

*République Algérienne Démocratique Populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique*  
*Université Abderrahmane MIRA-Bejaia*

**Faculté de la Science de la Nature et de la Vie**  
**Département de Biologie Physico-Chimique**  
**Spécialité Pharmaco-toxicologie**



**Réf : .....**

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**Master**

**Thème**

*Effet anti-candidat " Candida albicans" sur quelques agents pathogènes humains des extraits de formules pharmacologiques à base des bourgeons de peuplier noir*

Présenté par :

**BAKIRI Kahina & AZOUZ El-kaissa**

Soutenu le : 30 Septembre 2021

Devant le jury composé de :

|                          |     |            |
|--------------------------|-----|------------|
| Mme KENDI-KARA S.        | MAA | Présidente |
| Mme CHERAFT – BAHLOUL N. | MCB | Promotrice |
| Mr BELKACEM N.           | MAA | Examineur  |

***Année universitaire : 2020/2021***

## **Remerciement**

*Pour commencer, parce qu'il existe toujours un début à tout, je tiens tout particulièrement à remercier Dieu, le créateur qui nous a créé et qui nous a distingué par la raison. Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail. Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude.*

*Ces remerciements vont tout d'abord à notre chère encadreur Mme **CHERAFT Nassima** Pour toute sa gentillesse, pour ces précieux conseils, son aide, ses suggestions durant la rédaction de ce mémoire ainsi que la confiance qui nous a confié tout au Long de cette étude.*

*Nos vifs remerciements pour les membres du jury Mr **BELKACEM. N** et Mme **KARA KENDI**. S pour avoir bien voulu examiner et juger ce modeste travail.*

*Nous tenons également par le présent travail à témoigner notre grande reconnaissance envers notre enseignante et chef de département Melle **AYOUNI.K** pour sa confiance, pour son aide at sa disponibilité, pour ses conseils tout au long de l'élaboration de ce modeste travail et pour sa grande générosité.*

*Nous voulons remercier aussi la doctorante **ATIA Amina** pour ses efforts, ses explications, et se conseils.*

*On a eu le plaisir d'effectuer notre travail dans laboratoire génétique la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université **ABDERRAHMANE MIRA** - Bejaïa sous la direction du Mr **ATMANI** et Mme **ATMANI.D**. A qui nous tenons à exprimer toutes nos reconnaissances.*

*On remercie l'ensemble du laboratoire pour leur convenabilisé et leurs disponibilités, les doctorant et ingénieur, sans oublie l'ensemble des enseignants ayant contribuer à notre formation durant notre cycle d'étude.*

*Enfin, nos remerciements sont adressés spécialement à nos famille, amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, tout au long de la réalisation de ce modiste travail.*

***Kahina & Kaïssa***

## *Dédicace*

*Je tiens avec grand plaisir que dédie ce modeste travail  
A les plus chère de ma vie mon père Mr **BAKIRI L'ahcen** et ma mère  
**BRAHIMI Louiza***

*Quoi que je fasse ou je dise je ne saurai point vous remercier comme il  
se doit, votre présence à mes côtés a toujours été ma source de vie,  
d'affection, de joie, d'espoir, de motivation et de courage.*

*A mes chères sœurs Houria Zahia et leurs familles.*

*A mes chères frères Sadi, Mouhend Sgher, Louhab et leurs familles*

*A mes neveux Moumouh, Axel, Ilyan, Anaïs, Ayoub, Adem, Iyad,  
Chérine*

*A mon chéri Ahemd de son encouragement et son amour, aussi son  
support durant la période de la réalisation de se mémoire.*

*A ma belle famille*

*J'adresse aussi mes chaleureux remerciements à tous les enseignants  
du département biologie physico-chimique qui ont veillé sur notre  
formation*

*Un grand merci est adressé à ma collègue AZOUZ El-kaïssa avec qui  
j'ai partagé toutes les étapes menant à la naissance de ce travail.*

*Ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier tous les  
membres de ma famille et mon amie AMGHAR Dalila pour leur  
soutien, encouragement et pour l'énergie positive qu'ils me  
transmettent toujours.*



*Kahina*

## *Dédicace*

*J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :*

*A Dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage et la volonté à réaliser ce travail*

*Ames très chers parents pour leur amour, leur soutien, leurs encouragements pour tout ce qu'ils m'ont apporté et les valeurs qu'ils m'ont enseignées. Je ne vous remercierai jamais assez. Que dieu vous procure bonheur, santé et longue vie. Que ce travail soit pour vous un motif de fierté et de satisfaction. Je vous aime énormément*

*Maman et Papa*

*A mes deux chères frères Farhat Walid*

*A ma chère et adorable sœur Besma*

*A tous les profs qui m'ont enseignée depuis le premier palier jusqu'à ce niveau particulièrement Mme CHÉRAFT., Mme AYOUNI., Sachez que vous êtes, pour moi, un exemple édifiant devant me servir de référence.*

*A ma meilleure amie et super binôme Kahina ainsi que sa famille.*

*A tous mes amies, A mon chère Houssem*

*Pour tous, je dis : si merci veut dire tout, alors merci pour tout.*

*Kaïssa*

## Listes des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 01</b> : Différentes morphologies de <i>C. albicans</i> .....   | 3  |
| <b>Figure 02</b> : Mécanismes de pathogénicité de <i>C. albicans</i> .....  | 4  |
| <b>Figure 03</b> : Cibles des principaux antifongiques.....   | 7  |
| <b>Figure 04</b> : Cible de quelques composés phénoliques.....  | 11 |
| <b>Figure 05</b> : Images de différentes parties du peuplier noir :(A) arbre entier (B) et (D) les bourgeons de <i>Populus nigra</i> .....  | 12 |
| <b>Figure 06</b> : Image de l'extrait aqueux (Eaq).....   | 21 |
| <b>Figure 07</b> : Image de l'extrait éthanolique.....  | 21 |
| <b>Figure 08</b> : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de <i>C. albicans</i> induites par l'extrait éthanolique et le lyophilisat de l'infusion après incubation de 48h..... | 22 |
| <b>Figure 09</b> : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de <i>C. albicans</i> induites par Fluconazole après 24h d'incubation.....  | 23 |
| <b>Figure 10</b> : Photographie des zones d'incubation de la croissance de <i>C. albicans</i> induits par fluconazole après 48h d'incubation.....   | 23 |
| <b>Figure 11</b> : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de <i>C. albicans</i> induites par l'acide caféique après 24h d'incubation.....                                       | 24 |
| <b>Figure 12</b> : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de <i>C. albicans</i> induites par l'acide caféique après 48h d'incubation.....                                       | 24 |
| <b>Figure 13</b> : Photographie des zones de croissance de <i>C. albicans</i> induite par la pommade de différentes concentrations (48,24,12,6,3) mg/ml après incubation de 48h.....          | 25 |
| <b>Figure 14</b> : Photographie des zones de croissance de <i>C. albicans</i> induite par l'excipient de différentes concentrations (48,24,12,6,3) mg/ml après incubation de 48h.....         | 25 |
| <b>Figure 15</b> : Photographie des zones de croissance de <i>C. albicans</i> induite par la cire d'abeille de différentes concentrations (48,24,12,6,3) mg/ml après incubation de 48h.....   | 26 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 16</b> : Photographie des zones de croissance de <i>C. albicans</i> induite par l'huile d'oléastre de différentes concentration (48,24,12,6,3) mg/ml après incubation de 24h.....  | 26 |
| <b>Figure 17</b> : Photographie des zones de croissance de <i>C. albicans</i> induite par l'huile essentiel de différentes concentration (48,24,12) mg/ml après incubation de 48h.....   | 27 |
| <b>Figure 18</b> : Photographie des microplaques de la micro-dilution de l'antifongique « fluconazole », extrait éthanolique, infusion et l'acide caféique après incubation 24h et après 48h.....  | 28 |
| <b>Figure 19</b> : Pourcentages de croissance de <i>C. albicans</i> en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, AC : acide caféique et fluconazole) après 24heures d'incubation.....  | 30 |
| <b>Figure 20</b> : Pourcentages d'inhibition de <i>C. albicans</i> en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, AC : acide caféique et fluconazole) après 24heures d'incubation.....   | 30 |
| <b>Figure 21</b> : Pourcentages de croissance de <i>C. albicans</i> en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, AC : acide caféique et fluconazole) après 48 heures d'incubation..... | 32 |
| <b>Figure 22</b> : Pourcentages d'inhibition de <i>C. albicans</i> en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, AC : acide caféique et fluconazole) après 48heures d'incubation.....   | 32 |

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau I</b> : Produits chimiques et appareillages utilisés.....   | 15 |
| <b>Tableau II</b> : Différentes dilutions.....   | 18 |
| <b>Tableau III</b> : Différentes concentrations appliquées dans le test des spots.....                           | 18 |
| <b>Tableau IV</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique induites par Fluconazole.....     | 22 |
| <b>Tableau V</b> : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique induites par l'acide caféique..... | 23 |
| <b>Tableau VI</b> : Diamètre de la zone de croissance de <i>C. albicans</i> après 48h d'incubation.....          | 24 |

## Listes des abréviations

**AC** : Acide caféique

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ARN** : Acide ribonucléique

***C. albicans*** : *Candida albicans*

**CMI** : Concentration inhibitrice minimale

**Eaq** : Extrait aqueux

**EE** : Extrait éthanolique

**Fluco** : Fluconazole

**HE** : Huile essentielle

**HO** : Huile d'oléastre

**LPS** : Lipopolysaccharide

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**PA** : Principe actif

**SIDA** : Syndrome d'Immuno- Déficience

**Tc** : Témoin de croissance

**T inh** : Témoin inhibition

**UFC** : Unité formant colonie

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine

## Sommaire

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

INTRODUCTION..... 1

### CHAPITRE I

**I. Synthèse bibliographique.....2**

I.1. Activité microbienne.....2

I.1.1. *Candida albicans*.....2

I.1.1.1. Généralité.....2

I.1.1.2. Définition.....2

I.1.1.3. Classification.....2

I.1.1.4. Morphologie.....3

I.1.2. Pouvoir pathogène de *C. albicans*.....3

I.1.2.1. Les facteurs de virulence.....4

I.1.3. Mécanisme de résistance de *C. albicans* aux antifongiques.....4

I.1.4. Traitement.....5

I.1.4.1. Traitement médicamenteux.....5

I.1.4.2. Traitement naturel (plante médicinale) .....7

I.1.4.2.1. Définition.....8

I.1.4.2.2. Parties de plantes médicinales utilisées.....8

I.1.4.2.3. Formes pharmacologiques d'utilisation des extraits des plantes médicinales .....8

I.1.4.2.4. Pouvoir et Mécanisme d'action des antimicrobiens des métabolites secondaires des plantes médicinales.....10

### CHAPITRE II

**II. Matériel et méthodes.....12**

**II.1. Matériel.....12**

II.1.1. Matériel végétal.....12

|   |    |
|---|----|
| II.1.1.1. Description botanique.....                                      | 12 |
| II.1.1.2. Habitat.....  | 12 |
| II.1.1.3. Classification.....   | 13 |
| II.1.1.4 Nomenclature.....  | 13 |
| II.1.2. Propriétés des bourgeons de <i>Populus nigra</i> .....            | 13 |
| II.1.3. Usage traditionnel des bourgeons.....                             | 14 |
| II.1.4. Activités biologiques des bourgeons de <i>Populus nigra</i> ..... | 14 |
| II.1.4.1. Activité antifongique .....                                     | 14 |
| II.1.4.2. Autres activités.....   | 14 |
| II.1.2. Produits chimiques et appareillage.....                           | 15 |
| II.1.3. Microorganisme.....   | 15 |
| II.2. Méthodes.....   | 16 |
| II.2.1. Préparation des extraits et forme pharmacologique.....            | 16 |
| II.2.2. Préparation de d'autres solutions.....                            | 17 |
| II.2.3. Test sur le milieu solide.....                                    | 19 |
| II.2.3.1. Diffusion sur disque.....                                       | 19 |
| II.2.3.2. Méthode des spots : méthode de dilution sur milieu solide.....  | 19 |
| II.2.4. Test milieu liquide.....  | 19 |
| II.2.4.1. La méthode de micro-dilution.....                               | 19 |
| II.3. Analyse statistique.....  | 20 |

### **CHAPITRE III**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>III. Résultats et Discussion.....</b>  | <b>21</b> |
| III.1. Résultats.....   | 21        |
| III.1.1. Rendement de l'extraction hydro-éthanolique et l'extraction aqueuse..... | 21        |
| III.1.2. Activité antifongique.....   | 21        |
| <b>III.2. Discussion.....</b>   | <b>29</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Conclusion et perspectives.....</b>  | <b>39</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b> | <b>41</b> |

## ***Introduction***

Au niveau mondial, les infections fongiques sont responsables de plus de décès que la tuberculose ou le paludisme. Les infections fongiques sont dues à des micromycètes, levures et champignons filamenteux, capables de se développer à la température du corps humain. Une trentaine d'espèces de micromycètes est fréquemment isolée en pathologie humaine, responsables d'allergies ou d'infections superficielles bénignes, d'infections sévères invasives ou chroniques (**Garnaud ; 2020**).

*Candida albicans* est la principale cause de ces infections fongiques, qui est un genre de levure ubiquitaire, généralement commensal, parfaitement toléré dans de nombreuses parties du corps (peau, bouche, système digestif et flore vaginale). Il est porté par plus de la moitié de la population humaine. En réponse à un changement d'environnement, *Candida* passe de l'état de commensal inoffensif à celui de pathogène responsable de maladies (**boucharaet ;2011**).

Le traitement de ces infections repose sur l'administration d'agents antifongiques. Il existe cinq classes d'agents antifongiques majeurs : Les polyènes, les azolés, les allylamines, les échinocandines et d'autres agents incluant la griséofulvine, la 5-fluorocytosine et les thiocarbamate (**Pappas et al., 2004 ; Mohr et al., 2008**). Malgré cette variété de classes d'antifongiques, certains médicaments sont efficaces contre certaines espèces de champignons mais pas contre d'autres.

Par ailleurs, le traitement naturel à base des plantes médicinales et leurs extraits ont été utilisés comme médecine alternatives pour traiter ces infections fongiques en raison des nombreux métabolites secondaires actifs qu'ils possèdent. En effet, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 80 % de la population mondiale dépend des médicaments traditionnels à base de plantes comme soins de santé primaires (**Dahmani ; 2020**).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude, d'évaluer l'activité antifongique sur *C. albicans* des extraits de formule pharmacologique à base des bourgeons de Peuplier noir. L'un des plantes médicinales qui constitue une bonne source de molécules bioactives, de la famille des Salicacées. Elle est employée pour ces propriétés anti-inflammatoires, antipyrétiques, antiallergiques, antimicrobiennes, antifongiques, antidiabétiques et antitumorales (**Kis ; 2020**).

## **I. Synthèse bibliographique**

### **I.1. Activité microbienne**

#### **I.1.1. *Candida albicans***

##### **I.1.1.1 Généralité**

Les agents pathogènes fongiques contribuent largement à la morbidité et à la mortalité humaines, infectant des milliards de personnes dans le monde et en induisant la mort de plus de 1,5 million par ans. Les personnes les plus vulnérables sont celles dont le système immunitaire est affaibli, notamment celles qui suivent une chimiothérapie, celles qui reçoivent une greffe d'organe solide ou de cellules souches hématopoïétiques et celles qui sont infectées par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (Luke Whitesell et al., 2019).

##### **I.1.1.2. Définition**

*Candida albicans* est un champignon pathogène opportuniste, qui existe en tant que commensal inoffensif dans les voies gastro-intestinales et génito-urinaire d'environ 70 % des humains. Cependant, il devient un pathogène opportuniste pour les patients immunodéprimés, pour certains individus leurs immunité est faibles, ou même pour des personnes en bonne santé. L'infection causée par *C. albicans* est communément appelée candidose. La candidose peut être classée en deux catégories selon la gravité de la maladie qui sont les candidoses superficielles ou cutanéomuqueuses et les candidoses systémiques ou candi-démies (Anaul Kabir et al., 2012).

