



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



Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Et Sciences de la Terre et de l'Univers

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

*Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'environnement*
« LAMAABE »

MEMOIRE

Présenté par

MESSAOUDI ASMA

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie fondamentale

Thème

Activité antifongique et antibactérienne de quelques huiles essentielles

Soutenu publiquement, le **06/06 / 2024**, devant le jury composé de :

Présidente	HASSAINE H.	Pr	Université Tlemcen
Encadrante	MKEDDER I.	MCA	Université Tlemcen
Examinatrice	BELLIFA S.	MCA	Université Tlemcen

Année universitaire 2023-2024

Remerciements

*Je tiens tout d'abord à remercier et en premier lieux **ALLAH**, le tout puissant et miséricordieux qui m'a donné la force, la volonté et le courage pour mener à bonne fin ce travail.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement « **LAMAABE** » de l'Université AbouBekrBelkaid sous la direction de **Mr REBIAHI Sid Ahmed** Professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekrBelkaid-Tlemcen,*

*Je voudrai dans un premier temps adresser mes profonds remerciements à, mon encadreur de mémoire **Mme MKEDDER Ilham** pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter mes réflexions.*

*Je remercie également **Mme Pr HASSAINE Hafida** d'avoir Accepter de présider le jury de mon travail, c'est également un grand honneur pour moi d'être jugé par vous.*

*Je tiens à exprimer notre reconnaissance envers **Mme Dr BELLIFA.Sami** ad'avoir accepté d'examiner mon travail et de l'enrichir par ses propositions*

Enfin, mes remerciements les plus chaleureux s'adressent à toutes les personnes qui nous ont aidées de près ou de loin à la réalisation de ce document.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma joie
et mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui allumer mon
chemin, ma moitié*

Maman

*À celui qui m'a fait une femme, ma source de vie, d'amour et
d'affection, à mon support qui était toujours à mes côtés pour me
soutenir et m'encourager,*

*Mon prince **papa***

*A mes frères **Islame et Ahmed** et ma sœur **Radjaa***

*À ma Chère grandmère « **chadadeFatna** » j'espère qu'elle est
fière de moi*

*À ma familles « **Messaoudi** » ; « **Bakhtaoui** » pour leur soutien
tout au long de mon parcours universitaire,*

A mes chères amies

Pour leurs aide et supports dans les moments difficiles

Table des matières

REMERCIEMENTS	II
DEDICACE	III
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Composition chimique.....	3
1.1. Les terpènes	3
1.2. Les composés aromatiques	3
2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	4
2.1. La distillation	4
2.1.1. L'hydrodistillation	4
2.1.2. La vapo-hydrodistillation.....	5
2.2. Pression à froid	6
2.3. Extractions par les solvants et par les graisses	6
2.4. Extraction par micro-ondes.....	7
3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles	8
4. Huiles essentielles et nanotechnologie	9
4.1. Méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent	11
4.1.1. Méthodes physiques.....	11
4.1.2. Méthodes chimiques	11
4.1.3. Méthodes biologiques	12
4.2. Activités biologiques de nanoparticule d'argent	12
4.2.1. Activité antibactérienne de nanoparticule d'argent	12
4.2.2. Activité antifongique de nanoparticule d'argent	13

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel.....	15
1.1. Matériel biologique.....	15
1.2. Matériel végétale.....	15
2. Les milieux de culture.....	15
3. Les méthodes	16
3.1. Synthèse des nanoparticules d'argent chargées des huiles essentielles	16
3.2. Préparation de l'inoculum.....	17
3.3. Tests d'activité antibactérienne et antifongique (méthode de diffusion sur gélose).....	17

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Synthèse des nanoparticules	20
2. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles pures de et des nanoparticules chargées des huiles essentielles	21
2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles pures	21
2.2. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des nanoparticules d'argent.....	24

CONCLUSION	26
-------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	28
--	-----------

Liste des abréviations

% : Pourcentage

C° : Degré Celsius

ADN : Acide désoxyribonucléique

Ag : Argent

Ag+ : Ion d'argent

AgNPs : Nanoparticules d'argent

ATP : Adénosine Triphosphate

BHIB : Bouillon de cœur de cerveau

C.albicans : *Candida albicans*

E.coli : *Escherichia coli*

h : Heure

HE : Huile essentielle

L : Litre

min : Minute

ml : Millilitre

Mm : Millimètre

nm: Nanomètre

OH : oil essential

Ø : Diamètre

pH : potentiel d'Hydrogène

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

UFC : Unité Formant Colonie

UV : Ultra-violet

v /v : Volume/Volume

µl: Microlitre

Liste des figures

Figure 01: Composés aromatiques issus du phénylpropane	4
Figure 02: Montage de l'hydrodistillation.....	5
Figure 03 : Vapo-hydrodistillation	6
Figure 04 : Extraction par micro-ondes	8
Figure 05 : Les nanoparticule d'argent	11
Figure 06 : Principe de la synthèse de nanoparticules	16
Figure 07 : Principe de la technique d'aromatogramme.....	18
Figure 08 : Synthèse des Nanoparticules d'argent.....	20
Figure 09 : Activité antibactérienne des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de <i>S.aureus</i>	22
Figure 10 : Aactivité antibactérienne des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de <i>E.coli</i>	23
Figure 11 : Activité antifongique des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de <i>Candida albicans</i>	24

Liste des tableaux

Tableau 01 :les souches testées	15
Tableau 02 :Diamètres des zones d'inhibition (mm) d'huiles pures	22
Tableau 03 :Diamètres des zones d'inhibition (mm) des nanoparticules chargées des huiles	24

المخلص

على مدى العقد الماضي، حظيت الزيوت العطرية باهتمام كبير في مجالات الأدوية والأغذية ومستحضرات التجميل بسبب أنشطتها البيولوجية المتنوعة. ومع ذلك، نظرًا لطبيعتها المتطايرة وقابليتها الكيميائية وقابليتها المنخفضة للذوبان، فإن تطويرها كعوامل مضادة للميكروبات محدود. وقد تم بحث الجسيمات النانوية المكونة من البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي والمواد غير العضوية للتغلب على هذه القيود.

في هذه الدراسة، تم تقييم الخصائص المضادة للميكروبات للجسيمات النانوية الفضية المحملة بالزيوت العطرية المصنعة سابقًا من الزيوت العطرية *Syzygium aromaticum* (القرنفل) و *Melaleuca alternifolia* (شجرة الشاي)

ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والمبيضات البيضاء باستخدام طريقة نشر الأقراس.

أظهرت النتائج أن الجسيمات النانوية المحملة بالزيت أظهرت نشاطًا كبيرًا مضادًا للبكتيريا ضد السلالات التي تم اختبارها، ولكن كانت المبيضات البيضاء مقاومة.

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية، سيزيجيوم أروماتيكوم، ميلاليوكا ألتيرنيڤوليا، جسيمات نانوية، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطريات.

Résumé

Au cours de la dernière décennie, les huiles essentielles ont fait l'objet d'une attention considérable dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétiques grâce à leurs nombreuses activités biologiques. Toutefois, en raison de leur nature volatile, de leur susceptibilité chimique et de leur faible solubilité, leur développement en tant qu'agents antimicrobiens est limité. Les nanoparticules composées de polymères biodégradables et de matériaux inorganiques ont été étudiées pour surmonter ces limitations.

Dans la présente étude, les propriétés antimicrobiennes des nanoparticules d'argent chargée des huiles essentielles *Syzygiumaromaticum* (Clou de Girofle) et *Melaleucaalternifolia* (Arbre de thé) préalablement synthétisés ont été évaluées vis-à-vis d'*Escherichiacoli*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans* en utilisant la technique de diffusion par disque.

Les résultats ont montré que les nanoparticules chargées des huiles présentent une activité antibactérienne significative contre les souches de référence testées à l'exception de *Candida albicans*.

Mots clés : Huiles essentielles, *Syzygiumaromaticum*, *Melaleucaalternifolia*, nanoparticules, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

Over the past decade, Essential oils have received considerable attention in the pharmaceutical, food and cosmetics fields due to their diverse biological activities. However, their development as antimicrobial agents is limited because of their low solubility, chemical susceptibility, and volatile nature. To get around these restrictions, researchers have looked into using inorganic and biodegradable polymer nanoparticles.

In the present study, nanoparticles loaded with essential oils of *Syzygium aromaticum* (Clove) and *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) are synthesized and their antimicrobial activity has been evaluated against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* using the disk diffusion technique.

According to the findings, the oil-loaded nanoparticles significantly inhibited the growth of the tested strains of bacteria. However, *Candida albicans* was resistant.

Key words: Essential oils, *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca alternifolia*, nanoparticles, antibacterial activity, antifungal activity

Introduction

Les infections microbiennes demeurent des maladies graves et leur incidence a considérablement augmenté ces dernières années (Nair *et al.*, 2022). La situation est encore plus inquiétante en raison de l'émergence de souches de microorganismes résistants aux antibiotiques et de l'apparition d'infections inhabituelles qui mettent en péril les traitements avec les médicaments existants. Devant ces défis, il est essentiel de rechercher de nouvelles substances antimicrobiennes performantes et à large éventail d'action (De Kraker *et al.*, 2016).

