

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département de Biologie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de
MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par : M^{lle} BAHAZ SARA & M^{lle} BEN AISSA KAOUTAR

Thème

**Evaluation de l'activité antifongique des extraits de feuilles
d'olivier contre les agents de mycoses**

Soutenu publiquement le 10 Juin 2024, devant le jury composé de :

M. IDER S.	Maître de Conférences "B"	Univ-Ghardaïa	Président
M. BAKELLI A.	Maître de Conférences "B"	Univ-Ghardaïa	Examineur
M. MAHAMEDI A. E.	Maître de Conférences "B"	Univ-Ghardaïa	Promoteur
M ^{me} BAALI F.	Maître de Conférences "B"	Univ-Ghardaïa	Co-promoteur

Année universitaire : 2023–2024

DEDICACE

" وما توفيقي إلا بالله عليه توكلت وإليه أنيب "

Alhmadou li Allah qui m'a accordé le succès pour achever mon parcours académique, m'a donné la santé, la patience, le courage, la détermination et la persévérance.

À l'âme pure de ma mère, qui m'a quittée alors que j'étais petite, chère à mon cœur et raison de mon existence, que Dieu ait pitié de toi et me réunisse avec toi au paradis.

À mon précieux père, qui m'a inculqué le sens de la persévérance tout au long de mes études par son dévouement, ses conseils et ses encouragements. Que Dieu tout-puissant te préserve en santé, bonheur et longévité.

À ma deuxième mère, qui m'a inspiré et a été mon premier soutien et appui pour poursuivre mon parcours académique et gravir les échelons du succès, je t'adresse tout mon amour et ma gratitude. Je prie Allah le Tout-Puissant de te protéger, de te préserver en bonne santé et de t'accorder le bien-être.

À mes chères sœurs Asmaa, Hadjer, et Habiba, à qui je porte tout mon amour et ma gratitude, merci pour votre soutien et vos encouragements même dans les moments les plus sombres.

À mes chères nièces Nesrine et Widad et mon adorable neveu Mansif, vous êtes ma joie et la lumière de ma vie.

À ma copine Kaoutar, nous avons passé des moments merveilleux ensemble. Tu as travaillé avec diligence et dévouement pour accomplir ce travail. Je te souhaite succès et réussite dans ta vie.

À mes merveilleuses amies Ilham et Zineb, vous avez été les meilleurs soutiens et aide pour moi dans les moments difficiles. Mes mots ne suffisent pas pour vous remercier. Que Dieu vous préserve pour moi et vous guide dans vos vies.

À toute ma famille, mes enseignants, mes amies et tous ceux qui sont chers à mon cœur, je dédie humblement ce travail.

... Sara

DEDICACE

Grâce à Dieu, qui m'a conduit dans ce voyage, je le remercie

*Avant tout J'ai consacré ce travail, qui exprime ma profonde gratitude
et mon amour pour ma chère mère, qui m'aidait avec son soutien, qui m'a
accompagnée tout au long de ma vie.*

*Avec tout cela, je ne pourrai pas exprimer ce que tu as fait pour moi,
quoi que j'écrive. Je demande à Dieu de vous protéger et de vous donner
la santé et une longue vie, et de vous rendre heureuse*

*Et à mon cher père, merci pour le soutien et l'amour que vous m'avez
apporté, et je n'oublierais jamais vos prières pour moi, ces dernières
m'ont accompagnée tout Au cours de ma carrière.*

*Je prie à Dieu de vous protéger et de vous donner du bonheur et une
longue vie.*

... Kaoutar.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Allah le tout-puissant pour sa guidance et sa merci qui nous ont permis de compléter ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre honorable Directeur de mémoire M. MAHAMED A. E., maître de conférences à l'université de Ghardaïa, pour son soutien, ses conseils avisés et sa patience tout au long de la réalisation de ce travail. Nous lui sommes très reconnaissantes et lui exprimons toute notre appréciation.

Nous remercions sincèrement notre co-directrice de ce mémoire M^{me} BAALI F., maître de conférences à l'université de Ghardaïa, pour son soutien, son encouragement et son aide précieuse qui nous a permis de mener à bien notre travail. Merci infiniment chère Professeure.

Nos sincères remerciements sont également exprimés aux membres de jury ; M. IDER S., maître de conférences à l'université de Ghardaïa d'avoir accepté de présider le jury d'évaluation et M. BAKELLI A., maître de conférences à l'université de Ghardaïa d'avoir aimablement accepté d'examiner le travail.

Nous exprimons notre gratitude et notre appréciation à tous nos chers professeurs de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa pour toutes les connaissances, conseils et orientations qu'ils nous ont apportés tout au long de nos études universitaires. Nous n'oublions pas l'aide précieuse du personnel administratif. Merci pour tous vos efforts déployés.

Nous adressons nos plus sincères remerciements et notre profonde gratitude aux responsables et techniciens des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa.

Nous remercions les équipes des laboratoires d'analyses médicales *Essalam* et *Al Waha* pour avoir offert l'opportunité et mobilisé leurs ressources pour nous permettre de mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre sincère gratitude à M. BOUSSADA Slimane et à M. OULAD HADJOU Ishak, propriétaires des vergers d'oliviers, pour l'accueil et l'opportunité qu'ils nous ont donnée afin de procéder aux prélèvements d'échantillons.

Nous sommes reconnaissantes envers toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Merci !

RESUME

En Algérie, l'olivier (*Olea europea* L.) est considéré comme l'une des plantes médicinales les plus utilisées dans les traitements traditionnels contre de nombreuses maladies, entres autres, les mycoses. L'objectif de cette étude est d'évaluer les propriétés antifongiques des extraits de deux variétés de feuilles d'olivier (*Chemlal* et *Sigoise*) récoltées dans deux régions différentes de la wilaya de Ghardaïa. La macération au méthanol-eau suivie d'une évaporation rotative a révélé un rendement considérable pour l'extrait de la variété *Chemlal* atteignant 27,77%. L'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux des extraits a montré que la variété *Sigoise* a une teneur en polyphénols plus élevée que la variété *Chemlal* avec 117,64 µg EAG/mg EX. Les concentrations en flavonoïdes sont presque égales pour les deux variétés. L'activité antifongique a été déterminée sur les souches fongiques (*Candida albicans* 307, *C. albicans* 384 et *C. albicans* ATCC 10231) selon la méthode de diffusion sur puits. D'après les résultats obtenus, l'extrait des deux variétés inhibe la croissance des souches fongiques testées. Le test de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale fongicide (CMF) montre que la souche *C. albicans* 384 est la plus résistante. La composition des extraits en composés bioactifs (polyphénols et flavonoïdes) pourrait expliquer leur activité significative contre les infections fongiques.

Mots clés : *Olea europea* L., mycoses, polyphénols, flavonoïdes, *Candida albicans*, activité antifongique.

ABSTRACT

In Algeria, olive tree (*Olea europea*. L) is considered one of the most widely used medicinal plants in traditional treatments against various diseases, particularly fungal infections. The objective of this study is to evaluate the antifungal properties of extracts from two varieties of olive leaves (*Chemlal* and *Sigoise*) harvested in two different regions of the Ghardaïa province. Maceration with methanol-water followed by rotary evaporation revealed a considerable yield for the extract of the variety *Chemlal* reaching 27.77%. The quantitative analysis of total polyphenols and flavonoids in the extracts revealed that the variety *Sigoise* has higher polyphenol content than the *Chemlal* variety, reaching up to 117.64 µg EAG/mg EX, while the flavonoid concentrations are nearly equal. Antifungal activity was determined against three *Candida* strains (*Candida albicans* 307, *C. albicans* 384, and *C. albicans* ATCC 10231) using the well diffusion method. According to the results, the extracts from both varieties inhibit the growth of fungal strains. Determine of the minimal inhibitory concentration (MIC) and Minimum fungicidal concentration (MFC) shows that *C. albicans* 384 strain is the most resistant. The composition of the extracts in bioactive compounds (polyphenols and flavonoids) could explain their significant activity against fungal infections.

Keywords: *Olea europea* L., fungal infections, polyphenols, flavonoids, *Candida albicans*, antifungal activity.

ملخص

شجرة الزيتون (*Olea europea L.*) تُعتبر واحدة من أكثر النباتات الطبية استخدامًا في العلاجات التقليدية في الجزائر لأجل علاج العديد من الأمراض، بما في ذلك العدوى الفطرية بشكل خاص. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الخصائص المضادة للفطريات لمستخلصات صنفين من أوراق الزيتون (*Sigoise* و *Chemlal*) والتي تم أخذ عينات منها من منطقتين مختلفتين بولاية غرداية. باستخدام النقع كطريقة استخلاص باستخدام الميثانول بنسبة 80% ، تم تسجيل مردود أعلى عند المستخلص من الصنف *Chemlal* وصل إلى 27.77%. تم إجراء تحليل كمي للبوليفينولات والفلافونويدات الكلية المحتواة في المستخلصات، حيث تبين أن الصنف *Sigoise* يحتوي على نسبة أعلى من البوليفينولات وصلت إلى 117,64 µg EAG/mg مقارنة بالصنف *Chemlal*، بينما كانت تراكيز الفلافونويدات متقاربة. تم تقييم النشاط المضاد للفطريات على السلالات الفطرية (*Candida albicans* 307، *C. albicans* ATCC10231، *C. albicans* 384) باستعمال طريقة الانتشار في الأبار. وفقًا للنتائج المتحصل عليها، فإن مستخلصات كلا الصنفين قادرة على تثبيط نمو السلالات الفطرية. أظهر الاختبار الذي أُجري لتحديد التركيز الأدنى المثبط (CMI) و التركيز الأدنى القاتل للفطريات (CMF) أن السلالة *C. albicans* 384 هي الأكثر مقاومة بين السلالات الثلاث. يمكن أن يعزى النشاط البيولوجي المسجل ضد الالتهابات الفطرية إلى احتواء المستخلصات على مركبات ذات نشاطية بيولوجية هامة كالبوليفينولات والفلافونويدات.

الكلمات المفتاحية: *Olea europea L.* ، عدوى فطرية ، البوليفينولات ، الفلافونويدات ، *Candida albicans* ، الخاصية المضادة للفطريات.

