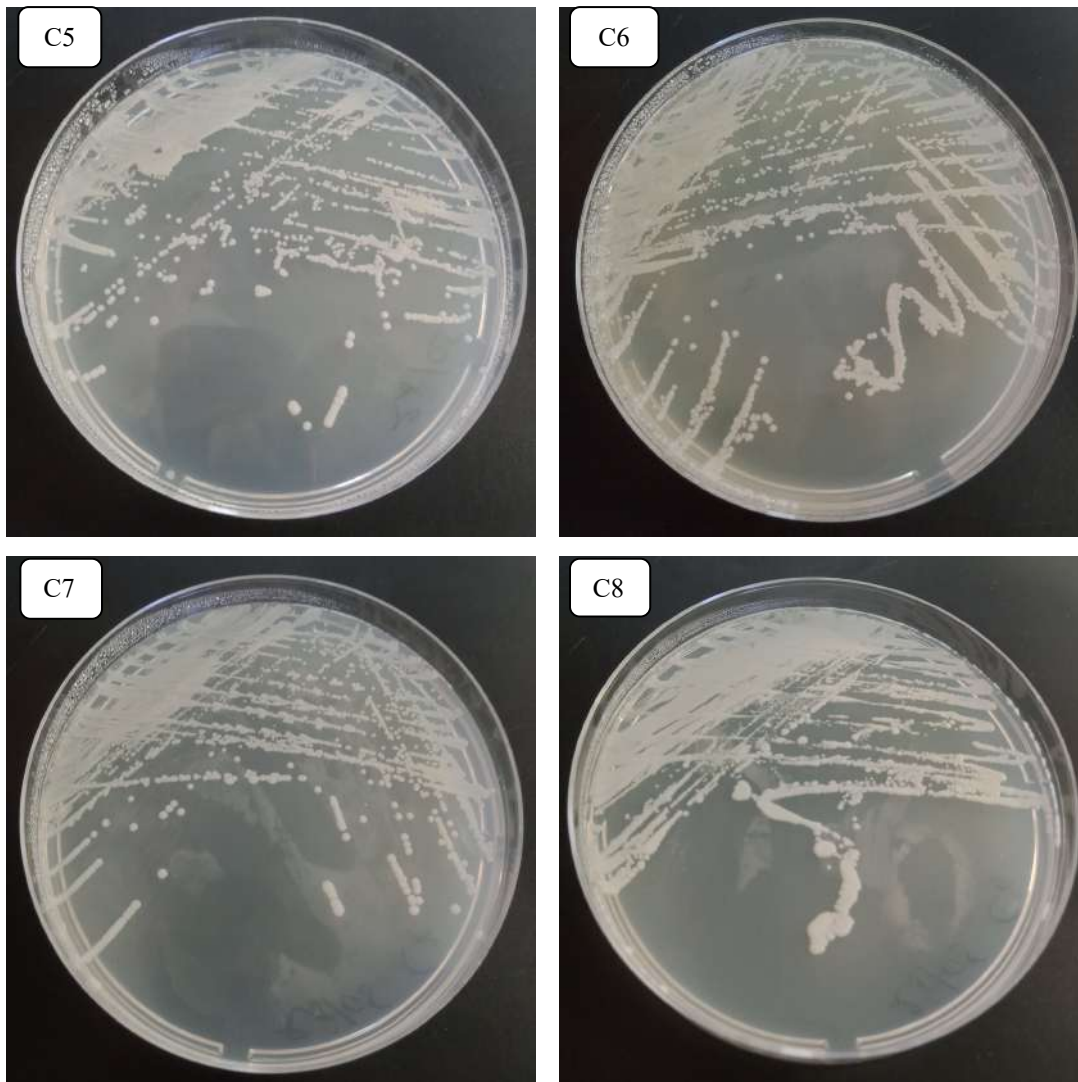
#### IV.4. Revivification et confirmation des isolats microbiens étudiées

##### IV.4.1. Examen macroscopique

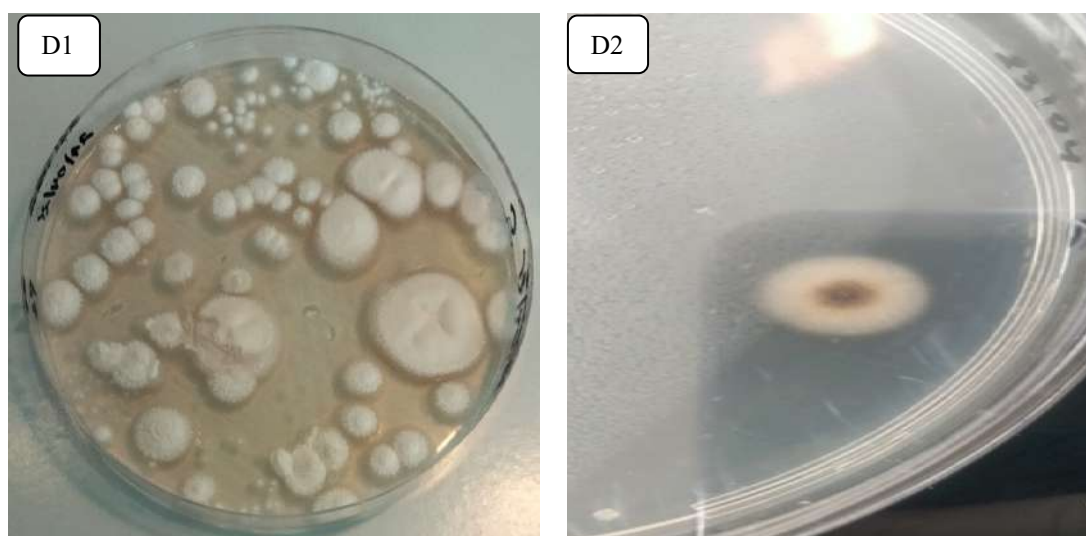
Après incubation à 37°C pendant 48 heures des cultures et des prélèvements, les observations macroscopiques ont révélé des différences caractéristiques de l'espèce de *Candida albicans* (fig 25 et 26). Elle a formé des colonies blanches, crémeuses, lisses. Certaines colonies présentent un aspect plus rigoureux. Après quelques jours de culture, on observe des filaments qui s'enfoncent dans la gélose (Ackah Bognan ,2009). Les dermatophytes (fig. 27) notamment les espèces du genre *Microsporum* présentent des colonies blanches duveteuses étoilées, avec verso pigment Jaune orangé. En revanche les espèces pour le genre *Trichophyton* ont colonies blanches bombé duveteuses avec verso pigment Jaune à brun (Marijon *et al.*, 2020) .



**Figure 25.** Aspect macroscopique des isolats (C1, C2, C3 et C4) de *Candida albicans* après incubation de 48 heures sur gélose Sabouraud.



**Figure 26.** Aspect macroscopique des isolats (C5, C6, C7 et C8) de *Candida albicans* après incubation de 48 heures sur gélose Sabouraud.



**Figure 27.** Aspect macroscopique de *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2,) après incubation de 7 jours sur gélose Sabouraud.

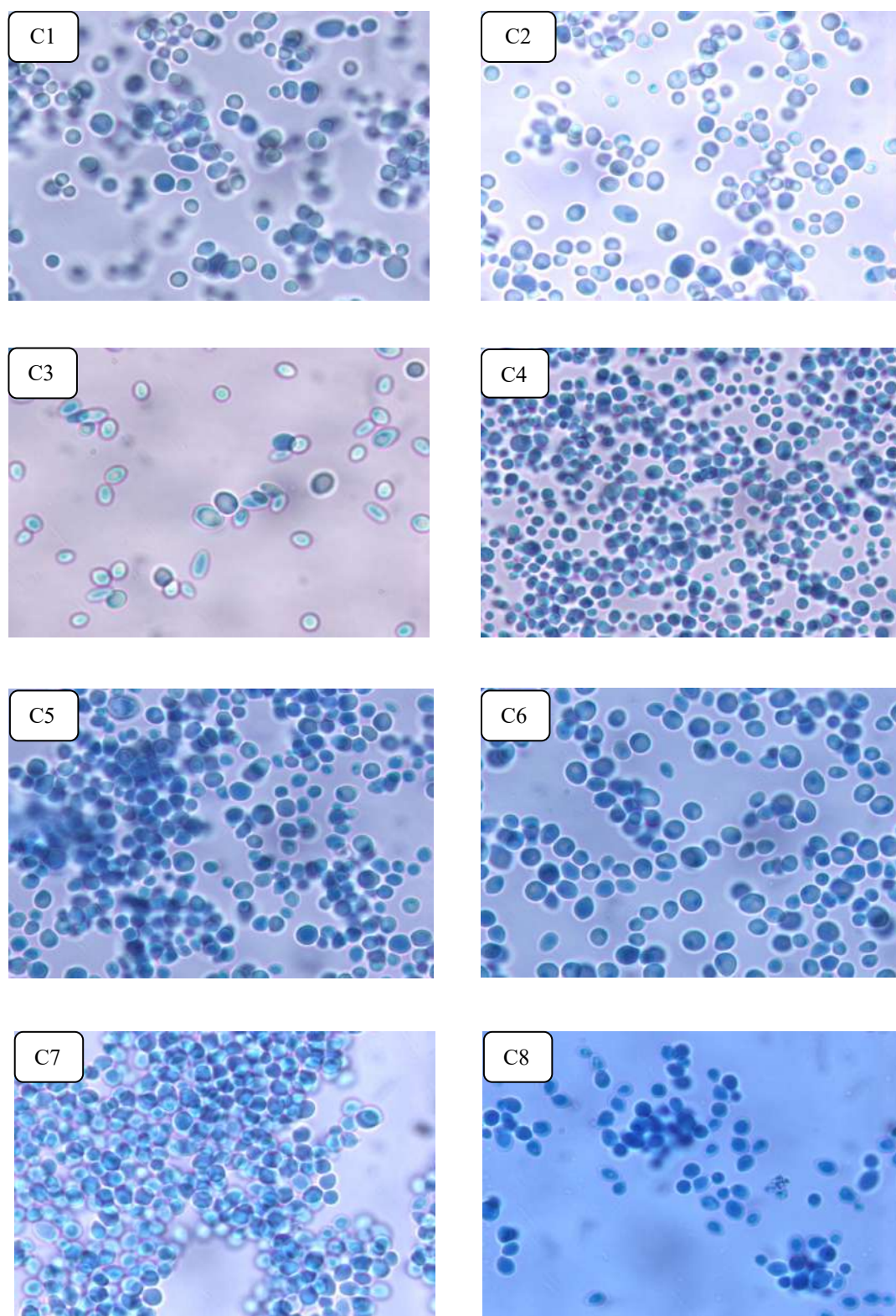
#### IV.4.2. Examen microscopique après coloration au bleu de lactophénol coton

L'observation au microscope permet d'analyser la morphologie des cellules d'une espèce microbienne. Elle inclut l'examen après coloration. *Candida albicans* ont montré des cellules ovoïdes à bourgeonnement multilatéral (Ackah Bognan, 2009). Les dermatophytes présenterait des macroconidies observées en amas. Des microconidies, ainsi qu'un mycélium fin et septé ont également été observés (Verma *et al.*, 2018).