Les huiles essentielles, qui sont des métabolites secondaires des végétaux ont été largement explorées à grande échelle en tant que sources potentielles de nouveaux agents antimicrobiens, de conservateurs alimentaires et de traitements alternatifs pour les maladies infectieuses en raison de leurs propriétés antifongiques, antiparasitaires, antibactériennes et antivirales (Chouhan *et al.*, 2017). Différentes recherches ont prouvé que les éléments bioactifs présents dans les huiles essentielles se fixent à la surface des cellules et pénètrent dans la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, ce qui cause des dommages à la membrane et entraîne des effets néfastes sur les activités métaboliques et la mort des cellules (Rai *et al.*, 2017).

Malgré les résultats prometteurs en termes d'activité, l'utilisation des huiles est limitée en raison de quelques problèmes tel que la toxicité (Hausen, 1994), en outre les composants des huiles ont tendance à se dégrader facilement lorsqu'ils sont exposés à la lumière, à la chaleur, à l'air et à l'humidité, en plus d'une susceptibilité possible aux réactions d'hydrolyse et d'oxydation. (Baldissera *et al.*, 2016 ; Souza *et al.*, 2017). Dans ce sens, l'utilisation des nanoparticules a été proposée pour éviter ces problèmes.

Les nanoparticules sont des particules mesurant entre 1 et 100 nanomètres de taille et qui sont constituées de carbone, de métal, d'oxydes métalliques ou de matière organique (Hasan *et al.*, 2015). Les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont été particulièrement remarquées en raison de leurs caractéristiques (non-toxicité, faible coût, disponibilité et l'absorption optique significative dans les domaines visible et ultraviolet (Quelemes *et al.*, 2013).

L'objectif de ce mémoire est d'analyser l'impact antimicrobien des nanoparticules d'argent chargées des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (*Syzygium aromaticum* et *Melaleuca alternifolia*) sur certains micro-organismes pathogènes.

Synthèse bibliographique

Les huiles essentielles font partie des groupes les plus importants de composés végétaux (**Fontanay et Mougenot, 2015**). Il s'agit de mélanges complexes de composés volatils qui se distinguent par leur odeur plus ou moins prononcée, leur structure, ... (**Bakkaliet al., 2008 ;Kalemba, et al., 2012**), Elles peuvent être obtenues , soit par des procédés mécaniques, chimiques, ou physiques (**Lagunez Rivera, 2006**).

1. Composition chimique

Les huiles essentielles se composent principalement de deux catégories de composés odorants différents. La plupart des essences contiennent des terpènes (mono et sesquiterpènes), ainsi que des composés aromatiques dérivés du phényl propane ((**Kurkin, 2003**).

1.1. Les terpènes

Les terpènes sont des polymères isopréniques constitués par l'association de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ils sont constitués de l'isoprène brut (C₅ H₈) (**Ouis ,2015**). Les terpènes sont abondants dans la nature, les plantes vasculaires génèrent des terpènes volatils, en particulier dans les organes foliaires. Ces molécules sont produites en combinant au moins deux composés à 5 carbones dont la structure est similaire à celle de l'isoprène ou du 2-méthyl buta-1,3-diène (**Banthorpeet al., 1991**).

Les composés terpéniques sont classés en : Hemiterpènes (n=1), Monoterpènes (n=2), Sesquiterpènes (n=3), Triterpènes (n=6), Tétraterpènes (n=8) et Polyterpènes. Les poly terpènes (n isoprènes) incluent également le caoutchouc et la gutta-percha (**Benayad, 2008**).

1.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques issus du phenylpropane (eugénol, anéthol, vanilline,...etc) sont moins courants, mais ils jouent un rôle crucial, (**Bruneton, 1999**) (**Figure 01**). Ces composés aromatiques forment un ensemble essentiel, puisqu'ils sont souvent à l'origine des spécificités olfactives et organoleptiques des huiles essentielles: l'eugénol est à l'origine de l'odeur du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) (**Hurtel, 2006**).

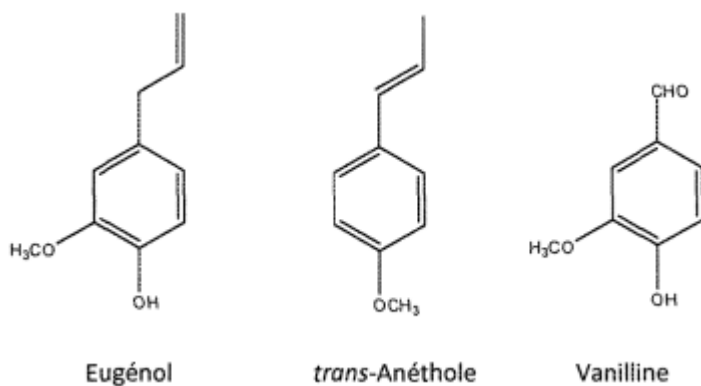


Figure 01: Composés aromatiques issus du phénylpropane(**kurkin, 2003**)

2. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

2.1. La distillation

Benjlali (2004) définit la distillation comme la séparation des composants d'un mélange de deux ou plusieurs composants selon leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). Elle peut être réalisée en utilisant de l'eau de distillation recyclée (cohobation) ou sans utilisation de recyclage. Deux approches de base de distillation sont utilisées pour obtenir des huiles essentielles, qui sont basées sur le même principe : entraînement des composants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau, Elles se distinguent par le niveau de contact entre l'eau liquide et le matériau végétal.

2.1.1. L'hydrodistillation

La distillation à l'eau ou « hydrodistillation » (**Figure 02**) implique que le matériel végétal est directement en contact avec l'eau. On parle de turbo distillation lorsque le végétal est broyé (**Benjlali, 2004**).

L'hydrodistillation est une méthode de traitement par immersion directe du matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Sur une surface froide, les vapeurs hétérogènes se condensent et l'huile essentielle se sépare en raison d'une différence de densité (**Brunetton, 1999**). Cette technique présente des désavantages tels que la calcination du matériau végétal, ce qui entraîne une altération de la composition et des propriétés chimiques de l'huile essentielle. La température du récipient

contenant le mélange (eau + organes végétaux) peut être modifiée et l'huile essentielle peut changer d'odeur, de couleur et de composition pendant la distillation (**Chalchatet al., 1997**).

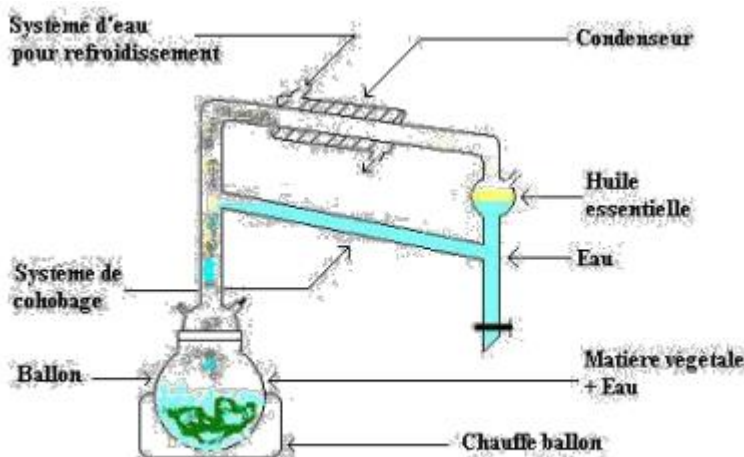


Figure 02 : montage de l'hydrodistillation(**Hernandez Ochoa, 2005**)

2.1.2. La vapo-hydrodistillation

La distillation à la vapeur saturée, également connue sous le nom de « Vapo-hydrodistillation », est le procédé le plus approprié pour extraire les essences, en particulier si elles sont utilisées à des fins médicales (**Bego, 2001**). Le matériau végétal, qui n'est pas en contact avec l'eau, est soutenu par une grille ou une plaque perforée en position appropriée à une distance suffisante du fond de l'alambic, rempli d'eau. L'eau se transforme en vapeur sous l'effet de la chaleur et traverse les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau qui est chargée d'essence revient à l'état liquide grâce à la condensation. Le produit de la distillation se divise donc en deux phases : l'huile et l'eau condensée, également connue sous le nom d'eau florale ou d'hydrolat (**Belaiche, 1979 ; Benjilali, 2004**) (**Figure 03**).

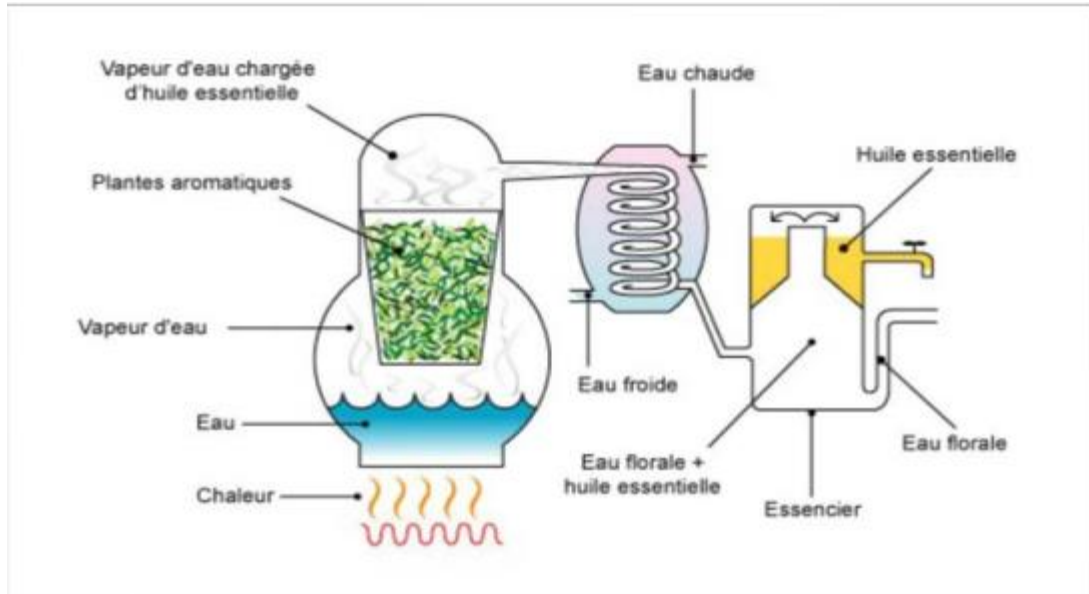


Figure 02 : la vapo-hydrodistillation (Lucchesi, 2005)

2.2. Pression à froid

Les huiles essentielles sont extraites de manière mécanique grâce à une pression à froid, ce qui permet de détruire les glandes oléifères et de libérer les huiles volatiles. Pendant cette procédure, une émulsion aqueuse se crée, l'huile qui y est présente peut être obtenue par centrifugation, décantation ou distillation fractionnée (Dima et Dima, 2015).