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I. Rendement d'extraction hydrométhanolique par macération des deux variétés des feuilles d'olivier.	12
Tableau II. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance fongique par les extraits des deux variétés d'olivier et le fluconazole.	15
Tableau III. Récapitulation des résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) de l'extrait de la variété <i>Chemlal</i>	16
Tableau IV. Récapitulation des résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) de l'extrait de la variété <i>Sigoise</i>	17

INDEX DES FIGURES

Figure 1. Carte de la wilaya de Ghardaïa présente la localisation géographique des régions d'échantillonnage.	7
Figure 2. Les étapes du processus d'extraction par macération	8
Figure 3. Courbe d'Etalonnage d'acide gallique	13
Figure 4. Dosage des polyphénols totaux contenus dans les feuilles des deux variétés d'olivier (<i>Chemlal</i> et <i>Sigoise</i>).	13
Figure 5. Courbe d'étalonnage de la quercétine	14
Figure 6. Dosage des flavonoïdes totaux contenus dans les feuilles des deux variétés d'olivier (<i>Chemlal</i> et <i>Sigoise</i>).	14

LISTE DES ABREVIATIONS

°C : degré Celsius

µg : microgramme

µl : microlitre

ANOVA : Analyses de variance

ATCC : Collection de Culture de Type

Américain (*American Type Culture*

Collection)

CdA : Cliché de l'Auteur

CMF : Concentration Minimale

Fongicide

CMI : Concentration Minimale

Inhibitrice

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EAG : Equivalent d'Acide Gallique

EQ : Equivalent de la Quercétine

Ex : Extrait

GN : Gélose Nutritive

h : heur

km² : kilomètre carré

mg : milligramme

MH : Mueller-Hinton

ml : Millilitre

ml : millilitre

mm : millimètre

nm : nanomètre

PDA : Gélose dextrosée à la pomme de terre (*Potato Dextrose Agar*)

SD : écart-type (*Standard Deviation*)

UFC : Unité Formant Colonie

TABLE DES MATIERES

DEDICACES.....	i
REMERCIEMENTS.....	iii
RESUME.....	iv
ABSTRACT.....	v
ملخص.....	vi
INDEX DES TABLEAUX	vii
INDEX DES FIGURES	viii
LISTE DES ABREVIATIONS	ix
TABLE DES MATIERES	ii
INTRODUCTION	1
MATERIEL & METHODES	6
1. Présentation de la région d'étude	6
2. Matériel végétal.....	6
3. Extraction par macération	7
4. Rendement d'extraction	7
5. Etude phytochimique	8
5.1. Dosage des polyphénols totaux	8
5.2. Dosage des flavonoïdes totaux	9
6. Evaluation de l'activité antifongique	9
6.1. Souches fongiques	9
6.2. Test de diffusion sur puits d'agar	9
6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)	10
7. Analyses statistiques	11
RESULTATS	12
1. Rendement d'extraction	12
2. Etude phytochimique	12
2.1 Dosage des polyphénols	12
2.2 Dosage des flavonoïdes	14
3. Evaluation de l'activité antifongique	15
4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Fongicide (CMF)	16
4.1 Variété <i>Chemlal</i>	16
4.2 Variété <i>Sigoise</i>	16

DISCUSSION	18
CONCLUSION	22
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	24
ANNEXES	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis des milliers d'années, les plantes médicinales ont occupé une place particulière dans la prévention et le traitement des maladies humaines (Himour *et al.*, **2016**). Les gens de plus en plus s'orientent vers l'usage des traitements naturels à base de plante en raison du coût élevé et de l'inaccessibilité des médicaments importés (Haddouchi *et al.*, **2014** ; Khafallah et Bouguerba, **2021**). Les plantes sont connues par leur richesse en molécules aux caractéristiques thérapeutiques, ce qui explique leur utilisation traditionnelle très large. Elles comprennent une large gamme de composés tels les polyphénols, les alcaloïdes et les flavonoïdes, dont ils peuvent avoir diverses activités biologiques comme les activités anti-inflammatoire, antioxydant et cicatrisante (Haddouchi *et al.*, **2014** ; Khafallah et Bouguerba, **2021**).

Entre autres, l'olivier (la famille des *Oleaceae*), prend une place très particulière parmi les arbres cultivés dans le bassin méditerranéen depuis au moins 3500 ans. Son nom scientifique, *Olea*, provient d'un terme grec antique signifiant "huile" (Loussert *et al.*, **1978**). L'olivier est un arbre à branches tortueuses mesurant entre 3 et 10 mètres de haut. Ses feuilles ovales et allongées sont persistantes et opposées sur des tiges portant des fruits en forme de drupes ovoïdes riches en lipides. La floraison se produit entre mai et juillet, et les fruits sont largement exploités par l'industrie agroalimentaire (Boulssen et Bouraoui, **2016**).

Les oliviers se distinguent par leur besoin intense en lumière et en air, étant toujours plantés dans un sol aéré. De plus, ils sont des plantes à longue durée de vie, atteignant jusqu'à 500 ans, et croissent très lentement dans les régions tempérées et arides en raison de leur capacité à s'adapter à différentes conditions climatiques (Akroun et Harani, **2011** ; Benguendouz, **2019**).

Au niveau mondial, la superficie des oliveraies était de 10,6 millions d'hectares en 2019. L'Espagne et la Tunisie possèdent respectivement 2,6 millions et 1,6 million d'hectares d'oliveraies (Bouadma et Fertane, **2021**). D'autres données statistiques rapportent que les oliveraies du bassin méditerranéen représentent 95% des oliveraies présentes dans le monde. Cette grande variation de ces pourcentages est due aux conditions climatiques, géographiques, et à la qualité des sols (Benziadi et Senisna, **2022**). La culture de l'olivier se concentre dans les régions tempérées situées entre la latitude 30° nord et 45° sud, où les précipitations annuelles se situent entre 350 et 400 mm et où les températures estivales atteignent jusqu'à 40 °C (Bousliba et Bouabid, **2020**).

En Algérie, comme dans la plupart des pays du bassin méditerranéen, l'olivier joue un rôle économique, social et environnemental très important. Environ 350 000 hectares d'oliveraies en Algérie représentent plus de 50 % du patrimoine arboricole national (environ 23 millions d'arbres). Les oliviers sont cultivés dans les zones côtières du pays de 8 à 100 kilomètres de la mer, et dans les plaines occidentales du pays et dans les vallées. En outre, on trouve des oliveraies dans d'autres régions comme les montagnes et les collines, avec une superficie totale d'environ 195 000 hectares (Abdessemed, **2017** ; Bousliba et Bouabid, **2020**).

Quatre principales variétés d'olivier sont présentes en Algérie (Boulssen et Bouraoui, **2016**). Parmi lesquelles, on trouve la variété *Chemlal* qui représente 40% des terres agricoles nationales (principalement en Kabylie). Elle se caractérise par une sortie rustique et tardive et un fruit léger et allongé. Ce dernier est conçu pour la production d'huile, avec un rendement d'huile de 18 % à 22 %. De même, la variété *Sigoise*, appelée aussi l'olive de Tlemcen ou l'olive de Tell, se considère comme une variété prédominante de la zone s'étendant de Oued Rhiou (wilaya de Relizane) jusqu'à la wilaya Tlemcen. Elle est renommée pour sa robustesse, ses fruits de poids moyen et de forme ovale. Ses fruits sont hautement prisés dans l'industrie de la mise en conserve en raison de son rendement satisfaisant en huile, oscillant entre 18% et 22%. Quant à la variété *Azzeradj*, elle est retrouvée principalement dans les régions de la Petite Kabylie (Oued Soummam), où l'oléiculture représente 10% de la superficie de l'oléicole nationale. L'olivier cv. *Azzeradj* présente une forte résistance à la sécheresse, avec un fruit de poids élevé et de forme allongée. Ce dernier est utilisé pour la fabrication d'huile et d'olive de table, avec un rendement en huile variant de 24 % à 28 %. Par ailleurs, la variété *Limli* originaire de la région de Sidi-Aïche (Béjaïa), occupe 8% du verger oléicole national. Elle se situe principalement sur les pentes montagneuses de la vallée de la Soummam jusqu'au littoral. Elle est précoce et peu résistante au froid, mais tolère la sécheresse. Ses fruits de poids moyen et forme ronde sont utilisés pour la production des olives de table et de l'huile avec un rendement de 16% à 20%.

L'Algérie a exploité les caractéristiques bioclimatiques de l'olivier, ce qui lui a permis de mettre en œuvre un programme national de développement de l'agriculture intensive dans les zones désertiques et semi-désertiques dans le but d'augmenter la production et de réduire les importations. Par conséquent, les surfaces agricoles dédiées à l'olivier ont augmenté, avec plus de 70% des oliviers plantés dans la wilaya de Ghardaïa. Cela a conduit à une augmentation significative de la production d'olives et de ses dérivés au cours des années 2004 à 2020 (Benamrane et Benkhelifa, **2023**).

L'adaptation étendue des arbres d'olivier garantit la production de composés secondaires, notamment les polyphénols et les flavonoïdes, qui diffèrent en termes de structure et de quantité, offrant ainsi à l'homme la possibilité de les utiliser dans divers domaines. Des recherches et des études ont démontré que ces composés ont une efficacité avérée dans la lutte contre le cancer, tout en présentant des propriétés anti oxydantes et antimicrobiennes (Zentout, **2022**).

Historiquement, les feuilles d'olivier sont considérées comme l'un des remèdes les plus importants, ayant été utilisées par les anciens Égyptiens pour traiter les maladies tropicales telles que le paludisme, ainsi que comme antipyrétique. Elles étaient également utilisées dans le processus de momification des pharaons (Ghanbari *et al.*, **2012**). Les études montrent que les extraits de feuilles d'olivier ont une capacité considérable à lutter contre le vieillissement, les maladies cardiaques et le cancer. Cela est dû au fait que les polyphénols présents dans les feuilles d'olivier se distinguent par leur capacité à neutraliser les radicaux libres (Baghdad et Bal, **2016**), et présentent un comportement synergique lorsqu'ils sont associés, ce qui se produit naturellement dans les feuilles d'olivier et donc dans leurs extraits (Znifeche, **2019**). Cette caractéristique renforce leurs bienfaits pour la santé et en faisant un excellent choix pour maintenir la santé et prévenir les maladies.

D'une autre part, plusieurs études ont été menées ces dernières années sur l'effet des extraits de feuilles d'olivier sur les micro-organismes tels que les bactéries, les virus et même les champignons. Les résultats de ces études ont montré que les feuilles d'olivier ont une capacité notable à éliminer ces organismes (Khafallah et Bouguerba, **2021**). Les phénols dégradent la membrane externe des bactéries en dénaturent les protéines, ce qui permet l'explosion et la mort de la cellule bactérienne (Mumcu, **2023**). En plus, Les feuilles d'olivier ont la capacité de traiter les infections virales causées par de nombreux types de virus, notamment virus rippe, herpès, virus pseudorabies (Saif, **2014**). De plus, d'autres travaux ont montré que les extraits des feuilles d'olivier ont un effet antifongique sur une large gamme des souches fongiques telles que *Candida albicans* et *C. glabrata*, qui sont les pathogènes responsables de plusieurs types des maladies parmi eux les mycoses (Esfandiary *et al.*, **2024**).