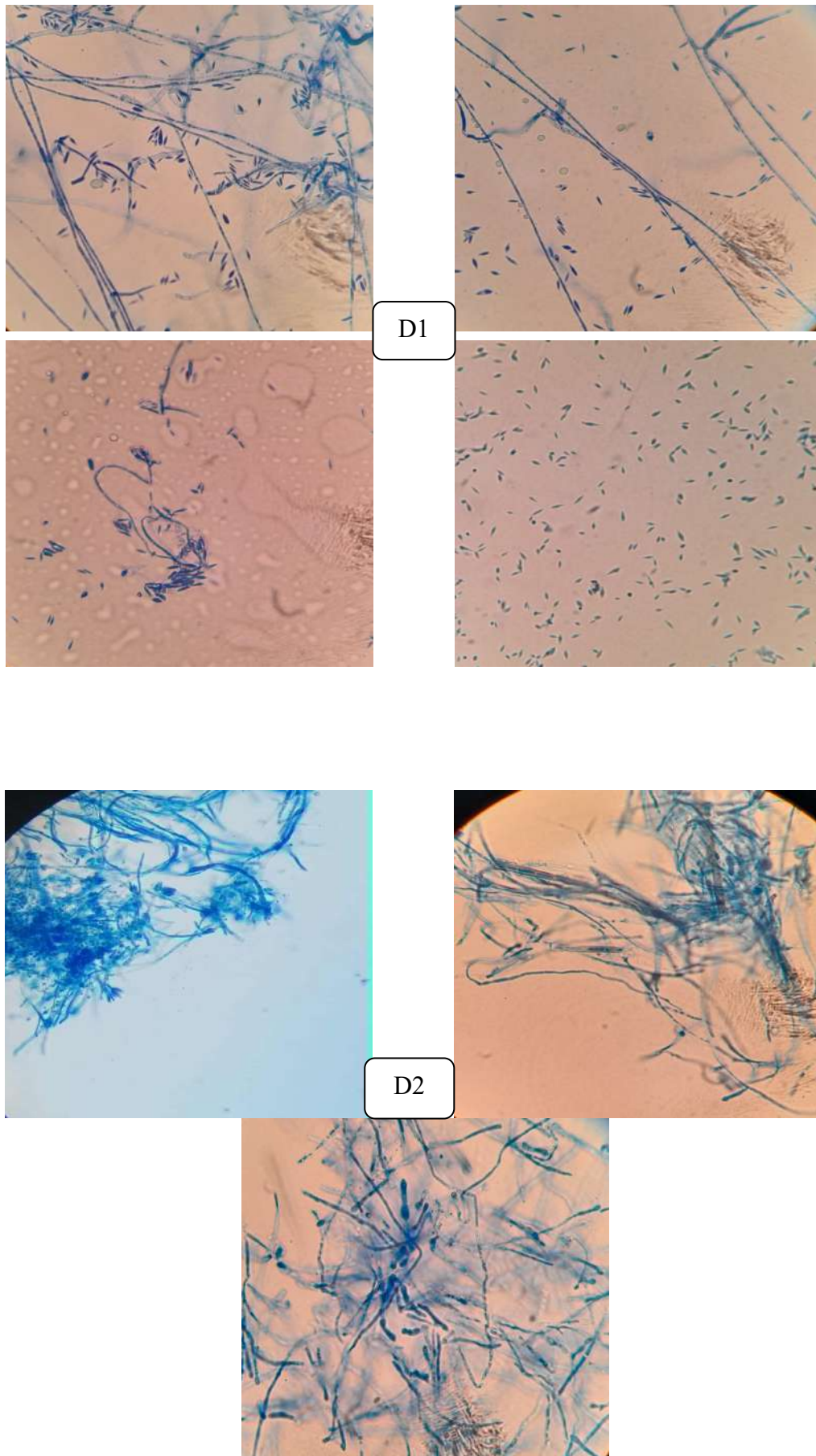
Différentes méthodes microscopiques, avec ou sans coloration, sont utilisées comme tests de dépistage pour confirmer la présence ou l'absence de champignons dans les échantillons d'ongles, même si le taux de fausse négativité de cette méthode atteint 5 à 15 %.

La méthode microscopique la plus couramment utilisée dans les laboratoires de diagnostic est la préparation à l'hydroxyde de potassium. L'ajout d'une goutte de bleu lactophénol coton permet de visualiser clairement les éléments fongiques (Shenoy, 2014).

On a observé pour *Candida* (fig. 28) des cellules ovoïdes tandis que pour les dermatophytes (fig. 29) ont pour le genre *Microsporium* des macroconidies de grande taille en fuseau, et un mycélium cloisonné, et pour le genre *Trichophyton* ont des microconidies rondes et parfois piriformes disposé on acladium et un mycélium fin septé (Marijon *et al.*, 2020).



**Figure 28.** Aspect microscopique des isolats (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 et C8) de *Candida albicans* après coloration au bleu de lactophénol coton au grossissement X 100.



**Figure 29.** Aspect microscopique de *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2,) après coloration au bleu de lactophénol coton au grossissement X 100.

## IV.5. Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

### IV.5.1. Aromatogramme

Les résultats présentés dans le tableau 6 illustrent la variation de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., mesurée par les diamètres d'inhibition observés contre les isolats étudiés (fig. 30, 31 et 32).

Le diamètre de la zone autour du disque traduisant l'activité antimicrobienne, a été mesurée à l'aide d'un pied de coulisse. 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). D'après les données du tableau 6 relatives à l'utilisation des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. sur les isolats (C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, D1 et D2) indiquent une activité antimicrobienne significative très forte a été enregistrée avec des diamètres d'inhibition de 17,4 à 67,5 mm, cela confirme l'hyperactivité antifongique exercée par les HEs.

**Tableau 6.** Résultats de l'aromatogramme des huiles essentielles de *Laurus nobilis*L. Sur les isolats étudiés.

Isolats	Zones d'inhibition en ( mm)		Résultats de sensibilité
	HEs	Econazole	
<b>C1</b>	35,1	29,7	ES
<b>C2</b>	38,8	44,9	ES
<b>C3</b>	38,9	48,9	ES
<b>C4</b>	17,4	23,9	ES
<b>C5</b>	30,4	20,8	ES
<b>C6</b>	50	43,6	ES
<b>C7</b>	60,4	34,4	ES
<b>C8</b>	38,6	33,3	ES
<b>D1</b>	39,6	38,2	ES
<b>D2</b>	67,5	47	ES