2.3. Extractions par les solvants et par les graisses

Les extraits végétaux sont préparés à l'aide de solvants non aqueux (hexane, éther de pétrole) et de matières grasses (absorption des composés volatils lipophiles par des corps gras) ou encore de gaz. Ces solvants possèdent un pouvoir d'extraction supérieur à celui de l'eau, ce qui signifie que les extraits ne renferment pas seulement des composés volatils, mais aussi de nombreux composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres gaz (Richard, 1992 ; Robert, 2000). L'utilisation de solvants organiques pour l'extraction soulève un problème de toxicité des solvants résiduels, ce qui n'est pas négligeable lorsque l'extrait est destiné aux secteurs pharmaceutique et agro-alimentaire (Bruneton, 1999).

2.4. Extraction par micro-ondes

Dans ce processus (**Figure 04**), la matière végétale est chauffée à l'aide de micro-ondes dans une enceinte fermée où la pression est progressivement réduite, la vapeur d'eau produite à partir de l'eau propre à la plante entraîne les composés volatils qui sont récupérés par la suite en utilisant les méthodes traditionnelles de condensation, de refroidissement et de décantation. Ce procédé offre un avantage considérable en termes de temps (la durée d'extraction est réduite) et d'énergie (température plus faible), le micro-ondes permet d'extraire deux kilos de *Mentha piperita* pour obtenir environ 1% d'huile essentielle en 15 minutes, tandis que l'hydrodistillation nécessite deux heures pour obtenir un rendement comparable à partir de la même quantité de plante (**Mengalet al., 1993**).

L'huile essentielle obtenue par cette méthode présente souvent une composition similaire à celle obtenue avec un entraînement à la vapeur traditionnel. Cependant, on retrouve généralement une proportion plus élevée de composés oxygénés dans les huiles essentielles extraites par microondes. Cela s'explique par la quantité limitée d'eau dans le système et la vitesse de chauffage (**Bendahouet al., 2007; Lucchesiet al., 2007**).

cette méthode offre de nombreux bénéfices : technologie écologique, économie d'énergie et de temps, et réduction des dégradations thermiques et hydrolytiques (**Mengalet al., 1993; Lucchesiet al., 2004**). De nos jours, de nombreuses études sont menées sur l'extraction par micro-ondes, qui continue d'être améliorée (**Chematet al., 2006; Flamini et al., 2007; Lucchesiet al., 2007**).

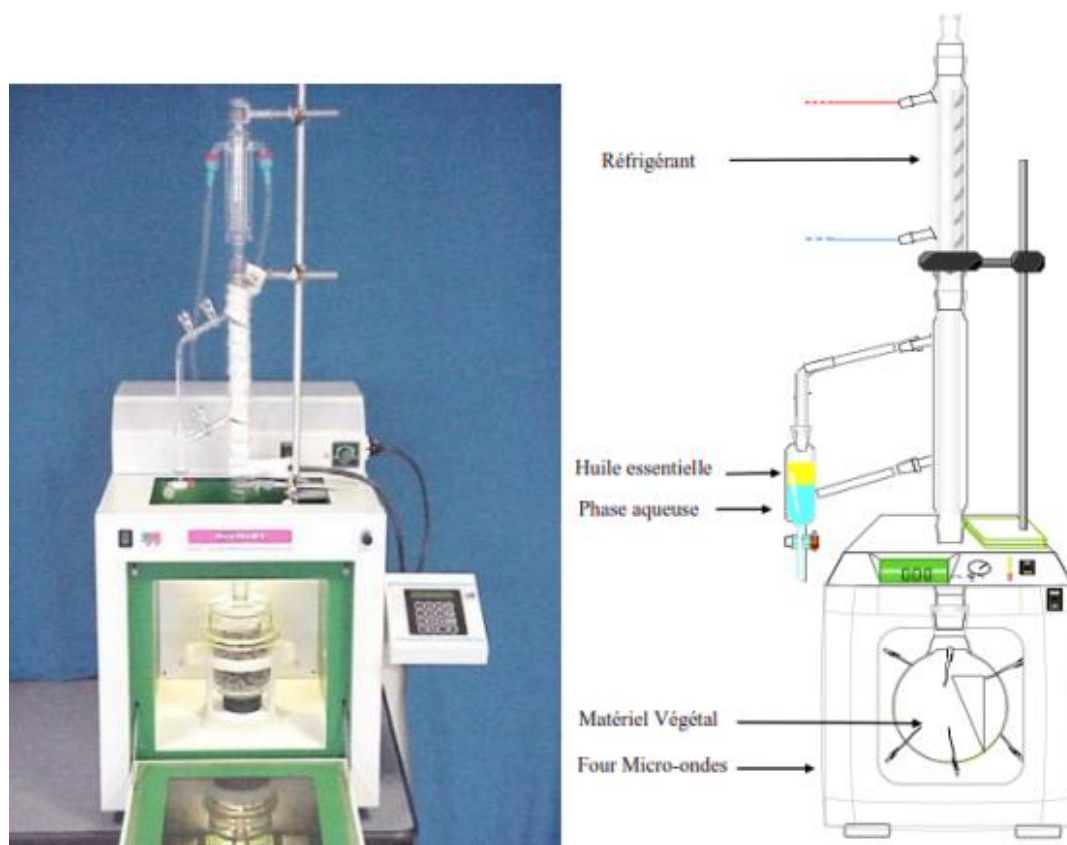


Figure 03 : Extraction par micro-ondes (Chematet *et al.*, 2006)

3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

La littérature scientifique a largement étudié l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et les composés qu'elles renferment. Les huiles essentielles très actives contiennent fréquemment des composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol (Bruneton, 2009).

Les huiles essentielles sont largement utilisées en raison de leurs vertus antiseptiques pour combattre les maladies infectieuses causées par des bactéries, telles que les bactéries endocanalisaires (Benbelaid, 2015) et des fongiques, telles que les dermatophytes (Hamoudi, 2008), et Les champignons opportunistes, tels que les moisissures allergisantes (Chaumont et Leger, 1989).

En raison de l'apparition de souches pathogènes antibiorésistantes, les huiles essentielles offrent une opportunité sérieuse de remplacer les antibiotiques dans la lutte contre les maladies infectieuses. De nombreux groupes de recherche ont examiné l'impact de l'huile essentielle de

Melaleuca altemifolia sur la souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (MRSA) (Carson *et al.*, 1995 ; Chan *et al.*, 1998 ; Dryden *et al.*, 2004). Cette huile, qui contient principalement du terpinèn-4-ol, a démontré de très bonnes performances *in vitro* dans la lutte contre la propagation de MRSA.(Flaxman, 2005).

L'activité antibiofilm des huiles essentielles a également été prouvée. Selon une étude menée par Khan *et al.* (2014), plusieurs huiles essentielles, telles que la cannelle, l'Eucalyptus, le Thym et le Romarin, ont démontré leur activité antibiofilm contre des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline.Selon les résultats, toutes les huiles essentielles étudiées ont réussi à empêcher la formation de biofilms.

L'huile essentielle de clou de girofle a une activité antifongique puissante contre les pathogènes fongiques tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*.(Goetz *et al.*, 2010).*Candida albicans* est le plus souvent identifié comme étant l'agent pathogène de la candidose.

L'huile essentielle de clou de girofle, dont l'eugénol est le principal composant phénolique, présente une activité antifongique significative pendant la période d'adhérence initiale (Belarmino *et al.*, 2016)

Selon une étude menée par Balouiri *et al.* (2016), l'huile essentielle de *Mentha piperita L.* a démontré son activité antibiofilm contre des souches de *Candida albicans*. D'après les résultats, l'huile essentielle a empêché la création de biofilms et a détruit les biofilms déjà formés.

4. Huiles essentielles et nanotechnologie

Les huiles essentielles sont des liquides naturels hydrophobes et volatils, de faible poids moléculaire et à forte odeur, extraits des parties végétales des plantes (Omar *et al.*,2022).

Elles se caractérisent par des mélanges complexes de composés (aldéhydes, cétones, alcools, phénols, acides, éthers, esters) aux propriétés pharmacologiques importantes.

Toutefois, elles présentent une sensibilité aux hautes températures, à la lumière et à la présence d'oxygène. Ainsi, les nanotechnologies sont proposées afin d'améliorer la stabilité, d'assurer la qualité et l'efficacité de ces huiles (Antunes Filho *et al.*, 2023).