Les micromycètes sont les agents très connus par leur responsabilité dans les infections fongiques (les mycoses). Elles peuvent se développer à la surface de la peau et des muqueuses, ou bien en profondeur de manière systémique (Darfaoui, **2019**). À l'heure actuelle, le nombre d'espèces de champignons associés aux mycoses a dépassé le seuil des

400 (Aoufi, **2005**), ce qui a entraîné une augmentation de la diversité des maladies fongiques et de leur gravité. L'université de Pittsburgh a réalisé une étude statistique sur le taux de mortalité des infections fongiques entre 1989 et 1992. L'enquête a été menée sur 834 patients ayant reçu une greffe du foie, avec des résultats concluants que 65% des patients étaient infectés par *Candida*, 16 % par *Aspergillus* et 16 % par *Cryptococcus* (Fung, **2002**).

Différents types de mycoses sont distingués en fonction de l'agent pathogène impliqué et des tissus infectés. Les candidoses, par exemple, sont des infections fongiques répandues à travers le monde, causées par des levures appartenant au genre *Candida*. Ces levures peuvent provoquer des infections superficielles affectant la peau, les phanères (les ongles, les poils et les cheveux...etc.), ainsi que les muqueuses digestives et urogénitales. Elles peuvent également entraîner des infections fongiques profondes, affectant divers organes tels que le foie, la rate, les reins, les os et les articulations (Nekkache *et al.*, **2015**). Un autre type de mycose, la dermatophytose, est causé par les champignons filamenteux qui ont une affinité à la kératine. Ils présentent également un thalle cloisonné. En général, ces champignons provoquent des affections cutanées (Fedda et Ameziane, **2022**). Ainsi, les malassezioses ou pityrospores sont des infections superficielles à *Malassezia* caractérisée par leur fréquence de récurrence. Ces affections sont causées par des levures lipophiles et kératinophiles, qui sont présentes dans les tissus cutanés. Cette espèce se transforme en parasite après avoir été exposées à certains éléments (Ouar *et al.*, **2021**). L'autre type de mycose qui est enregistré dans la liste des infections fongiques et est répertorié parmi les maladies répandues dans le monde est bien l'aspergillose. Ce sont des maladies cosmopolites, principalement pulmonaires, causées par la croissance de champignons filamenteux du genre *Aspergillus*. Dans la nature, ces champignons sont abondants et se développent en saprophyte. Ils sont responsables de maladies opportunistes, souvent fatales (Desoubeaux et Chandener, **2010**).

Bien que de nombreuses études menées ces dernières années indiquent que les polyphénols sont les principaux antimicrobiens dans les feuilles d'olivier, le nombre de travaux publiés concernant l'activité antifongique contre les agents de mycoses reste limité (Djenane *et al.*, **2012**). De même, des recettes traditionnelles à base de feuilles d'olivier sont largement utilisées pour traiter de nombreuses maladies et problèmes de santé. Elles sont traditionnellement préparées en les faisant tremper ou bouillir dans de l'eau, et leurs extraits sont utilisés pour éliminer les infections qui affectent la bouche et le vagin. Ces pratiques à base d'extraits de feuilles d'olivier nous ont incités à valoriser les recettes utilisées et à tester expérimentalement l'effet de ces extraits sur certains types de champignons pathogènes. Dans

ce contexte, le but de ce travail est de mettre en évidence l'effet de l'activité antifongique des extraits de feuilles d'olivier des deux variétés *Chemlal* et *Sigoise* les plus répandues dans la région de Ghardaïa sur des agents pathogènes causaux de mycoses. Le travail vise à déterminer les rendements des deux variétés avec une quantification des composés phénoliques et flavonoïdes contenus dans les feuilles. Ensuite, le pouvoir antifongique des extraits est évalué contre différentes souches de *Candida albicans*. Une dernière partie inclut la détermination de la concentration minimale inhibitrice et fongicide.

Nous avons réparti notre manuscrit en quatre chapitres, en utilisant la méthodologie IMRaD. Dans la première partie, nous abordons une perspective générale sur l'olivier et les mycoses, en mettant l'accent sur les utilisations traditionnelles des extraits de feuilles d'olivier dans le traitement de diverses affections, y compris les infections fongiques. Les techniques et les équipements de laboratoire utilisés dans les expérimentations sont détaillés dans la section Matériel et méthodes. Ensuite, nous présentons nos résultats dans la partie Résultats et exposons leur analyse et leur interprétation dans la section Discussion. Une conclusion et des perspectives pour les études ultérieures sont incluses dans notre manuscrit.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL & METHODES

Ce chapitre se divise en deux parties, la première concerne les études phytochimiques, tandis que la seconde se concentre sur l'étude de l'activité antifongique des extraits des feuilles d'olivier. Toutes les expérimentations ont été réalisées au niveau des laboratoires du département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Ghardaïa.

1. Présentation de la région d'étude

La wilaya de Ghardaïa est située à environ de 600 km au sud d'Alger, dans la partie centrale du nord du Sahara algérien, elle se trouve à une latitude de 32° 30' Nord et à une longitude de 3° 45' Est (D.P.A.T., 2011). Elle se caractérise par un climat saharien avec une grande variation de température entre le jour et la nuit, ainsi qu'entre l'été et l'hiver. La moyenne annuelle des précipitations s'élève à 74 mm sur une période de 32 ans (O.M.M., 2007).

2. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de l'olivier (*Olea europaea* L.). Des quantités suffisantes de feuilles des deux variétés *Chemlal* et *Sigoise*, ont été récoltées à partir de quelques arbres d'olivier durant le mois de Février 2024 dans deux régions différentes de la wilaya de Ghardaïa. Les feuilles de la variété *Chemlal* ont été obtenues à partir de la région de Djawa à la commune d'El Atteuf, tandis que les feuilles de la variété *Sigoise* ont été récoltées d'Intissa à la commune de Bounoura. Toutes les feuilles ont été nettoyées à l'eau pour éliminer la poussière et les impuretés. Elles sont ensuite soumises à un séchage à l'air libre, à l'abri du soleil et de l'humidité et à une température ambiante, pendant dix jours. Enfin, elles ont été réduites en poudre à l'aide d'un moulin électrique avant le processus d'extraction.

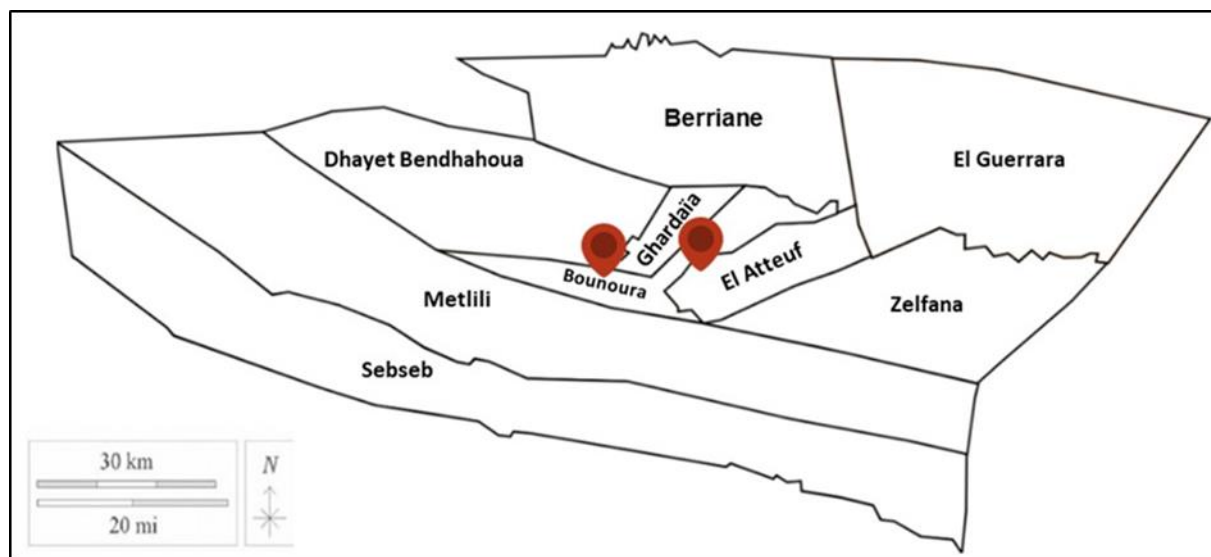


Figure 1. Carte de la wilaya de Ghardaïa présente la localisation géographique des régions d'échantillonnage.

3. Extraction par macération

L'extraction des composés phénoliques des feuilles d'olivier a été effectuée selon la méthode décrite par Kamil Hussain *et al.* (2019) avec des petites modifications. 20 g de la poudre des feuilles d'olivier ont été macéré dans 100 ml de méthanol 80% sous agitation douce dans le Shaker (Edmund Buhler GmbH, Allemagne) pendant 24h à température ambiante, ensuite le mélange a été filtré à l'aide de papier filtre, puis le méthanol a été évaporé à sec par un évaporateur rotatif (HEIDOLPH, Allemagne) à une température 40 °C. Les extraits ont été placés dans des boîtes de Pétri et séchés à l'étuve à 37 °C puis conservés au réfrigérateur à une température de 4 °C jusqu'à leurs utilisations ultérieurs.

4. Rendement d'extraction

Le rendement détermine le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la matière végétale sèche à raison de deux répétitions par échantillon. Cette valeur est exprimée en pourcentage (%) et calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = [(P1-P2) / P3] \times 100$$

P1 : Poids de la boîte après évaporation.

P2 : Poids de la boîte avant évaporation.

P3 : poids de la matière végétale de départ.

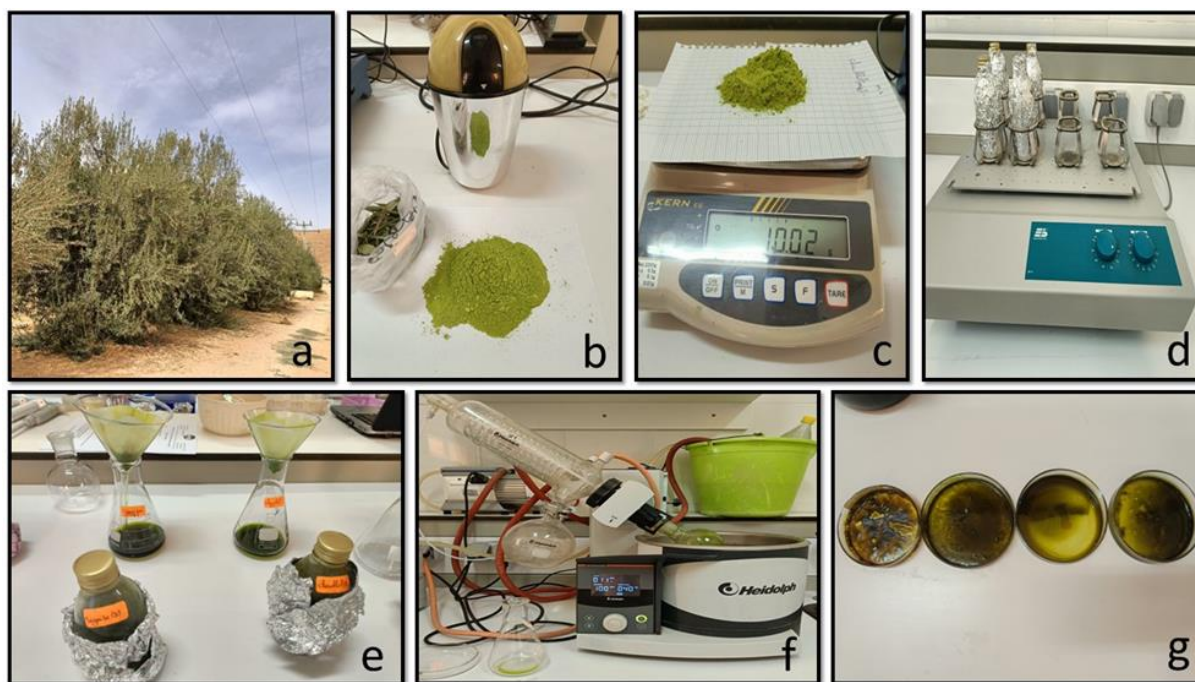


Figure 2. Les étapes du processus d'extraction par macération (CdA, 2024). a : échantillonnage ; b : broyage ; c : pesée ; d : macération ; e : filtration ; f : évaporation ; g : séchage.