##### **I.1.1.3. Classification**

Une classification selon EL-kirat (2010) a été proposée :

**Régné** : Champignon, Fungi, Mycète

**Division** : Eumycota

**Sous-division** : Deuteromycotina

**Classe** : Blastomycète

**Ordre** : Saccharomycétales

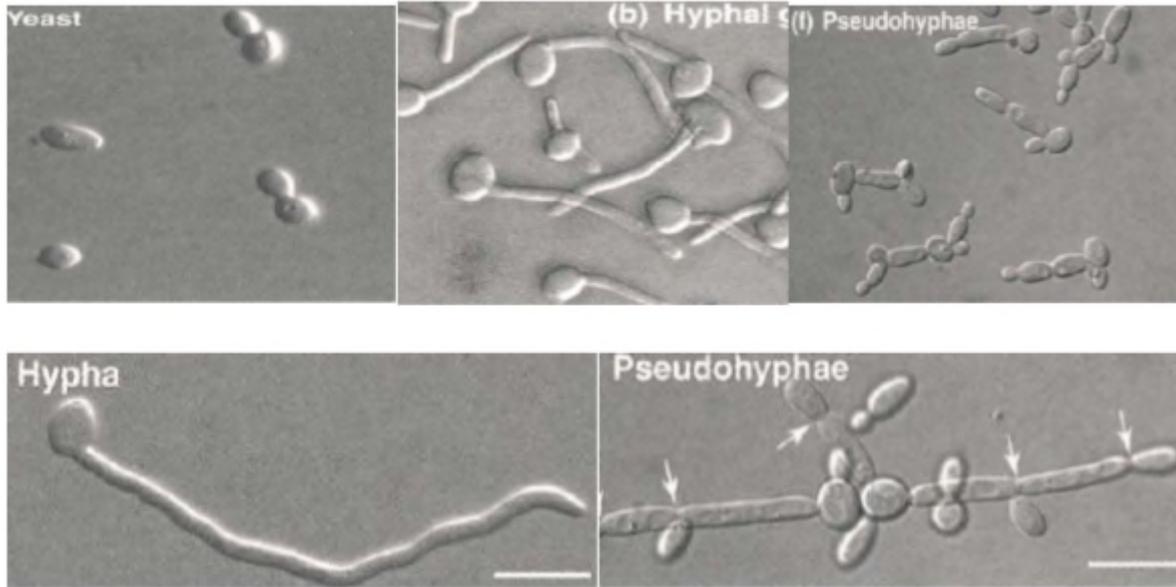
**Famille** : Candidaceae

**Genre** : *Candida*

**Espèce** : *Candida albicans*

#### **I.1.1.4. Morphologie**

Les cellules végétatives de *C. albicans* ont été décrites pour la première fois en 1853. Comme étant de forme sphérique ou largement ovale de 2-8,5  $\mu\text{m}$  à 3,0-14  $\mu\text{m}$  de taille et capables de se reproduire par bourgeonnement multilatéral (figure 01) (Mpai Lesego Motsei 2003). La levure *Candida albicans* peut basculer entre deux morphologie (figure 01) : la forme blastopore (levure bourgeonnante) et filamenteuse (hyphe et pseudo hyphe) (Fu et al., 2002).



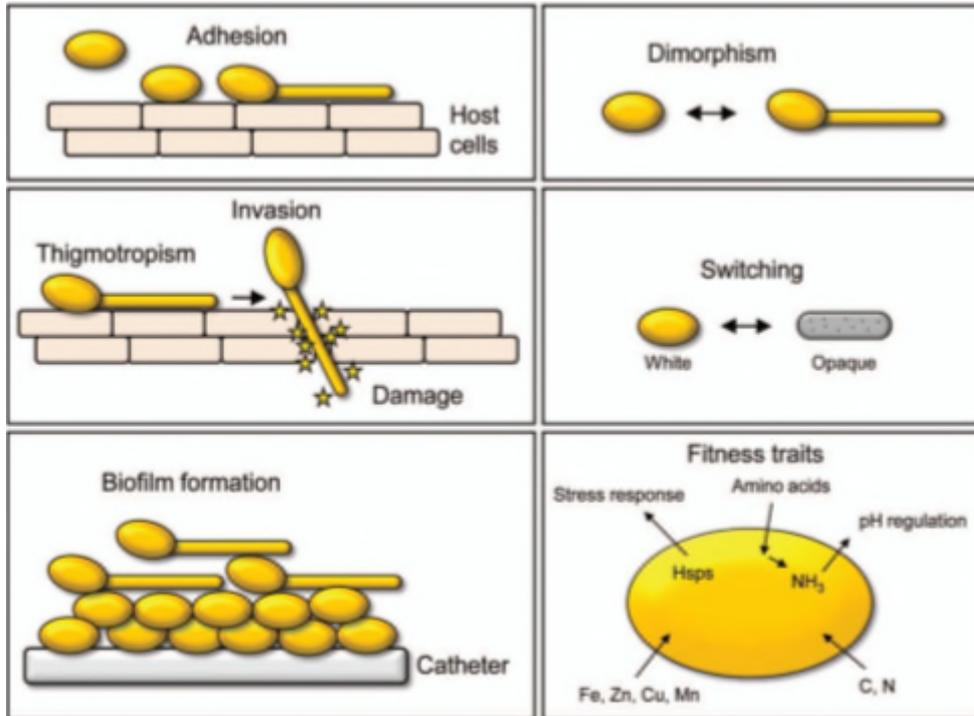
**Figure 01** : Différentes morphologies de *C. albicans* (Sudbery et al., 2004).

#### **I.1.2. Pouvoir pathogène de *C. albicans***

*Candida albicans* est la plus fréquemment incriminée dans les infections humaines à *Candida* (Warnock, 2007). Cette pathogénicité survient sous l'effet de plusieurs facteurs. Sa dissémination est endogène et se déroule à partir du tube digestif par contiguïté vers les voies génitales, respiratoires, la peau ou par voie hématogène vers les autres organes. Les infections causées par cette espèce trouvent leur origine dans le mode de vie de chaque individu, dans la fréquence d'ingurgitation des différents médicaments (prise importante d'immunodépresseurs, d'oestroprogestatifs de synthèse ou de corticoïdes) qui diminuent l'immunité (Neofytos et al., 2010 ; Bustamante et al., 2011 ; Taieb et al., 2011).

##### **I.1.2.1. Facteurs de virulence**

Les facteurs de virulence identifiés dans *C. albicans* (figure 02) sont l'adhérence, la morphogénèse des hyphes, la formation de biofilm et la sécrétion des enzymes hydrolytiques (les protéases, les phospholipases et les lipases) (Pammi et al., 2013).



**Figure 02 :** Mécanismes de pathogénicité de *C. albicans* (Mayer et al., 2013).

### I.1.3. Mécanisme de résistance de *C. albicans* aux antifongiques

Le développement de résistances chez *C. albicans* a été un problème majeur dans le traitement des candidoses superficielles récidivantes chez les patients atteints de SIDA. Même si l'isolement de souches résistantes dans les candidoses profondes est exceptionnel, l'émergence de ces souches doit être surveillée (Tortorano 2006).

La résistance peut être intrinsèque ou primaire (préalable à toute exposition), ou acquise, (sélectionnée par un traitement) (Rogers 2006). La résistance primaire caractérise une espèce donnée et concerne toutes les souches de cette espèce. La résistance acquise concerne seulement certaines souches dans une espèce considérée habituellement sensible. Ces souches devenues résistantes vont être sélectionnées par l'exposition à l'antifongique et vont remplacer les souches sensibles (Marr1998).

L'acquisition de mécanismes de résistance se fait par mutations ou par des modifications de l'expression des gènes codant la cible ou le transport de l'antifongique. Il existe également la résistance stable, qui persiste même en l'absence de l'antifongique, et la résistance transitoire,

épigénétique, liée à la modification transitoire de l'expression d'un gène. La résistance épigénétique a été observée après de courtes périodes de traitement antifongique (**Marr 1998**).

D'autres mécanismes cellulaires, comme le switching « White-Opaque » ou la filamentation, sont impliqués dans la résistance (**White 1998**). Les mécanismes cellulaires aboutissant à la résistance à différents antifongiques sont principalement : le défaut de pénétration de l'antifongique dans la cellule, l'inhibition de la transformation de l'antifongique en forme active, l'altération de la cible (surproduction, modification voire disparition de la cible), l'altération d'autres enzymes de la même voie métabolique, et l'évacuation de l'antifongique en dehors de la cellule par un système d'efflux (**White, 1998**).

#### **I.1.4. Traitements**

*Candida albicans* et d'autres espèces représentent une source importante d'infections systémiques dans le monde entier. Ces organismes sont la cause la plus fréquente d'infections superficielles, vaginales ou buccales muqueuses (**Dadar, 2018**).

La lutte menée contre les infections se fonde sur le fait que ces vingt dernières années ont vu une nette recrudescence des pathologies infectieuses, et parmi ces infections, il existe les infections opportunistes, mais aussi bien des viroses, des bactérioses que des mycoses. Au niveau des mycoses, les candidoses, les cryptococcoses et les aspergilloses constituent le trio de tête (**Ackah, 2008**).

##### **I.1.4.1. Traitements médicamenteux**

Au cours des dernières années, des progrès considérables ont été faits dans la prise en charge des infections fongiques invasives, grâce notamment à l'arsenal thérapeutique disponible. Comparativement aux antibactériens, le nombre de médicaments antifongiques disponibles est limité. Les champignons étant plus proches des cellules humaines que les bactéries, la possibilité de trouver des cibles spécifiques est réduite. Les cibles des antifongiques sont essentiellement l'ergostérol de la membrane plasmique pour les polyènes et les azolés, les acides nucléiques pour la 5-flucytosine et la paroi pour les échinocandines (**Lortholary, 2002 ; Dannaoui, 2016**).

Les antifongiques sont des produits de nature chimique, responsables de la destruction des champignons. Ils agissent sur la paroi cellulaire, la membrane plasmique et le métabolisme cellulaire (**Pebret, 2003**). Les sites d'actions des différentes classes des antifongiques (figure 03) sont :

- **Altération de la paroi fongique** : Les polyoxines, les néomycines, les papulacandines et les échinocandines, sont des antifongiques qui agissent sur la synthèse de la paroi fongique.

- **Action sur la membrane plasmique** : Les polyènes ont une action au niveau de la membrane plasmique. Les antifongiques appartenant à cette famille se lient à l'ergostérol de la membrane fongique formant un complexe, augmentant ainsi la perméabilité membranaire aux électrolytes, ce qui aboutit à la lyse du champignon.

-**Action sur la synthèse de l'ergostérol** : Les allylamines, les azolés, terbinafine, thiocarbamate et morpholyne agissent sur la synthèse de l'ergostérol (le stérol de la membrane plasmique des champignons), leur site d'action principal est le réticulum endoplasmique : Les allylamines et le thiocarbamate agissent sur la squalène époxydase, les azolés sur : la 14-déméthylase du cytochrome P450 et les morpholynes sur la 14-réductase les 7-8 isomérases.

- **Inhibition de la synthèse protéique** : La flucocytosine empêche la synthèse des acides nucléiques ADN et ARN, ce qui conduit à une inhibition de la synthèse protéique.

- **Action sur les microtubules** : La griséofulvine agisse sur les microtubules intervenants dans la division cellulaire, ce qui provoque un blocage de la croissance de champignon. Inhibition de la chaîne respiratoire mitochondriale : c'est le mode d'action de la ciclopiroxolamine (**Viguie-vallanet, 2001 ; Garnier, 2003**).

L'antifongi-thérapie est basée couramment sur l'utilisation des fongicides en particulier l'amphotéricine B qui est considéré comme une norme de référence thérapeutique grâce à son large spectre d'activité contre les souches de *Candida* (**Carle, 2003**).

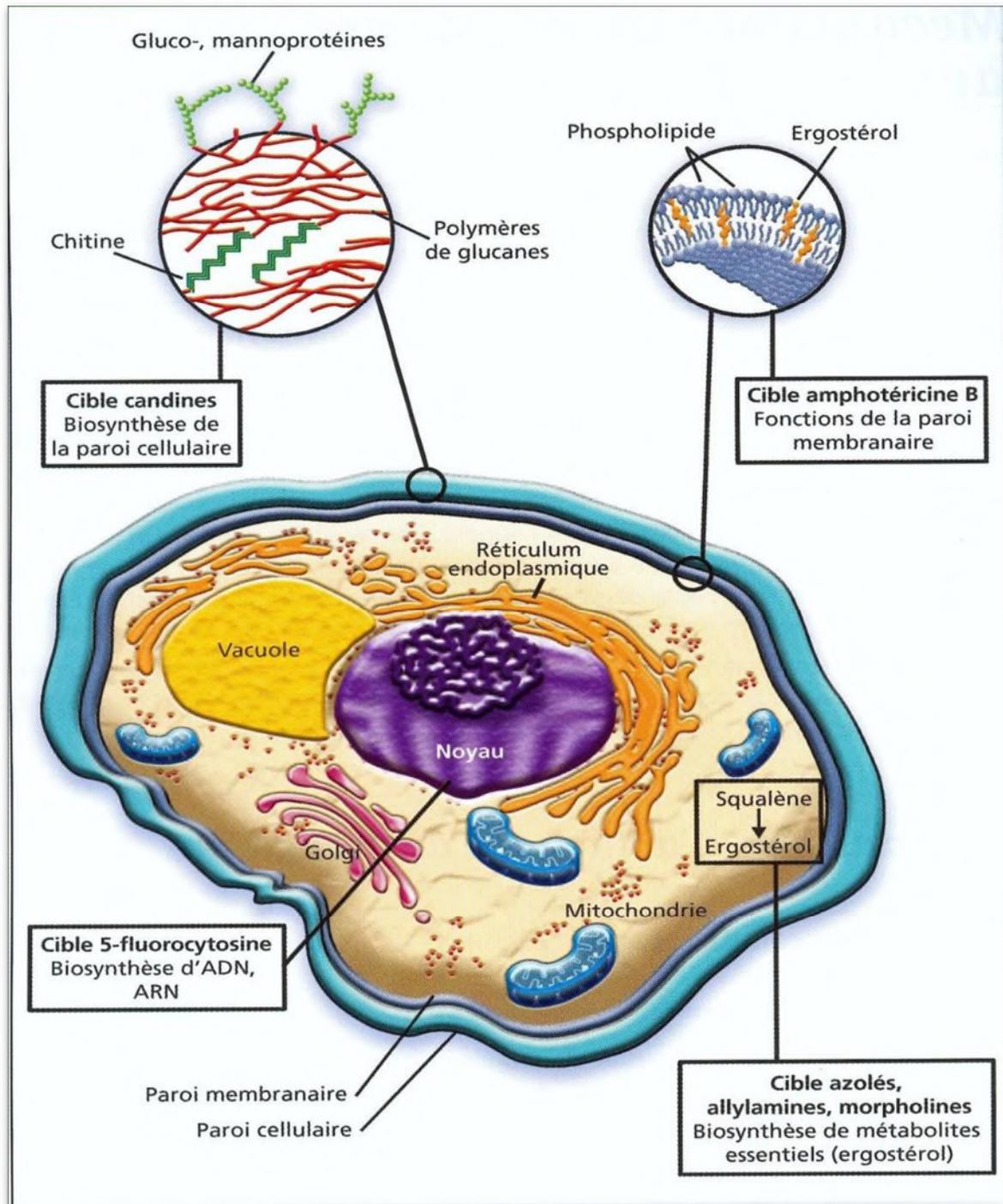


Figure 03 : Cibles des principaux antifongiques (Lortholary, 2002)

### I.1.4.2 Traitements naturels (Les plantes médicinales)

Depuis l'antiquité, les hommes ont utilisé les plantes qu'ils avaient à leur disposition à diverses fins ; massages, bains, hygiène, santé et diététique. Au cours de la dernière décennie, l'intérêt pour les médicaments issus de plantes, en particulier les phyto-thérapeutiques, a augmenté de façon expressive (Calixto, 2000).

#### **I.1.4.2.1. Définition**

Les plantes médicinales constituent une ressource naturelle très importante dont la valorisation nécessite une parfaite connaissance des propriétés à développer. Les activités médicinales des plantes dépendent de la présence de divers agents bioactifs appartenant à différentes classes chimiques (**Merchache et al.,2018**). Elles sont d'une grande importance pour la santé des individus et des communautés. La valeur médicinale de ces plantes réside dans certaines substances chimiques qui produisent une action physiologique définie sur le corps humain. Les plus importants de ces constituants bioactifs des plantes sont les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les composés phénoliques...etc. (**Edeoga et al.,2005**)

#### **I.1.4.2. Parties de plantes médicinales utilisées**

Les différentes parties de la même plante médicinale peuvent présenter des constituants chimiques très différents et qui n'ont pas la même action thérapeutique. Généralement, en médecine traditionnelle, la partie qui contient le plus de principes actifs est la plus employée. Les différentes parties de plantes qui peuvent être employées chez la plupart des populations sont ceux qui ont été décrites par (**Gurib-Fakim, 2006**). Et chaque partie contient des composés phytochimiques différents exemple les parties de *Populus nigra* les plus utilisées sont : les feuilles contiennent de la salicine salicortine, saliréposide et des dérivés benzoate, les bourgeons contiennent des acides phénoliques et des flavonoïdes, l'écorce contient des phénols glycosides, la salicine et Populin (**Goetz, 2011**).