La synthèse verte de nanoparticules à l'aide d'huiles essentielles est une procédure rapide et simple qui suppose une préparation écologique des particules sans utilisation de substances agressives, toxiques et coûteuses. Il s'agit d'une méthode alternative, plus viable économiquement et plus respectueuse de l'environnement pour obtenir des nanostructures par rapport aux méthodes physiques coûteuses, qui prennent du temps et sont nocives pour l'environnement. Les métabolites secondaires des plantes sont souvent utilisés comme agents réducteurs dans les synthèses "vertes" (**Bratovcic, 2020**).

Les nanoparticules produites par la méthode de synthèse "verte" sont souvent caractérisées par une biocompatibilité accrue due à l'utilisation de substances naturelles ayant l'activité biologique requise (métaux nobles, métabolites secondaires, protéines), dont l'utilisation a été démontrée avec succès dans diverses études *in vitro* et sur des animaux vivants (**Bratovcic, 2023**).

Divers nanomatériaux comme l'or, l'argent, le platine, le fer, le cuivre, le chitosane et le zinc ont été utilisés dans la fabrication de nanoparticules chargées d'OE et dotées de propriétés antimicrobiennes afin de résoudre les problèmes liés aux OE. Les nanoparticules protègent les HE de la dégradation par la chaleur et les UV, garantissant une plus grande stabilité, une meilleure rétention des arômes et une meilleure fonction, prolongeant ainsi la durée de conservation du produit fini. En outre, les NP offrent une libération contrôlée des OE pour des effets thérapeutiques prolongés.

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) (**Figure 05**) ont fait l'objet de nombreux rapports, l'argent est connu depuis longtemps pour son effet inhibiteur sur plusieurs souches bactériennes et micro-organismes généralement présents dans les processus médicaux et industriels (**Krutyakovet al., 2008**).

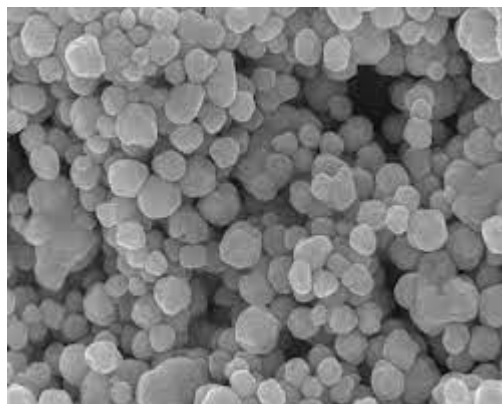


Figure 04 : observation microscopique de nanoparticules d'argent (**Nasrollahzadehet al., 2019**)

En outre, il a été étudié avec plusieurs agents pathogènes tels que les cellules cancéreuses, les infections par des vecteurs arthropodes, les cosmétiques, la médecine et l'alimentation. La chimie verte suggère d'utiliser des plantes pour la synthèse de nanoparticules d'argent afin d'éviter la production de sous-produits toxiques. La synthèse de nanoparticules à partir de plantes est une méthode privilégiée par rapport à d'autres méthodes de synthèse car elle est respectueuse de l'environnement, rentable et plus sûre pour l'utilisation thérapeutique humaine (**Kumar et Yadav, 2009**).

4.1. méthodes de synthèse des nanoparticules d'argent

4.1.1. Méthodes physiques

Des procédés mécaniques, comme l'homogénéisation et le broyage, ont été employés afin de fabriquer des nanoparticules d'argent destinées à des applications antimicrobiennes. Toutefois, les particules nanométriques d'argent obtenues se sont agrégées et ont démontré un effet bactéricide et inhibiteur négatif. Dans les techniques physiques récentes, la synthèse des nanoparticules d'argent se fait habituellement par évaporation-condensation (**Simchiet al., 2007**)

4.1.2. Méthodes chimiques

Les différentes techniques chimiques utilisées pour préparer des nanoparticules d'argent comprennent la réduction chimique en solution aqueuse (**Wang et al., 2012**), une réduction organique (**Gibbons et Getman, 1914**), la réduction électrochimique (**Cheng et al., 2002**), la voie micellaire inverse (**Zhanget al., 2007**), la réduction biochimique (**Narayanan et Sakthivel,**

2010). La réduction chimique est la méthode la plus couramment employée pour créer des solutions colloïdales de nanoparticules métalliques (Bulgakova et Bulgakov, 2001) (Shannon et al., 1995). Elle est principalement basée sur l'emploi de trois éléments : un précurseur métallique, un agent réducteur et un agent stabilisant (Simchiet al., 2007). En outre, parmi toutes les méthodes de synthèse, elle permet sans doute le meilleur contrôle de taille et de forme (Dupont et al., 1995 ; Vogel et al., 1999).

4.1.3. Méthodes biologiques

Les techniques chimiques offrent la possibilité de préparer des nanoparticules de taille homogène et contrôlable, mais elles nécessitent l'utilisation de solvants organiques qui peuvent représenter des risques pour l'environnement (Nair et al., 2009).

Les méthodes biologiques ont été utilisées pour la synthèse des nanoparticules d'argent à partir de microorganismes (Nair et al., 2009), d'enzymes (Baron et al., 2006) et de plantes ou d'extraits de plantes (Rai et al., 2017).

Elles sont considérées comme une approche prometteuse en raison de la présence des sources de matériaux adéquates, l'absence d'additifs chimiques et de sous-produits chimiques (Rai et al., 2017).

Zargaret et al., (2011) ont mis en évidence la possibilité d'utiliser l'extrait méthanolique des feuilles de plantes pour produire des nanoparticules d'argent d'une manière biologique (Kumar et al., 2018) ont opté à la production de nanoparticules d'argent respectueuses de l'environnement en utilisant l'extrait d'*Antidysenterica holarrhena* et l'analyse de leur activité larvicide contre les vecteurs de la dengue et de la filariose.

4.2. Activités biologiques de nanoparticules d'argent

4.2.1. Activité antibactérienne de nanoparticule d'argent

Les Ag-NP ont révélé être des bactéricides efficaces contre diverses bactéries, y compris les bactéries Gram-négatives et Gram-positives, telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, et *Bacillus subtilis* (Zhang et al., 2016). Le rapport surface/volume des AgNPs élevé accroît leur interaction avec les micro-organismes et favorise la dissolution des ions argent, ce qui renforce leur effet bactéricide (Keywanet et al., 2019). Plusieurs

caractéristiques morphologiques et physicochimiques influencent l'activité bactéricide des AgNPs, comme la taille, la forme, la concentration, et la surface. Les AgNPs de taille inférieure ont une plus grande possibilité de passer par la membrane cellulaire et d'entrer dans la cellule, ce qui empêche la croissance des bactéries (Carolnaet *al.*, 2014).

4.2.2. Activité antifongique de nanoparticule d'argent

Les AgNPs présentent une efficacité antifongique puissante contre les champignons *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida cruzi* (Li *et al.*, 2011) et *Bipolarissorokiniana* (Zhang *et al.*, 2016). Les AgNPs peuvent exercer leur activité antifongique contre *C. albicans* en altérant la structure de la membrane cellulaire et en inhibant le processus de bourgeonnement normal en perturbant l'intégrité de la membrane cellulaire (Tranet *al.*, 2013).

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-Alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE) de l'Université AbouBekrBelkaid-Tlemcen, et consiste à l'évaluation de l'activité antibactérienne, antifongique des formulations préparées à base des huiles essentielles.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Dans cette étude nous avons utilisé deux souches bactériennes de référence (**tableau 01**) dont une souche à Gram positif *Staphylococcus aureus* et une à Gram négatif qui est *Escherichia coli* et une souche fongique qui est *Candida albicans*.

Tableau 01 : les souches testées

Souche testée	ATCC
<i>S. aureus</i>	6538
<i>E.coli</i>	25922
<i>Candida albicans</i>	10231

1.2. Matériel végétale

Cette étude a été réalisée sur deux huiles commerciales (acheté chez herboriste)

-Huile de *Syzygium aromaticum* (huile de girofle)

- Huile de *Melaleuca alternifolia* (huile d'arbre à thé)

2. Les milieux de culture

Pour les cultures bactériennes, nous avons utilisé des milieux liquides et solides suivants

Milieux de culture liquides : Bouillon de cœur de cerveau BHIB

Milieux de culture solides : Gélose Mueller Hinton, C'est un milieu standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité aux huiles essentielles des bactéries.

Pour la culture fongique, Nous avons utilisé des milieux liquides et solides suivants :

Milieu de culture liquids : Bouillon de Sabouraud

Milieu de culture solide : Gélose Sabouraud au chloramphénicol (Sabouraud) pour enrichissement la croissance des champignons dans lesquels on recherche *candida albicans*. Le chloramphénicol c'est un antibiotique inhibiteur de croissance des bactéries.