5. Etude phytochimique

5.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux (TPT) des deux extraits est estimée selon la méthode de Folin-Ciocalteu suivant le protocole décrit par Li *et al.* (2007). Ce test implique l'utilisation d'un réactif composé d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque ce réactif entre en contact avec les polyphénols, il subit une réaction d'oxydation qui génère un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène, donnant ainsi une coloration bleue. Cette coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents, permettant ainsi de mesurer leur concentration dans les extraits (Taalbi, 2016). En effet, 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois a été ajouté à 200 μ l d'extrait ou standard avec des dilutions convenables. Après 4 min, 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% ont été additionnés au milieu réactionnel. Ensuite, ce mélange a été incubé pendant 2 heures à une température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 765 nm par rapport à un blanc de réaction ne contenant pas de polyphénols. La quantité totale de polyphénols a été déduite en utilisant l'équation de régression obtenue à partir d'une gamme d'étalonnage avec de l'acide gallique (0-100 μ g/ml) et est exprimée en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μ g EAG/mg d'Ex).

5.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par Djeridane *et al.* (2006) est utilisée pour déterminer la teneur des flavonoïdes totaux (TFC) dans les deux extraits. Les flavonoïdes possèdent un groupe hydroxyle (-OH) libre en position 5, qui est capable de former un complexe coloré avec le groupement -CO et le chlorure d'aluminium. L'apparition de la couleur jaune indique la formation de ce complexe. Cela résulte de la perte de deux électrons par le métal (Al) pour se lier à deux oxygènes de la molécule phénolique, qui agissent comme donneurs d'électrons (Ribéreau-Gayon, 1968). Cette absorption maximale, située à 420 nm, est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'échantillon (Salhaoui et Benabderrahmane, 2020).

Le protocole suivi pour déterminer la teneur en flavonoïdes dans les extraits de la plante consiste à ajouter un volume de 0,5 ml de chaque extrait ou standard (Quercétine) dilué dans le méthanol avec 1 ml de solution $AlCl_3$ (2% solubilisé dans le méthanol). Après l'incubation pendant 10 minutes à une température ambiante et à l'obscurité, les résultats lus en utilisant un spectrophotomètre (Secomam, France) à une longueur d'onde de 430 nm. La teneur en flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$) et est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EQ/mg d'Ex}$).

6. Evaluation de l'activité antifongique

6.1. Souches fongiques

Les souches testées sont des souches fongiques d'intérêt médicale, dont certaines sont des souches de référence *Candida albicans* ATCC 10231, et d'autres sont des souches sauvages prélevées et identifiées dans les laboratoires *Essalam* et *Al Waha* à la wilaya de Ghardaïa, *Candida albicans* (isolements à partir des prélèvements vaginales de deux femmes d'âges 31 et 45 ans).

6.2. Test de diffusion sur puits d'agar

Le principe de cette technique consiste à évaluer l'activité antifongique des extraits de deux variétés d'*Olea europea* L. en mesurant les zones d'inhibition de croissance des souches

autour de puits contenant l'extrait. Le test de diffusion sur puits d'agar a été réalisé selon la méthode de Bouyahya *et al.*, (2017) avec des quelques modifications (culture en masse).

Brièvement, pour chaque échantillon, 0,5 ml de la suspension levurienne ajustée selon le standard McFarland 0,5 pour avoir une charge microbienne de 10^6 UFC/ml. Cette dernière est préparée à partir d'une culture jeune sur le milieu PDA de 48h à 72h. La suspension obtenue est mélangée avec 50 ml du milieu de culture MH gélosé (culture en masse). Ce mélange est versé dans des boîtes de Pétri (n=2) contenant déjà une couche fine du milieu GN. Après solidification, des puits sont réalisés à l'aide d'un emporte-pièce de 6 mm de diamètre et remplis par un volume de 100 μ l de différentes concentrations (100 et 200 mg/ml) de chacun des extraits *Chemlal* et *Sigoise*. L'antibiotique fluconazole 50 mg/ml a été utilisé comme un contrôle positif et le DMSO comme un contrôle négatif.

La diffusion des divers composants de l'extrait dans le milieu gélosé est améliorée en préincubant les boîtes de Pétri à 4 °C pendant deux heures avant de passer à une incubation de 24 à 48h à 30 °C. L'activité antifongique des extraits se révèle par l'apparition de zones d'inhibition autour des puits.

6.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et fongicide (CMF)

Les déterminations de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et de la Concentration Minimale Fongicide (CMF) ont été réalisées selon les méthodes décrites par Yin et Tsao (1999), Sahin *et al.* (2003) et Rasooli et Abyaneh (2004) avec une petite adaptation apportée. L'extrait des feuilles des deux variétés ont été dilués avec le même solvant (DMSO) pour obtenir une série de dilutions comportant les concentrations 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 et 3200 μ g/ml. Ensuite, 0,5 ml de chaque solution ainsi préparée a été ajouté à des tubes à essai contenant 2,5 ml de bouillon MH. Des suspensions des souches levuriennes (0,5 ml), préparées à partir des cultures sur milieu MH de 24 h et ajustées à 0,5 McFarland, ont été ajoutées aux tubes contenant les extraits de feuilles d'olivier où le solvant utilisé comme témoin. Les tubes à essai ont ensuite été incubés à 30 °C pendant 48 h. La CMI des extraits testés a été définie comme la concentration la plus faible qui a empêchée l'apparition de croissance microbienne visible, c'est-à-dire celle qui n'a pas permis d'avoir une turbidité dans les tubes à essai. Quant à la CMF, elle a été établie en cultivant un volume de 0,2 ml à partir des tubes qui n'ont pas présenté de turbidité visible lors de l'analyse de la CMI, dans des boîtes de Pétri contenant la gélose de MH. Toutes les boîtes sont incubées à 30 °C

pendant 48 heures (Portillo *et al.*, 2005). L'expérimentation a été effectuée à raison de deux essais par échantillon. La CMF a été définie comme la concentration la plus faible qui inhibe complètement la croissance des souches fongiques sur le milieu gélosé.

7. Analyses statistiques

Les résultats de l'étude exprimés sous forme de moyenne \pm SD, ont été analysés à l'aide du logiciel GraphPad Prism 7. Les différences ont été considérées statistiquement significatives pour $p < 0,05$ dont l'ensemble des analyses statistiques en utilisant le test ANOVA à un seul facteur combiné au test *post-hoc* de la différence significative minimale (LSD) de Fisher.

RESULTATS

RESULTATS

1. Rendement d'extraction

Afin d'extraire les principaux composés contenus dans les feuilles de l'olivier, la méthode d'extraction par macération a été employée avec l'usage du méthanol à 80%. Les rendements en composés phénoliques obtenus sont 27.77% et 24.4% pour les deux extraits méthanoliques obtenu à partir des variétés *Chemlal* et *Sigoise*, respectivement. Les résultats montrant le rendement d'extraction sont récapitulés dans le tableau I.

Tableau I. Rendement d'extraction hydrométhanolique par macération des deux variétés des feuilles d'olivier.

Extrait	Rendement (%)
Ex cv. <i>Chemlal</i>	27,77 ±0.18 ^a
Ex cv. <i>Sigoise</i>	24,4±1.13 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 2).

2. Etude phytochimique

2.1 Dosage des polyphénols

La méthode de Folin-Ciocalteau a été utilisée pour mesurer le taux de polyphénols dans les extraits hydrométhanoliques des deux variétés. Une équation de régression linéaire ($y=ax+b$) a été utilisée pour calculer la quantité de composés phénoliques dans les deux extraits, en se basant sur une courbe établie avec de l'acide gallique à différentes concentrations (Fig. 3). Les données sont exprimées en microgrammes d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EGA} / \text{mg Ex}$).

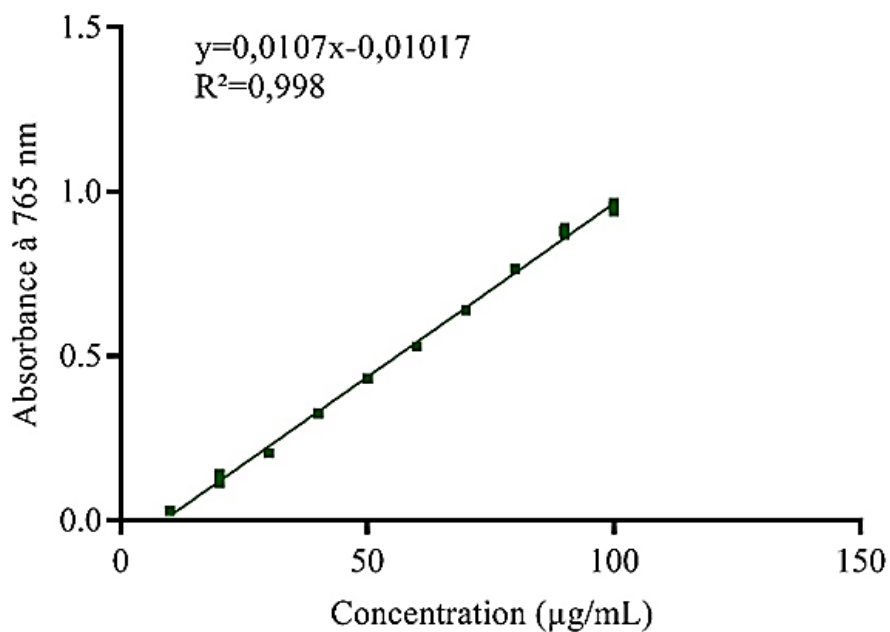


Figure 3. Courbe d'Etalonnage d'acide gallique. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

L'analyse phytochimique quantitative effectuée par la méthode colorimétrique a révélé les concentrations de polyphénols de 104,80 μg EAG/mg d'extrait pour la variété *Chemlal* et 117,64 μg EAG/mg d'extrait pour la variété *Sigoise* (Fig. 4).