#### **I.1.4.2.3. Formes pharmacologiques d'utilisation des extraits des plantes médicinales**

Les plantes médicinales et aromatiques ont fait l'objet d'une attention particulière, que ce soit par les chercheurs ou par les utilisateurs. Cela est dû, d'une part, à l'efficacité et à la facilité d'extraction de leurs composés chimiques (principes actifs) et, d'autre part, aux risques posés par de nombreuses substances chimiques de synthèse. Les plantes médicinales sont utilisées dans différentes préparations de la médecine populaire pour traiter des infections variées et guérir des conditions mortelles (**Tang et al., 2012**).

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement sous forme de tisanes ou de poudres (**Daira et al.,2016**). Maintenant beaucoup sont présentées sous forme liquide, semi liquide et sous forme solide. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain

d'intérêt largement suscité et entretenu par la communauté scientifique ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation (**Chabrier, 2010**).

- **Forme liquide**

D'après la Pharmacopée française, les tisanes sont des préparations aqueuses de plantes médicinales entières ou de parties de celles-ci, convenablement divisées pour être plus facilement pénétrées par l'eau. Elles sont administrées à des fins thérapeutiques. Elles peuvent encore servir de boisson aux malades ou de véhicule pour l'administration de divers médicaments. Les tisanes sont réalisées dans des récipients couverts, en utilisant de l'eau potable. La tisane permet de libérer divers constituants de la plante grâce au milieu aqueux. De natures variées, ils peuvent être riches en composés poly phénoliques (acides-phénols, flavonoïdes, tanins catéchiques ou galliques, anthocyanosides), des mucilages, des sels minéraux, des oligoéléments, des vitamines B1, B2 et C, des phytohormones. Seules certaines molécules insolubles ne sont pas extraites de la drogue (**Duval,1996**). Ainsi, suivant le mode utilisé, il existe l'infusion, la décoction, la macération, la digestion et la lixiviation, moins fréquente. La préparation est réalisée extemporanément, c'est-à-dire au moment de l'emploi (**Européenne,2005**).

- **Forme semi-solide**

- ✓ **Pommade**

D'après la Xème édition de la pharmacopée européenne Les pommades sont des préparations de consistance semi-solide destinées à être appliquées sur la peau ou sur certaines muqueuses afin d'exercer une action locale ou de réaliser la pénétration percutanée de principes médicamenteux. Elles présentent un aspect homogène (**Hir, 2001**).

Les pommades sont constituées par un excipient, simple ou composé, dans lequel sont dissous ou dispersés habituellement un ou plusieurs principes actifs. La composition de cet excipient peut avoir une influence sur les effets de la préparation et sur la libération du principe actif. Les excipients des pommades peuvent être des substances d'origine naturelle ou synthétique et être constitués par un système à une seule ou à plusieurs phases (**Hir, 2001**).

La préparation proprement dite est réalisée par divers procédés qui aboutissent tous au mélange et à l'homogénéisation des différents produits. Dans le cas de formes contenant plusieurs phases, la phase aqueuse et la phase huileuse sont préparées au préalable chacune de leur côté avec les composés respectivement miscibles dans chacune d'elles. Néanmoins,

d'autres agents peuvent être ajoutés à la préparation comme des agents antimicrobiens, des antioxydants, des agents stabilisants, émulsifiants ou épaississants (**Hir, 2001**).

- **Forme solide**

- ✓ **Comprimés et gélules**

D'après la Pharmacopée Européenne (**Ph. Eur. 8ème édition, 2014**), « les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules ou par un autre procédé de fabrication approprié tel que l'extrusion, le moulage ou la cryodessiccation (lyophilisation) ». Le comprimé est d'une forme sèche dont la conservation est favorisée l'état condensé et sec. En tant que préparation unidose, le comprimé assure l'administration d'une dose précise de principe(s) actif(s) (PA) et l'adaptation des posologies est conditionnée par les dosages existants (**Ph. Eur. 8ème édition, 2014**).

- ✓ **Gélules**

Les gélules désignent une forme galénique de médicament, solide, avalée. Elles sont constituées d'une enveloppe dure et creuse, de forme et de capacité variable, contenant généralement une dose unitaire de substances actives. Les capsules sont destinées à l'administration par voie orale (**Ph. Eur. 8ème édition, 2014**).

Il est à noter qu'en général la conservation des gélules à base de poudre de plantes est mauvaise. Avec le temps il se produit un éclatement des cellules de la plante, d'où un vieillissement accéléré de la poudre. Concernant les gélules d'extraits végétaux, leur contenu est très hygroscopique, ce qui empêche également une conservation sur une longue durée pour ce type de produit. Le plus important est de les garder dans un flacon bien bouché en petites quantités et à l'abri de la chaleur, la lumière et surtout l'eau. La conservation maximale sera d'une à deux années. Les gélules à base d'huile essentielle, quant à elles, ne se conservent que deux mois, délai au bout duquel apparaît une baisse de concentration en principes actifs (**Chabrier, 2010**).

#### I.1.4.2.4. Pouvoir et mécanisme d'action des antifongiques des métabolites secondaires des plantes médicinales

- Les acides phénoliques tels que les acides férulique et gallique sont connus pour affecter la membrane cellulaire des bactéries Gram-positives et Gram-négatives. Bactéries conduisant à une modification de l'hydrophobie et de la charge de la surface cellulaire, provoquant finalement une fuite du contenu cytoplasmique. Un effet similaire a été suggéré pour le dérivé de l'acide caféique sur la membrane cytoplasmique de *Candida*. En outre, un possible effet sur la paroi cellulaire de *C. albicans* a été montré pour les dérivés de l'acide caféique qui peuvent interférer avec la 1,3-β-glucane synthase (Teodoro et al., 2015).
- Le mode d'action de plusieurs autres composés phénoliques fournit quelques indices pour déduire le mécanisme des acides phénoliques. Par exemple, l'isoquercétine, la curcumine et le laricirésinol peuvent endommager la membrane cellulaire de *C. albicans*. D'autre part, l'eugénol et le méthyl eugénol provoquent une réduction considérable de la biosynthèse de l'ergostérol chez *Candida* et affectent ensuite la membrane cellulaire. Un effet similaire a été observé avec le pigalocatechin-3-gallate, le thymol et le carvacrol. En outre Le cardanol a démontré une capacité de liaison à la chitine dans la paroi cellulaire de *C. albicans* (Teodoro et al., 2015).

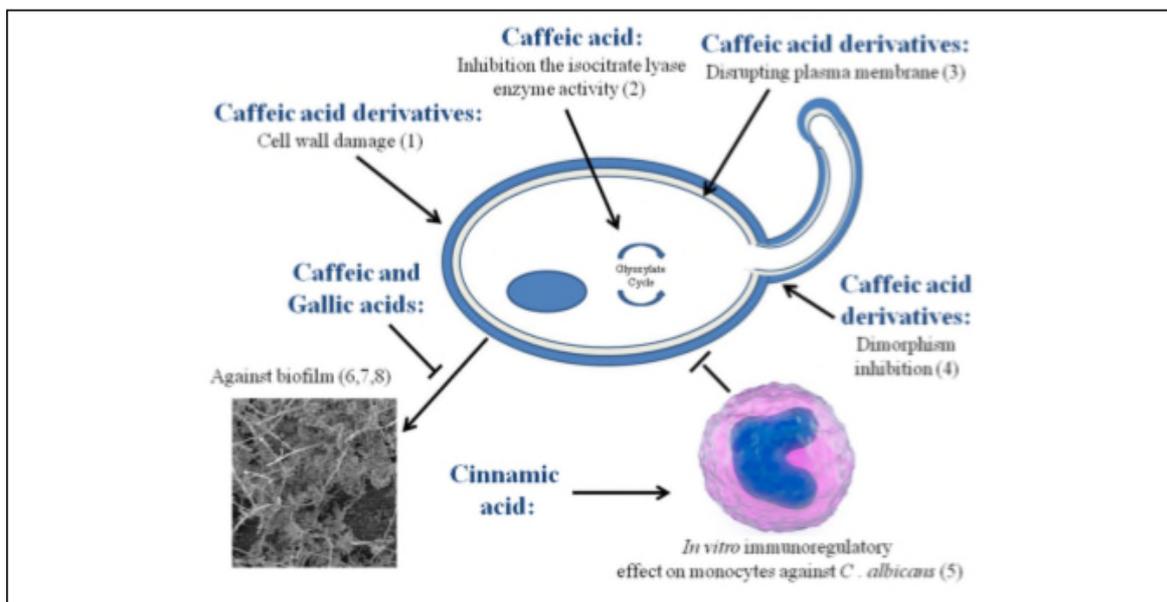


Figure 04 : Cible de quelque compose phénolique (Teodoro et al., 2015).

## II. Matériel et méthodes

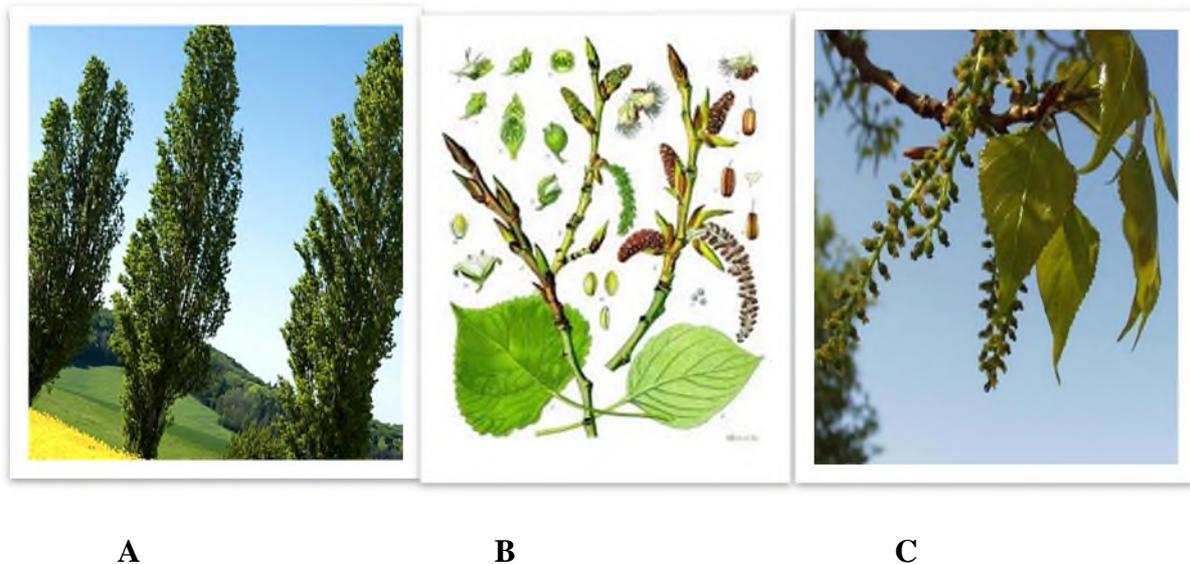
### II.1. Matériel

#### II.1.1. Matériel végétal

Dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne des composés actifs des extraits de plantes médicinales, nous avons sélectionné le peuplier noir (*Populus Nigra*) (figure 04), une plante médicinale locale largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

##### II.1.1.1. Description botanique

*Populus nigra* appartient à la famille des salicacées, qui sont de grands arbres pouvant atteindre 25 à 30m de hauteur très communs (Marnotte et al., 2006), et 2m de circonférence, à écorce en gerçures et rameaux visqueux ; les bourgeons sont allongés et pointus, les feuilles deltoïdes ou ovales triangulaires, dentées, alternes et longuement pétiolées avec une couleur verte luisante (Figure 04) (Beloued, 2001).



**Figure 05** : Images de différentes parties du peuplier noir :(A) arbre entier, (B) et (D) les bourgeons de *Populus nigra* (Siler et al., 2014).

##### II.1.1.2. Habitat

Le peuplier commun n'est spontané que dans une partie de l'Europe, l'Ouest de l'Asie et le Nord de l'Afrique (Fournier, 2010). En Algérie, il est retrouvé à El Kala, Tlemcen et la Kabylie, dans les rives des cours d'eau douce, surtout en montagnes (Beloued, 2001).

### **II.1.1.3. Classification**

**Règne :** Végétal

**Sous règne :** Eucaryotes

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Dicotylédones

**Sous classe :** Monochlamide

**Ordre :** Salicales

**Famille :** Salicacées

**Genre :** *Populus*

**Espèce :** *Populus nigra* (Quezel et Santa, 1962).

### **II.1.1.4. Nomenclature**

**Appellation scientifique :** *Populus nigra*

**Appellation locale :** Asafçaf

**Appellation berbère :** Asafçaf, Arig, Ouisd (Beloued, 2001).

**Appellation commune :** Peuplier noir, le peuplier franc.

### **II.1.2. Propriétés des bourgeons de *Populus nigra***

D'après les études portées sur les différentes espèces du Peuplier, les bourgeons contiennent une grande variété de composés phénoliques, tels que les acides phénoliques (acide caféique, acide isoferulique, ...etc.) (Dudonné et al., 2010), et contiennent un glucoside le populoside et les benzoylosalicoside et des dérivés flavoniques (flavones, les flavanones et les chalcones) qui représentent la majeure partie (Beloued, 2001).

### **II.1.3. Usage traditionnel des bourgeons**

En Algérie, les utilisations traditionnelles de *Populus nigra* sont larges dans le traitement de nombreuses affections liées à un dysfonctionnement endothélial, les inflammations, l'arthrite, la bronchite et les maladies des voies respiratoires (**Debbache et al., 2013**). Les bourgeons du peuplier noir sont utilisés aussi contre diverses affections douloureuses (**Häne et Dobbartin, 2006**). Telles que les affections des reins, les catarrhes des voies, la goutte et la sciatique (**Beloued, 2001**).

#### **II.1.4. Activités biologiques des bourgeons de *Populus nigra***

##### **II.1.4.1. Activité antifongique**

De multiples recherches liées à ce sujet indiquent que l'extrait de bourgeons du peuplier peut être utilisé pour leurs activité antimicrobienne et antifongique, ces effets peuvent être liés à la présence d'apigénine, de pinocembrine kaempferol et d'autres flavonoïdes et acides phénoliques (caféique et férulique) (**Boumghar et al., 2016**). En utilisant la méthode de diffusion en disque, **Boumghar et al., 2016** ont montré que l'extrait de bourgeons du peuplier (100 µl) possède des effets antimicrobiens et inhibe la formation du biofilm de *Staphylococcus aureus* et de *Bacillus subtilius* (**Boumghar et al., 2016**).

D'autres part, **Merghache et al., 2016** ont démontré que l'extrait aqueux de bourgeons du peuplier (Algérie) suscitait une activité fongique signifiante contre *Candida albicans* (CMI=45,16µg/ml). **Debbache et al. 2013** ont testé l'activité antifongique potentielle de 4 types d'extraits (éthanol, acétate d'éthyle aqueux, chloroforme et chloroforme aqueux) de bourgeons du peuplier (Province d'Amizour, Algérie) sur *Aspergillus niger* et *Fusarium polyferatum*, avec une activité modérée de 9 mm comme zone d'inhibition.

##### **II.1.4.2. Autres activités**

D'autres activités ont été rapportées pour les extraits de bourgeons du peuplier notamment l'activité antioxydant (**Debbache et al. ; 2013**), Activités anti-inflammatoires (**Dudonné et al. ; 2011**), antirhumatismales et un effet antiseptique et astringent (**Beloued, 2001 ; Debbache et al. ; 2018**).

## II.2. Produits chimiques et appareillage

**Tableau I :** Produits chimiques et appareillages utilisés

| Produits chimiques       | Appareillage          |
|--------------------------|-----------------------|
| -Eau distillée           | -Broyeur              |
| -Eau physiologique       | -Tamiseur 63µm        |
| -Eau de javel            | -Bec Bunsen           |
| -Nacl                    | -Tubes à essaie       |
| -Éthanol                 | -Bouteilles           |
| -Acide sulfurique        | -Eprouvettes          |
| -Chlorure de barium      | -Erlenmeyers          |
| -Acide caféique          | -Béchers              |
| -Tween                   | -Spatules             |
| -Cire d'abeille          | -Passoires            |
| -Huile essentielle       | -Pépettes paster      |
| -Huile d'Oléastre        | -Micropipettes        |
| -Sabouraud dextrose AGAR | -Ambule               |
| -Paraffine               | -Épindofs             |
| -Fluconazole             | -Cuves                |
|                          | -Écouvillons          |
|                          | -Boites pétries       |
|                          | -Balance              |
|                          | -Vortex               |
|                          | -Bain Marie           |
|                          | -Plaque chauffante    |
|                          | -Agitateur magnétique |
|                          | -Ph mettre            |
|                          | -Etuve                |
|                          | -Autoclave            |
|                          | -Spectrophotomètres   |
|                          | -Rotavapeur           |
|                          | -Lyophilisateur       |
|                          | -Réfrigérateur        |

### II.1.3. Microorganisme

Une souche de *Candida albicans* a été utilisée pour évaluer l'activité antifongique de l'extrait éthanolique, l'extrait aqueux ainsi qu'une formule pharmacologique à base des extraits de *Populus nigra*. La souche a été obtenue à partir du laboratoire d'analyse médicale DJAMA, Bejaïa.