ES= extrêmement sensible

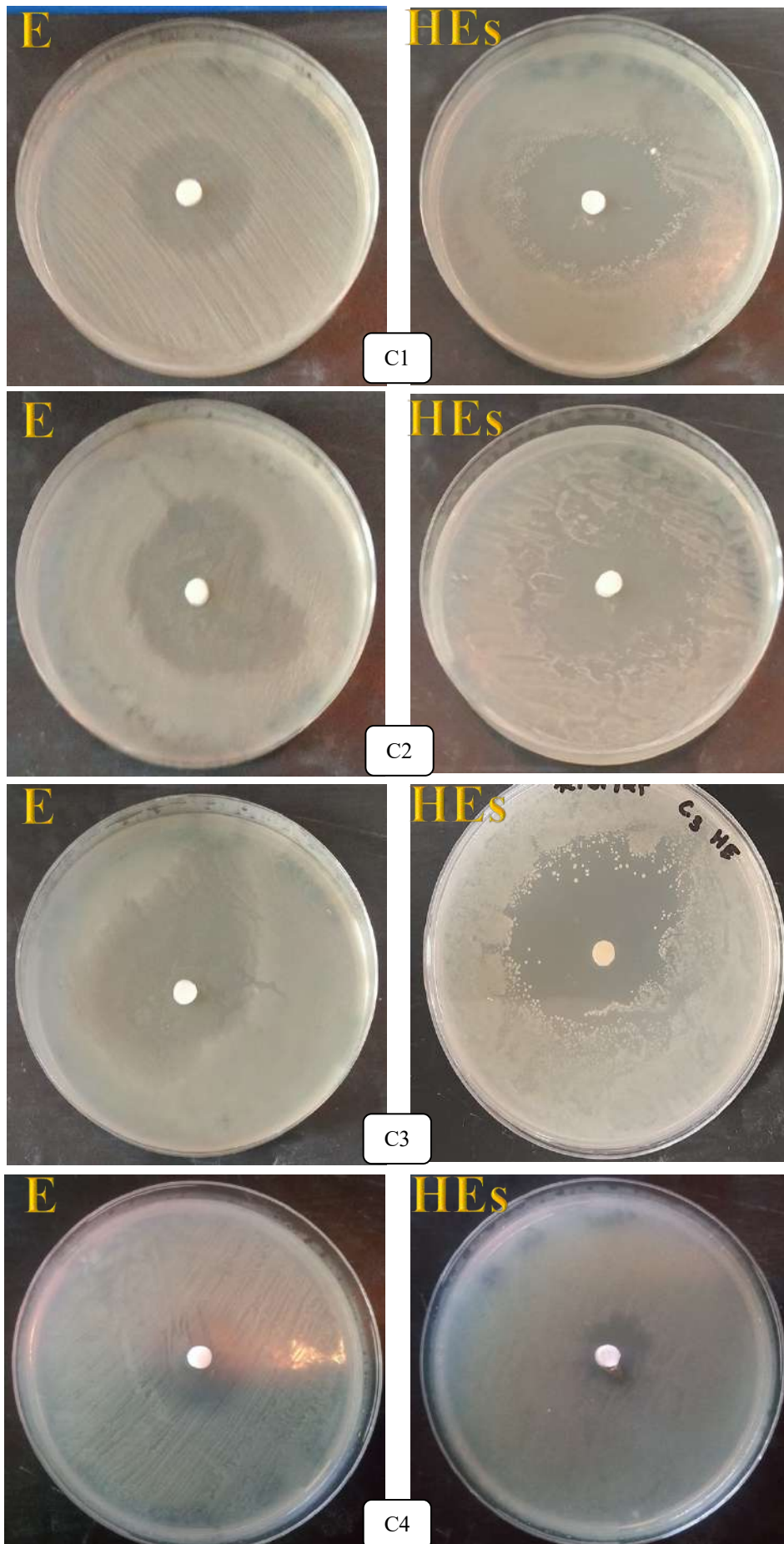


Figure 30. Aromatogramme des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans* (C1, C2, C3 et C4) par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).

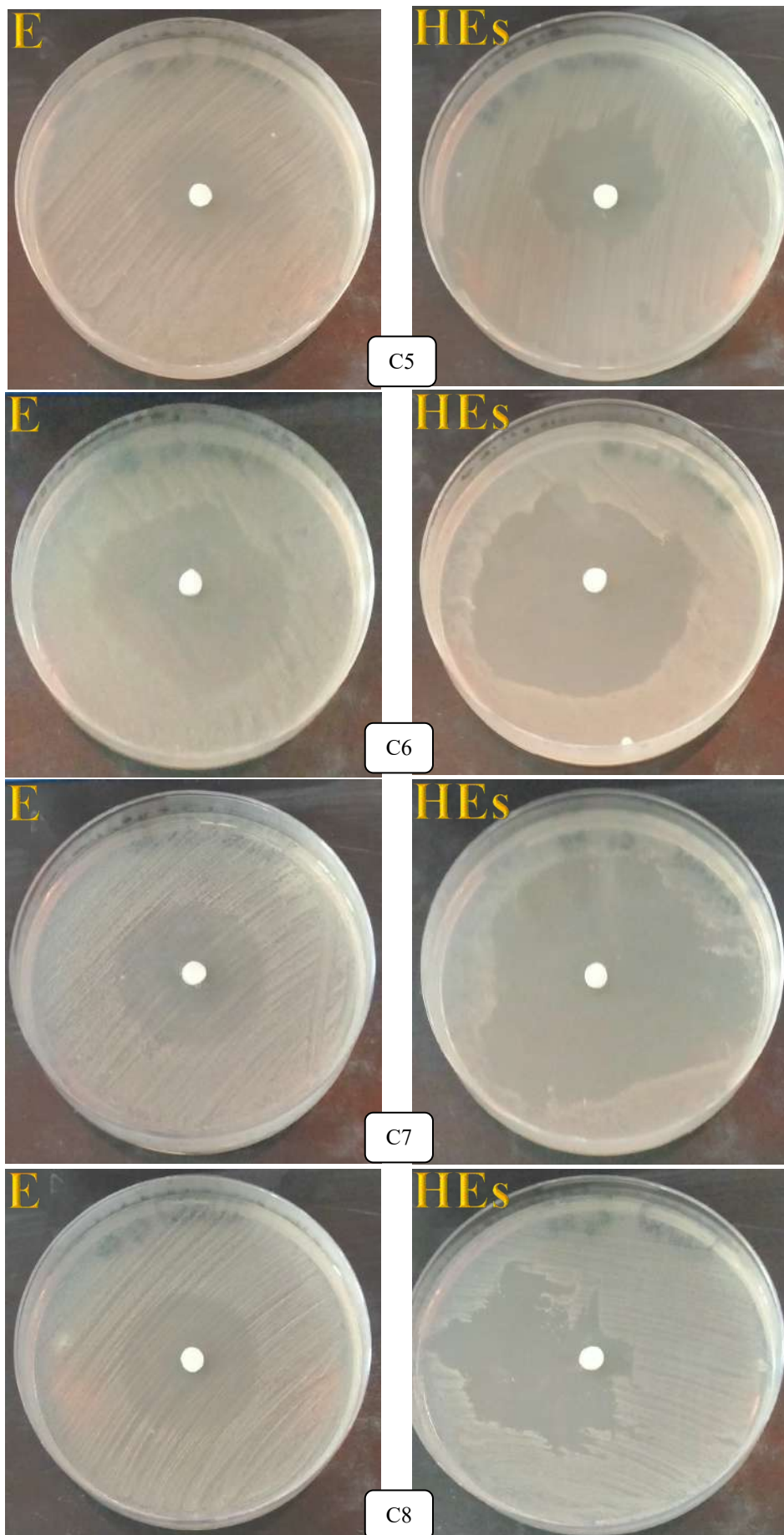
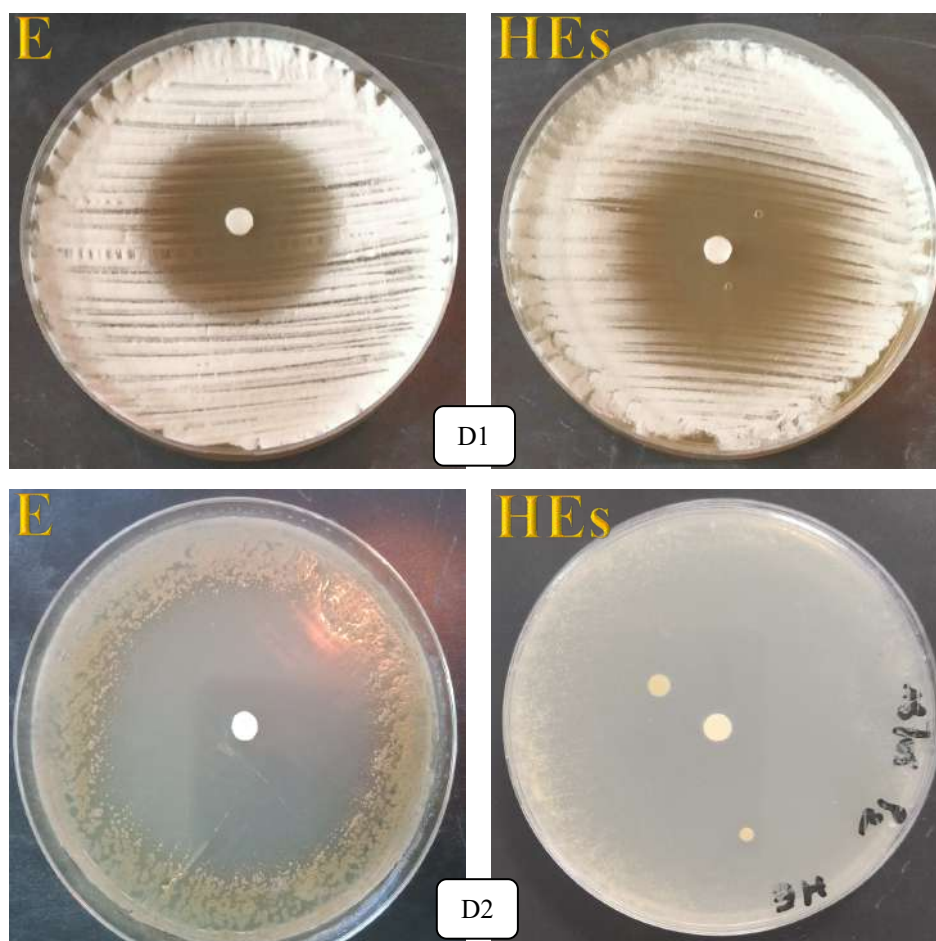


Figure 31. Aromatogramme des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans* (C5, C6, C7 et C8) par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).



**Figure 32.** Aromatogramme des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2) par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques).

Cette activité est également mentionnée dans les travaux de **Mkaddem Guedri *et al.* (2020)** dans deux pays où des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. de Tunisie a montré un faible potentiel antimicrobien par rapport à notre étude contre deux champignons *Mucor ramannianus* et *Aspergillus parasiticus* avec des zones d'inhibition 43 mm et 24 mm, respectivement et contre des espèces de levures *Candida albicans* et *Sacharomyces cerevisiae*, avec une zone d'inhibition de 26 mm, et dans le pays de France a été montré une efficacité de réaction avec des champignons : *Mucor ramannianus* (43 mm de zone d'inhibition), *Aspergillus parasiticus* (28 mm de diamètre d'inhibition) et *Fusarium culmorum* (26 mm de diamètre d'inhibition) par rapport au *Candida albicans* était relativement faible (17-20 mm de zone d'inhibition).

Vis-à-vis des études de **Guedouari *et al.* (2016)** les données ont indiqué que *Staphylococcus aureus* était la souche la plus sensible à des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., avec la zone d'inhibition la plus forte (18,11 mm). *Escherichia coli* s'est avérée globalement plus sensible parmi les bactéries, avec une zone d'inhibition de 16,79 mm. Une activité modérée a

été observée contre *Pseudomonas aeruginosa*, avec des zones d'inhibition de 12 mm. Tandis que le diamètre d'inhibition le plus important avec les huiles obtenues à partir des feuilles de *Laurus nobilis* L. contre la levure *Candida albicans* est de 21 mm.