3. Les méthodes

3.1. Synthèse des nanoparticules d'argent chargées des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été préalablement diluées dans l'acétone, afin de permettre une incorporation rapide dans le système. Pour la synthèse, une solution d'AgNO₃ a été préparée à la concentration de 0,31mmol.l⁻¹, dont le pH a été ajusté à 8 à l'aide de NaOH 0,1 mol. L⁻¹. 2 ml de chaque huile diluée ont été ajoutés goutte à goutte dans 30 ml de la solution AgNO₃ à 100°C sous agitation vigoureuse pendant 30 min à l'abri de la lumière. Une coloration brun-jaune a été observée, indiquant la formation d'AgNPs (Vilaset *al.*,2014).(Figure 06).La solution est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

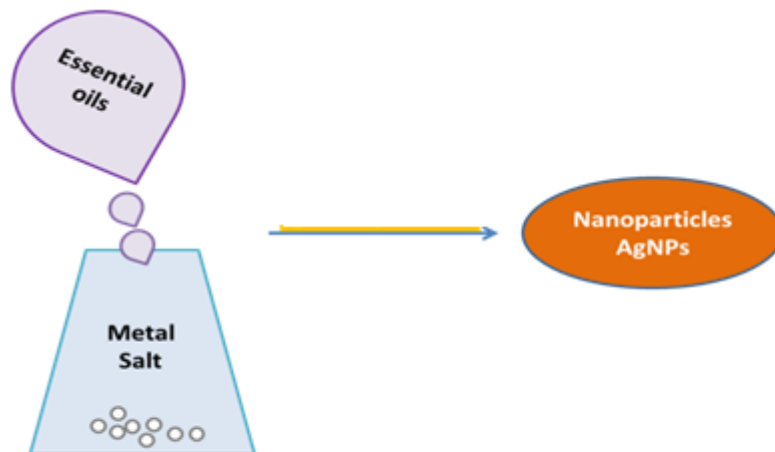


Figure 06 : Principe de la synthèse de nanoparticules

3.2. Préparation de l'inoculum

Staphylococcus aureus et Escherichia coli

A partir des cultures conservées, des colonies bactériennes sont prises à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée. Ces colonies sont inoculées dans des tubes à vis contenant 5 ml de bouillon BHIB (Bouillon de cœur de cerveau), les cultures de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont incubés pendant 24 h à 37 °C

La suspension bactérienne est ajustée à 0.5 MacFarland c'est-à-dire : d'une densité optique allant de 0,08 à 0,13 lue à 625 nm, qui correspond approximativement à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml. L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur la gélose Muller Hinton par des stries serrées tout en tournant la boîte à 60° à trois reprises.

Candida albicans

À partir de culture conservée, la souche fongique est prise à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, et est inoculée dans un tube à vis contenant 5 ml de bouillon Sabouraud la culture est incubé pendant 24 h à 37°C. La suspension fongique est ajustée à 0.5 MacFarland c'est-à-dire : d'une densité optique allant de 0,12 à 0,18 lue à 530 nm. L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur la gélose Sabouraud par des stries serrées tout en tournant la boîte à 60° à trois reprises.

3.3. Tests d'activité antibactérienne et antifongique (méthode de diffusion de disque sur gélose)

C'est une méthode qualitative consiste à mesurer le rayon d'inhibition par dispersions d'huiles essentielles sur des organismes pathogènes. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre des espèces bactériennes (Mehani, 2015).

Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés à l'autoclave, imprégnés de 10 µl d'HE pure ou 10µl de la solution de nanoparticules d'AgNO₃ et sont déposés à la surface des boîtes ensemencées; les boîtes sont laissées diffusées, puis incubées à 37°C pendant 24h. L'expérience a été réalisée en trois exemplaires et la lecture se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (en mm) (Figure 07).

Matériel et méthodes

Une échelle pour évaluer l'activité antimicrobienne a été proposée par **Mutai *et al.* (2009)**, qui ont classé les zones d'inhibition de la croissance en cinq catégories distinctes :

Zone d'inhibition ≥ 21 mm : très forte activité antimicrobienne

Zone d'inhibition 16-20 mm : forte activité antimicrobienne

Zone d'inhibition 11-15 mm : activité antimicrobienne modérée

Zone d'inhibition 6-10 mm : faible activité antimicrobienne

Zone d'inhibition < 6 mm : absence d'activité antimicrobienne ou résistance aux agents antimicrobiens testés.

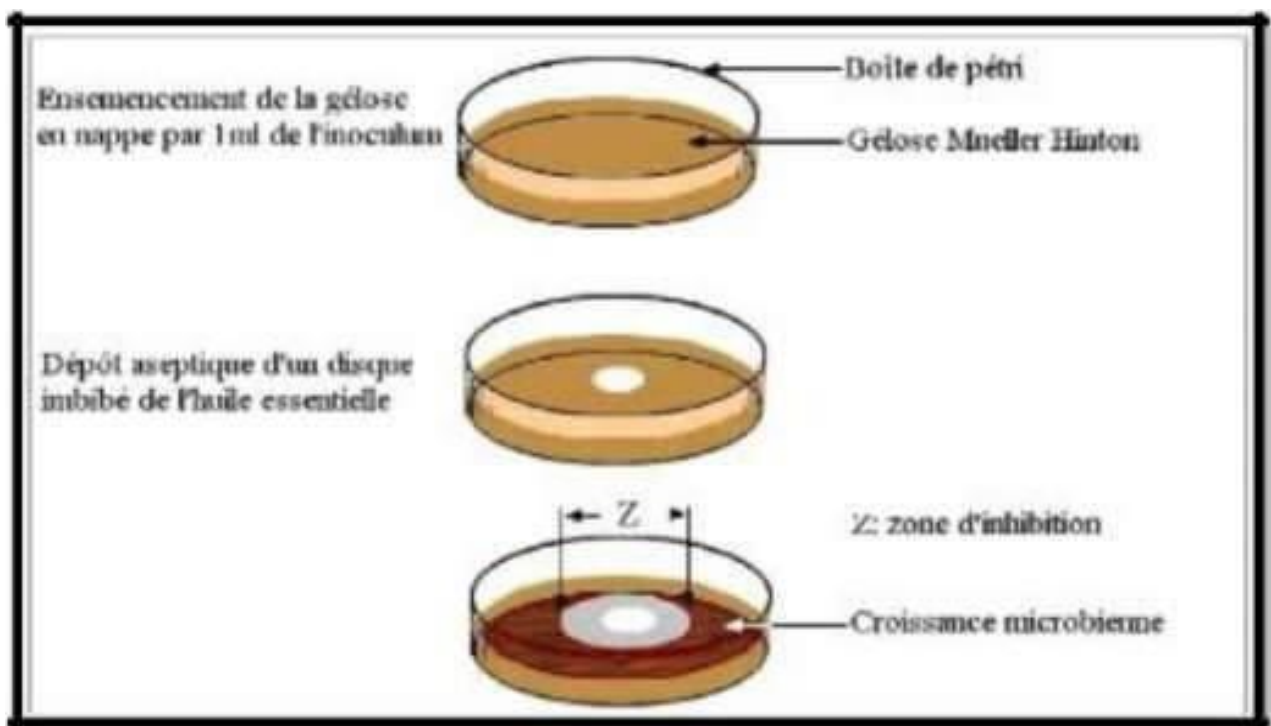


Figure 07 : Principe de la technique d'aromatogramme (**Zaika, 1988**).

Résultats et discussion

1. Synthèse des nanoparticules

La synthèse des AgNPs a été réalisée selon le protocole décrit par (Vilas, 2014), elle est confirmée par le changement de couleur caractéristique, le milieu réactionnel est passé de solution incolore en une solution colorée lors de l'ajout d'AgNO₃. (Figure 08)



A : avant la synthèse



B : après la synthèse

Figure 08 : Synthèse des nanoparticules d'argent

La formation des AgNPs est due à la réduction des ions Ag⁺ en atomes d'Ag⁰ par l'huile essentielle ajoutée à la solution d'AgNO₃, ce qui a été confirmé après la transformation de la solution incolore en une solution colorée. Les huiles essentielles contiennent des composés (comme d'eugénol) présentant une variété de groupes fonctionnels ayant une grande affinité pour les métaux nobles, ce qui contribue à la stabilisation des nanoparticules (Vijayaraghavan, 2012).

2. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles pures de et des nanoparticules chargées des huiles essentielles

La technique de diffusion en gélose a été utilisée *in vitro* pour déterminer l'efficacité antibactérienne et antifongique des HE ou des nanoparticules d'argent vis-à-vis des souches cibles.

1.1.Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des huiles pures

Le **Tableau 02** et **Figure (09, 10, 11)** représentent les résultats des diamètres des zones d'inhibition obtenus dans le cas des huiles de clou de girofle et de l'arbre de thé pures. Les résultats indiquent que les huiles testées ont démontré une activité antibactérienne intéressante contre les deux souches bactériennes examinées.

Cette activité devrait être associée à leur composition particulière, la structure des leurs composants constitutifs, leurs groupes fonctionnels et aux interactions synergiques potentielles entre les composants (**De Billerbeck, 2007**)

Les résultats ont révélé que *S. aureus* et *E.Coli* sont plus sensibles à l'huile d'arbre de thé avec des zones d'inhibition de (15 mm), (16 mm) respectivement. Ces données sont cohérentes avec des travaux antérieurs montrant que l'huile essentielle de *Melaleuca lternifolia* possède des propriétés activité antibactérienne et antifongique en raison de sa richesse en terpènes (**Lins et al., 2016**).

L'activité antimicrobienne des terpènes de *M. alternifolia* est associée à leur forte hydrophobicité. Les terpènes hydrophobes interagissent fortement avec les lipides membranaires des micro-organismes pathogènes, ce qui affecte la perméabilité de la membrane (**Cox et al., 2000 ; Mursleen et al., 2021**).