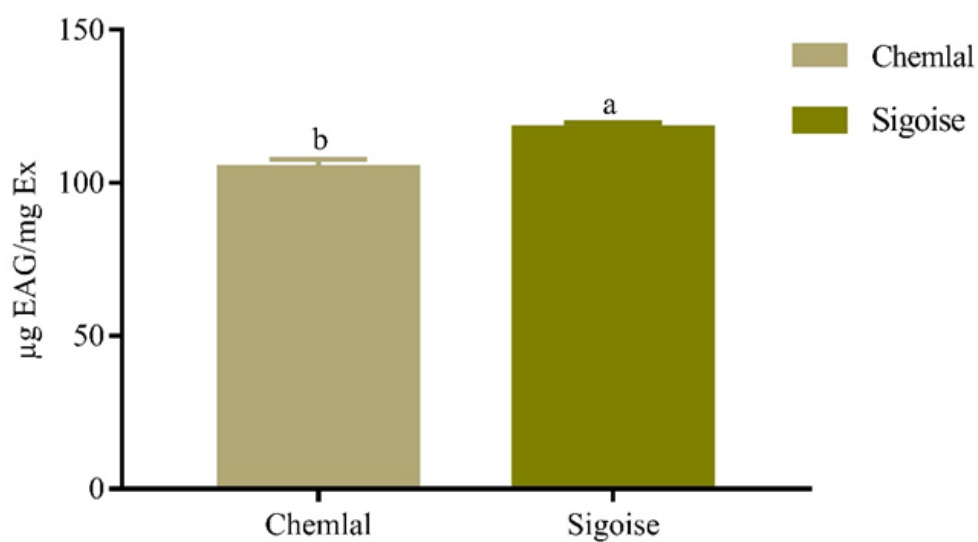


Figure 4. Dosage des polyphénols totaux contenus dans les feuilles des deux variétés d'olivier (*Chemlal* et *Sigoise*).

2.2 Dosage des flavonoïdes

La concentration des flavonoïdes a été calculée en fonction de la formation de complexes entre les composés phénoliques et le trichlorure d'aluminium. Ainsi, une équation de régression linéaire ($y=ax+b$) a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage effectuée avec de la quercétine à diverses concentrations (Fig. 5). Les extraits contenant des flavonoïdes sont mesurés en microgrammes de quercétine par milligramme d'extrait.

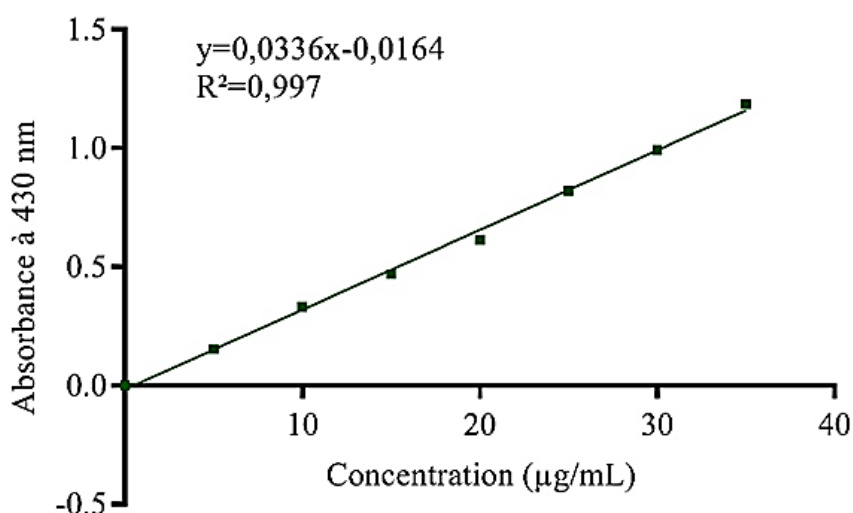


Figure 5. Courbe d'étalonnage de la quercétine. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n=3).

Les résultats de dosages des tenures en flavonoïdes chez les deux variétés *chemlal* et *sigoise* motionné que 21,68 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait (variété *Chemlal*) et 21,02 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait (variété *Sigoise* ; fig. 6).

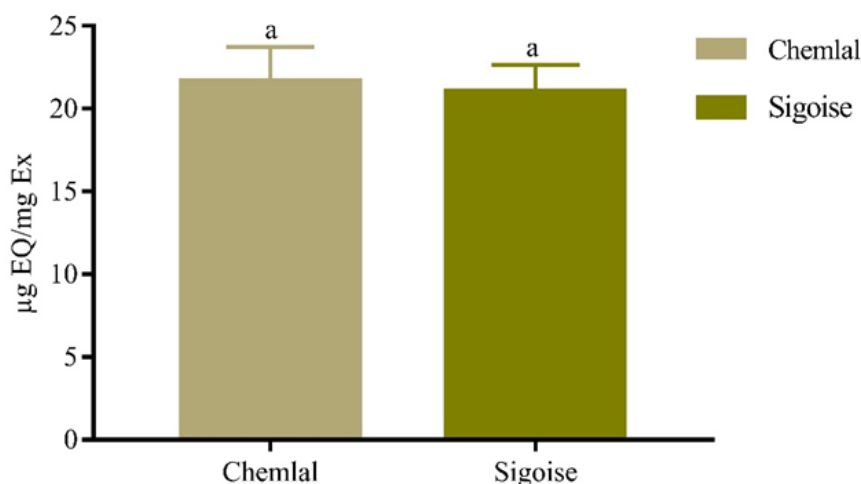


Figure 6. Dosage des flavonoïdes totaux contenus dans les feuilles des deux variétés d'olivier (*Chemlal* et *Sigoise*).

3. Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique des extraits des feuilles d'olivier a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur puit d'agar dans le milieu MH gélosé. Cette méthode qualitative permet de mesurer le diamètre des zones d'inhibition en millimètres (mm) formées autour des puits avec différentes concentrations des extraits de chaque variété de la plante (100 ; 200 mg/ml). Ces zones d'inhibition indiquent l'efficacité des extraits de la plante vis-à-vis les souches testées. Les résultats obtenus fournissent des informations précieuses sur la capacité des extraits à inhiber la croissance levurienne.

Les zones d'inhibition les plus importantes ont été observées chez la variété *Chemlal* avec des diamètres d'inhibition entre 20 et 25 mm aux concentrations de 100 et 200 mg/ml contre *C. albicans* ATCC 10231. Des valeurs moyennes entre 9,5 et 11 mm ont été enregistrées chez les deux souches *C. albicans* 307 et *C. albicans* 384. Cependant, les valeurs minimales d'inhibition ont été révélés par l'extrait de la variété *Sigoise* contre les souches de *C. albicans* testées (7,0, 7,5, 8 mm). L'antibiotique utilisé en tant que contrôle positif a montré des zones d'inhibition entre 37 et 50 mm de diamètre (Tableau II). Le test statistique d'ANOVA et le test de Fisher ont pu montrer des différences significatives entre les différents extraits et les diverses souches ($F = 26.808$; $P = < 0.0001$; Tableau II).

La souche *C. albicans* ATCC 10231 semble significativement différentes par rapport aux souches sauvages *C. albicans* 307 et *C. albicans* 384, dont les extraits ont été plus efficaces en inhibant sa croissance par rapport aux autres souches testées (Tableau II).

Tableau II. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance fongique par les extraits des deux variétés d'olivier et le fluconazole. Le diamètre des puits est de 6 mm.

Souche	Zone d'inhibition (mm)				
	Variété <i>Chemlal</i>		Variété <i>Sigoise</i>		Antibiotique Fluconazole
	[C] ^o 100 (mg/ml)	[C] ^o 200 (mg/ml)	[C] ^o 100 (mg/ml)	[C] ^o 200 (mg/ml)	[C] ^o 50 (mg/ml)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	20 ± 0,0 ^{cd}	25 ± 0,0 ^a	17 ± 0,0 ^b	18 ± 0,0 ^b	50 ± 0,0
<i>C. albicans</i> 307	10 ± 2,83 ^{cd}	11 ± 1,41 ^c	7,0 ± 1,41 ^d	7,5 ± 2,12 ^d	40 ± 0,0
<i>C. albicans</i> 384	9,5 ± 0,71 ^{cd}	11 ± 0,0 ^{cd}	7,0 ± 1,41 ^d	8,0 ± 0,0 ^b	37 ± 0,0

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 2). La même lettre devant la moyenne et l'écart type indique une différence non significative selon le test LSD de Fisher avec $\alpha = 0.05$.

4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et la Concentration Minimale Fongicide (CMF)

Cette étude a été réalisé par la préparation d'une gamme de concentration d'extraite de 25 à 3200 µg/ml. La CMI des extraits de test était la concentration minimale d'extraits qui ne provoquait aucune turbidité dans les tubes à essai. On a défini la CMF comme la concentration la plus basse qui empêche totalement la croissance de la levure (Khafallah *et al.*, 2021).

Les résultats de la CMI et la CMF des deux extraits *Chemlal* et *Sigoise* sont présentés dans les tableaux III et IV.

4.1 Variété *Chemlal*

Le tableau III montre que la CMI de l'extraite *chemlal* de la souche *C. albicans* ATCC 10231 est constatée autour de 25 µg/ml, tandis que la souche 307 est de 50 µg/ml. Quant à la souche 384, sa CMI est de 100 µg/ml. La CMF de l'extraite de la variété *Chemlal* est de l'ordre de 50, 400, 200, µg/ml pour les souches *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* 307, et *C. albicans* 348, respectivement (Tableau III).

Tableau III. Récapitulation des résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) de l'extrait de la variété *Chemlal*.

Souche	CMI (µg/ml)	CMF (µg/ml)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	25	50
<i>C. albicans</i> 307	50	400
<i>C. albicans</i> 384	100	200

4.2 Variété *Sigoise*

Le tableau montre que la CMI de l'extrait de la variété *Sigoise* est de 25 µg/ml pour la souche *C. albicans* ATCC 10231 et de 200 µg/ml pour la souche 307, tandis que la CMI de la souche 384 est de 400 µg/ml. En ce qui concerne la CMF de l'extrait de *Sigoise*, elle est de la même concentration entre les souches 307 et 384, soit 1600 µg/ml, tandis que pour la souche *C. albicans* ATCC 10231, elle est de 400 µg/ml (Tableau IV).

Tableau IV. Récapitulation des résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF) de l'extrait de la variété *Sigoise*.

Souche	CMI (µg/ml)	CMF (µg/ml)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	25	400
<i>C. albicans</i> 307	200	1600
<i>C. albicans</i> 384	400	1600

DISCUSSION

DISCUSSION

Dans le but d'évaluer l'impact et l'efficacité des extraits de feuilles de deux variétés d'oliviers (*chemlal* et *sigoise*) récoltées dans la région de Ghardaïa sur l'inhibition de l'activité des champignons pathogènes, et de déterminer la valeur de rendement de l'extraction ainsi que leur contenu en composés phénoliques et flavonoïdes, cette étude a été conduite en utilisant des méthodes et techniques empiriques documentées pour vérifier nos hypothèses et obtenir des résultats pertinents.