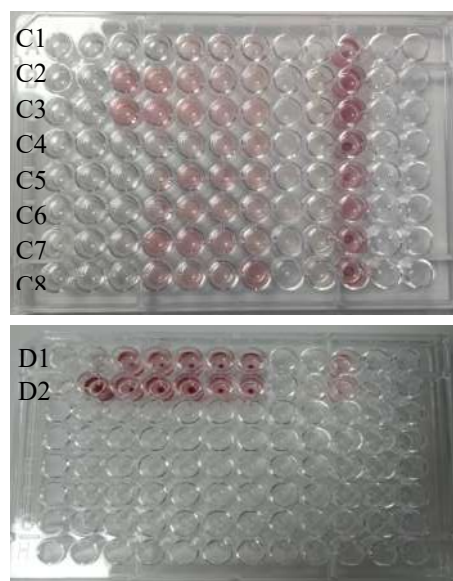
De manière générale, l'activité antimicrobienne observée est principalement attribuée au composant majoritaire de cette huile, le 1,8-cinéole, reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes vis-à-vis des isolats bactériens et fongiques.

#### IV.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la plus faible concentration des échantillons testés où l'absence de croissance a été enregistrée (Arabi, 2018). Les valeurs de CMI illustrés dans le tableau 7 montrent que les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. ont exercé une forte activité inhibitrice contre *Candida albicans* par rapport à celle des dermatophytes. Bien que les germes étudiés n'expriment pas la même sensibilité. Les données montrent que C1 est inhibé à une concentration de 1,25 µg/ml, C2 et C3 à une concentration de 5 µg/ml, C4 à 0,6 µg/ml, C5, C6, C7 et C8 à une concentration de 2.5 µg/ml, tandis que pour les dermatophytes la CMI été de l'ordre de 5 µg/ml et 10 µg/ml pour D1 et D2 respectivement (fig. 33 et 34).

On retrouve également cette activité dans les travaux élaborés par Ouled Taarabt *et al.* (2017) qui confirment l'insensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* à l'HE même à la plus forte concentration utilisée (60 µg / ml), mais, une faible concentration de 5 µg/ ml des HEs s'avère largement suffisante pour inhiber la croissance microbienne de *Staphylococcus aureus*, et des deux souches fongiques qui ont été révélées sensibles via l'aromatogramme.

En comparant avec les résultats de Jaradat *et al.* (2024), les huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. ont démontré la plus forte activité antibactérienne contre *P. mirabilis*, avec une CMI de 12,5 µg/ml et *C. albicans*, avec une CMI identique (0,39 µg/ml). On conclut que notre huile essentielle à une forte activité antimicrobienne par rapport à les autres études.



**Figure 33.** Concentration minimale inhibitrice des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis de *Candida albicans*, *Microsporium* et *Trichophyton*.

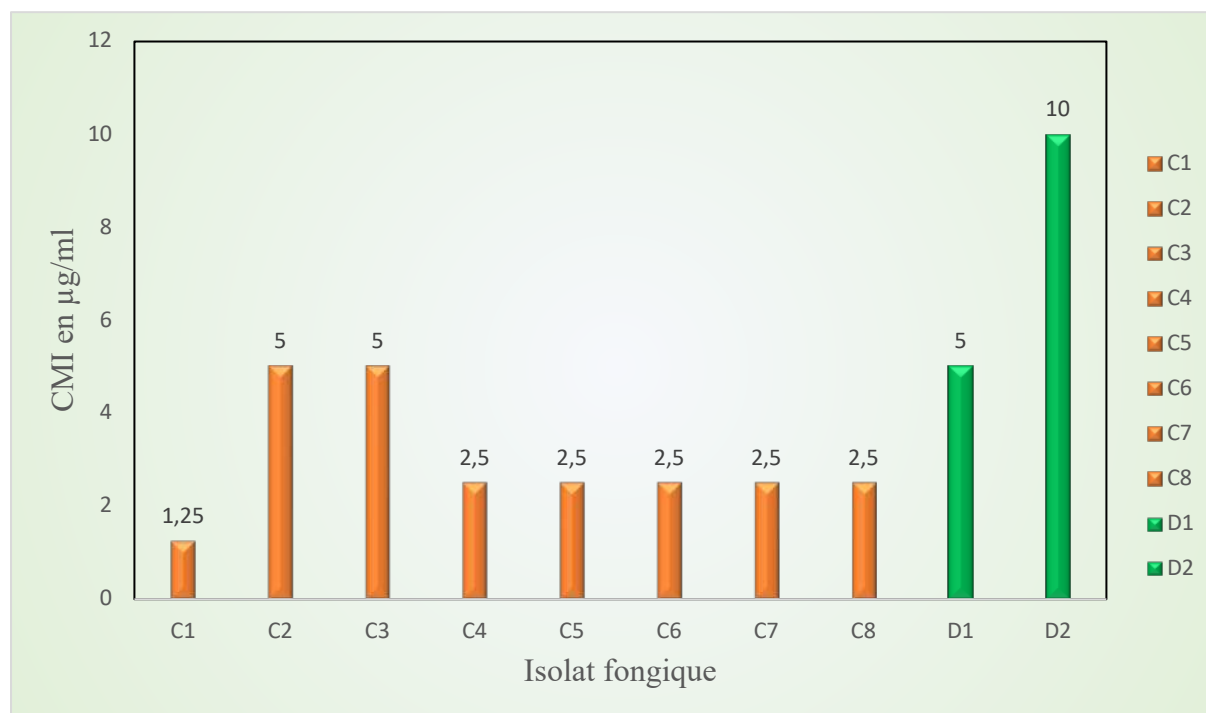
**Tableau 7.** Concentration minimale inhibitrice (CMI) des HEs de *Laurus nobilis* L.

Isolats		huiles essentielles en µg/ml							Control Positive	Control Négative
		10	5	2,5	1,25	0,62	0,31	0,15		
Candida albicans	C1	-	-	-	-	+	+	+	+	-
	C2	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	C3	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	C4	-	-	-	-	-	+	+	+	-
	C5	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C6	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C7	-	-	-	+	+	+	+	+	-
	C8	-	-	-	+	+	+	+	+	-
Dermatophytes	D1	-	-	+	+	+	+	+	+	-
	D2	-	+	+	+	+	+	+	+	-

C1 : *Candida albicans* ATCC10231 ; C2-C8 : *Candida albicans* cliniques

D1 : *Microsporium* ; D2 : *Trichophyton*

+ : présence ; - : absence.



**Figure 34.** Représentation graphique de la concentration minimale inhibitrice des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans*, *Microsporium* et *Trichophyton*.

### IV.5.3. Détermination de la concentration minimale fongicide (CMF)

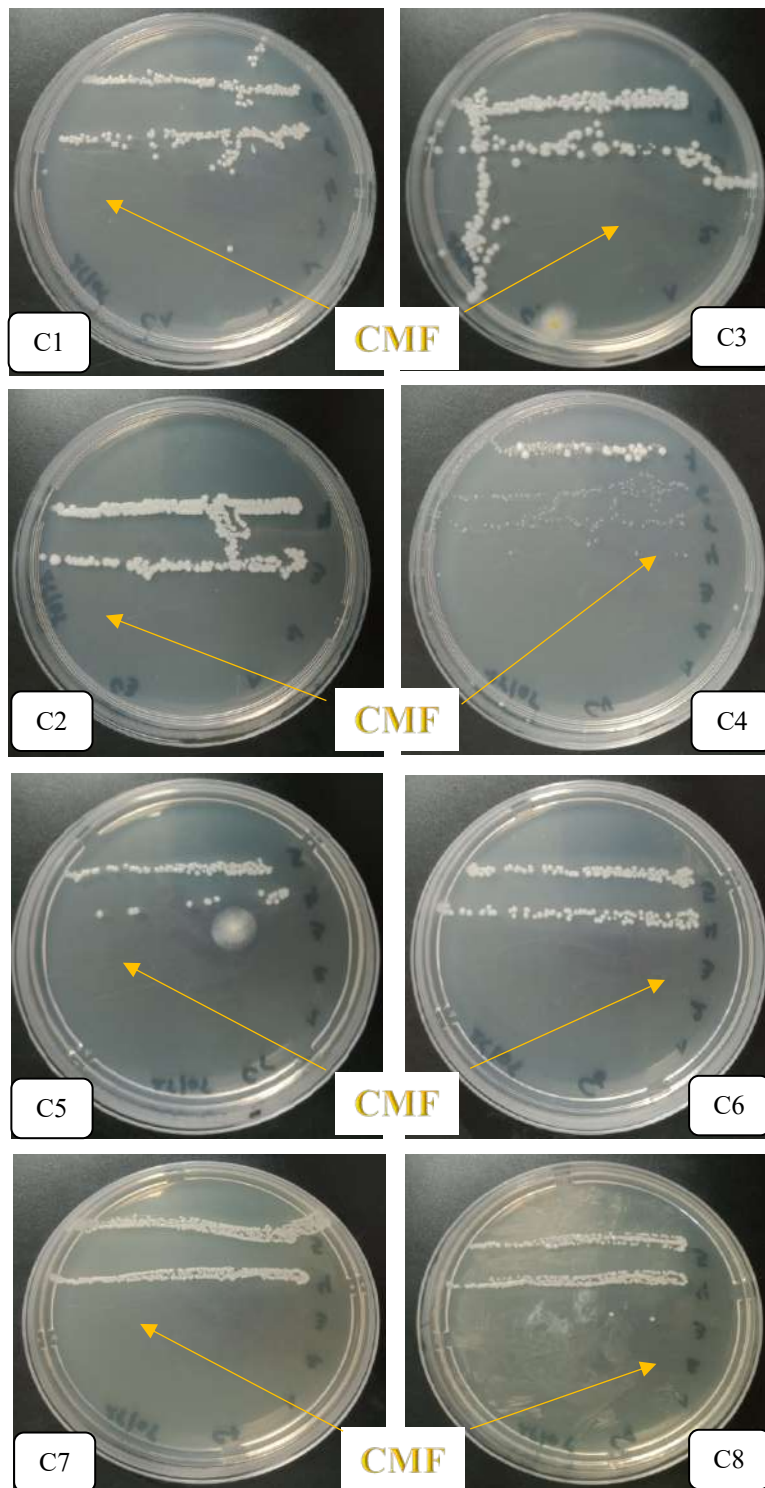
La concentration minimale fongicide (CMF) correspond à la plus faible concentration en huiles essentielles capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum microbien initial (soit moins de 0,1% de survivants). Elle définit l'effet bactéricide ou fongicide d'une huile essentielle. La CMB (% v/v) de l'huile essentielle est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactéries. Pour chacun des tests réalisés (Chebaibi *et al.*, 2015).