Le composé terpinène-4-ol, également identifié parmi les principaux constituants de l'huile essentielle iranienne de *Cymbopogon Olivieri*, a été impliqué dans l'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives, les bactéries Gram-négatives et la levure *Candida albicans* (**Mahboubiet al., 2012**)

Les résultats obtenus montrent également que l'huile de Clou de girofle, exerce une activité vis-à-vis des de deux bactéries testées, avec des diamètres de zones d'inhibition de 13 mm pour *S.aureus* et 12 mm pour *E.coli*. L'activité bactéricide de l'huile essentielle de girofle est principalement due à son composant principal, l'eugénol, qui fait partie de la famille des phénols. L'action bactéricide des huiles essentielles commencerait par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes, ce qui entraînerait des changements de structure et de perméabilité, entraînant ainsi une perte de composants cellulaires due à une lyse importante des cellules (Rhayour, 2016).

Tableau 02: Les diamètres des zones d'inhibition (mm) des huiles testées

Souche	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Melaleuca alternifolia</i>
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	13	15
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12	16
<i>Candida albicans</i> 10231	15	15

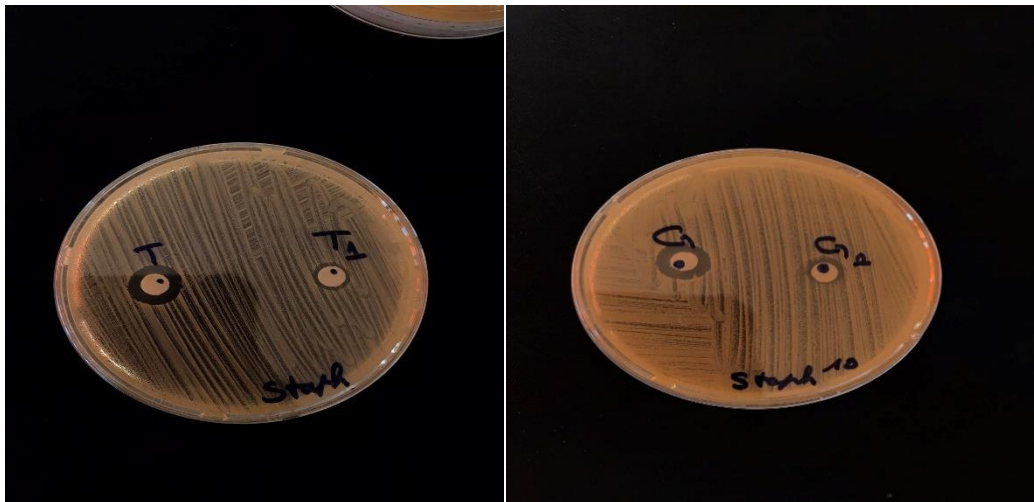


Figure 09 : efficacité antibactérienne des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de *S.aureus*. T = huile de l'arbre de thé, T₁ = nanoparticules chargées de l'huile de l'arbre de thé, G = huile de clou de girofle, G₁ = nanoparticules chargées de l'huile de clou de girofle.



Figure 10 : efficacité antibactérienne des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de *E.coli*. T = huile de l'arbre de thé, T₁ = nanoparticules chargées de l'huile de l'arbre de thé, G = huile de clou de girofle, G₁ = nanoparticules chargées de l'huile de clou de girofle.

Les huiles ont également une activité antifongique comparable, avec des diamètres de zones d'inhibition de 15mm. (**Tableau 02, Figure 11**), cette activité réside dans la modification de la membrane des champignons selon **Mursleen et al. (2021)**.

Par ailleurs, il a été observé que *Candida* était sensible à l'huile de clou de girofle, ce résultat est en accord avec des études antérieures qui ont démontré une efficacité antifongique de l'huile de clou de girofle contre les différentes espèces de *Candida* (**Pinto et al., 2009 ; Mastelari et al., 2016 ; Katarzyna et al., 2017**). L'effet délétère de l'huile sur la paroi cellulaire du champignon peut être la principale raison de la diminution du taux de bourgeonnement de la levure (**Musthafaet al., 2016**).

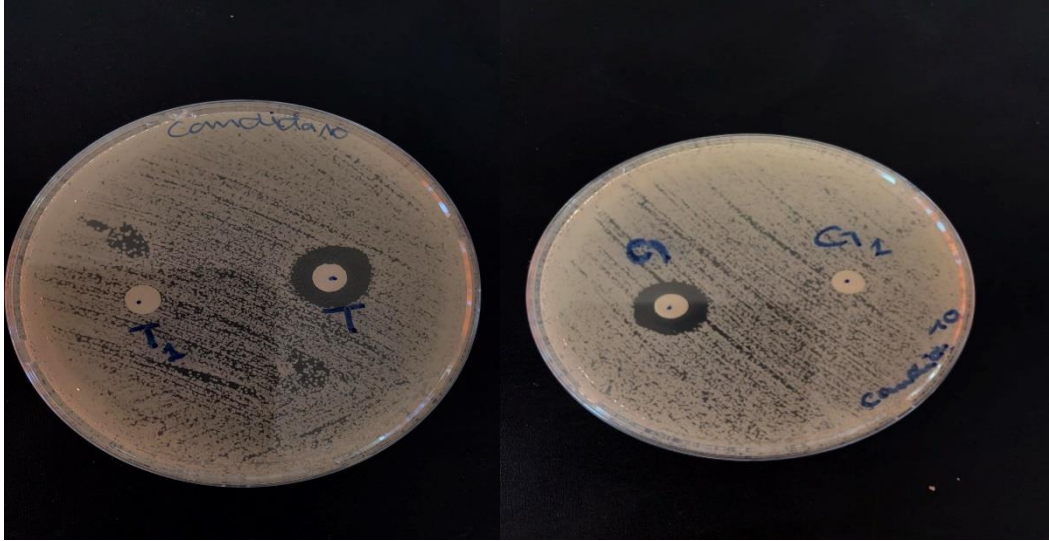


Figure 11 : activité antifongique des huiles pures et des nanoparticules chargées des huiles vis-à-vis de *Candida albicans*. T = huile de l'arbre de thé, T₁ = nanoparticules chargées de l'huile de l'arbre de thé, G = huile de clou de girofle, G₁ = nanoparticules chargées de l'huile de clou de girofle.

1.2. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des nanoparticules d'argent

Les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des nanoparticules d'argents sont présentés dans le **tableau 03** et les **figures (9, 10, 11)**.

S.aureus et *E.coli* sont apparues sensibles aux nanoparticules avec des diamètres qui varient de 11-13 nm, cependant aucune efficacité n'est observée chez *Candida albicans*. Les résultats obtenus confirment le pouvoir antibactérien remarquable des AgNPs synthétisés contre les agents pathogènes (**Saravanan et al., 2011**).

Tableau 02 : Les diamètres des zones d'inhibition (mm) des nanoparticules

Souche	Diamètres des zones d'inhibition (mm)	
	<i>Syzygiumaromaticum</i>	<i>Melaleucaalternifolia</i>
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	13	11
<i>E.coli</i> ATCC25922	12	12
<i>Candida albicans</i> 10231	0	0

Selon les recherches de **Shrivastava et al. (2009)**, il a été démontré que les AgNPs ont une activité antimicrobienne plus élevée contre *Escherichia coli* que contre *Staphylococcus aureus*, cette découverte peut être attribuée à des disparités dans la structure de la paroi cellulaire entre les bactéries Gram positives et Gram négatives. Les bactéries à Gram positives ont une paroi cellulaire épaisse constituée d'une couche de peptidoglycane, formée de chaînes polysaccharidiques linéaires réticulées par des peptides courts, ce qui crée une structure plus rigide qui empêche la pénétration des AgNPs (**Vanlalveni et al., 2021**).

L'action antibactérienne varie également en fonction de la concentration, et la taille des AgNPs, plus la taille des NPs diminue, plus leur activité antimicrobienne augmente (**Vanlalveni et al., 2021**).

Les résultats ont indiqué que l'effet antibactérien était dépendant de la concentration. Il est rapporté que plus la taille des AgNPs est petite, plus l'activité antimicrobienne est supérieure (**Vanlalveni et al., 2021**).

Le mécanisme d'inhibition de l'activité bactérienne des AgNPs sur les microorganismes est partiellement connu (**Katvaet al., 2018**). Plusieurs recherches soutiennent l'idée que les d'AgNPs pénètrent à travers les membranes bactériennes, les ions d'Ag⁺ sont libérés à l'intérieur de la cellule, ce qui entraîne l'activation des radicaux libres (**Rai et al., 2016**). Les ions d'Ag⁺ entraînent l'inactivation des protéines membranaires, la dénaturation d'enzymes essentielles en interagissant avec l'ADN (**Liao et al., 2019**).

D'autre part, le mécanisme de résistance chez *Candida* aux nanoparticules chargées des HE dépend de multiples facteurs liés aux propriétés physico-chimiques des nanoparticules (taille, structure, morphologique, concentration...) Et aux capacités d'adaptation des champignons (résistance intrinsèque de *Candida* : la modification de la paroi cellulaire ou l'activation de pompes d'efflux...) rendant les nanoparticules moins efficaces. Une meilleure compréhension de ces mécanismes est nécessaire pour optimiser l'utilisation des nanoparticules comme agents antifongiques.

Conclusion

Au cours de la dernière décennie, les huiles essentielles (HE) et leurs constituants biologiquement et structurellement diversifiés constituent une source distinctive, inépuisable et nouvelle d'agents antibactériens, antiviraux, antifongiques et antiparasitaires.

Toutefois, leur utilisation commerciale a été limitée en raison de problèmes tels que leur faible solubilité, la toxicité des solvants, leur volatilité et leur forte saveur organoleptique. Pour cela une diversité de nanomatériaux comme l'or, l'argent, le platine, le fer, le cuivre, le chitosane et le zinc ont été utilisés dans la fabrication de NPs chargées d'OE avec des propriétés antimicrobiennes pour résoudre les limitations.