L'extraction hydro-méthanolique par macération des principaux composés bioactifs contenus dans les feuilles de l'olivier a révélé des rendements compris 27,77% et 24,4% avec une variabilité parmi les variétés au profit la variété *Chemlal* (tableau I). Ce résultat va dans le même sens avec celui d'Addab *et al.*, (2020), où il a rapporté des rendements d'extraction éthanolique par macération de 27.91% et 25.28% à partir d'échantillons de la même partie de la plante obtenus de l'ordre respectif en Mila et Biskra (Algérie). Selon une étude d'Arab *et al.*, (2013), sur les extraits méthanoliques de l'olivier remporté par macération, des quantités significatives de polyphénols ont été extraites à partir des feuilles de la plante récoltées dans la région de Tizi Ouzou (Algérie). Les rendements ont été de l'ordre de 38,74% pour l'olivier sauvage et de 35,72% pour l'olivier cultivé. D'après l'étude menée par Madani (2017) sur la plante *Olea europaea* L., trois méthodes d'extraction ont été employées : la décoction, l'infusion et la macération. Les rendements d'extraction obtenus ont été respectivement de 20,4%, 19,08%, et 16,04%. Dans une autre étude réalisée par Chelgui et Rai (2022) sur la même plante et dans la même zone d'échantillonnage, des valeurs de rendements proches de celles obtenues dans notre étude ont été trouvées (26,08%). Les études ont montré que l'augmentation du rendement d'extraction lors de la macération de la poudre de feuilles d'olivier dans le méthanol suggère une meilleure solubilité des molécules actives de l'*Olea europaea* L. dans ce solvant par rapport aux autres. Cette observation pourrait être attribuée à la présence de composés bioactifs très polaires dans les feuilles de l'olivier (Chelgui et Rai, 2022). Des résultats similaires ont été rapportés dans d'autres études, où il a été constaté que les hauts rendements sont couramment obtenus avec l'éthanol et le méthanol mélangés à l'eau (Santos *et al.*, 2012 ; Touaibia *et al.*, 2014).

Les résultats des tests phytochimiques quantitatifs de dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes (Fig. 4 et 6), ont révélés que les feuilles d'olivier renferment des quantités considérables de composés phénoliques et flavonoïdes, avec des proportions variables.

L'étude statistique et comparative entre les deux extraits des variétés de l'olivier a exposé que la variété *Sigoise* présente une teneur plus élevée en polyphénols, tandis que la variété *Chemlal* en contient une quantité moindre (Fig. 4), alors qu'aucune différence significative dans la quantité de composés flavonoïdes n'a été révélée entre les deux extraits (Fig. 6). Selon une étude récente conduit par Chedjara *et al.* (2020) sur les mêmes variétés de feuilles d'olivier récoltées dans la région de Tiaret (Algérie), en ce qui concerne les composés phénoliques, des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude ont été trouvés. Il a été démontré que les contenus en composés phénoliques de l'extrait de la variété *Sigoise* (119,06 mg EAG/g Ex) étaient supérieurs à ceux de l'extrait de la variété *Chemlal* (102,775 mg EAG/g Ex). Cependant, les teneurs en composés flavonoïdes dans les extraits des mêmes échantillons étudiés, des résultats supérieurs à ceux remportés dans nos échantillons testés. À une autre recherche supplémentaire menée par Addab *et al.* (2022) a démontré que les niveaux de composés bioactifs dans d'autres échantillons de feuilles d'olivier provenant d'autres régions d'Algérie (Batna, Mila, Skikda et Biskra) étaient supérieurs à ceux relevés dans notre étude.

Après avoir examiné les résultats de notre étude phytochimique ainsi que ceux d'études antérieures sur la même plante, plusieurs facteurs peuvent expliquer les disparités observées. Parmi ceux-ci figurent le choix du solvant, le pH, la température et la durée d'extraction, ainsi que la composition de l'échantillon. De plus, des éléments tels que le moment et le lieu de la récolte peuvent également influencer le rendement de l'extraction et la concentration des composés bioactifs (Madani, 2017). La variation dans la quantité de polyphénols entre les extraits est tributaire de divers facteurs, tels que la variété de l'olivier, les conditions climatiques, le moment de la récolte des feuilles, l'âge des plantations et la qualité des échantillons. En outre, la méthode de préparation des feuilles d'olivier (déshydratation et broyage) ainsi que les techniques d'analyse des composés phénoliques jouent un rôle important dans cette différence (Aouidi, 2012 cité par Ourak et Benbrahim, 2019).

L'évaluation du pouvoir antifongique des extraits de feuilles d'olivier a été menée par l'usage de la méthode de diffusion sur puit d'agar dans un milieu MH gélosé. Les résultats présentés montrent que les extraits des variétés *Chemlal* et *Sigoise* ont montré une capacité à réduire la croissance des souches de *C. albicans*. Cela pourrait être dû grâce à la présence considérable des composés phénoliques. Cette remarque est concordée avec des travaux

menés par Khlif *et al.* (2015), où ils ont rapporté que les extraits des feuilles d'olivier ont démontré des effets inhibiteurs prometteurs sur *C. albicans* grâce à l'action antimicrobienne des composés phénoliques. A partir de ces résultats, nous pouvons constater que les extraits de feuilles d'olivier ont la capacité d'atténuer ou de traiter les symptômes de mycoses causées par *C. albicans* (buccales, vaginales...). Cette activité pourrait être due au mode d'action des composés phénoliques qui ont la capacité de modifier la configuration de la structure des protéines, induisant ainsi la libération de composants cytoplasmiques comme les protéines et les ions minéraux (Khlif *et al.*, 2015). Une autre étude réalisée par Markin *et al.*, (2003), montre que les cellules de *C. albicans* traitées par une quantité d'extrait de feuilles d'olivier présentent des modifications morphologiques significatives par rapport aux cellules témoins (non traitées). Les cellules traitées étaient modifiées après une incubation de 24 h. L'activité antifongique présente dans les extraits de feuilles d'olivier dépend précisément du mode d'action des composés phénoliques sur les cellules fongiques.

Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale fongicide (CMF), une série de dilutions des extraits a été faite à partir de 25 µg/ml à 3200 µg/ml. Les résultats obtenus mentionnent que la souche de *C. albicans* 384 est la souche la plus résistante, elle est deux fois plus résistante que la souche *C. albicans* 307 pour les deux extraits des variétés *Chemlal* et *Sigoise*. Nos résultats s'accordent avec la déduction de Korukluoglu *et al.* (2006), qui a constaté que le facteur souche et la source d'isolement peuvent influencer sur la résistance antifongique, ainsi que les composants actifs des extraits des feuilles. La différence entre des souches appartenant à la même espèce dans leur réponse aux composés antifongique pourrait être due à plusieurs facteurs tels la niche écologique à partir de laquelle la souche a été isolée et les effets de la composition et la régulation génétiques caractérisant chacune des souches.

À travers les résultats précédents, nous suggérons que la variété *Chemlal* montre une activité antifongique plus forte que celle de la variété *Sigoise*, et que cette différence est probablement due aux différences dans les composés chimiques entre les deux variétés dues à plusieurs facteurs, dont le climat et la qualité du sol. Djenane *et al.* (2012), dans leur étude rapportaient qu'il soit possible d'observer des disparités de compositions chimiques entre les divers extraits de feuilles d'olivier. Les variations de composition sont principalement causées par les variations climatiques, pédologiques et agronomiques dont les oliviers sont issus. Ces éléments ont un impact sur les processus de biosynthèse de la plante, et par conséquent, sur la

proportion relative des composés principaux caractéristiques. Ceci aboutit à la présence de chémotypes variés qui représentent les extraits provenant de diverses origines (Djenane *et al.*, **2012**). Les conditions environnementales influencent considérablement le type et la proportion des composés bioactifs présents dans les extraits de feuilles d'olivier. On peut noter que l'extrait de la variété *Sigoise* contienne plus de composés phénoliques que celui de la variété *Chemlal*, dont ce dernier a montré plus d'efficacité en exerçant son effet antifongique. Cela nous conduit à suggérer que cette efficacité pourrait être due à la nature des composés phénoliques présents dans l'extrait de *Chemlal* plutôt qu'à leur quantité.

Notre étude a pu démontrer la présence d'un potentiel antifongique considérable dont les extraits de feuilles d'olivier peuvent contenir. Cela pourrait être exploité par les industries alimentaire et pharmacologique en tant qu'agents antifongiques administrés sous forme de médicaments ou additifs naturels. Korukluoglu (**2008**) affirme qu'il est possible de considérer les extraits de feuilles d'olivier comme des sources potentielles d'agents antifongiques pour l'industrie alimentaire et pharmacologique, avec un impact sensoriel minime. Notre travail a également mis la lumière sur cet héritage médical algérien très riche en termes de recettes médicinales traditionnelles à base de plantes. Le travail pourrait également ouvrir une piste prometteuse qui va servir à bien exploiter les ressources naturelles dans le traitement des pathogènes responsables de nombreuses mycoses touchant l'homme.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les plantes médicinales occupent une place prépondérante dans l'histoire de la médecine et continuent d'être d'une importance capitale dans la recherche pharmaceutique moderne, entre autres, l'olivier (*Olea europaea* L.). Pour les Algériens, l'olivier est considéré comme un arbre béni ayant une valeur sociale et économique depuis l'Antiquité. Ses feuilles ont été utilisées pour traiter de nombreuses maladies et problèmes de santé. Elles sont traditionnellement préparées en les faisant tremper ou bouillir dans de l'eau, et leurs extraits sont utilisés pour éliminer les infections qui affectent la bouche et le vagin. Dans le but de valoriser cet héritage médical et d'évaluer l'efficacité de ces recettes à travers des expériences pratiques, cette étude a mis en lumière l'efficacité des extraits hydrométhanoliques des deux variétés de l'olivier existant en Algérie *Chemlal* et *Sigoise* dans la lutte contre *Candida albicans*, une levure pathogène responsable de nombreuses infections chez l'homme tel que les infections buccale et vaginale.

Les résultats obtenus démontrent que les extraits des feuilles de ces variétés d'olivier possèdent des propriétés antifongiques significatives en particulièrement la variété *Chemlal*. Les composés phénoliques présents dans ces extraits, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, ont montré une activité remarquable contre *C. albicans*, inhibant sa croissance voir exerçant un effet fongicide. Cela ouvre ainsi la voie à des alternatives naturelles et potentiellement moins toxiques aux traitements antifongiques chimiques.