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Préparation des extraits et formule pharmacologique**

#### **✓ Récolte**

La partie de la plante utilisée (bourgeons) a été récoltée en mars 2020, dans un endroit naturel loin de toute pollution et de perturbation humaine dans la forêt d'Azur N'Bachar à Amizour, située à l'Est de Bejaia.

#### **✓ Séchage**

Les bourgeons de *Populus nigra* ont été séchés à l'étuve à 37°C, afin d'éliminer toute trace d'humidité.

#### **✓ Broyage et tamisage**

Les bourgeons de *Populus nigra* ont été broyés jusqu'à l'obtention d'une fine poudre.

- ✓ La poudre obtenue a été tamisée pour récupérer à la fin une poudre très fine de diamètre inférieur ou égale à 63 µm. La poudre a été stockée dans des flacons en verre fermés à l'abri de la lumière.

#### **✓ Extraction hydro-éthanolique (solide-liquide)**

100g de poudre de *Populus nigra* ont été macérés dans de l'éthanol (70%) avec un rapport de (1/6) : (P/V) durant 24h sous agitation continue à l'abri de la lumière, puis le mélange a été transféré dans des éprouvettes et laissé décanter pendant 24h, le surnageant a été récupéré, concentré dans un ballon à fond conique par séchage à l'aide d'un rotavapeur.

#### **✓ Préparation de l'infusion**

L'infusion a été préparée par macération de 1,5g de bourgeons de *Populus nigra* dans 100ml d'eau distillée bouillie pendant une minute. Le mélange a été laissé infuser pendant 30 minutes puis filtrer. Le pH de l'infusion a été mesuré avant que celle-ci ne soit mise dans des boîtes de pétri à -20°C afin d'être lyophilisée dans le but d'obtenir un extrait aqueux sec.

#### **✓ Préparation de la pommade**

La pommade a été préparée en mélangeant la cire d'abeille fondue à l'huile d'oléastre, l'huile essentielle et à l'extrait éthanolique de *Populus nigra*.

#### **✓ Préparation de l'excipient**

L'excipient de la pommade est constitué de tous les composés de la pommade mis à part l'extrait éthanolique.

## **II.2.2. Préparation de d'autres solutions**

### **✓ Préparation de la gélose**

-Gélose Sabouraud dextrose : 65g de gélose ont été ajoutés à 1L d'eau distillée, le mélange a été laissé sous agitation à 100°C jusqu'à ébullition (1min).

-Gélose Sabouraud au chloramphénicol : une masse de 45,5g a été mise en contact avec 1 litre d'eau distillée. Le mélange est laissé macérer sous agitation à 100°C jusqu'à l'ébullition (1min).

### **✓ Préparation du bouillon nutritif**

Le bouillon nutritif a été préparé en ajoutant 20 g de poudre à 1L d'eau distillée, le mélange est mis sous agitation jusqu'à dissolution.

### **✓ Préparation du bouillon Sabouraud dextrose**

30g de poudre ont été suspendus dans 1L d'eau distillée, le mélange a été chauffé jusqu'à dissolution complète.

La stérilisation des milieux de culture s'est faite dans l'autoclave à 118-121°C pendant 15min.

### **✓ Préparation de l'eau physiologique 0,9%**

9g de NaCl ont été ajoutés à 1L d'eau distillée stérile. Le mélange a été homogénéisé.

### **✓ Préparation du standard Mc Ferland 0,5**

Le standard Mc Ferland 0,5 a été préparé en ajoutant 9,95ml d'acide sulfurique (1%) à 0,05ml de chlorure de baryum (1%). Le mélange des deux composés forme un précipité de sulfate de baryum, ce qui rend la solution trouble. L'absorbance à 625nm a été mesurée et est comprise entre 0,08 et 0,1 équivalent à une charge bactérienne de  $1,5 \cdot 10^6$  (UFC)/ml (**Lee et al 2010**).

### **✓ Préparation de l'inoculum fongique**

Dans le but de revivifier la souche fongique, 1ml de cette dernière a été ajouté à 9ml de bouillon nutritif. Après 48h d'incubation à 27°C un ensemencement sur milieu solide s'est fait à l'aide d'une pipette Pasteur dans le but d'obtenir une culture jeune qui servira à préparer l'inoculum microbien. Les boîtes de Pétri ont été incubées pendant 48h à 27°C.

L'inoculum fongique a été préparé en raclant quelques colonies de *Candida albicans* avec une pipette Pasteur puis en le déposant dans un tube stérile contenant 5ml d'eau physiologique. Le mélange a été homogénéisé et l'absorbance à 625 nm a été mesurée. Une turbidité ainsi qu'une absorbance égale à celles du standard Mc Ferland doivent être obtenues.

Les solutions testées ont été préparées comme l'indique le tableau II. Une série de dilutions a été réalisée à partir d'une solution mère.

**Tableau II :** Différentes dilutions.

| Test               | Solution           |                     |             |                   |
|--------------------|--------------------|---------------------|-------------|-------------------|
|                    | Antifongique       | Extrait éthanolique | Lyophilisat | Acide caféique    |
| Sur milieu solide  |                    |                     |             |                   |
| Concentration 1    | <b>3 mg/ml</b>     | <b>100 mg/ml</b>    |             | <b>1 mg/ml</b>    |
| Concentration 2    | <b>2 mg/ml</b>     | <b>50 mg/ml</b>     |             | <b>0,5 mg/ml</b>  |
| Concentration 3    | <b>1 mg/ml</b>     | <b>25 mg/ml</b>     |             | <b>0,25 mg/ml</b> |
| Sur milieu liquide |                    |                     |             |                   |
| Concentration 1    | <b>64 µg/ml</b>    | <b>10 mg/ml</b>     |             | <b>50 µg/ml</b>   |
| Concentration 2    | <b>32 µg/ml</b>    | <b>5 mg/ml</b>      |             | <b>25 µg/ml</b>   |
| Concentration 3    | <b>16 µg/ml</b>    | <b>2,5 mg/ml</b>    |             | <b>12,5µg/ml</b>  |
| Concentration 4    | <b>8 µg/ml</b>     | <b>1,25 mg/ml</b>   |             | <b>6,25µg/ml</b>  |
| Concentration 5    | <b>4 µg/ml</b>     | <b>0,63 mg/ml</b>   |             | <b>3,13µg/ml</b>  |
| Concentration 6    | <b>2 µg/ml</b>     | <b>0,31 mg/ml</b>   |             | <b>1,56µg/ml</b>  |
| Concentration 7    | <b>1 µg/ml</b>     | <b>0,16 mg/ml</b>   |             | <b>0,78µg/ml</b>  |
| Concentration 8    | <b>0,5 µg/ml</b>   | <b>0,08 mg/ml</b>   |             | <b>0,39µg/ml</b>  |
| Concentration 9    | <b>0,25 µg/ml</b>  | <b>0,04 mg/ml</b>   |             | <b>0,20µg/ml</b>  |
| Concentration 10   | <b>0,125 µg/ml</b> | <b>0,02 mg/ml</b>   |             | <b>0,08µg/ml</b>  |

**Tableau III :** Différentes concentrations appliquées dans le test des spots.

|                   | Concentration 1 | Concentration 2 | Concentration 3b | Concentration 4 | Concentration 5 |
|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
| Pommade           | <b>48 mg/ml</b> | <b>24 mg/ml</b> | <b>12 mg/ml</b>  | <b>6 mg/ml</b>  | <b>3 mg/ml</b>  |
| Excipient         |                 |                 |                  |                 |                 |
| Cire d'abeilles   |                 |                 |                  |                 |                 |
| Huile d'oléastre  |                 |                 |                  |                 |                 |
| Huile essentielle |                 |                 |                  | /               | /               |

## II.2.3. Test sur le milieu solide

### II.2.3.1. Diffusion sur disque

Les boîtes de Pétri ont été préparées ; pour chaque extrait (éthanolique et aqueux), ses dernières ont étéensemencées avec l'inoculum standards à l'aide d'un écouvillon afin d'obtenir un tapi bactérien.

Chaque boîte est répartie en trois compartiment chaque compartiment est consacré pour une concentration (1mg/ml, 500µg/ml et 250µg/ml) de substance à tester (antifongique, acide caféique, éthanol (témoin négatif de l'extrait éthanolique) ou d'eau distillée (témoin négatif de

l'extrait aqueux et fluconazole). Par la suite des disques stériles ont été déposés dans chaque compartiment de boîtes de Pétri avec un disque pour le solvant au milieu de la boîte de Pétri).

Les boîtes ont été mises au frigidaire pendant 2 heures afin de permettre aux substances de diffuser avant que les bactéries ne commencent à se multiplier puis, elles ont été incubées dans l'étuve à 27°C pendant 48 heures. La lecture des résultats a été faite après 48 heures.

### **II.2.3.2. Méthode des spots : méthode de dilution sur milieu solide**

La pommade ou l'excipient (3, 6, 12, 24, ou 48 mg dans un ml de gélose) a été homogénéisé dans du tween 80 avant d'être ajouté aux différents tubes contenant la gélose. Les différents excipients ont aussi été testés séparément par la même méthode. La cire d'abeilles, l'huile d'oléastre ainsi que l'huile essentielle ont été ajoutés à la gélose préalablement homogénéisée dans du tween 80 afin de faciliter le mélange.

Ce dernier est versé dans des boîtes de Pétri ; pour chacune des boîtes 3 spots de 2 µl de la suspension bactérienne ont été déposés. Contre deux boîtes témoin préparés avec gélose et Tween 80 et la gélose. Les boîtes ont été mises au frigidaire pendant 2 heures pour une pré-diffusion, puis dans l'étuve à 27°C pendant 48 heures. La lecture des résultats a été faite après 48 h d'incubation.

### **II.2.4. Test milieu liquide**

#### **II.2.4.1. Méthode de micro-dilution**

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées à l'aide des microplaques à 96 puits. Une série de dilution a été réalisée à partir d'une solution mère comme le décrit le tableau II. L'inoculum à 10<sup>6</sup> UFC/ml a été dilué pour avoir une concentration de 10<sup>3</sup> UFC/ml.

Sur la microplaque à 96 puits une répartition de groupe de tests a été effectuée comme suit :

- ✓ Groupe témoin négatif : un volume de 100 µl de bouillon Sabouraud dextrose a été déposé.
- ✓ Groupe témoin positif : 100 µl de bouillon et 100 µl de suspension fongique ont été déposés
- ✓ Groupe Blanc de solvant : un volume de 80 µl de bouillon, de 20 µl de solvant et de 100 µl de suspension fongique a été rajouté
- ✓ Groupe Blanc de l'extrait : contient 100 µl de bouillon et 100 µl d'extrait.

- ✓ Groupe test : 160µl de bouillon, 40µl d'extrait et 100µl de la suspension fongique ont été déposés

Des dilutions de moitié ont été effectuées à partir du premier puits jusqu'au 10<sup>ème</sup> puits (en prélevant 100µl du puits précédent et l'ajouter au suivant). Après incubation des plaques dans l'étuve pendant 24-48 heures les CMI ont été déterminées comme la plus faible concentration pour laquelle la croissance microbienne n'est pas observée à l'œil nu afin de calculer des pourcentages de croissance et d'inhibition de *candida sp* en fonction de concentrations.

### **II.3. Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats a été effectuée à l'aide de Graph pad version 06 « ANOVA », en appliquant le test multiple comparaison, et la différence considérée significative ( $p < 0,05$ ), hautement significatives ( $p < 0,01$ ), très hautement significatives ( $p < 0,001$ ) ; où le p est la puissance de test (p-value). Les valeurs qui portent un nombre différent d'étoile sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ), chaque valeur représente la moyenne  $\pm$  écart type.

### III. Résultats et Discussion

#### III.1. Résultats

##### III.1.1. Rendement de l'extraction hydro-éthanolique et l'extraction aqueux

Le rendement des deux extractions hydro-éthanolique et aqueuse a été calculé après une série de procédé faite sur notre plante « bourgeons de *Populus nigra* » en utilisant deux solvant d'extraction, l'éthanol 70% pour l'extraction hydro-éthanolique et l'eau pour l'extraction aqueuse.

Voici les résultats d'extraction :

- Masse initiale : c'est la masse des bourgeons de peuplier noir avant l'extraction (100g)
- Masse de bourgeons de peuplier noir extraite : (175,44mg)

Le rendement de l'extrait éthanolique de bourgeons de peuplier noir : 17,544 %

Le rendement de l'extrait aqueux de bourgeons de peuplier noir : 0,7 %

Les résultats obtenus montrent que le meilleur rendement est enregistré avec l'extrait hydro-éthanolique de 17,544 % par contre l'extrait aqueux est très faible de 0,7 %.

Les extraits obtenus avaient une consistance semi-solide plus ou moins visqueux dont l'extrait éthanolique (EE) qui a donné une couleur foncée (figure 21) avec un rendement de 17,544 %, tandis que l'extrait aqueux (Eaq) a donné une couleur marron clair (figure 20) avec un rendement plus faible qui est 0,7 %,



**Figure 06** : Image de l'extrait aqueux (Eaq). **Figure 07** : Image de l'extrait éthanolique (EE)

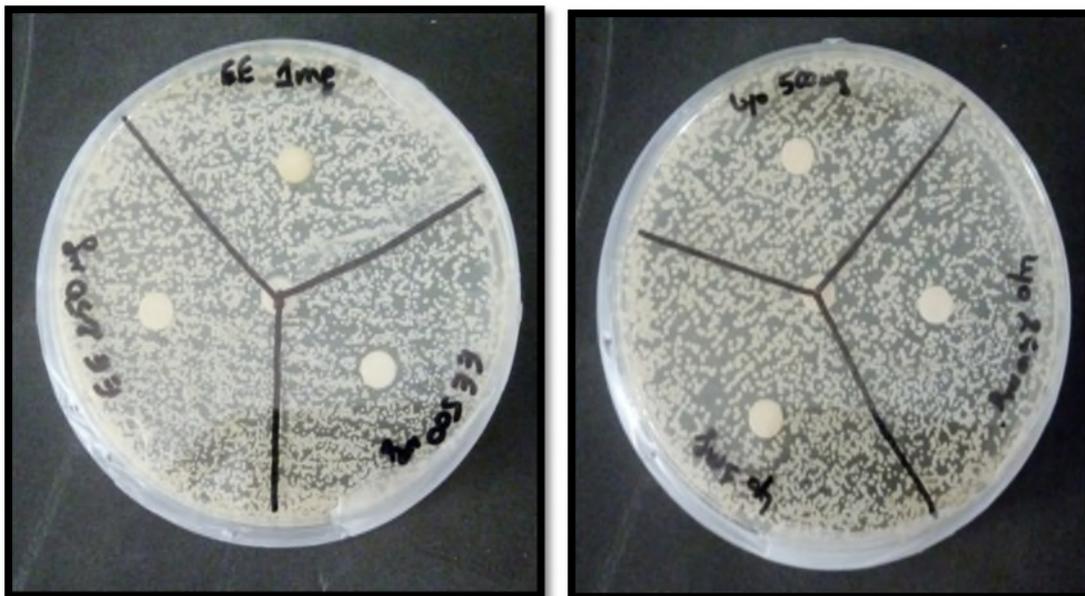
### III.1.2 Activité antifongique

Notre étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait de bourgeons du Peuplier noir a été réalisée sur un modèle d'antibiogramme qui s'effectue soit en milieu solide (gélosé) par la méthode de diffusion sur disque, en déterminant les zones d'inhibition, ou bien en milieu liquide en déterminant la concentration minimale inhibitrice CMI ; la méthode des spots a aussi été utilisée afin d'évaluer l'effet antimicrobien des métabolites secondaires d'une formulation pharmacologique à base de bourgeons de *Populus Nigra*.