Dans ce contexte, nous avons choisi d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des NPs chargés de deux huiles, les huiles de deux plantes largement utilisées en pharmacopée traditionnelle pour leurs vertus thérapeutiques, *Syzygium aromaticum* et *Melaleuca alternifolia*.

Les résultats obtenus ont prouvé que les nanoparticules chargées des huiles présentent un pouvoir inhibiteur important contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Cette activité est légèrement faible en comparaison avec celle des huiles pures.

D'autre part, l'analyse de l'efficacité antifongique des NPs a mis en évidence une résistance de *Candida Albicans*, et une meilleure compréhension de mécanisme est nécessaire pour optimiser l'utilisation des nanoparticules comme agents antifongiques.

Afin d'élargir ce travail il est important de réaliser une étude des propriétés physico-chimiques impliquant une caractérisation par des méthodes avancées telles que la microscopie électronique, la spectrophotométrie UV-visible, la diffusion dynamique de la lumière, cette démarche est essentielle pour comprendre les effets des nanoparticules dans divers domaines.

s

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

AntunesFilho,S.,DosSantos,M.S.,DosSantos,O.A.L.,Backx,B.P.,Soran,M.L.,Opriş,O,...&Bo uoudina,M.(2023).Biosynthesisofnanoparticlesusingplant extracts and essential oils. *Molécules*, 28(7), 3060.

-B-

Bakkali,F.,Averbeck,S.,Averbeck,D.,&Idaomar,M.(2008).Biologiceffectsof essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

Baldissera,M.D.,Grando,T.H.,Souza,C.F.,Gressler,L.T.,Stefani,L.M.,da Silva, A.S.,&Monteiro,S.G.(2016).In vitroandin vivoactionof terpinen-4-ol, γ -terpinene,and α -terpineneagainstTrypanosomaevansi. *Experimental parasitology*, 162, 43-48.

Balouiri, M., Sadiki, M. et Ibnsouda, S.K. (2016).Méthodesd'évaluation in vitrode l'activité antimicrobienne : une revue. *Journal d'analyse pharmaceutique*, 6(2), 71-79.

Banthorpe, D. V. & Charlwood, B. V.(Eds.). (1991). *Methods in plant biochemistry*. Academic Press.

Baron R, Willner B Willner I. (2007). Biomolecule–nanoparticle hybrids as functional units for nanobiotechnology. *Chem. Commun.* 323–332

Bego Ph. (2001) -Connaître l'essentiel surles huiles essentielles. Collectionaromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris, pp.2-3.

BelarminodeSouza,T.B.,deOliveiraBrito, K. M.,Silva,N.C.,Rocha,R.P.,deSousa,G. F., Duarte, L. P., ... & Dias, D. F. (2016). New eugenol glucoside-based derivative shows fungistatic and fungicidal activity against opportunistic *Candida glabrata*. *Chemical Biology & Drug Design*, 87(1), 83-90.

Références bibliographiques

Benayed N (2008). les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaire stockées; projet de recherche université

Benbelaid, F. (2015).*Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur Enterococcus faecalis responsable d'infections d'origine dentaire* (Doctoral dissertation).

Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F., & Costa, J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chemistry*, 106(1), 132-139.

Benjilali, B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. *Manuel pratique. Huiles essentielles: de la plante à la commercialisation*, 17-59.

Bratovic, A. (2020). Biosynthesis of green silver nanoparticles and its UV-vis characterization. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 7(7), 170-176.

Bratovic, A. (2023). Green Synthesis of Various Nanostructures Containing Essential Oil and Silver Nanoparticles: Nanocomposites, Nanoemulsions and Nanoencapsules. *Int. J. Eng. Res. Appl*, 13, 234-242.

Bruneton, B. J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} éd. *Lavoisier, Paris*, 1120.

Bulgakova, N. and A. Bulgakov (2001). "Pulsed laser ablation of solids: transition from normal vaporization to phase explosion." *Applied Physics A* 73(2): 199-208.

-C-

Carolina D.S., Marcelo S., Avinach P., et al. (2014). Silver Nanoparticles: Therapeutical Uses, Toxicity, and Safety Issues. *Journal*.

Carson, C.F., & Riley, T.V. (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of applied bacteriology*, 78(3), 264-269.

Chalchat, J.C., Garry, R.P., Menut, C., Lamaty, G., Malhuret, R., & Chopineau, Chan, P.F., S.J. Foster, E. Ingham and M.O. Clements. (1998). The *Staphylococcus aureus* alternative sigma factor sigma_B controls the environmental stress response but not starvation survival or pathogenicity in a mouse abscess model. *J. Bacteriol.* 180: 6082- 6089.

Chemat, F.; Lucchesi, M.E.; Smadja, J.; Favretto, L.; Colnaghi, G.; Visinoni, F. (2006). Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Anal. Chim. Acta* 555, 157-160

Cheng W, Dong S, Wang E. (2002). Studies of electrochemical quantized capacitance charging of surface ensembles of silver nanoparticles. *Electrochemistry communications* 4(5):412-416

Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58.

Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170-17.

-D-

DeBillerbeck, V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5(5), 249-253.

deKraker, M.E., Stewardson, A.J., & Harbarth, S. (2016). Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050?. *PLoS medicine*, 13(11), e1002184.

Dima, C., & Dima, S. (2015). Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. *Current Opinion in Food Science*, 5, 29-35.

Dryden M.S., Dailly S., Crouch M. (2004). A randomized, controlled trial of tea tree topical preparations versus a standard topical regimen for the clearance of MRSA colonization. *Journal of Hospital Infection*. 56, 283–286

Dupont A, Caminat P, Bournot P, Gauchon J. (1995). Enhancement of material ablation using 248, 308, 532, 1064 nm laser pulse with a water film on the treated surface. *Journal of Applied Physics* 78(3):2022-2028.

-F-

Flamini, G.; Tebano, M.; Cioni, P.L.; Ceccarini, L.; Ricci, A.S.; Longo, I. (2007). Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of *Laurus nobilis* and a novel method which uses microwaves applied in situ, without resorting to an oven. *J. Chromatogr. A* 1143, 36-40.

Flaxman D, Griffiths P (2005). L'huile d'arbre à thé est-elle efficace pour éradiquer la colonisation par le SARM ? Une critique. *Journal britannique des soins infirmiers communautaires*, 10(3), 123-126

Fontanay F, Mougenot ME, Duval RE. (2015). Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Dans Hegel 2015/2 (N° 2)*, 109 à 118

-G-

Goetz LL, Howard M, CIPHER D, Revankar SG. 2010. Occurrence of candiduria in a population of chronically catheterized patients with spinal cord injury. *Spinal Cord.*, 48(1): 51–54. DOI: 10.1038/sc.2009.81

Gibbons, V. L. and F. Getman (1914). "CORRECTION. The Potential of Silver in Non Aqueous Solutions of Silver Nitrate." *Journal of the American Chemical Society* 36(10): 2091-2091

-H-

Hamoudi, R. (2008). Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plantes Teucrium polium geryi provenant de la région Tamanrasset. *Magister, université Kasdi-Merbah, Ouargla*, 120.

Hasan S., (2015). A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Research Journal of Recent Sciences*. Vol. 4(ISC-2014), 1-3 (2015)

Hausen BM, Reichling J, Harkenthal M, 1999. Degradation products of monoterpenes are the sensitizing agents in tea tree oil. *Am J Contact Dermat*, 10(2):68-77

Hernandez Ochoa, L.R. (2005). *Substitution des solvants et matières actives des synthèses par un combiné «solvant/actif» d'origine végétale* (Doctoral dissertation).

Hurtel, J.M. (2006). Noix de muscade, *Myristica fragrans*, fiche médicale sur cette épice Aphrodisiaque et son huile essentielle antiseptique, phytomania : phytothérapie, plantes Médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. *Phytomania*. co

-K-

Katarzyna, R, Alina, K.S. and Marta, M. (2017). Selected essential oils as antifungal agents against antibiotic-resistant candida spp.: In vitro study on clinical and food-borne isolates. *Microb. Drug Resist* . 23: 1-18.

Kalemba, D. A. A. K., &Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.

Katva,S.,Das,S.,Moti,H.S.,Jyoti,A.,&Kaushik,S.(2017). Antibacterial synergy of silver nanoparticles with gentamicin and chloramphenicol against *Enterococcus faecalis*. *Pharmacognosy magazine*, 13(Suppl4), S828.

Khan, M. S. A., Zahin, M., Hasan, S., & Husain, F. M. (2014). Inhibition of quorum sensing regulated bacterial functions by plant essential oils with special reference to clove oil. *Letters in Applied Microbiology*. 58(4) : 335-341

Krutiyakov Yu A, Hudrinskiy A A, Olenin A Yu, Lisichkin G V(2008). Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects. *Russian Chemical Reviews* 77(3) 233– 257

Kumar,D.,Kumar,G.,&Agrawal,V.(2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Holarrhena antidysenterica* (L.) Wall. bark extract and their larvicidal activity against dengue and filariasis vectors. *Parasitology research*, 117, 377-389.

Kumar,V.,&Yadav,S.K.(2009). Plant-mediated synthesis of silver and gold nanoparticles and their applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 84(2), 151-157.

Kurkin,A. Chem. Nat. Compd. 2003, p 39,123

-L-

Lagunez Rivera L.(2006).Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse

Li,W. R., Xie,X. B., Shi,Q. S., Duan,S.S., Ouyang,Y. S., &Chen, Y. B. (2011).