Les implications de cette recherche sont vastes, suggérant que l'olivier pourrait jouer un rôle clé dans le développement de nouveaux traitements pour les infections fongiques, particulièrement celles causées par *C. albicans*, qui pose un défi majeur en raison de l'augmentation des résistances aux antifongiques classiques. En intégrant les extraits d'olivier dans les protocoles de traitement, on pourrait améliorer l'efficacité thérapeutique tout en minimisant les risques pour les patients.

Indifféremment, l'olivier ne se contente pas d'être un symbole de paix et de prospérité, mais se révèle également être un allié précieux dans notre lutte contre les infections fongiques. Son potentiel thérapeutique, soutenu par des preuves scientifiques croissantes, contribue à améliorer la santé humaine de manière durable et respectueuse de l'environnement.

L'Algérie en tant que pays qui possède de vastes superficies d'oliviers de diverses variétés, pourrait, par conséquent, avoir une richesse importante en composés bioactifs. Les

produits dérivés de leurs feuilles peuvent être utilisés pour préparer de nombreux produits pharmaceutiques et parapharmaceutiques, offrant ainsi des alternatives naturelles aux antifongiques chimiques, souvent associés à des effets secondaires et à des coûts élevés. Cela contribue à renforcer la sécurité sanitaire et à améliorer le niveau économique du pays.

D'après les résultats prometteurs obtenus dans cette étude, cela ne représente qu'une courte étape dans le domaine de la recherche sur l'efficacité des plantes médicinales, en particulier concernant l'olivier. Cela nous amène à proposer quelques perspectives pour compléter ce que nous n'avons pas pu accomplir, en l'occurrence :

- Tester l'efficacité de ces extraits sur d'autres types de micro-organismes (champignons, bactéries, parasites, ...).
- Élargir le champ de l'étude en faisant des tests pour d'autres types d'extraits et de variétés.
- Identifier les types de composés bioactifs contenus dans les feuilles de l'olivier en utilisant des techniques plus précises et à l'échelle moléculaire, afin de déterminer la relation entre la structure et l'activité, ainsi que le mode d'action de ces molécules sur les microorganismes.
- Déterminer les concentrations autorisées pour la consommation en une seule dose et évaluer la toxicité de ces extraits étudiés sur l'organisme (étude *in vivo* sur un modèle biologique).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdessemed, S. (2017). Contribution à la caractérisation et à l'identification des écotypes d'olivier *Olea europaea. L* dans la région des Aurès. Thèse de Doctorat. Université de Batna 2, Batna. 106p.

Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A., & Mahloul, K. (2020). Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien. Comparative evaluation of antioxidant activity of ethanolic extracts from leaves of *Olea europaea* L. from Eastern Algeria. *Journal de la faculté de médecine d'Oran*, 4(2).

Akroun, N. et Harrani, F. (2011). Contribution à l'amélioration de l'activité antibactérienne d'extrait de feuilles d'olivier par addition de la nisine, et leurs applications à la conservation de la viande hachée bovine. Mémoire d'ingénieur d'État. Université Mouloud-Mammeri Tizi-Ouzou, Algérie.

Aliabadi, M. A., Darsanaki, R. K., Rokhi, M. L., Nourbakhsh, M., & Raeisi, G. (2012). Antimicrobial activity of olive leaf aqueous extract. *Annals of Biological Research*, 3(8), 4189-4191.

Aoufi, H. (2005). Le profil épidémiologique et diagnostique des mycoses au CHU de Rabat (étude menée à partir des services de parasitologie 2001-2003). Thèse de doctorat. *Faculté de Médecine, Rabat*, 242.

Aouidi, A. (2012). Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea europeae* L. dans l'industrie agroalimentaire. Thèse de doctorat en génie biologique. Université de Carthage, Tunisie. 213p.

Arab, K., Bouchenak, O., & Yahiaoui, K. (2013). Évaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Science Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 9(3), 159-166.

Baghdad, N. & Bal, K. (2016). Etude phytochimique, évaluation des activités antioxydants hypoglycémiantes et antimicrobienne des feuilles d'*olea europea* var. *sylvestris* (olivier sauvage). Mémoire de Master. Université de Saad Dahleb- Bida, 80p.

Ben Semaoune, Y., Senoussi, A., & Faye, B. (2019). Typologie structurale des élevages camelins au Sahara septentrional Algérien-cas de la wilaya de Ghardaïa. *Livestock Research for Rural Development*, 31.

Benamrane, H. S. & Benkhelifa, N. (2023). Diversité et pathogénicité du mycobiote associé à l'olivier (*Olea europaea L.*) cultivé dans la région de Ghardaïa. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa, 64p.

Benguendouz, A. (2019). Caractérisation nutritionnelle, toxicologique et aptitudes Technologiques de « *Sardine pilchardus* » pêchée dans la côte Algérienne. M. Selsel et Attou Ghalem. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. 163p.

Benziadi, H. Senisna, N. (2022). Revue sur le Microbiote Associé à l'Olivier (*Olea europea L.*) en Algérie. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa. 118p.

Bouadma, D. et Fertane, K. (2021). Etude de quelques caractéristiques physiques et chimiques des sols de trois oliveraies de la wilaya de Tizi-Ouzou. Doctoral dissertation. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou.

Boulssen, B. Z., & Bouraoui, N. H. (2016). Etude sur la tuberculose de l'olivier ; isolement et identification présomptifs de quelques isolats bactériens à partir des tumeurs. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, Constantine. 54p.

Bousliba, A. & Bouabid, R. (2020). Effet d'extrait des feuilles d'olivier sur les bactéries pathogènes : Synthèse bibliographique. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945 Guelma, 56p.

Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017). Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379.

Chedjara, K., Aced, S. E., & Bouhaous, O. Y. (2020). Evaluation des activités biologiques des composés phénoliques issus des feuilles d'olivier (*Olea europea L.*). Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret. 50p.

Chelgui, D., & Rai, S. M. (2022). Étude du pouvoir antioxydant des différents extraits des feuilles d'*Olea europaea L.* de la région de Ghardaïa. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa. 70p.

Darfaoui, L. (2019). Les mycoses superficielles chez les patients suivis au service d'oncologie médicale de l'hôpital militaire Avicenne-Marrakech. Thèse de doctorat. *Marrakech: Université Kadi Ayyad.*

Desoubeaux, G., & Chandénier, J. (2010). Aspergillus et maladies aspergillaires. *Feuillets de Biologie, 51(293), 53-63.*

Djenane, D., Yangüela, J., Derriche, F., Bouarab, L., Roncales, P. (2012). Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde. *Nature & Technology, (7), 53.*

Djeridane, A., Yousfi, M., Brunel, J. M., & Stocker, P. (2006). Retracted: Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the *in vitro* antioxidant capacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food and Chemical Toxicology, 48 (2010) 2599–2606.*

DPAT (2011). Monographie de la wilaya de Ghardaïa. Direction de la planification et de l'aménagement du territoire (DPAT). Edition 2011. Ghardaïa. 123p.

Esfandiary, M. A., Khosravi, A. R., Asadi, S., Nikaein, D., Hassan, J., & Sharifzadeh, A. (2024). Antimicrobial and anti-biofilm properties of oleuropein against *Escherichia coli* and fluconazole-resistant isolates of *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *BMC microbiology, 24(1), 1-12.*

Fedda, N., & Ameziane, S. (2022). *Étude comparative de l'efficacité de cinq milieux spécifiques pour la culture de dermatophytes.* Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou. 35 p.

Fung, J. J. (2002). Fungal infection in liver transplantation. *Transplant infectious disease, 4.*

Ghanbari, R., Anwar, F., Alkharfy, K. M., Gilani, A. H., Saari, N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.) a review. *International journal of molecular sciences, 13(3), 3291-3340.*

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Ksouri, R., Medini, F., Sekkal, F. Z., Benmansour, A. (2014). Antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods of aqueous methanolic extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chinese journal of natural medicines, 12(6), 415-422.*

Himour S., Yahia, A., Belattar, H., & Bellebcir, L. (2016). Etude phytochimique des feuilles d'*Olea europaea* L. var *Chemlel* d'Algérie. *Journal of Bioresources Valorization*, 1(1), 34-38.

Hussain, K., Saquib, M., & Khan, K. M. (2019). Techniques for extraction, isolation, and standardization of bio-active compounds from medicinal plants. In: Natural Bioactive Compounds: Volume 2: *Chemistry, Pharmacology and Health Care Practices*, 179-200.

Khafallah, N., & Bouguerba, N. (2021). Activités antimicrobiennes des extraits des feuilles d'olivier. Mémoire de Master, Université Mohamed Khider, Biskra, 34p.

Khlif, I., Jellali, K., Michel, T., Halabalaki, M., Skaltsounis, A. L., & Allouche, N. (2015). Characteristics, phytochemical analysis and biological activities of extracts from Tunisian Chetoui *Olea europaea* Variety. *Journal of Chemistry*, vol (2015).

Korukluoglu, M., Sahan, Y., & Yigit, A. (2008). Antifungal properties of olive leaf extracts and their phenolic compounds. *Journal of food safety*, 28(1), 76-87.

Korukluoglu, M., Sahan, Y., Yigit, A., & Karakas, R. (2006). Antifungal activity of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts from the Trilye region of Turkey. *Annals of microbiology*, 56, 359-362.

Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3), 771-776.

Loussert, R., & Brousse, G. (1978). L'olivier : Techniques agricoles et production méditerranéennes. *Maisonneuve et Larose, Paris*, 460p.

Madani-Yousfi, M. (2017). Dosage des polyphénols et recherche d'activité antiradicalaire de feuilles d'olives. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen, Tlemcen, 28p.

Markin, D., Duek, L., & Berdicevsky, I. (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. Antimikrobielle Wirksamkeit von Olivenblättern in vitro. *Mycoses*, 46(3-4), 132-136.

Mumcu, A. (2023). Olive Leaf: Antimicrobial and Antioxidant Properties, Food Applications, and Current Studies. *Eurasian Journal of Food Science and Technology*, 7 (1), 23-43.

Nekkache, S., Achouri, S. & Reguig F. (2015). Les mycoses. Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine, Constantine. 89p.

OMM (2006). Intercomparaison OMM combinée d'abris météorologiques en jonction avec les instruments de mesure d'humidité. Ghardaïa–Algérie (2007-2008). Ed. O.M.M. (Organisation météorologique mondiale) 41p.

Ouar, N., Boumrah, Z., & Asseri, Y. (2021). Etude des Malassezioses superficielles au Centre Hospitalo. Universitaire de Tizi-Ouzou, Tizi Ouzou. 80 p.

Ourak, A., & Benbrahim, S. (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux obtenus par trois méthodes d'extraction à partir des feuilles d'*Olea europea* L. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider, Biskra. 34 p.

Portillo, A., Vila, R., Freixa, B., Ferro, E., Parella, T., Casanova, J., & Cañigüeral, S. (2005). Antifungal sesquiterpene from the root of *Vernonanthura tweedieana*. *Journal of ethnopharmacology*, 97(1), 49-52.