- **Méthode de diffusion sur disque**

L'effet antimicrobien de l'extrait éthanolique, de l'extrait aqueux des bourgeons du Peuplier noir ainsi que de l'antifongique « Fluconazole » et du standard « acide caféique » a été évalué par la technique de diffusion sur l'agar.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux (le lyophilisat de l'infusion) n'ont montré aucun effet sur la souche *C. albicans* à des concentrations de 1mg/disque, 500 µg/disque et 250 µg/disque par cette méthode (figure 5).



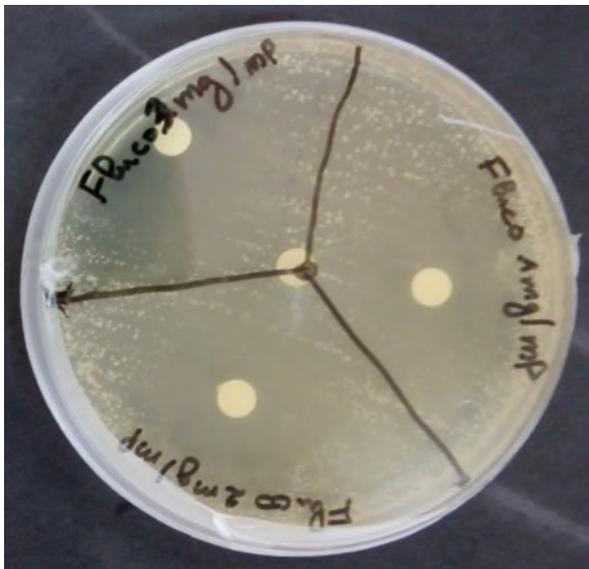
**Figure 08** : Photographies des zones d'inhibition de la croissance de *C. albicans* induites par l'extrait éthanolique et le lyophilisat de l'infusion après incubation de 48h.

D'autre part, après une incubation de 24h, l'antifongique « Fluconazole » a montré des zones d'inhibition très importantes sur la souche *Candidas albicans*, la concentration 1mg/ml a donné une zone d'inhibition de 21 mm de diamètre par contre la concentration 2mg/ml a donné une zone plus grande de 26 mm de diamètre et pour la plus grande concentration de fluconazole,

une zone de 28 mm de diamètre a été notée (Figure 6), (tableau IV). Cependant après 48h d'incubation, une croissance de *Candida albicans* sur les zones d'inhibition obtenues après 24h a été observée (figure 7).

**Tableau IV :** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique induites par Fluconazole.

| Concentration de Fluconazole par disque         | 1 mg | 2 mg | 3 mg |
|---|------|------|------|
| Diamètre de la zone d'inhibition par millimètre | 21   | 26   | 28   |



**Figure 09 :** Photographie des zones d'inhibition de la croissance de *C. albicans* induites par après 24h d'incubation.

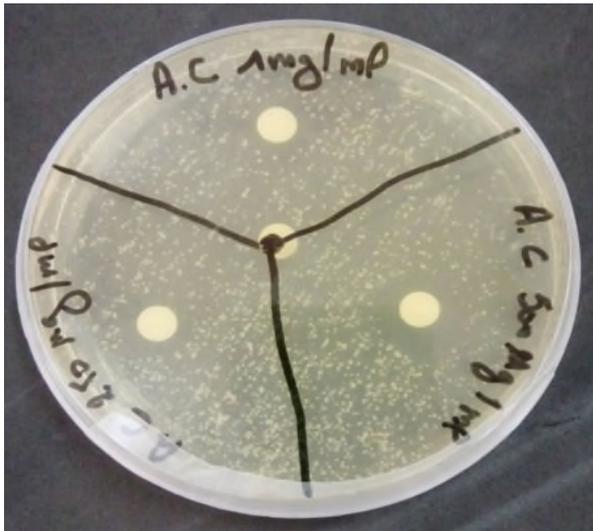


**Figure 10 :** Photographie des zones d'inhibition la croissance de *C. albicans* induites par Fluconazole après 48h d'incubation.

Concernant l'acide caféique, selon les résultats obtenus après 24h d'incubation, des zones d'inhibition ont été observées. La concentration 250 µg/ml donne une zone de 11, et la concentration 500 µg/ml a monté une zone de 14 mm, et la concentration 1000 µg/ml a donné une zone d'inhibition 12 mm (figure 8 et 9) (Tableau V).

**Tableau V** : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique induites par l'acide caféique.

| Concentration de l'acide caféique par disque | 250 µg | 500 µg | 1000 µg |
|--|--------|--------|---------|
| Diamètre de zone d'inhibition par millimètre | 11     | 14     | 12      |



**Figure 11** : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de *C. albicans* induites par l'acide caféique après 24h d'incubation.



**Figure 12** : Photographie des zones d'inhibition de la croissance de *C. albicans* induites par l'acide caféique après 48h d'incubation.

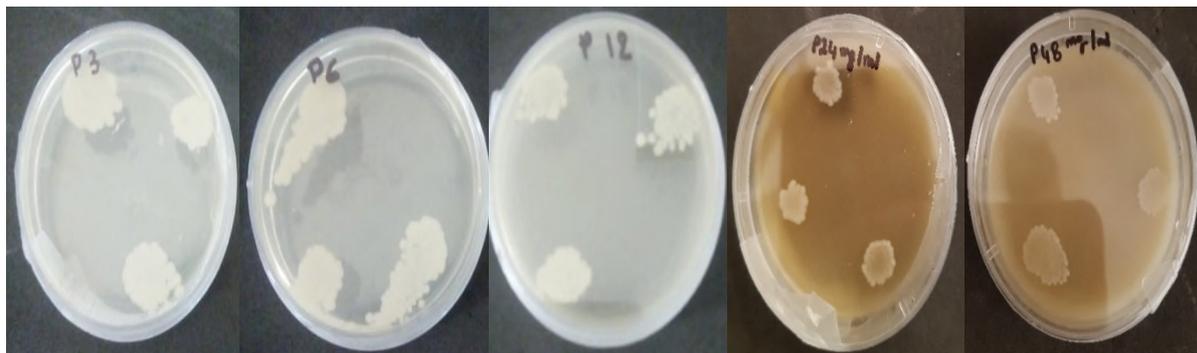
- **Méthode des spots**

Afin d'évaluer l'effet antimicrobien de la pommade réalisée à base de l'extrait éthanolique, et d'un l'excipient (la cire d'abeilles, huile d'oléastre, ainsi que l'huile essentielle) la méthode des spots a été utilisée. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau VI :

**Tableau VI :** Diamètres de la zone de croissance de *C. albicans* après 48h d'incubation.

| Concentrations | Diamètre de la zone de croissance fongique (mm) |           |                 |                  |                   |
|----------------|---|-----------|-----------------|------------------|-------------------|
|                | Pommade   | Excipient | Cire d'abeilles | Huile d'oléastre | Huile essentielle |
| 48mg/ml        | 8   | 9         | 25              | 22               | 20                |
| 24mg/ml        | 9   | 8         | 20              | 20               | 11                |
| 12mg/ml        | 11  | 14        | 10              | 12               | 10                |
| 6mg/ml         | 11  | 16        | 12              | 10               | /                 |
| 3mg/ml         | 13  | 16        | 14              | 15               | /                 |

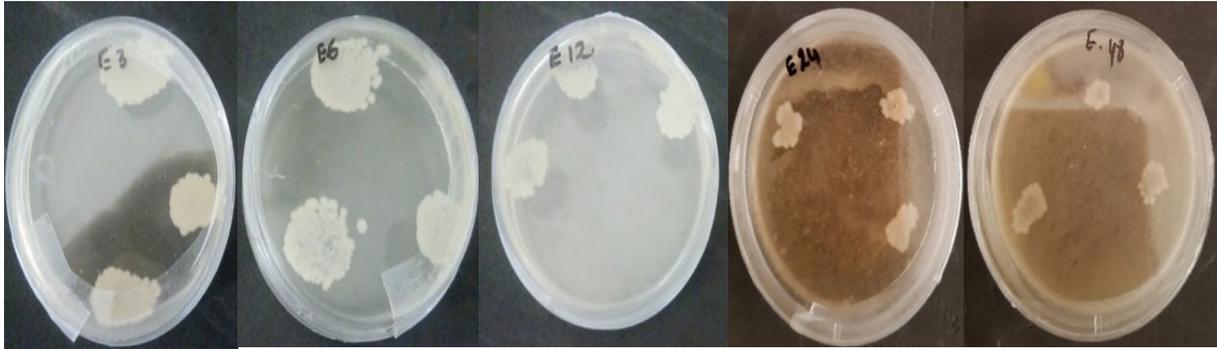
Selon le tableau VI, les résultats montrent que le diamètre de zone de croissance de *C. albicans* obtenu pour la pommade est de 8 mm pour la concentration 48mg/ml, 9mm pour la concentration 24mg/ml, 11 mm pour les deux concentrations 12 et 6mg/ml, et 13 mm pour la concentration 3 mg/ml. Suggérant que l'augmentation de la concentration est inversement proportionnelle aux diamètres de zone de croissance, soulignant ainsi que la pommade a une activité sur *C. albicans* (figure 10).



**Figure 13 :** Photographies des zones de croissance de *C. albicans* induites par la pommade de différentes concentrations (48,24,12,6,3 mg/ml) après incubation de 48h.

Alors que, les résultats obtenus pour l'excipient est de 9 mm pour la concentration 48mg/ml, 8mm pour 24mg/ml, 14 mm pour 12 mg/ml, et de 16 mm pour la concentration 6 et 3 mg/ml. L'excipient montre également que l'augmentation de la concentration est inversement

proportionnelle aux diamètres de zone de croissance, ces résultats soulignent que notre excipient possède une activité sur *C. albicans* (figure 11).



**Figure 14 :** Photographies des zones de croissance de *C. albicans* induites par l'excipient de différentes concentrations (48,24,12,6,3 mg/ml) après incubation de 48h.

Concernant la cire d'abeille les résultats obtenus sont de 25 mm pour la concentration 48 mg/ml, 20 mm pour 24 mg /ml, 10 mm pour 12 mg/ml, 12 mm pour 6 mg/ml, et de 14 mm pour la concentration de 3 mg/ml. D'après ces résultats on suggère que l'augmentation de la concentration est proportionnelle aux diamètres de zone de croissance, déduisant ainsi que les concentrations 3 et 6 mg/ml de la cire d'abeille a une activité sur *C. albicans* (Figure12)



**Figure 15 :** Photographies des zones de croissance de *C. albicans* induites par la cire d'abeille de différentes concentrations (48,24,12,6,3 mg/ml) après incubation de 48h.

Encore pour l'huile d'oléastre les résultats montrent des zones de croissance de la souche *C. albicans* de 22 mm à la concentration 48 mg/ml, 20 mm pour 24 mg/ml, 12 mm pour 12 mg/ml, 10 mm pour 6mg/ml et 15 mm pour mg/ml.

Ces résultats montrent que l'augmentation de la concentration de l'huile essentielle est proportionnelle aux diamètres de zone de croissance. On déduit que l'huile d'oléastre a un effet sur *C. albicans* (Figure 13).



**Figure 16 :** Photographies des zones de croissance de *C. albicans* induite par l'huile d'oléastre de différentes concentrations (48,24,12,6,3 mg/ml) après incubation de 48h.

Selon le tableau VI, les résultats montrent que le diamètre de zone de croissance de *C. albicans* obtenu pour l'huile essentielle est de 20 mm pour la concentration 48 mg/ml, 11 mm pour 24 mg/ml, et de 10 mm pour la concentration 12 mg/ml. Suggérant que l'augmentation de la concentration est proportionnelle aux diamètres de zone de croissance, soulignant ainsi que aussi l'huile essentielle à une activité sur *C. albicans* (Figure14).

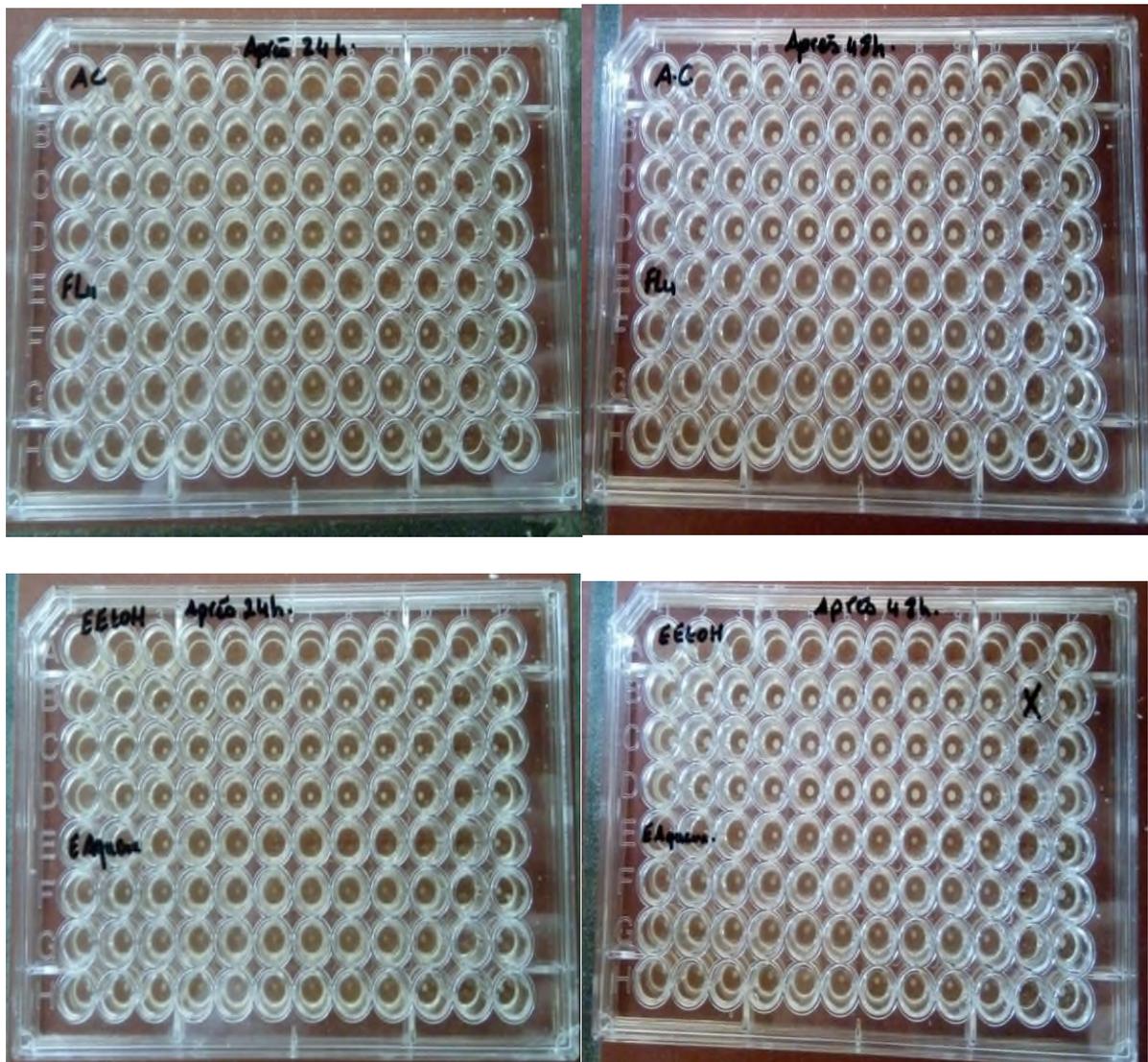


**Figure 17 :** Photographies des zones de croissance de *C. albicans* induite par l'huile essentielle de différentes concentration (48,24,12 mg/ml) après incubation de 48h.

- **Méthode de micro-dilution**

Cet essai a été réalisé afin de mieux définir l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne induite par l'extrait éthanolique, aqueux, l'antifongique « Fluconazole » et l'acide caféique.

Selon l'observation à l'œil nu, la formation des dépôts a été observée, montrant la croissance de *C. albicans* et cela au niveau de la colonne 12 (témoins positif) et au niveau des colonnes testées pour Ac et EE, après 48H le volume de dépôts augmente par contre pour l'Eaq le volume des dépôts reste le même (Figure 15).



**Figure 18** : photographies des microplaques de la micro-dilution de l'antifongique « fluconazole », extrait éthanolique, infusion et l'acide caféique après incubation 24h et après 48h.