Les résultats mentionnés dans le tableau 8, montrent que tous les isolats de *Candida albicans*, de *Microsporum* et *Trichophyton* été extrêmement sensibles. D'où ils ont présenté des valeurs de CMF de 1.25, 5, 5, 0.62, 2.5, 2.5, 2.5, 2.5, 5 et 10 µg/ml pour les isolats C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, D1 ET D2 respectivement (fig. 35, 36 et 37). Par conséquent le rapport d'activité antifongique été de l'ordre de 1 pour C1, C2, C3, C5, C6, C7et C8 à l'exception de C4 (CMF/CMI=4).

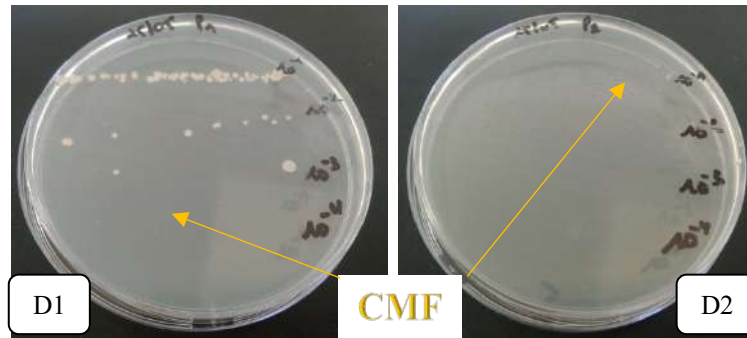
En comparaison avec les résultats de Ailli *et al.* (2023), qui rapportent une faible activité fongicide contre *Candida albicans* avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1,2 µg/ml. Les travaux de Miliani (2018) révèlent une forte activité fongicide contre *Aspergillus parasiticus*, avec une concentration de 2 µg/ml.

**Tableau 8.** Concentration minimale fongicide (CMF) et rapport d'activité des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L.

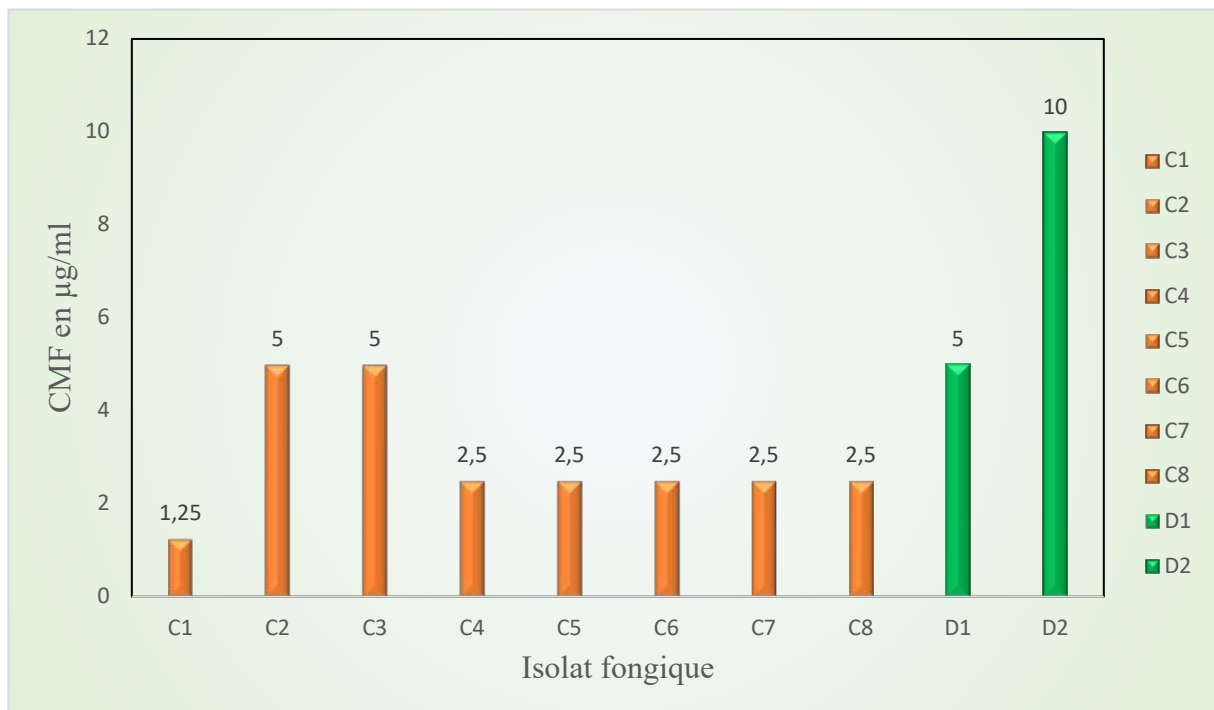
HEs de <i>Laurus nobilis</i> L. en µg/ml					
	Isolats	CMI	CMF	$\frac{CMF}{CMI}$	Activité
Candida albicans	C1	1,25	1,25	1	Fongicide
	C2	5	5	1	
	C3	5	5	1	
	C4	0,62	2,5	4	
	C5	2,5	2,5	1	
	C6	2,5	2,5	1	
	C7	2,5	2,5	1	
	C8	2,5	2,5	1	
Dermatophytes	D1	5	5	1	Fongicide
	D2	10	10	1	



**Figure 35.** Concentration minimale fongicide des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans*.



**Figure 36.** Concentration minimale fongicide des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Microsporium* (D1) et *Trichophyton* (D2).



**Figure 37.** Représentation graphique de la concentration minimale fongicide des HEs de *Laurus nobilis* L. vis-à-vis *Candida albicans*, *Microsporium* et *Trichophyton*.

# Conclusion

---

## Conclusion

Ce travail a porté sur la détermination de la composition chimique, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante et antifongique des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L., appliquées sur plusieurs isolats de *Candida albicans* et de dermatophytes (*Microsporum* et *Trichophyton*). L'objectif principal était d'estimer l'efficacité potentielle de cette plante dans le traitement des infections fongiques, en particulier l'onychomycose.

Les souches fongiques utilisées, responsables d'onychomycose, ont été fournies par un laboratoire d'analyses médicales, puis confirmées au laboratoire de recherche.

L'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. de la région de Mostaganem, a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau, et leur composition chimique a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS).

L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide de la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Quant à l'activité antifongique *in vitro*, elle a été mesurée de manière qualitative par aromatoگرامme (présence ou absence de zones d'inhibition), et de manière quantitative par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF).

L'extraction des huiles essentielles de *Laurus nobilis* L. a permis d'obtenir un rendement de 0,53 %. L'analyse chromatographique a révélé la présence de 41 composés, dont les principaux sont l'eucalyptol (39,08 %) et le linalol (14,56 %).

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré un fort pouvoir piégeur de radicaux libres, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de 3,91 µg/ml, supérieure à celle du standard (vitamine C), témoignant d'un potentiel antioxydant élevé.

Concernant l'activité antifongique, les huiles essentielles ont exercé une action marquée contre les dermatophytes et les souches de *Candida albicans*, avec des zones d'inhibition allant de 17,40 mm à 67,5 mm. Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) et de concentration minimale fongicide (CMF) variaient de 0,62 à 10 µg/ml. Le rapport CMF/CMI égal à 1 pour la majorité des isolats confirme le caractère fongicide des huiles essentielles, à l'exception notable de l'isolat *Candida albicans* C4 (CMF/CMI=4).

En fin, les résultats obtenus confirment le potentiel antifongique significatif de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L., en particulier contre des souches responsables d'onychomycose. Cette plante médicinale se révèle donc être une candidate sérieuse dans la recherche d'alternatives naturelles ou complémentaires aux traitements antifongiques actuels, souvent compromis par des phénomènes de résistance.