Rasooli, I., & Abyaneh, M. R. (2004). Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Food control*, 15(6), 479-483.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux : par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod.

Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., ... & Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*, 15(7), 549-557.

Saif, M. A. (2014). *Studies on the effect of olive leaf extract on a model of DNA or RNA viruses*. Thèse de doctorat, Université de Kafrelsheikh. Egypte.

Salhaoui, I., & Benabderrahmane, Z. (2020). Etude d'une plante médicinale : « *Amarilla sacaca* » criblage phytochimique, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et flavonols totaux. Mémoire de Master. Université Mohamed Khider, Biskra. 131p.

Santos, R. D., Shetty, K., Cecchini, A. L., & da Silva Miglioranza, L. H. (2012). Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in rosemary and oregano extracts and its use in cheese spread. *Semina Ciências Agrárias*, 33(2), 655-666.

Taalbi, A. (2016). Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l'ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université de Tlemcen, Tlemcen.

Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2014). Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt et Trab. (Myrtaceae). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 6(3), 407.

Yin, M. C., & Tsao, S. M. (1999). Inhibitory effect of seven *Allium* plants upon three *Aspergillus* species. *International journal of food microbiology*, 49(1-2), 49-56.

Zentout, A. (2022). Les activités biologiques d'une plante médicinale : *Olea europaea* L. Dissertation doctorale. Centre universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila. 82p.

Znifeche, A. (2019). Etude ethnopharmacologique des plantes antidiabétiques de la ville de Fès et évaluation de l'effet antidiabétique de l'extrait phénolique des feuilles d'*Olea europaea*. Mémoire de Master. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Fés. 54p.

ANNEXES

ANNEXES



GELOSE MUELLER-HINTON

PRINCIPE

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides. Sa formulation est conforme aux recommandations du CLSI, du CA-SFM ou de l'EUCAST.

Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria* et *Streptococcus pneumoniae*.

FORMULE

Ingrédients en grammes par litre d'eau purifiée

Peptone	17,50
Extrait de viande	2,00
Amidon	1,50
Agar	17,00

Ce milieu peut être ajusté et/ou supplémenté en fonction des critères de performances imposés

CONDITIONS DE CONSERVATION avant ouverture

Flacons : 2 - 8°C

Base déshydratée : 2 - 30°C

La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

PREPARATION**Pour le milieu déshydraté :**

1. Dissoudre 38 grammes dans 1 litre d'eau purifiée.
2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
3. Répartir en flacons.
4. Autoclaver 15 minutes à 121°C.

Pour le milieu en flacons :

1. Liquéfier le milieu à 100°C au bain-marie.
2. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-47°C.
3. Répartir immédiatement en boîtes de Petri et laisser solidifier sur une surface froide.

UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur.

Le protocole pour la standardisation de l'inoculum est décrit dans les différents protocoles émis par le CLSI, le CA-SFM ou l'EUCAST pour la méthode en diffusion et de dilution en gélose.

Ensemencer les cultures pures ou diluées, par inondation ou écouvillonnage, selon le protocole choisi. Appliquer les disques chargés d'antibiotiques à la surface du milieu.

Incuber selon les recommandations du protocole choisi, en général à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Mesurer le diamètre des zones d'inhibition et interpréter les valeurs obtenues selon les valeurs limites du protocole choisi.

CRITERES ATTENDUS

Aspect du milieu prêt à l'emploi : gélose ambrée

Physico-chimie : pH 7,3 ± 0,2 à 25°C

Activité microbiologique

Les souches de référence et les valeurs limites acceptables pour ces souches sont indiquées dans les différents protocoles.

Référence des souches	Inoculum requis	Durée et T° d'incubation	Résultat attendu
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 • WDCM 00013	N.A.	24-48 h à 35-37°C	Croissance
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 • WDCM 00034	N.A.	24-48 h à 35-37°C	Croissance

Exemple de tests de performances recommandés pour ce milieu

CONTROLE DE QUALITE

Les souches de référence et les valeurs limites acceptables pour ces souches sont indiquées dans les différents protocoles.

BIBLIOGRAPHIE

- Mueller J.H. and Hinton J. 1941. Protein-free medium for primary isolation of gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **48**:330-333.
- Ericsson and Sherris. 1971. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl. 217.
- O.M.S. 1977. Comité d'Experts sur la standardisation biologique - Rapport technique, série 610 OMS Genève.
- Courvalin, P., Goldstein, F., Philippon, A., et Sirot, J. 1985. L'Antibiogramme. MPC. Bruxelles.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. CLSI document M100-S19. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 20th informational supplement, Wayne, Pa.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa.
- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2009. Media preparation for disc diffusion testing V1.0.
- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2009. EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method summary - V1.0.
- European Committee on Antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). 2010. EUCAST QC Tables V1.1.
- Société Française de Microbiologie. 2011. Communiqué du Comité de l'Antibiogramme.

PRESENTATION

Code	Description
31290	10 flacons de 100 ml
80290	500 g

Autre présentation : nous consulter



GELOSE GLUCOSEE à l'EXTRAIT de POMME de TERRE

PRINCIPE

La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans denrées alimentaires ainsi que les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Extrait de pomme de terre	4,00
Glucose	20,00
Agar	15,00

pH final à 25°C : 5,6 ± 0,2

CONSERVATION

Flacons : 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Boîtes : 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

Milieu déshydraté : 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

PREPARATION

1. Mettre en suspension 39 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
2. Répartir en tubes ou flacons.
3. Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur. D'une façon générale, le protocole suivant peut être appliqué :

1. Bien homogénéiser et couler en boîtes de Pétri stériles.
2. Selon le protocole, transférer 0,1 ml du produit à tester ou de ses dilutions décimales à la surface de la gélose et étaler avec un étaleur stérile ou transférer 0,1 ml du produit à tester ou de ses dilutions décimales et ajouter dans les 15 minutes, dans chaque boîte, 15 ml de gélose liquéfiée à 45°C, mélanger soigneusement et laisser solidifier
3. Incuber 3 à 5 jours à 20-25°C. Ne pas retourner les boîtes pendant l'incubation pour éviter la dissémination des spores.
4. Compter les colonies sur les boîtes comportant de 10 à 100 colonies.

CONTROLE DE QUALITE

Suspension à 10-10² CFU/ml , incubation 2 à 5 jours à 20-25°C.

	Souche ATCC®	Croissance en 2 à 5 jours à 20-25°C
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Bonne à excellente, sporulation noire à 5 jours
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763	Bonne à excellente
<i>Candida albicans</i>	10231	Bonne à excellente

BIBLIOGRAPHIE

1. Pharmacopée Européenne. 2011. 7^{ème} édition § 2.6.13. Contrôle de la contamination microbienne dans les produits non obligatoirement stériles - Solution et milieux de culture recommandés. Conseil de l'Europe.
2. The United States Pharmacopeia (USP 33) – NF 28. 2011 <62>. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. United States Pharmacopeial Convention Inc. Rockville, MD. USA

Distribué par :

Z.A de Gesvrine – 4 rue Képler – B.P.4125
44241 La Chapelle-sur-Erdre Cedex – France
t. : +33 (0)2 40 93 53 53 | f. : +33 (0)2 40 93 41 00
commercial@humeau.com



3. ISO 8784-1. Juillet 2005. Pâte, papier et carton. Analyse microbienne. Partie 1: Dénombrement total des bactéries, levures et moisissures basé sur la désintégration.
4. ISO 11930. 2012. Cosmétiques. Microbiologie. Evaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique.
5. ISO 18416. 2009. Cosmétiques. Microbiologie. Détection de *Candida albicans*.

PRESENTATION

Code	Description
31330	10 flacons de 100 ml
10330	10 boîtes de 90 mm
80330	500 g
	Autre présentation : nous consulter

Distribué par :

Z.A de Gesvrine - 4 rue Képler - B.P.4125
44241 La Chapelle-sur-Erdre Cedex - France
t. : +33 (0)2 40 93 53 53 | f. : +33 (0)2 40 93 41 00
commercial@humeau.com





GELOSE NUTRITIVE à 2,8 % (ISO)

PRINCIPE

La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

FORMULE

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone	5,00
Extrait de viande de bœuf	3,00
Chlorure de sodium	5,00
Agar	15,00

pH final à 25°C : 7,3 ± 0,2

CONSERVATION

Le milieu en flacons et tubes se conserve entre 15 et 25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage. Le milieu en boîtes se conserve entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'emballage.

EQUIVALENCE

Ce milieu est conforme à la formulation de la Gélose Nutritive décrite dans les normes ISO 21528 1 et 2.

UTILISATION

Se conformer aux protocoles en vigueur.

CONTROLE DE QUALITE

Selon ISO 11133-1/2, inoculum : 10-10² CFU/ml (productivité), incubation : 30 ou 37°C pendant 24 heures

Souche de contrôle	Référence	Croissance en 24 heures à 37°C
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Bonne
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028	Bonne
		Croissance en 24 heures à 30°C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC® 9610	Bonne

BIBLIOGRAPHIE

- ISO 21528-1. 2004. Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 1 : recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec pré enrichissement.
- ISO 21528-2. 2004. Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des *Enterobacteriaceae* - Partie 2 : méthode par comptage des colonies.
- ISO/TS 11133-2. 2009. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture.

PRESENTATION

Code	Description
31305	10 flacons de 100 ml
33305	10 flacons de 200 ml
21305	100 tubes pente

Distribué par :

Z.A de Gesvrine - 4 rue Képler - B.P.4125
44241 La Chapelle-sur-Erdre Cedex - France
t. : +33 (0)2 40 93 53 53 | f. : +33 (0)2 40 93 41 00
commercial@humeau.com



10305	10 boîtes de 90 mm
12305	10 boîtes contact
80305	500 g
	Autre présentation : nous consulter

Distribué par :

Z.A de Gesvrine - 4 rue Képler - B.P.4125
44241 La Chapelle-sur-Erdre Cedex - France
t. : +33 (0)2 40 93 53 53 | f. : +33 (0)2 40 93 41 00
commercial@humeau.com

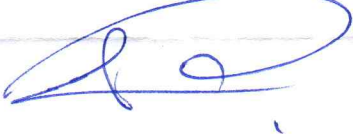





Ghardaïa le : 01/07/2024

Rapport : Correction du mémoire

Enseignant (e) (s) Chargé (e) de la correction :

Nom et prénom l'examineur 1 et Signature	Nom et prénom de l'examineur 2 et Signature	Nom et prénom du président de Jury et Signature
Bakelli Aissa 		IDER Saoufian 

Thème :

Evaluation de l'activité antifongique des extraits de feuilles d'olivier contre les agents de mycoses

Après les corrections apportées au mémoire, L (es) étudiant (s) (es) :

Bahaz Sara & Ben Aissa Kaoutar

Est (sont) autorisé (es) à déposer le manuscrit au niveau du département.

Président du Jury

IDER. Saoufian