Des pourcentages de croissance et d'inhibitions de *C. albicans* en fonction de différentes concentrations des substances testées à savoir l'extrait éthanolique, l'extrait aqueux, l'acide

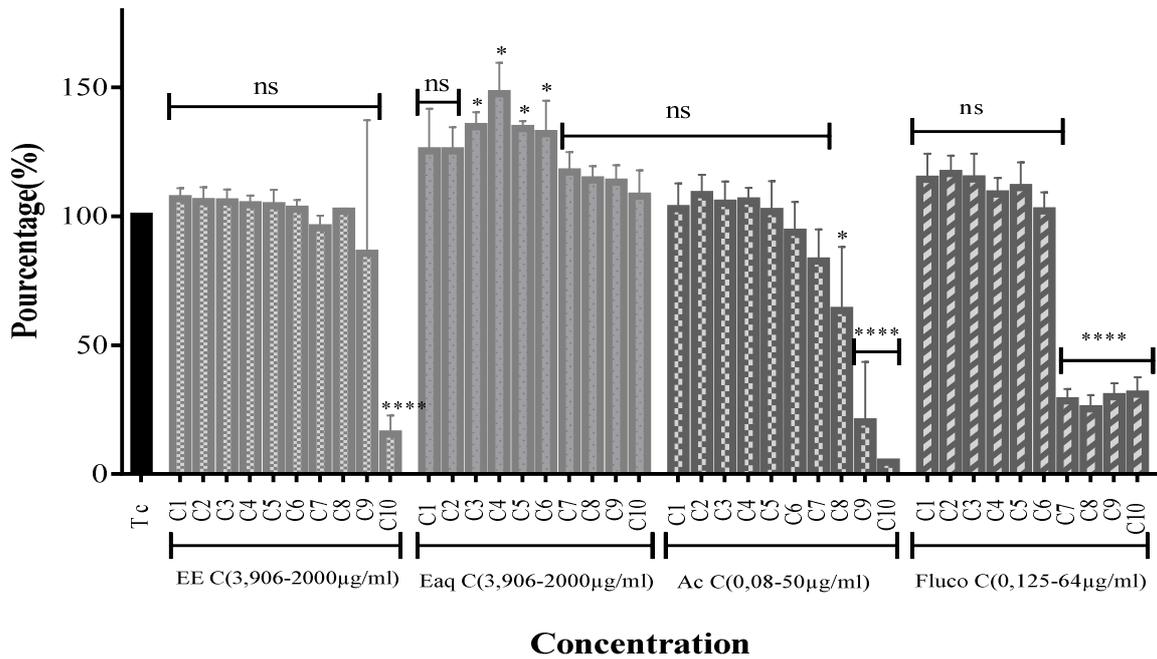
caféique et le fluconazole, ont été calculés, après 24 et 48h heures d'incubation. Et une analyse statistique a été faite avec Graph pad version 06 « ANOVA », (figure16 17 18 et 19).

D'après les résultats obtenus, après 24h d'incubation, l'effet de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* aux concentrations (0,02/ 0,04/ 0,08/ 0,16/ 0,31/ 0,63/ 1 25/ 2,5 5 mg/ml) s'est révélé ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin positif, alors que la concentration (10 mg/ml) a exhibé une différence très hautement significative ( $P < 0,001$ ). Dédusant que la concentration 10 mg/ml possède un effet sur la croissance de *C. albicans*.

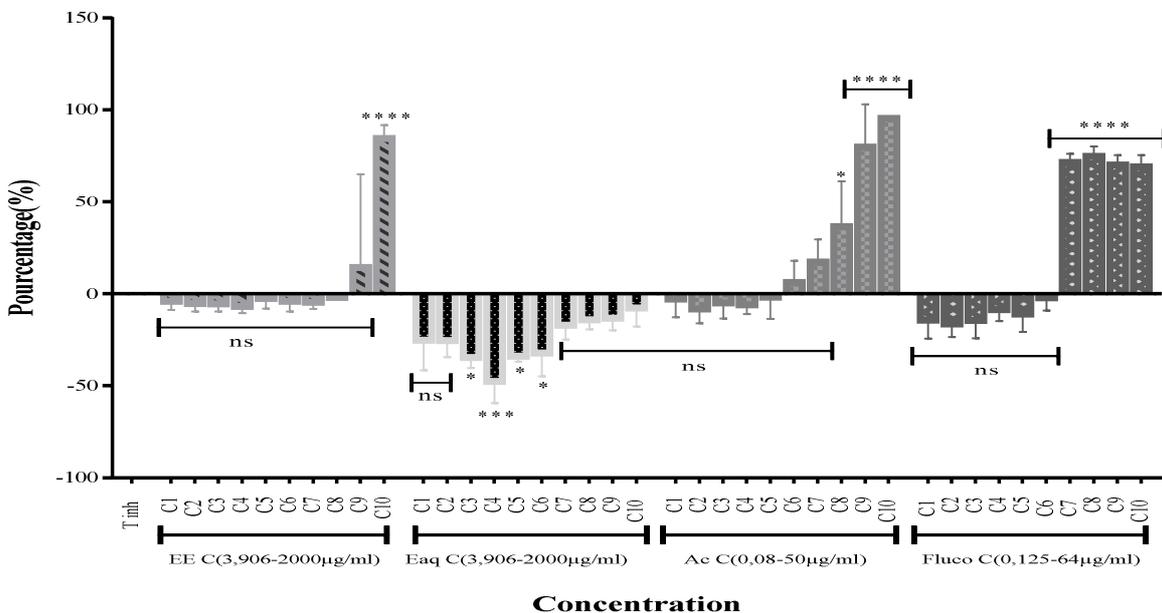
L'effet de l'extrait aqueux de bourgeons de *Populus nigra* aux concentrations (0,08/ 0,16/ 0,31/ 0,63 mg/ml) s'est révélé significatif ( $P < 0,05$ ) par rapport au témoin positif par contre les concentrations (0,02/ 0,04/ 1,25/ 2,5/ 5/ 10 mg/ml) sont non significatifs ( $P > 0,05$ ). Dédusant que l'Eaq de notre plante possède un effet sur la croissance de *C. albicans*.

Par ailleurs, l'effet de standard, acide caféique, à une concentration de 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , a donné une variation significative mais aux concentrations de 25 et 50  $\mu\text{g/ml}$ , cette différence s'est révélée très hautement significative alors que pour les autres concentrations (0,08/ 0,20/ 0,39/ 0,78/ 1,56/ 3,13/ 6,25  $\mu\text{g/ml}$ ) aucune différence statistiquement significative ( $P < 0,05$ ), par rapport au témoin positif n'a été notée.

Concernent l'effet de l'antifongique « fluconazole » testé aux concentrations de 8 ; 16 ; 32 ; et 64  $\mu\text{g/ml}$ , une très haute différence significative ( $P < 0,001$ ), a été notée statistiquement, par rapport au témoin positif. Par contre pour les autres concentrations (0,125/ 0,25/ 0,5/ 1/ 2/ 4  $\mu\text{g/ml}$ ) les pourcentages de croissance s'est révélé non significatif ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin positif. Suggérant que l'augmentation des concentrations des standards, l'acide caféique, et l'antifongique « fluconazole » induit un meilleur effet sur la croissance de *C. albicans*. Retenant de ce fait, que les deux standards ont une activité sur la souche pathogène *C. albicans*.



**Figure 19:** Pourcentages de croissance de *C. albicans* en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, Ac : acide caféique et fluconazole) après 24heures d’incubation.



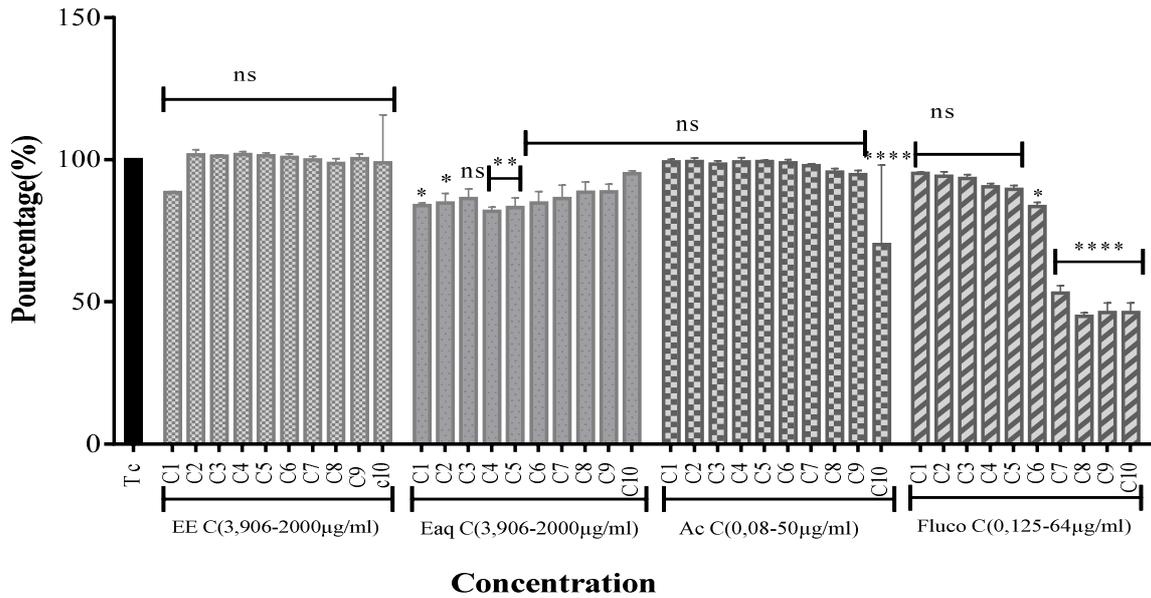
**Figure 20 :** Pourcentages d’inhibition de *C. albicans* en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanolique, Eaq : extrait aqueux, Ac : acide caféique et fluconazole) après 24heures d’incubation.

Par ailleurs, après 48h d'incubation, l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* testé aux concentrations croissantes (0,125/ 0,25/ 0,5/ 1/ 2/ 4/ 8/ 16/ 32 et 64 µg/ml) a enregistré des pourcentages de croissance non significatifs ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin positif. Ce qui indique clairement que notre extrait de notre plante n'a aucun effet sur la croissance de *C. albicans* après 48 heures.

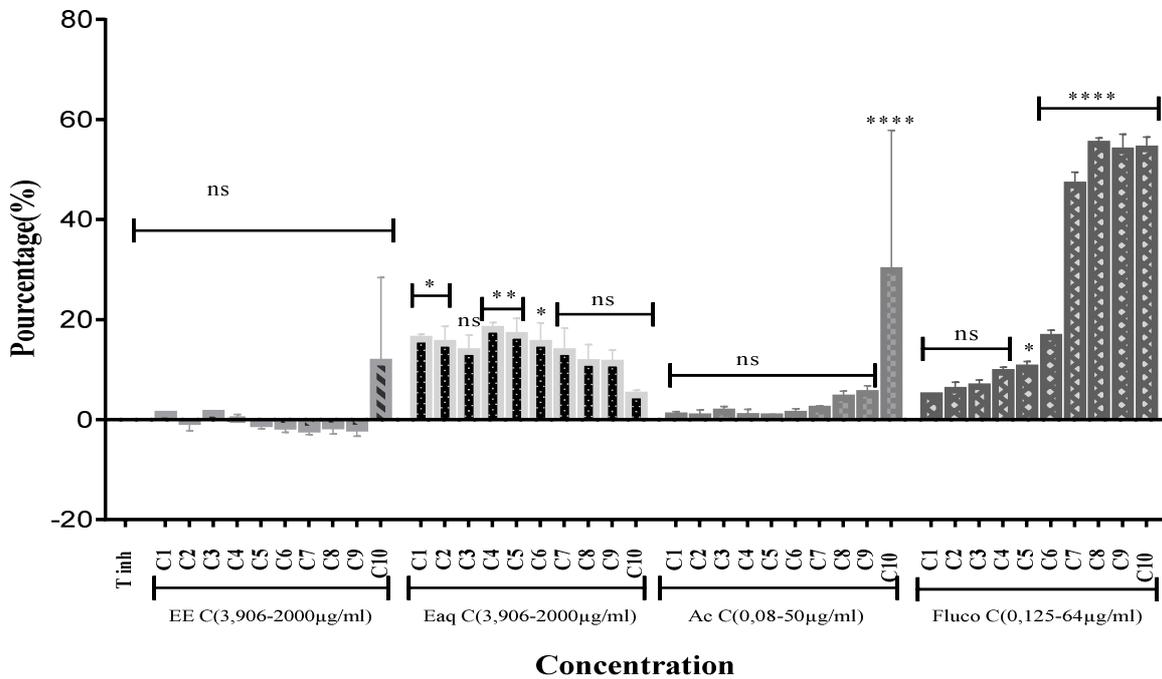
Alors que l'effet antifongique de l'extrait aqueux à de faibles concentrations (0,02 et 0,04 µg/ml) a noté des taux de croissance avec une différence significative. Et hautement significative à des concentrations de 0,16 et 0,31 µg/ml, sans aucune variation significative pour les autres concentrations (0,08/ 0,63/ 1,25/ 2,5/ 5/ 10 µg/ml) ( $P > 0,05$ ) comparativement au témoin positif.

Concernant l'effet de l'acide caféique sur la croissance, il reste le même après 48h. Aux concentrations faibles croissantes (0,08/ 0,20/ 0,39/ 0,78/ 1,56/ 3,13/ 6,25/ 1,25/ 25 µg/ml) la croissance s'est révélée non significative ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin positif, alors que la concentration 50 µg/ml a induit un taux de croissance très hautement significatif. Déduisant que le standard Ac à une concentration de 50 µg/ml, possède une activité sur la croissance de *C. albicans*.

Pour l'effet de fluconazole sur *C. albicans*, aux concentrations faibles (0,125/ 0,25/ 0,5/ 1/ 2 µg/ml), les résultats montrent absence de croissance exhibée par une variation de non significative ( $P > 0,05$ ) par rapport au témoin positif. À partir de la concentration 4 µg/ml la croissance se lance avec une différence significative pour atteindre des taux de croissance hautement significatifs ( $P < 0,01$ ) comparativement au témoin positif à des concentrations plus élevées (8/ 16/ 32/ 64 µg/ml) Ce résultat démontre que l'antifongique a un effet sur la croissance de *C. albicans*.



**Figure 21 :** Pourcentages de croissance de *C. albicans* en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanologique, Eaq : extrait aqueux, Ac : acide caféique et fluconazole) après 48 heures d’incubation.



**Figure 22 :** Pourcentages d’inhibition de *C. albicans* en fonction de concentration des substances testées (EE : extrait éthanologique, Eaq : extrait aqueux, Ac : acide caféique et fluconazole) après 48heures d’incubation.

### **III.2. Discussion**

Dans l'optique de valider l'utilisation des bourgeons de Peuplier noir dans la médecine traditionnelle, l'effet antifongique a été testé.

La préparation des extraits de plantes médicinales est une étape très importante et cruciale, certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance afin de conserver l'efficacité des principes actifs, pour être utilisées immédiatement ou conservées (**Gurib-Fakim, 2006**), et pour les bourgeons de *Populus nigra*, ils ont été récoltés en mois de Mars avant de fleurir où leurs métabolites secondaires soient actifs.

Le séchage des bourgeons de *Populus nigra* a été effectué juste après la récolte, il permet de réduire la teneur en eau afin de limiter les dégâts dus aux enzymes et autres agents biologiques tels que les moisissures et les microbes. Il doit être rapide et dans un endroit bien aéré et à l'abri de la lumière (**Berton, 2001**). Après, la matière séchée peut être conservée pendant 1 à 5 ans dans de bonnes conditions. Au-delà de cette période, leur pouvoir diminue sensiblement et l'action thérapeutique disparaît. C'est pourquoi il faudra assurer le stock des plantes dans de bonnes conditions (**Berton, 2001**).

Par la suite, une étape très importante a été entreprise, il s'agit de l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des bourgeons de *Populus nigra*. Le solvant d'extraction est le paramètre qui conditionne le type d'éléments qui vont être extraits. Si le solvant est polaire, seuls les éléments hydrophiles comme : les sels minéraux, les composés ioniques, les composés organiques polaires et les polyphénols vont s'extraire. À l'inverse, s'il est apolaire, le solvant va extraire les éléments hydrophobes (**Moure et al., 2000**).

Pour cela, nous avons opté pour deux extractions à partir de la poudre des bourgeons de *Populus nigra* : une extraction hydro-éthanolique et une infusion. La poudre était d'un diamètre inférieur ou égale à 64 µm, afin d'augmenter la surface de contact entre la poudre et le solvant permettant ainsi une meilleure libération des principes actifs.

La différence entre les deux solvants réside dans le degré de polarité. L'eau est très polaire, elle permet l'attraction des composés polaires, tandis que l'extraction hydro-éthanolique permet avec une très grande efficacité de mettre en solution les éléments plus ou moins hydrophobes tels que les tanins, les flavonoïdes, les composés phénoliques, les huiles essentielles...etc. Cela est dû au caractère chimique de l'éthanol qui est un solvant polaire ayant une partie apolaire. Le fait d'ajouter une quantité d'eau va augmenter la polarité du solvant et permettre l'extraction

des minéraux de la plante, les sels et la plupart des vitamines hydrophiles mais aussi les composés phénoliques de polarité moyenne (Moure et al., 2000).