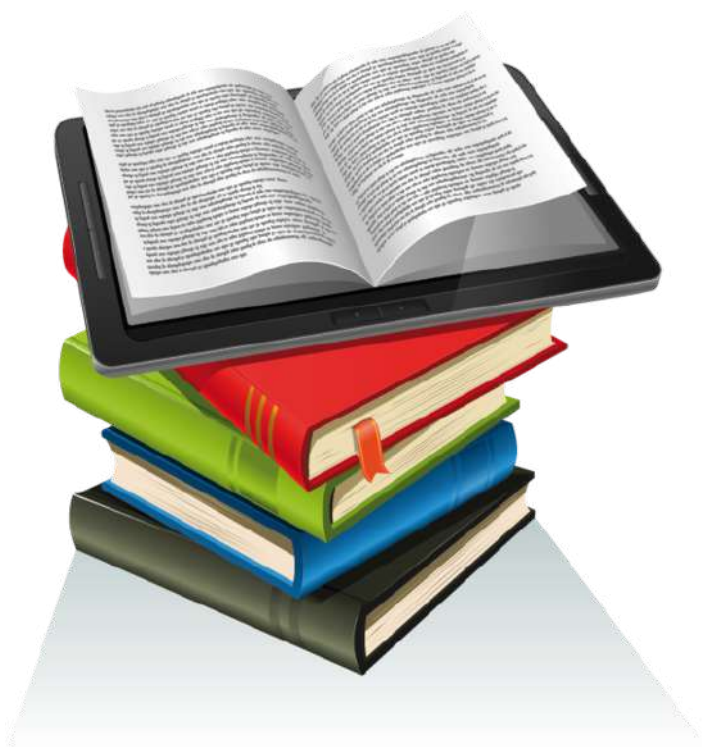
Comme perspectives et pour valoriser pleinement cet agent naturel, il serait pertinent d'engager des études plus approfondies, notamment :

- Des essais *in vivo* et cliniques afin d'évaluer son efficacité réelle chez l'homme,
- L'étude de sa toxicité et de son innocuité à court et long terme,
- Le développement de formulations galéniques adaptées (crèmes, vernis, huiles topiques) favorisant sa stabilité et sa pénétration unguéale,
- Ainsi que l'analyse de synergies potentielles entre *Laurus nobilis* L. et des antifongiques de synthèse pour renforcer leur efficacité et limiter les doses nécessaires.

Ces approches ouvrent la voie à une utilisation rationnelle des huiles essentielles dans le traitement des mycoses, tout en répondant aux enjeux actuels de résistance aux antimicrobiens et de santé naturelle.

# Références Bibliographiques

---



# Références Bibliographiques

- **Abdelmalek, R., Mebazaa, A., Kilani, B., Kanoun, F., El Euch, D., et Ben Chaabane, T. (2010).** La maladie dermatophytique : à propos d'un cas clinique [Dermatophytic disease: About a case report]. *Journal de Mycologie Médicale*, p 218–222. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2010.05.004>
- **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].*
- **Ailli, A., Handaq, N., Touijer, H., Eddamsyry, B., El Makhoukhi, F., Gourich, A., Drioiche, A., Mouradi, A., Zibouh, K., Bin Jardan, Y. A., Bourhia, M., Elomri, A., et Zair, T. (2023).** *Phytochemistry and biological activities of essential oils from six aromatic medicinal plants with cosmetic properties. Antibiotics*, 721. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040721>
- **Al-Janabi, A. A. H. S., et Al-Khikani, F. H. O. (2020).** Dermatophytoses: A short definition, pathogenesis, and treatment. *International Journal of Health & Allied Sciences*, 210–214. [https://doi.org/10.4103/ijhas.IJHAS\\_123\\_19](https://doi.org/10.4103/ijhas.IJHAS_123_19)
- **Albert L., (2022).** *Candida albicans sur puce : approche biomécanique de la plasticité morphogénétique de C. albicans [Thèse de doctorat, Université Paris Cité]. École doctorale n°564 Physique en Île-de-France*
- **Alejo-Armijo, A., Altarejos, J., Salido, S., (2017).** Phytochemicals and biological activities of laurel tree (*Laurus nobilis*). *Natural Product Communications*, 12(5), 743-757.
- **Alimi, D., Hajri, A., Jallouli, S., & Sebai, H. (2021).** In vitro acaricidal activity of essential oil and crude extracts of *Laurus nobilis* (Lauraceae) grown in Tunisia, against arthropod ectoparasites of livestock and poultry: *Hyalomma scupense* and *Dermanyssus gallinae*. *Veterinary Parasitology*, 298, 109507. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109507>
- **Allam, K. (2020).** Dermatophytes, dermatophyties et maladie dermatophytique (Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V - Rabat). Faculté de Médecine et de Pharmacie, Rabat.
- **Amiri, H. (2010).** Antioxidant activity of the essential oil and methanolic extract of *Teucrium orientale* subsp. *taylori* (Boiss.) Rech. f. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 9(4), 417–423.
- **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.*
- **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>
- **Bao, F., Fan, Y., Sun, L., Yu, Y., Wang, Z., Pan, Q., Yu, C., Liu, H., et Zhang, F. (2018),** Comparison of fungal fluorescent staining and ITS rDNA PCR-based sequencing with conventional methods for the diagnosis of onychomycosis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1111/jdv.14843>
- **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.2014.10.004>
- **Bekhti, N. (2021).** Caractérisation physico-chimiques des polyphénols et alcaloïdes utilisés en médecine [Thèse de doctorat, Université Djillali Liabès – Sidi Bel Abbès].
- **Bekkaye, Z., et Abdelkader, S. Y. (2024).** Les dermatophytoses diagnostiquées au service de Parasitologie-Mycologie CHU Tlemcen (2023-2024). [Mémoire de doctorat, Université algérienne non spécifiée].
- **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].*
- **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].

- **Bourebaba N., Kornicka-Garbowska K., Marycz K., Bourebaba L., Kowalczyk A., (2021).** *Laurus nobilis* ethanolic extract attenuates hyperglycemia and hyperinsulinemia induced insulin resistance in HepG2 cell line through the reduction of oxidative stress and improvement of mitochondrial biogenesis–Possible implication in pharmacotherapy. *Mitochondrion*, 59, 190-213.
- **Brans, A., et Boursiez, C. (2015).** Les mycoses superficielles : Pharmacologie des antifongiques [Thèse de doctorat, Université de Lille 2, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques]. Université de Lille 2 – Droit et Santé.
- **Brown, A., Goñi-de-Cerio, F., Bilbao, A., Ribes, A., Fernández de Henestrosa, A. R., Prudkin, L., Perugini, P., & Foyaca, M. (2025).** An assessment of the antifungal efficacy of a novel topical onychomycosis treatment using human nail and skin infection models. *Journal of Fungi*, 11(5), 345. <https://doi.org/10.3390/jof11050345>
- **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>
- **Causse, C. (2011).** *Les dermatophytes d'origine zoonotique : Aspects actuels et prise en charge à l'officine [Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier – Faculté de pharmacie de Grenoble]. HAL Archives ouvertes.* <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00597518v1>
- **Chabasse, D., et Contet-Audonneau, N. (2011).** Dermatophytes et dermatophytoses. In EMC – Maladies infectieuses (Elsevier Masson). [https://doi.org/10.1016/S1166-8598\(11\)56491-9](https://doi.org/10.1016/S1166-8598(11)56491-9)
- **Chabasse, D., et Contet-Audonneau, N. (2013).** Les teignes du cuir chevelu. *Revue Francophone des Laboratoires*, 49–56.
- **Chabasse, D., et Guiguen, C. (2019).** Dermatophytes : difficultés d'interprétation et pièges du diagnostic mycologique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 26–34. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(19\)30040-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(19)30040-1)
- **Chabasse, D., et Pihet, M. (2008).** Les dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 29–36.
- **Chahal K., Kaur M., Bhardwaj U., Singla N., Kaur A., (2017).** A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1153-1161.
- **Chami, F. (2005).** Évaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires in vivo : Application dans la prophylaxie et le traitement de la candidose vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés (Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, Faculté des Sciences Dhar El Mehrez, Fès).
- **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.**
- **Chebaïbi, 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>
- **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].
- **Chourfi, A., Alaoui, T., & Echchgadda, G. (2014).** In vitro propagation of the bay laurel (*Laurus nobilis* L.) in Morocco. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 4(3), 96–103. [https://doi.org/10.38150/sajeb.4\(3\).p96-103](https://doi.org/10.38150/sajeb.4(3).p96-103)
- **Córdoba, S., Vivot, W., Szusz, W., & Albo, G. (2019).** Antifungal activity of essential oils against *Candida* species isolated from clinical samples. *Mycopathologia*, 184, 451–460. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00364-5>
- **Dannaoui, É. (2013).** Résistance des *Candida* aux antifongiques : détection et mécanismes. *Revue Francophone des Laboratoires*, (450), 71. <https://doi.org/10.1016/j.rfal.2013.01.002>
- **Del Bino-Nokin, S. (2022).** Relation entre la pigmentation constitutive de la peau et la réponse aux expositions

ultraviolettes (Thèse de doctorat, Sorbonne Université). Sorbonne Université.

- **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].
- **Diarra, B. (2020).** fréquence des dermatophytes isolés du cuir chevelu chez les enfants du point g en commune iii et a l'hôpital de dermatologie de bamako/ ex cnam.(Thèse de doctorat en pharmacie, Université des Sciences des Techniques et des Technologies de Bamako, Faculté de Pharmacie).
- **Dobroslavić E., Elez Garofulić I., Zorić Z., Pedisić S., Dragović-Uzelac V., (2021).** Polyphenolic characterization and antioxidant capacity of *Laurus nobilis* L. leaf extracts obtained by green and conventional extraction techniques. *Processes*, 9(10), 1840.
- **Dobroslavić, E., Repajić, M., Dragović-Uzelac, V., et 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>
- **El Aiba, Y., Moreno-Sabater, A., Dannaoui, E. et Morio, F. (2024).** Résistance des dermatophytes à la terbinafine et émergence de Trichophyton indotineae. *Revue de biologie médicale*, 13-22. <https://doi.org/10.3917/rbm.376.0013>
- **Emmons, C. W. (1934).** Dermatophytes : Natural grouping based on the form of the spores and accessory organs. *Archives of Dermatology and Syphilology*, 30(3), 337–362.
- **Etcheverria, C. M. (2022).** Les dermatophytes : À propos des espèces isolées au CHU de Bordeaux (2014-2020) et actualités taxonomiques, diagnostiques et thérapeutiques (Thèse de doctorat en pharmacie, U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques).
- **Faway, É. (2018).** Pathogénie d'une dermatophytose (*Trichophyton rubrum*) sur épiderme humain reconstruit (Thèse de doctorat en sciences biomédicales et pharmaceutiques). Université de Namur. <https://researchportal.unamur.be>
- **Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, I., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A., et Zheljzkov, V. D. (2019).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Laurus nobilis* L. essential oils from Bulgaria. *Molecules*, 24(4), 804. <https://doi.org/10.3390/molecules24040804>
- **Franchomme, P., Jollois, R., et Pénoël, D. (2001).** L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques (1re éd.). Éditions Roger Jollois.
- **Garnier, C., Roig-Rosello, E., et Rousselle, P. (2019).** *Dynamique de la jonction dermo-épidermique au cours de la régénération de la peau*. In *Biologie Cutanée, CoBIP 2019* (pp. 5-23). MatriX. <https://hal.science/hal-03038051v1>
- **Gauthier, C. (2007).** *Étude structure-fonction des transporteurs ABC de Candida albicans impliqués dans la résistance aux agents antifongiques* (Thèse de doctorat, Université de Montréal). Université de Montréal.
- **Ghannoum M. (2016).** Azole Resistance in Dermatophytes: Prevalence and Mechanism of Action. *J Am Podiatr Med Assoc*. doi: 10.7547/14-109. PMID: 26895366.
- **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>
- **Han, T.-L., Cannon, R. D., & Villas-Bôas, S. G. (2012).** The metabolic response of *Candida albicans* to farnesol under hyphae-inducing conditions. *FEMS Yeast Research*, 12(8), 879–889. doi:10.1111
- **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.
- **Ismaili, R., Houbairi, S., Sanâa, L., Khadija, M., et Lamiri, A. (2017).** Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes aromatiques et médicinales marocaines. *European Scientific Journal*, 323–338. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n12p323>
- **Jabri, B. (2022).** *Candida albicans et maladies parodontales* (Thèse de doctorat, Université Mohammed V de Rabat, Faculté de Médecine et de Pharmacie). Université Mohammed V de Rabat.