Le rendement obtenu est meilleur avec l'extraction hydro-éthanolique (EE 17,544%) que celui de la méthode de l'infusion (Eaq 0,7%). Cela peut être expliqué par les propriétés du solvant utilisé notamment le degré de polarité, la composition et la structure chimique des composés extraits, la richesse des bourgeons en composés polaires (Naczk et Shahidi., 2004), Suggérant également que les bourgeons de *Populus nigra* ont plus riches en composés hydrophobes plutôt qu'en composés hydrophiles.

L'activité antifongique a été évaluée par plusieurs tests. Le test des extraits (éthanolique et aqueux) n'a montré aucun effet antifongique sur la souche *C. albicans*, cela peut être expliqué d'une part, par le problème de diffusion des extraits sur disque, d'autre part par la non concentration des composés bioactifs responsables de cet effet dans les extraits testés.

Par contre les standards (acide caféique et Fluconazole), ont montré un effet antifongique sur cette souche, avec des zones d'inhibition avec un diamètre significatif (11-28 mm).

Le Fluconazole, est l'antifongique le plus couramment prescrit utiliser pour la plupart des infections à *C. albicans*, un membre de la classe des antifongiques azolés (Pfaller et al., 2010), connu pour son effet inhibiteur de la synthèse de l'ergostérol et les échinocandines inhibent la synthèse des 1-3-bêta-glucanes de la paroi cellulaire (Oxaman 2010). Mettant le point sur, le fait que l'antifongique a un effet fongistatique sur cette souche qui est une souche multirésistante. En effet de nombreuses études ont documenté la capacité de Candida à développer une résistance de haut niveau aux antifongiques azolés (Oxaman 2010), les infections causées par *C. albicans* sont associées à des niveaux variables de résistance au fluconazole selon le type d'infection, déduisant qu'après 48h la souche *C. albicans* repousse.

Afin de pousser l'évaluation de l'activité antifongique, une forme pharmacologique qui est la pommade et son excipient, ont été testés par une méthode des spots. La pommade préparée est constituée de l'excipient et l'extrait éthanolique, cet excipient contient de la cire d'abeille, utilisé pour solidifier et cristalliser le mélange, d'huiles (essentielle, oléastre) rajoutées pour homogène le mélange et donner l'odorat à la pommade.

Chaque composé testé a montré un résultat déférent, avec un effet plus remarquable exhibé par la pommade qui a donné plus d'effet par apport à son excipient, ce résultat peut expliquer par la présence de l'extrait des bourgeons de *Populus nigra* dans la pommade et non pas dans

l'excipient, signifiant que notre extrait éthanolique a un effet antifongique sur cette souche *C. albicans*.

Pour l'huile essentielle à faible concentration, elle inhibe la croissance de cette souche, ces résultats sont comparables à ceux de plusieurs rapportés dans la littérature (**Uribe et al. ; 1985 ; da Silva et al., 2008 ; Cleff et al. 2013**).

**Uribe et al. (1985)** qui ont annoncé que les faibles concentrations en huile essentielle ont un effet inhibiteur pour la croissance des souches fongiques. De même, Une récente réalisée par **Cleff et al. (2013)** a démontré un puissant effet inhibiteur de croissance de *Candida spp* par les huiles (thymole et carvacrole) extraites à partir d'*Origanum vulgare*.

De nombreuses huiles essentielles ont été testées pour leur activité antimycosique *in vitro* et certains se sont avérées des agents antifongiques potentiels. Leurs mécanismes d'action ont été décrits principalement sur la membrane cellulaire fongique, perturbant sa structure en provoquant des fuites et la mort cellulaire ; mais aussi en bloquant la synthèse membranaire; l'inhibition de la germination des spores, la prolifération fongique et la respiration cellulaire et cela en raison de leur haute volatilité et leur caractère lipophile, qui leur confèrent la facilité d'attachement et de pénétration dans la membrane cellulaire pour exercer leur effet antifongique (**da Silva et al., 2008**).

La méthode de micro-dilution appliquée dans cette étude, est une méthode plus simple et plus économique que la méthode de macro-dilution au bouillon. Elle est maintenant considérée comme la méthode internationale de test de sensibilité de référence (**Schwalbe et al., 2007**). Cette technique repose sur l'utilisation d'un émulsifiant ou un solvant dans le milieu d'essai pour assurer le contact entre les microorganismes d'essai et l'agent pour la durée de l'expérience. Les agents les plus utilisés sont le tween 80. Après 24-48h d'incubation, la mesure de la turbidité peut être déterminée visuellement, ou par spectrophotométrie (**Wilkinson, 2006 ; Elshikh et al., 2016**).

Ce test consiste à évaluer la CMI (concentration minimale inhibitrice) pour calculer les pourcentages de croissance et d'inhibition des substances testées (EE, Eaq, Ac, Fluco) sur la souche *C. albicans*.

Après l'analyse statistique des résultats obtenus (figure n°16,17,18,19), les standards testés à savoir l'acide caféique et l'antifongique (Fluco) ont donné des meilleurs résultats par apport aux extraits (EE, Eaq) après 24h et 48h d'incubation. Ces deux standards (Ac et Fluco) ont

inhibé la croissance de *C. albicans* à des grandes concentrations, soulignant un effet antifongique sur cette souche après 24h et 48h. Pour l'Ac une diminution de son effet antifongique a été notée après 48h expliqué par l'effet fongistatique de se standard et par la multirésistante de cette souche.

Par ailleurs, les résultats obtenus pour les deux extraits testés (EE, Eaq) ont montré que l'EE a donné une inhibition de croissance de cette souche à des concentrations élevées après 24h sans aucun effet inhibiteur après 48h, cela peut être expliqué par la résistance de cette souche et par l'effet fongistatique de l'extrait l'EE des bourgeons de *Populus nigra*. Par contre, l'extrait Eaq des bourgeons de *Populus nigra*, a exhibé les meilleurs résultats par rapport à l'extrait EE après 24h et 48h. Il a induit une inhibition de croissance de cette souche à de faibles concentrations (0,02 ;0,04,0,08 ;0,16 ;0,31 ;0,63 mg/ml), cette différence de résultats exhibée par nos extraits est peut-être due au facteur de polarité et la nature des composés de l'Eaq qui diffusent plus que ceux de l'extrait 'EE, déduisant que l'extrait aqueux a un effet antifongique contre la souche *C. albicans*.

Il est connu que cette plante est très riche en composés phénoliques, les études menées par plusieurs groupes de chercheurs (**Dudonné et al.,2010 ; Debbache et al.,2013 ; Kis , 2020**), ont montré que *Populus nigra* précisément les bourgeons ont une grande variété de composés phénoliques tels que les acides phénoliques (acide caféique, acide férulique et leurs dérivés ...etc.), les phénylpropanoïdes les flavonoïdes ((flavones : apigénole et crysine), flavanones , pinocembrine et pinostrombine)) mais aussi des terpénoïdes (monoet sesquiterpénoïdes) ..etc., qui sont probablement, responsables de cet effet antifongique noté le long de cette étude.

De multiples études bibliographiques et expérimentales *in vitro* et *in vivo* se sont focalisées, ces dernières années, sur l'intérêt des thérapies alternatives par l'utilisation des extraits de plantes riches en polyphénols, dans la thérapie antifongique. Ainsi les études relation entre activité antifongique – structure activité des composés phénoliques ont été rapportées afin de mieux comprendre les mécanismes d'action antifongique des substances bioactives (**Teodoro et al., 2015 ; Sun et al., 2017 ; Simonetti et al., 2020**).

En effet, L'acide caféique et ses dérivés ont été révélés comme de puissants agents fongicides contre *C. albicans*, soit isolés (**Teodoro et al., 2015 ; Simonetti et al.,2020**) soit en association avec le fluconazole (**Sardi et al., 2016 ; Sun et al., 2017**). (**Simonetti et al. 2020**) ont signalé que l'acide caféique inhibe l'enzyme isocitrate lyase qui est l'une des enzymes clés du cycle du glyoxylate considérée comme un facteur de virulence important pour *C. albicans*. Ils ont aussi

rapporté que l'ajout de 2 à 8 atomes de carbone dans la molécule d'acide caféique induit l'augmentation de son activité anti-Candida. Aussi, parmi les composés synthétisés, le carbone C3 a montré une meilleure activité par rapport avec d'autres dérivés de l'acide caféique (C4 et C6), montrant à de faibles concentrations une activité fongicides contre la plupart des souches. D'autre part, le dérivé méthylé de l'acide caféique isolé de la plante *Solanum torvum* a montré une activité antifongique contre *C. albicans* et *Aspergillus flavus*. Simonetti et ses collaborateurs dans une autre étude ont démontré une corrélation significative entre l'activité anti-Candida et la teneur en flavan-3-ols, avec un degré de polymérisation 4. Certains auteurs ont rapporté le mécanisme de l'activité antifongique des stilbènes, tels que le ptérostilbène et resvératrol. L'activité du ptérostilbène était liée à la régulation négative de la voie Ras/AMPC et la biosynthèse de l'ergostérol chez *C. albicans* (Simonetti et al., 2020).

Aussi, il a été démontré que le resvératrol est un inducteur de l'apoptose chez le champignon pathogène humain *C. albicans* en activant la métacaspase et en favorisant la libération du cytochrome c. Par ailleurs, d'autres auteurs ont rapporté l'activité antimicrobienne de épigallocatechine-3-gallate (EGCG). Et cela par divers mécanismes antifongiques à savoir, la réduction de la biosynthèse de l'ergostérol qui est corrélée à l'inhibition des voies du folate et l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol. Ce dernier est, la cible des deux acides galliques et quercitrine. En particulier, l'acide gallique qui réduit l'activité du stérol 14 – déméthylaseP450 (CYP51) et la squalène époxydase chez *C. albicans*, alors que la quercétine réduisait l'expression de l'ERG6 chez *T. rubrum*. Aussi, la trans-chalcones et la quercétine ont pu baisser l'expression du gène de la synthase des acides gras et réduire la teneur en ergostérol chez le dermatophyte pathogène humain.

Les pro anthocyanidines se sont avérées capables de réduire les propriétés d'adhérence de *C. albicans* en atténuant la réponse inflammatoire, interférant avec l'activation de NF-B p65 et la phosphorylation de kinases intracellulaires (Simonetti et al., 2020).

L'ensemble des résultats obtenus peuvent être justifiés par la richesse des extraits de *Populus nigra* en composés phénoliques qui chaque élément exerce un effet antifongique seul en synergie avec d'autres composés via des mécanismes d'action antifongiques contre la souche étudié *C. albicans*. Appuyant de ce fait les rapports de **Dudonné et al. (2010)** ; **Debbache et al. (2013)** ; **Debbache et al. (2018)** ; **Kis (2020)**, qui ont suggéré que la plupart des activités biologiques et pharmacologiques des bourgeons de *Populus nigra L*, notamment l'activité antifongique sont en relation avec cette diversité et richesse en métabolites secondaires.



## **Conclusion et perspectives**

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus pour leur propriété thérapeutique. Dans le but d'évaluer l'activité antifongique (*Candida albicans*) des extraits d'une plante, nous avons sélectionné les bourgeons de Peuplier noir (*Populus Nigra*), une plante médicinale locale largement utilisée dans la médecine traditionnelle.

Les résultats de la méthode de diffusion sur gélose qui consiste à tester les deux extraits éthanolique et aqueux, l'antifongique « fluconazole » et un standard « acide caféique » ont révélé que ce dernier est le seul qui a donné un effet sur *C. albicans* alors que l'antifongique a montré un effet fongistatique suggérant que la prolifération de *C. albicans* est inhibée mais n'est pas tuée annonçant de ce fait que notre souche est multirésistante.

Par la suite, afin de mieux évaluer l'effet antifongique par les bourgeons de *Populus nigra*, la méthode des spots a été utilisée sur une forme pharmacologique « pommade » composé d'un excipient (huile essentielle, huile d'oléastre, cire d'abeille) et de l'extrait éthanolique. Les résultats ont montré que la pommade à base de l'extrait éthanolique des bourgeons de *Populus nigra* qui a donné un meilleur effet sur *C. albicans*.

Enfin la méthode de micro-dilution sur microplaque a été réalisée afin de mieux définir l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne induite par l'extraite éthanolique et aqueux, par l'antifongique « fluconazole » et par l'acide caféique. Le fluconazole s'est marqué par une meilleure activité inhibitrice sur *C. albicans*.

L'ensemble de ces résultats obtenus n'est qu'une étape préliminaire dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement actives. D'autres études sont souhaitables, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antifongiques des extraits de cette plante. Et cela par des études complémentaires approfondies à travers, un isolement, une identification suivie d'une caractérisation fine des composés bioactives responsables de cet effet, en vue d'établir une relation structure-activité et cerner les interactions moléculaires des extraits testés de notre plante envers leur cible *C. albicans*. Par la suite, tester l'effet de ces molécules bioactives isolées seules en en association avec d'autres agents antifongiques afin d'améliorer l'efficacité, la puissance, la sécurité, la tolérance et de réduire les coûts de production des antifongiques et les effets secondaires, par conséquent remédier aux problèmes du développement d'une résistance et une durée de traitement potentiellement plus courte.

## *Conclusion et perspectives*

Il serait intéressant de tester, aussi, d'autres méthodes d'évaluation antifongique comme la méthode de micro-dilution sur microplaque avec la résazurine, afin de mesurer la viabilité cellulaire.

Etablir d'autres formules pharmacologiques à base des extraits de notre plante et tester leur activité antifongique par diverses méthodes sur cette souche ou bien d'autres souches...etc.

**Références bibliographiques**

**A**

**Ackah, J. ; Auguste, A-B. ; Kra Adou-Koffi, M. ; ZIRIHI G-N. ; Guede- Guina, F. ; (2008).** Évaluation et essais d’optimisations de l’activité anti-candidosique de *Termina liacatappa* linn (tekam3), un extrait de combretaceae de la pharmacopée ivoirienne. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 77 : 120 – 136.

**B**

**Beloued, A. ; (2001).** Plantes médicinales d’Algérie. 5éme éd. Alger : Office des publications universitaires. P. 162.

**Benabdalla, R., Frikha, D. ; Maalej, S. ; Sassi, S. ; (2019).** Évaluation in vitro de l’activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines in vitro. : Laboratoire des Biotechnologies Végétales Appliquées à l’Amélioration des Cultures, Faculté des Sciences de Sfax -Tunisie. 31 : 38-44

**Berton, H. ; (2001).** Sorcellerie en Auvergne : Sorciers, guérisseurs, médecine magiques et traditionnelles. Editions De Borée (Clermont-Ferrand), France : 28

**Boucharaet, P. ; Jardel, P. ; Osadoi, S. ; Bodard, A-G. ; Gangneux, J-P. ; Scotté, F. ; Sliho, S. ; Bensadoun, R-J. ; (2011).** Candidoses oropharyngées en oncologie : enjeux diagnostiques : Oropharyngeal candidiasis in oncology : à diagnostic challenge. Oncologie 13: 311–316.

**Borris, R-P.; (1996).** Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. Journal of ethnopharmacology 51, 29-38.

**Boumghar, N.; Behidj, N.; Ksouri, R.; (2019).** Antimicrobial and anti-biofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *Populus alba* buds (Algeria). Braz. J. Pharm. Sci,55 : e18114.

**Bustamante, J-N. ; Mahlaoui, N. ; Casanova, J-L. ; Blanche, S. ; (2011).** Infections fongiques et déficits immunitaires héréditaires. Arch Pédiat, 18 : S8–S14

**C**

**Calixto, J.; (2000).** Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 33, 179-189.

**Chabrier, J-Y.; (2010).** Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

**Chatterjee, SH. ; Trilles, R. ; Xiel, J-L ; Damian, J. ; Krysan, D-J ; Lindquist, S. ; John A. ; PorcoJr, J-A. ; UtpalTatu, U. ; Brown, L-E. ; Pizarro, J. ; Cowen1, L-E. ; (2019).** Structural basis for species-selective targeting of Hsp90 in a pathogenic fungus, *Nature communication*. 10 :402

**Carle, S. ; (2003).** Les antifongiques dans le traitement des infections invasives. *Pharmactuel*, 36(1).

**D**

**Dadar, M.; Tiwari, R.; Karthik, K.; Chakraborty, S.; Shahalia, Y.; Dhamae, K.; (2018).** *Candida albicans* - biology, molecular characterization, pathogenicity, and advances in diagnosis and control – An Update.

**Daira, N. ; Maazi, M-C. ; Chefrou, A. ; (2016).** Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoide sverticillata* Desf-Briq-) de l'Est Algérien. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 276-290.

**Debbache-Benaida, N.; Atmani-Kilani, D.; Schini-Keirth, V-B.; Djebbli, N.; Atmani, D.; Shahwar, D.; (2013).** Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3, 697–704.

**Debbache-Benaida, N.; Atmani, D.; Atmani, D.; (2014).** Chemical analysis and biological activities of *Populus nigra*, flowerbuds extracts as source of propolis in Algeria. *Ind. Crop. Prod.*, 53 : 85–92.

**Dudonné, S. ; Poupard, P. ; Coutière, P. ; Woillez, M. ; Richard, T. ; Mérillon, J-M. ; Vitrac, X. ; (2011).** Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Poplar Bud (*Populus nigra*) Extract: Individual Antioxidant Contribution of Phenolics and Transcriptional Effect on Skin A ging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(9), 4527–4536.

**Dahmani, S.; Chabir, R.; Errachidi, F.; Berrada, W.; Lansari, H.; Benidir, M.; El Ghadraoui, L.; Bour, A.;**(2020). Evaluation of in vivo woundhealing activity of Moroccan Citrus reticulata peel extract. *Clinical Phytoscience*, 6: 78.

**Duval, P. ;** (1996). Les étudiants lillois aux XVe-XVIe siècles. *Revue du Nord*, 78(316), 441-46

## E

**Edeoga, H-O. ; Okwu D-E. ; Mbeabie, B-O. ;** (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medical plants. *African Journal of Biotechnology*, 4(7), 685-688.

**El-Kirat-Chatel. ;**(2010). Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions *Candida* – phagocytes ; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez *C. lusitaniae*. These de doctorat en Sciences, Technologie, Santé.

**Européenne, P. ;** (2005). Pharmacopée Européenne. Vème édition, Strasbourg, Germany.

## F

**Fournier, P-V. ;** (2010). Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Paris: Omnibus. P. 750-752.

**Fu, Y.; Ibrahim, A-S.; Sheppard, D-C.; Chen, Y-C., French, S-W.; Cutler, J. E.; Edwards, J-E.;** (2002). *Candida albicans* Als1p: an adhesin that is a downstream effector of the EFG1 filamentation pathway. *Molecular microbiology*, 44(1), 61-72.

**Funatogawa, A. ; Hayashi, S. ; Shimomura, H. ; Yoshida, T. ;**(2004). Antibacterial activity of hydrolysable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter Pylori*. *Microbiol. Immunol*, 48, 251-261.

## G

**Garnaud, C. ; Comet, M. ;** (2020). Membrane et paroi fongiques : des rôles clés dans la résistance aux antifongiques. *Revue francophone des laboratoires*, 519 : 50-58.

**Gazengel, J-M.; Orecchioni, A-M.;** (1999). Le préparateur en pharmacie. Guide théorique et pratique. 2ème.

**Garnier, F. ;** (2003). Antifongiques : Classes thérapeutiques, mécanismes d'action, problèmes de résistance Antibiotiques, 5(1), 39-48.

**Goetz, P. ; (2011).** Phytothérapie de l'inflammation (partie I). Phytothérapie 9 : 310317.

**Guardabassi, L.; Courvalin.; (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. American Society of Microbiology. 1-1.

**Guillot, J. ; Dannaoui, E. ; (2016).** La résistance aux antifongiques : importance en médecine humaine et vétérinaire. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France, (4),314.

**Gurib-Fakim A.; (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine. 27: 1-93.

## **H**

**Häne, K.; Dobbertin, M-K.; (2006).** Le peuplier noir : un géant aux pieds d'argile. Echos de la recherche, 28-29.

**Hir, H. ; (2001).** Pharmacie galénique – bonne pratique de fabrication des médicaments, coll. Abrégés, 8<sup>ème</sup> édition, Ed. Masson.

## **I**

**Iserin, P. ; Masson, M. ; Restillini, J. ; (2001).** Larousse des plantes médicinales, identification. Préparation et. Jean, B., 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)

## **J**

**Jerkovic, I.; and Mastelic, J.; (2002).** Volatile compounds from leaf-buds of *Populus nigra L.* (Salicaceae). Phytochemistry, 63: 109-113

## **K**

**Kabir, M-A.; Hussain, M-A.; Ahmad, Z.; (2012).** *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. ISRN Microbiology, 2012, 1–15.

**Kis, B.; Ayram, S.; Pavel, I-Z.; Lombrea, A. Buda, V. Dehelean, C-A.; Soica, C.; Yerer, M-B.; Bojin, F.; Folescu, R.; Danciu, C.; (2020).** Recent Advances Regarding the Phytochemical and Therapeutic Uses of *Populus nigra L.* Buds: Plants 9: 1464.

**L**

**Lardry, J-M.; Haberkorn, V.; (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinésithérapie, la revue 7, 14-17.

**Lavoisier. ; Jollois, R. ; Péroël, D. ; Franchomme, P. ; Mars, J. ; (2001).** L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Jollois.

**Lee, J-A.; Chee, H-Y. (2010).** In Vitro Antifungal Activity of Equol against *Candida albicans*. Mycobiology, 38(4), 328.

**M**

**Mahdy H O.; (2005).** Medicinal plante for the prevention and treatment of bacterial infection. Current Pharmaceutical Desing, 1, 2405-2427.

**Marlete, B-C.; Isabel, M.; Ana, R. M.; Maacute rio, C. A; jo M.; Joatilde, O-R-B.; De M.; Maria, R-R.; Jesuacute, S-J-H.; (2013).** Essential oils against *Candida spp*: in vitro antifungal activity of *Origanum vulgare*. African Journal of Microbiology Research, 7(20), 2245–2250.

**Marnotte, P.; Carrara, A.; Dominati, E.; Girardot, F.; (2006).** Plantes des rizières de camargue. France. ISBN Cirad, 2-876714-621-5.

**Marr, K-A.; C-N.; Lyons, T-R.; Rustad, R-A.; Bowden.; White, T-C.; (1998).** Rapid, transient fluconazole resistance in *Candida albicans* is associated within creased mRNA levels of CDR. Antimicrob Agents Chemother. 42 :2584-9

**Mayer, F. L.; Wilson, D.; Hube, B.; (2013).** *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. Virulence, 4(2), 119-128.

**Merchache, D. ; Boucherit-Otmani, Z. ; El hasi I. ; Merchache S. ; Chikhi I. ; Boucherit K. ; (2018).** Antioxydant and antimicrobial activities of Algerian *Populus nigra L.* International Journal of Biomedical Engineering, 1, No. 1.

**Merghache, D.; Boucherit-Otmani, Z.; El Haci, I.; Merghache, S.; Chikhi, I.; Boucherit, K. (2016).** Antioxidant and Antimicrobial Activities of Algerian *Populus Nigra L.* Buds Extracts. Biosci. Eng. Int. J, 3: 1–8.

**Mc Dermott, PF.; Walker RD. (2003).** Antimicrobials: modes of action and mechanisms of resistance. *International journal of toxicology*, 22(2) :135143.

**Mohr, J.; Johnson, M.; Cooper, T.; Lewis, J.S.; et Ostrosky-Zeichner, L.; (2008).** Current options in antifungal pharmacotherapy. *Pharmacotherapy* 28: 614-645.

**Motsei, L.; L'indzey, K-L.; Jager, A-K.; Van-staden, J.; (2003).** Screening of traditionally used South African medicinal plants against *Candida albicans*. *Journal of Ethnopharmacology* 86, 235-241.

**Moure, A. ; Franco, D. ; Sineiro, J. ; Dominguez, H. ; Nunez, M-J. ; Lema, J-M. ; (2000).** Evaluation of extracts from *Gevuinaaave llanahulls* as antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 3890-3997.

#### N

**Naczk, M.; Shahidi, F.; (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*. 1054: 95-111.

#### O

**Odds, F.; Rinaldi, M.; Cooper, C-J.; Fothergill, A.; Pasarell L.; Mcginnis M.; (1997).** *Candida* and *Torulopsis*: à blinded evaluation of use of pseudohypha formation as basis for identification of medically important yeasts. *J C M*, 35: 313-316.

**Oxman, D-A.; Chow, J-K.; Frenzl, G.; Hadley, S.; Hershkovitz, S.; Ireland, P.; et al.; (2010).** *Candida emia* associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern? *J. Antimicrob. Chemother.*

#### P

**Pammi, M.; Holland, L.; Butler, G.; Gacser, A.; Bliss, J-M.; (2013).** *Candida parapsilosis* a significant neonatal pathogen: à systematic review and meta-analysis. *The Pediatric infectious disease journal*, 32(5), e206.

**Pappas, P-G., Rex, J-H.; Sobel, J-D.; Filler, S-G.; Dismukes, W-E.; Walsh, T-J.; et Edwards, J-E.; (2004).** Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 38: 161-189.

**Pebret, F.; (2003).** *Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*. Heures de France. p. 127.

**Pfaller, M-A. ; Diekema, D-J. ; Gibbs, D-L. ; Newell, V-A. ; Ellis, D. ; Tullio, V. ; et al. ; (2010).** Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* Species to fluconazole and voriconazole as determined by CLSI standardized disk diffusion. *J. Clin. Microbiol.* 48, 1366–1377.

**Plaper, A.; Golob, M.; Hafner, I.; Oblak, M.; Šolmajer, T.; Jerala, R.; (2003).** Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306(2), 530–536.

Pharmacopée européenne X<sup>ème</sup> édition.

Pharmacopée Européenne 8<sup>ème</sup> édition, 2014.

## Q

**Quezel, P. ; Santa, S. ; (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, ED : N.R.S., 1170.

## R

**Rogers, T-R.; (2006).** Antifungal drug resistance: limited data, dramatic impact? *Int J Antimicrob Agents.* 27 :7-11.

## S

**Sardi, J. de C-O. ; Gullo, F-P. ; Freires, I-A., Pitangui, N-S. ; Segalla, M-P. ; Fusco-Almeida, A-M. ; ... Mendes-Giannini, M-J-S. ; (2016).** Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida spp.* *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 86(4), 387–391.

**Segretain, G-E. ; Drouhet, F. ; Mariat. ; (1987).** ; Diagnostic de laboratoire en mycologie médicale 5<sup>ème</sup> édition., Maloine ed, Paris.

**Siler, B.; Skoric, M.; Misic, D.; Kovacevic, B.; Jelic, M.; Patenkovic, A.; Novicic, Z-K.; (2014).** Variability of European Black Poplar (*Populus nigra* L.) in the Danube Basin. *Novi Sad.* 9-28.

**Silva, C-B.; Guterres, S-S.; Weisheimer, V.; Schapoval, E-E-S.; (2008).** Antifungal activity of the lemongrass oil and citral against *Candida spp.* *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12(1).

**Simonetti, G.; Brasili, E.; Pasqua, G.; (2020).** Antifungal Activity of Phenolic and Polyphenolic Compounds from Different Matrices of *Vitis vinifera* L. against Human Pathogens. *Molecules*, 25(16), 3748.

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

**Sun, L.; Liao, K.; Hang, C.; (2018).** Caffeic acid phenethyl ester synergistically enhances the antifungal activity of fluconazole against resistant *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 40, 55–58.

**Sun, Y.; Shang D.; (2015).** Inhibitory effects of Antimicrobial Peptides on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2015 :167572.

## T

**Taieb, F., Mechaï, F.; Lefort, A.; Lanternier F.; Bougnoux M-E.; Lortholary, O.;(2011).** Management of candidemia and invasive candidiasis, *La Rev de Méd Int.*, 32: 173–180.

**Tang, L-I.; Ling, A-P.; Koh, R-Y.; Chye, S-M., &Voon, K-G.; (2012).** Screening of anti-dengue activity in methanolic extracts of medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-10.

**Taguri, T.; Tanaka, T.; Kouno, I.; (2006).** Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending uponhydroxy phenyl structure. *Biol Pharm Bull*, 29(11), 2226— 2235.

**Tortorano, A-M-C.; Kibbler, J.; Peman, H.; Bernhardt, L.; Klingspor, R.; Grillot.; (2006).** *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 27 :35966.

**Teodoro, G-R.; Ellepola, K.; Seneviratne, C-J.; Koga-Ito, C-Y.; (2015).** Potential Use of PhenolicAcids as Anti-*Candida* Agents: A Review. *Frontiers in Microbiology*, 6.

## U

**Uribes.; Ramirez, T.; Pena A.; (1985).** Effects of B. pinene on yeast membrane functions. *Journal of Bacteriology*, pp1195-1200

## V

**Viguie-Vallanet, C. ; (2001).** Traitements antifongiques en dermatologie- Encyclopédie Médico-Chirurgical Dermatologie, 98-906-A-10, 1-16.

**W**

**Whaley, S-G.; Berkow, E-L.; Rybak, J-M.; Nishimoto, A-T.; Barker, K-S.; Rogers, P-D.; (2017).** Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans* *Candida* Species. *Frontiers in Microbiology*, 7.

**Warnock D-W.; (2007).** Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 48: 1-12.

**White, T-C.; Marr, K-A.; Bowden, R-A.; (1998).** Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 11 :382-402

**Whitesell, L.; Robbins, N.; Huang, D-S.; McLellan, C-A.; Shekhar-Guturja, T.; Le Blanc, E-V.; Nation, L-C-S.; Hui, R.; Hutchinson, A.; Cathy Collins, C.; Sharanya Chatterjee, SH.; Trilles, R.; Xie, J-L.; Damian, J.; Krysan, D-J.; Lindquist, S.; John A.; Porco Jr, J-A.; Utpal Tatu, U.; Brown, L-E.; Pizarro, J.; Cowen, L-E.; (2019).** Structural basis for species-selective targeting of Hsp90 in a pathogenic fungus, *Nature communication*. 10 :402

**Y**

**Ying, Y.; Zhang, J.; Huang, S-B.; Liu, F-D.; Liu, J-H., Zhang, J.; (2015).** Fluconazole susceptibility of 3,056 clinical isolates of *Candida* species from 2005 to 2009 in a tertiary-care hospital. *Indian J. Med. Microbiol.* 33, 413–415.

**Z**

**Zhong, L.; Zhou, L.; Zhou, Y.; Chen, Y.; Sui, P.; Wang, J.; Mangan, W.; (2012).** Antimicrobial flavonoids from the twigs of *Populus nigra* × *Populus deltoides*. *Natural Product Research*, 26, No.4. 307-313

## Résumé

Les extraits des plantes médicinales sont des substances naturelles ayant une activité intéressante, envers les microorganismes responsables de différentes infections. C'est dans ce contexte, nous nous sommes intéressés, dans cette étude, à évaluer l'activité antifongique de l'extraits éthanolique (EE) et aqueux (Eaq) préparés à partir des bourgeons de *Populus nigra* envers une souche pathogène humain *candida albicans*.

L'évaluation du pouvoir antifongique de l'EE et Eaq par la méthode de diffusion dans un milieu solide a montré que les deux extraits n'ont aucune activité sur notre souche par cette méthode. Comparativement à l'antifongique, fluconazole, qui a noté un effet fongistatique sur *C. Albicans*. Par ailleurs, l'acide caféique (Ac) s'est révélé la seule substance qui a donné une activité sur notre souche par cette méthode de diffusion sur disque. Aussi, par la méthode des spots, la pommade préparée à base d'un excipient et l'EE a montré une activité antifongique sur *C. albicans*. Alors que notre extrait éthanolique testé par la méthode micro-dilution montre un effet moins comparativement aux substances testées (l'Eaq, Ac et fluconazole) qui ont marqué une meilleure activité inhibitrice sur *C. albicans*.

**Mots clé :** *C. albicans*, *Populus nigra*, activité antifongique,

## Abstract

Extracts of medicinal plants are natural substances with interesting activity towards microorganisms responsible for different infections. In this context, we were interested in this study to evaluate the antifungal activity of ethanolic (EE) and aqueous (Eaq) extracts prepared from *Populus nigra* buds towards a human pathogenic strain *candida albicans*.

The evaluation of the antifungal power of EE and Eaq by the diffusion method in a solid medium showed that both extracts have no activity on our strain by this method. Compared to the antifungal agent, fluconazole, which showed a fungistatic effect on *C. albicans*. On the other hand, caffeic acid (Ac) was found to be the only substance that gave activity on our strain by this disc diffusion method. Also, by spot method, the ointment prepared on the basis of excipient and EA showed antifungal activity on *C. albicans*. While our ethanolic extract tested by micro-dilution method shows less effect compared to the tested substances (Eaq, Ac and fluconazole) which marked better inhibitory activity on *C. albicans*.

**Key words:** *C. albicans*, *Populus nigra*, antifungal activity.