- **Jaradat, N., Hawash, M., Qaoud, M. T., Al-Maharik, N., Qadi, M., Hussein, F., Issa, L., Saleh, A., Saleh, L., et Jadallah, A. (2024).** *Biological, phytochemical and molecular docking characteristics of Laurus nobilis L. fresh leaves essential oil from Palestine. BMC Complementary Medicine and Therapies*, , 223. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04528-9>
- **Kettani, A., Belkhadir, Z. H., Mosadik, A., Faroudy, M., Ababou, A., Lazreq, C., et Sbihi, A. (2006).** Traitement antifongique des candidoses systémiques en réanimation. *Journal de Mycologie Médicale*, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2005.10.004>
- **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). *Farmatsiya I Farmakol.*, 7, 244–259.
- **Lagane, C. (2007).** Rôle de l'IL-13 et des ligands de PPAR- $\gamma$  dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *Candida albicans* : Implication de PPAR- $\gamma$  [Thèse de doctorat, Université Toulouse III – Paul Sabatier]. Université Toulouse III – Paul Sabatier.
- **Leslé, F., Goldrajch, L., Cremer, G., Dupouy-Camet, J., et Paugam, A. (2013).** *Actualités des dermatophytoses*. Feuillet de Biologie, 23–27.
- **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>
- **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>
- **Mélissopoulos, A., et Levacher, C. (2012).** *La peau : Structure et physiologie*. Lavoisier. <https://www.lavoisier.fr/livre/notice.asp?ouvrage=2584066> (ISBN 978-2-7430-1369-1)
- **Merghni, A., Marzouki, H., Hentati, H., Aouni, M., & Mastouri, M. (2015).** Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Pathologie Biologie*, 63(6), 594–599. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2015.10.003>
- **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>
- **Mnayer, D. (2014).** Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens [Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse].
- **Mohamadi, Y. (2023).** Étude phytochimique et activités biologiques des huiles essentielles des populations du genre *Myrtus* L. en Algérie (Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas – Sétif 1, 946 p.).
- **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. (2018).** Effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) [Thèse de doctorat, Université Saad Dahlab de Blida].
- **Mouas, Y., Benrebha, 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. <https://www.agrobiologia.net>
- **Mssillou, I., Agour, A., El Ghouzi, A., Hamamouch, N., 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. <https://doi.org/10.1155/2020/8819311>

- **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>
- **Nafis, A., Kasrati, A., Jamali, C. A., Custódio, L., Vitalini, S., Iriti, M., & Hassani, L. (2020).** A Comparative Study of the in Vitro Antimicrobial and Synergistic Effect of Essential Oils from *Laurus nobilis* L. and *Prunus armeniaca* L. from Morocco with Antimicrobial Drugs: New Approach for Health Promoting Products. Antibiotics, 9(4), 140. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040140>
- **Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., et De Feo, V. (2017).** Essential Oils and Antifungal Activity. Pharmaceuticals, 10(4), Article 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- **Nebie, B. (2023).** Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par co-distillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso [Thèse de doctorat, Université Nazi Boni].
- **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].
- **Ouibrahim, A., Tlili-Ait-Kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A. G., et Djebbar, M. R. (2013).** Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. African Journal of Microbiology Research. <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2390>
- **Ouled Taarabt, K. (2019).** Caractérisation des huiles essentielles de deux plantes médicinales et aromatiques du Maroc (*Laurus nobilis* et *Thymus satureioides*) : Essai de valorisation dans la conservation antimicrobienne d'une préparation pharmaceutique [Thèse de doctorat, Université Chouaib Doukkali, Faculté des Sciences – El Jadida]. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17412.86403>
- **Ouled Taarabt, K., Koussa, T., et Najib Alfeddy, M. (2017).** Caractéristiques physicochimiques et activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* L. au Maroc. Afrique Science, <http://www.afriquescience.info>
- **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>
- **Pihet, M., et Marot, A. (2013).** Diagnostic biologique des candidoses. Revue Francophone des Laboratoires, 47–55. <https://doi.org/10.1016/j.rfl.2012.11.005>
- **Piraccini, B. M., et Alessandrini, A. (2015).** Onychomycosis: A review. Journal of Fungi, 30–43. <https://doi.org/10.3390/jof1010030>
- **Plainfossé, H. (2019).** Recherche et développement d'ingrédients cosmétiques innovants favorisant la réparation cutanée à partir de matières premières naturelles d'origine méditerranéenne [Thèse de doctorat, COMUE Université Côte d'Azur].
- **Ponce A.G., Fritz R., Del valle C.E., Roura S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora organic Swiss chard. J leban mittel-wissenchafti and technologie. N36, p : 679-684.
- Products. Foods 2022, 11, 752. <https://doi.org/10.3390/foods11050752>
- **Prost-Squarcioni, C. (2005).** Histologie de la peau et des follicules pileux. Médecine/Sciences, 131–137. <https://doi.org/10.1051/medsci/2006222131>
- **Quintana M, Saavedra E, Del Rosario H, González I, Hernández I, Estévez F, Quintana J. 2021 .**Ethanol Enhances Hyperthermia-Induced Cell Death in Human Leukemia Cells. Int J Mol Sci. 6;22(9):4948. doi: 10.3390/ijms22094948. PMID: 34066632; PMCID: PMC8125413.

- **Ravindra, K., et Miskeen, A. (2020).** Emerging resistance to antifungal agents in dermatophytes: Current scenario and future challenges. *Journal of Fungi*, 6(4), 310. <https://doi.org/10.3390/jof6040310>
- **Riabov, P. A., Micić, D., Božović, R. B., Jovanović, D. V., Tomić, A., Šovljanski, O., Filip, S., Tosti, T., Ostojić, S., Blagojević, S., et Đurović, S. (2020).** The chemical, biological and thermal characteristics and gastronomical perspectives of *Laurus nobilis* essential oil from different geographical origins. *Industrial Crops and Products*, 151, Article 112498. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112498>
- **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>
- **Robert Baran, Ekart Haneke, Roderick J Hay. 1999.** *Onychomycosis : The Current Approach to Diagnosis and Therapy* : 9781853177675 : Medicine and Health Science Books @ Amazon.com. (s. d.). 1<sup>ière</sup> Ed. pp 80. <https://www.amazon.com/Onychomycosis-Current-Approach-Diagnosis-Therapy/dp/1853177679>
- **Schaefer H, et Lademann J. (2001).**The role of follicular penetration. A differential view. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.*;14 Suppl 1:23-7. doi: 10.1159/000056386. PMID: 11509903.
- **Shenoy, M. S., et Shenoy, M. M. (2014).** Fungal nail disease (*Onychomycosis*); *Challenges and solutions. Archives of Medicine and Health Sciences*, <https://doi.org/10.4103/2321-4848.133811>
- **Snuossi, M., Trabelsi, N., Ben Taleb, S., Dehmeni, A., Flamini, G., et De Feo, V. (2016).** *Laurus nobilis*, *Zingiber officinale* and *Anethum graveolens* essential oils: Composition, antioxidant and antibacterial activities against bacteria isolated from fish and shellfish. *Molecules*, 21(10), 1414. <https://doi.org/10.3390/molecules21101414>
- **Stefanova G., Girova T., Gochev V., Stoyanova M., Petkova Z., Stoyanova A., et Zheljazkov V.D., (2020).** Comparative study on the chemical composition of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves from Greece, Georgia, and the antibacterial activity of their essential oil. *Heliyon*, 6(12), e05491.
- **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].
- **Tazi, N. (2011).** Interactions des biomatériaux bucco-dentaires et *Candida albicans* (Mémoire de maîtrise, Université Laval, Québec).
- **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>
- **Touhami, A. (2017).** Étude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est algérien pendant les deux périodes de développement [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba].
- **Twarog, C. (2017).** Particules Janus pour des applications industrielles : stabilité et incorporation de principes actifs (Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lorraine). HAL Id: hal-01932273. Disponible sur <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932273>
- **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.
- **Vogeleer, M. N., et Lachapelle, 2005,** *J. M. 124.*, Les onychomycoses des pieds : un sujet d'actualité. *Cliniques Universitaires Saint-Luc, Université Catholique de Louvain*.
- **Yahyaoui Ali, (2017).** Les aspects dermoscopiques des onychomycoses (à propos de 57 cas) (Thèse de doctorat en médecine, Université Mohammed V, Rabat, Maroc). Thèse n° 225/17.
- **Yamada, T., Maeda, M., Alshahni, M. M., Tanaka, R., Yaguchi, T., Bontems, O., Salamin, K., Fratti, M., et Monod, M. (2017).** Terbinafine Resistance of *Trichophyton* Clinical Isolates Caused by Specific Point

*Mutations in the Squalene Epoxidase Gene. Antimicrobial Agents And Chemotherapy*,  
<https://doi.org/10.1128/aac.00115-17>

- **Youcef-Ali, M. (2014).** *Étude de l'activité anti-Candida albicans des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides (Thèse de doctorat troisième cycle, Université Constantine 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Microbiologie, Algérie).*
- **Znaidi, S. (2009).** *Identification des réseaux transcriptionnels de résistance aux antifongiques chez Candida albicans (Thèse de doctorat, Université de Montréal, Institut de recherche en immunologie et oncologie, Faculté de médecine).*

# Annexes



**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.

**MUELLER – HINTON** 56137 - 63824 - 63901 - 64884 - 64888  
**MUELLER-HINTON + SANG DE MOUTON** 63825 - 63902  
**MUELLER-HINTON + SANG DE CHEVAL +  $\beta$ -NAD** 63524

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



**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  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$  et  $\text{ZnCl}_2$ .

En effet, il est reconnu que des variations dans les concentrations de cations  $\text{Mg}^{2+}$  et  $\text{Ca}^{2+}$  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<sup>(3, 4, 5, 6)</sup>.

De plus, la faible teneur en thymidine diminue les phénomènes de repousse autour des disques de triméthopime-sulfamides et de triméthopime 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  $\beta$ -NAD prêt à l'emploi :
  - coffret de 20 boîtes de Petri rondes (90 mm) (MHF) code 63524

**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.<sup>(1, 2)</sup>.

Peptones	3,0
Hydrolysate de caséine	17,5
Agar	15
$\text{Ca}^{2+}$	20 - 25 mg/L
$\text{Mg}^{2+}$	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)	
$\beta$ -NAD (pour le milieu MHF)	20 mg/L

$\beta$ -NAD : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

\* formule adaptée pour assurer les meilleures performances du milieu.

**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°C ± 1°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°C
- Milieu prêt à l'emploi (à répartir) : à +2-25°C
- Milieu au sang prêt à l'emploi : 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.

## 6- UTILISATION

**Matériel :**

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

Matériel spécifique non fourni :

- Témoign 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 <sup>(7,8)</sup>, CA-SFM <sup>(9)</sup>, EUCAST <sup>(10,11,12)</sup>. 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°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.

## 8- PERFORMANCES / CONTROLE QUALITE DU TEST

- Aspect du milieu Mueller-Hinton prêt à l'emploi : gélose limpide à opalescente, **ambrée**.
- Aspect du milieu Mueller-Hinton déshydraté : poudre **beige**.
- Aspect du milieu Mueller-Hinton + sang prêt à l'emploi : **gélose rouge**.

Les performances culturales du milieu Mueller Hinton avec ou sans addition de sang de mouton ou de cheval sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

SOUCHES	RÉSULTAT DE LA CULTURE EN 24 H à 37°C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 / CIP 7624	Culture correcte
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 / CIP76110	Culture correcte
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 / CIP 7625	Culture correcte
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Culture correcte
<i>Haemophilus influenzae</i> NCTC 8468 / CIP 54.94	Culture correcte

Le contrôle de la composition du milieu MH s'effectue à l'aide des souches et des disques suivants (liste non exhaustive):

SOUCHES	ANTIBIOGRAMME
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 / CIP 7624 - Amikacine 30 µg - Ampicilline 10 µg - Tetracycline 30 µg	Diamètres d'inhibition conformes aux normes en vigueur (CLSI et/ou CA-SFM) <sup>(8,9)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 / CIP 7625 - Amikacine 30 µg - Cefalotine 30 µg - Tetracycline 30 µg	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 / CIP 76110 - Amikacine 30 µg - Cefotaxime 30 µg - Ciprofloxacine 5 µg	

Le contrôle de la composition du milieu MHB s'effectue à l'aide des souches et des disques suivants (liste non exhaustive) :

SOUCHES	ANTIBIOGRAMME
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 - Erythromycine 15 µg - Penicilline 10 UI - Tetracycline 30 µg	Diamètres d'inhibition conformes aux normes CLSI en vigueur <sup>(8)</sup> .
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 / CIP 76110 - Amikacine 30 µg - Cefotaxime 30 µg - Ciprofloxacine 5 µg	

Le contrôle de la composition du milieu MHF s'effectue à l'aide des souches et des disques suivants (liste non exhaustive) :

SOUCHES	ANTIBIOGRAMME
<i>Haemophilus influenzae</i> NCTC 8468 / CIP 54.94 - Ampicilline 2 µg - Cefaclor 30 µg - Tetracycline 30 µg	Diamètres d'inhibition conformes aux normes EUCAST en vigueur <sup>(12)</sup> .
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 - Erythromycine 15 µg - Norfloxacine 10 µg - Rifampin 5 µg - Tetracycline 30 µg	

### 9-CONTRÔLE QUALITÉ DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

## 10- LIMITES D'UTILISATION

Il est indispensable de procéder à partir de cultures pures et fraîches sous peine de faux résultats.

Certaines bactéries peuvent ne pas se développer sur le milieu MH du fait de leurs exigences nutritionnelles. Il est alors recommandé d'utiliser un milieu approprié : HTM pour *Haemophilus*, Mueller-Hinton additionné de 5% de sang de mouton pour *Streptococcus pneumoniae* et les streptocoques  $\beta$  hémolytiques, GC agar pour *Neisseria gonorrhoeae*. Ces recommandations sont bien décrites dans les différents référentiels CLSI, CA-SFM ou EUCAST.

Un certain nombre de facteurs peuvent affecter les résultats (taille de l'inoculum, durée et atmosphère d'incubation ...). Il est donc impératif de respecter le protocole décrit dans la procédure en vigueur (CLSI, CASFM, EUCAST...).

Le milieu Mueller-Hinton au sang frais n'est pas recommandé pour tester la sensibilité de *S. pneumoniae* au cotrimoxazole <sup>(7)</sup>.

## 11- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1981. Technical report series 673 (Révision 1981). W.H.O., Geneva – p156-192.
- 2- World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1992. Technical report series 822. W.H.O., Geneva.
- 3- Casillas, E., Kenny, M.A., Minshew B.H., Schoenknecht, F. 1981. Effect of ionized calcium and soluble magnesium on the predictability of the performance of Mueller-Hinton agar susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* with Gentamicin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 10:987-992.
- 4- Murray, P.R., Tenover J. C. 1983. Evaluation of Mueller-Hinton agar for disk diffusion susceptibility tests. *J. Clin. Microbiol.* 18: 1269-1271
- 5- D'Amato, R.F., Thomsberry C., Baker C.N., Kirven, L.A. 1976. Effect of calcium and magnesium ions on the susceptibility of *Pseudomonas* species to Tetracycline, Gentamicin Polymyxin B, and Carbenicillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 7: 596-600.
- 6- D'Amato, R.F., Thomsberry C. 1979. Calcium and Magnesium in Mueller-Hinton agar and their influence on disk diffusion susceptibility results. *Current Microbiol.* 2:135-138
- 7- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa.
- 8- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. CLSI document M100-S19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20th informational supplement, Wayne, Pa.
- 9- Comité de l'antibiogramme. 2010. French Society of Microbiology.
- 10- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2009. Media preparation for disc diffusion testing V1.0.
- 11- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2009. EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method summary - V1.0.
- 12- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2010. EUCAST QC Tables V1.1.



Bio-Rad  
3, boulevard Raymond Poincaré  
92430 Marnes-la-Coquette France  
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00  
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



06/2010



## 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](http://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 <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH	204 g/l
CH <sub>2</sub> CH(OH)COOH	247 g/l
CH <sub>2</sub> (OH)CH(OH)CH <sub>2</sub> (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 72-3440  
[www.microscopy-products.com](http://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.  
2149 Winston Park, Dr. Oakville, Ontario, L6H 5J8  
Phone: +1 800-368-1400



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة عبد الحميد بن باديس-مستغانم-  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

تصريح شرفي خاص بالالتزام بقواعد النزاهة العلمية  
لإنجاز البحث

أنا الممضي أدناه،  
الطالب(ة): *ببوعيسى عنزال*...*فتيمة*..... رقم التسجيل  
الجامعي:.....*2020.37.03.46.40*.....  
الحامل لبطاقة التعريف الوطنية رقم:.....*1185.6.7.777*..... والصادرة بتاريخ:  
.....*2020.07.20*.....  
عن...*ماسة*...*صستنا*...  
المسجل ب علوم الطبيعة و الحياة / قسم *البيولوجيا*.....  
شعبة *ميكروبيولوجيا*..... / التخصص *ميكروبيولوجيا تطبيقية*.....

والمكلف بإنجاز مذكرة ماستر بعنوان:  
.....*Etude de la composition chimique et du potentiel*.....  
.....*antioxydant et anti-fongique des huiles essentielles de*.....  
.....*Laurus nobilis L.*.....

أصرح بشرفي أنني ألتزم بمراعاة المعايير العلمية والمنهجية ومعايير الأخلاقيات العلمية و  
النزاهة الأكاديمية المطلوبة في إنجاز البحث ، وأتحمل المسؤولية الشخصية عن كل المحتوى  
المتضمن في البحث المذكور أعلاه .

التاريخ: ..*2020.06.30*.....

إمضاء المعني



\* ملحق القرار الوزاري رقم 933 المؤرخ في 28 جويلية 2016 الذي يحدد القواعد المتعلقة بالوقاية من السرقة العلمية ومكافحتها.