AntibacterialeffectofsilvernanoarticlesonStaphylococcus aureus.*Biometals*,24,135-141.

Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q., ... Chen, L. (2019).Antibacterial

activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

International Journal of Nanomedicine, Volume 14, 1469–1487.

Lins, R. F., Lustri, W. R., Minharro, S., Alonso, A., & de Sousa Neto, D. (2016). On the formation,physicochemicalproperties andantibacterialactivityofcolloidalsystems containing teatree(Melaleucaalternifolia)oil. *ColloidsandSurfacesA:PhysicochemicalandEngineering Aspects*, 497, 271-279.

Lucchesi,M.E.(2005).*ExtractionSansSolvantAssistéeparMicro-ondesConception et Application à l'extraction des huiles essentielles* (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).

Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essentialoilfromaromaticcherbs:comparisonwithconventionalhydro-distillation.*Journalof Chromatography a*, 1043(2), 323-327.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., & Chemat, F. (2007). Solvent free microwaveextractionofElletariacardamomumL.:Amultivariatestudyofanewtechniquefor the extraction of essential oil. *Journal of food engineering*, 79(3), 1079-1086.

-M-

Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2012). Biochemical activities of Iranian *Cymbopogon olivieri* (Boiss) Bor. essential oil. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74(4), 356.

Mengal, P., Behn, D., Bellido Gil, M., & Mompon, B. (1993). VMHD: extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums, cosmétiques, arômes*, (114), 66-67.

Mortezaee, K., Najafi, M., Samadian, H., Barabadi, H., Azarnejhad, A., & Ahmadi, A. (2019). Redox interactions and genotoxicity of metal-based nanoparticles: A comprehensive review. *Chemico-biological interactions*, 312, 108814.

Mastelari, M.R., D'Avila, F.M., Fernanda, N. et al. (2016). Antimicrobial and cytotoxic Evaluation of eugenol derivatives. *Med. Chem. Res.* 25; 2360-2367.

Mehani M. (2015). Thèse de doctorat. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla

Mursaleen, Y., Adnan, Y., Talha, J. et al., 2021. River Tea Tree Oil: Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities, and Potential Applications in Agriculture. *Plants* (Basel), 10(10), 2105.

Musthafa, K. S., Hmoteh, J., Thamjarungwong, B., & Voravuthikunchai, S. P. (2016). Antifungal potential of eugenyl acetate against clinical isolates of *Candida* species. *Microbial pathogenesis*, 99, 19-29.

Mutai, C., Bii, C., Rukunga, G., & Mwitari, P. (2009). Antimicrobial activity of stem bark extracts of *Warburgiasalutaris* (Bertol.f) Chiov. and *Zanthoxylumchalybeum* Engl. against selected pathogens. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3(4): 142-146.

-N-

Nair,A.,Mallya,R.,Suvarna,V.,Khan,T.A.,Momin,M.,&Omri,A.(2022).

Nanoparticles—Attractive carriers of antimicrobial essential oils. *Antibiotics*, 11(1), 108.

Nair,S.,Sasidharan,A.,DivyaRani,V.V.,Menon,D.,Nair,S., Manzoor,K.,&Raina,S. (2009). Role of size scale of ZnO nanoparticles and microparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cancer cells. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 20, 235-241.

Nasrollahzadeh,MS. Sajadi M , Issaabadi Z ,Sajjadi M (2019) . Chapitre 3 - Sources biologiques utilisées dans les nanotechnologies vertes. Sciences et technologies des interfaces . V 28 Pages 81-111

Narayanan,K.B.,&Sakthivel,N.(2010). Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes. *Advances in colloid and interface science*, 156(1-2), 1-13.

-O-

OUIS N., 2015. étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, UNIV, Oran, P07-18-19-20.

Omar,Z.A.,Abduljabar,R.S.,Sajadi,S.M.,Mahmud,S.A.,&Yahya,R.O.(2022).

Recent progress in eco-synthesis of essential oil-based nanoparticles and their possible mechanisms. *Industrial Crops and Products*, 187,

-P-

Pinto,E.,Vale-Silva,L.,Cavaleiro,C.,&Salgueiro,L.(2009). Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, 58(11), 1454-1462.

-Q-

Quelemes, P. V., Araruna, F. B., De Faria, B. E., Kuckelhaus, S. A., Da Silva, D. A., Mendonça, R. Z.,... & Leite, J. R. S. (2013). Development and antibacterial activity of cashew gum-based silver nanoparticles. *International journal of molecular sciences*, 14(3), 4969-4981.

-R-

Rai, M., Kon, K., Gade, A., Ingle, A., Nagaonkar, D., Paralikar, P., & da Silva, S. S. (2016).

Antibiotic resistance: can nanoparticle tackle the problem. *Antibiot. Resist.*

Rai, M., Paralikar, P., Jogee, P., Agarkar, G., Ingle, A. P., Derita, M., & Zacchino, S. (2017). Synergistic antimicrobial potential of essential oils in combination with nanoparticles: Emerging trends and future perspectives. *International Journal of Pharmaceutics*, 519(1-2), 67-78.

Rhayour, K. (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.

Richard, H. 1992. Épices et Aromates. Technologie et Documentation Lavoisier. Paris. 339p.

Robert, G. 2000. Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224p.

-S-

Saravanan, M., Barik, S. K., Mubarak Ali, D., Prakash, P., & Pugazhendhi, A. (2018).

Synthesis of silver nanoparticles from *Bacillus brevis* (NCIM 2533) and their antibacterial activity against pathogenic bacteria. *Microbial pathogenesis*, 116, 221-226.

Shannon, M.A., Mao, X.L., Fernandez, A., Chan, W. T., & Russo, R.E. (1995). Laser ablation mass removal versus incident power density during solid sampling for inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 67(24), 4522-4529.

Shrivastava S., Bera T., Singh S.K., Singh G., Ramachandrarao P., Dash D., (2009).

Characterization of antiplatelet properties of silver nanoparticles. *ACS Nano*; 3:1357–1364

Simchi, A., Ahmadi, R., Reihani, S.S., & Mahdavi, A. (2007). Kinetics and mechanisms of nanoparticle formation and growth in vapor phase condensation process. *Materials & design*, 28(3), 850-856.

Souza, M.E., Lopes, L.Q.S., Bonez, P.C., Gündel, A., Martinez, D.S.T., Sagrillo, M.R.,

... & Santos, R.C.V. (2017). Melaleuca alternifolia nanoparticles against *Candida* species biofilms. *Microbial pathogenesis*, 104, 125-132.

-T-

Tran, Q.H., Nguyen, V.Q., & Le, A.T. (2013). Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, application and perspectives.

-V-

Vanlalveni, C., Lallianrawna, S., Biswas, A., Selvaraj, M., Changmai, B., & Rokhum, S.L. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts and their antimicrobial activities: A review of recent literature. *RSC advances*, 11(5), 2804-2837

Vijayaraghavan, K., Nalini, S.K., Prakash, N. U., & Madhankumar, D.J. M.L. (2012).

Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Syzygium aromaticum*. *Materials Letters*, 75, 33-35

Références bibliographiques

Vilas, V., Philip, D., & Mathew, J. (2014). Catalytically and biologically active silver nanoparticlessynthesizedusingessentialoil. *Spectrochimicaactaparta:molecularand biomolecular spectroscopy*, 132, 743-750.

Vogel,A.,Noack,J.,Nahen,K.,Theisen,D.,Busch,S.,Parlitz,U.,...&Birngruber,R. (1999). Energy balance of optical breakdown in water at nanosecond to femtosecond time scales. *Applied Physics B: Lasers & Optics*, 68(2).

-W-

Wang, D., An, J., Luo, Q., Li, X., & Yan, L. (2012). *Synthesis, characterization and application of silver-based antimicrobial nanocomposites. Nano-Antimicrobials : Progress and Prospects*, 47-84.

-Z-

Zaika,L.L.(1988).Spicesandherbs:theirantimicrobialactivityandits determination

1. *Journaloffoodsafety*,9(2), 97-118.

Zargar, M., Hamid, A. A., Bakar, F. A., Shamsudin, M. N., Shameli, K., Jahanshiri, F., & Farahani,F.(2011).GreensynthesisandantibacterialeffectofsilvernanoarticlesusingVitex negundo L. *Molecules*, 16(8), 6667-6676

Zhang, W., Qiao, X., Chen, J., 2007. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 299, 22

Zhang,X.F.,Liu,Z.G.,Shen,W.,&Gurunathan,S.(2016). Silvernanoarticles:synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. *International journal of molecular sciences*, 17(9), 1534.aaa

ملخص-

على مدى العقد الماضي، حظيت الزيوت العطرية باهتمام كبير في مجالات الأدوية والأغذية ومستحضرات التجميل بسبب أنشطتها البيولوجية المتنوعة. ومع ذلك، نظرًا لطبيعتها المتطايرة وقابليتها الكيميائية وقابليتها المنخفضة للذوبان، فإن تطويرها كعوامل مضادة للميكروبات محدود. وقد تم بحث الجسيمات النانوية المكونة من البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي والمواد غير العضوية للتغلب على هذه القيود.

في هذه الدراسة، تم تقييم الخصائص المضادة للميكروبات للجسيمات النانوية الفضية المحملة بالزيوت العطرية المصنعة سابقًا من الزيوت العطرية *Syzygium aromaticum* (القرنفل) و *Melaleuca alternifolia* (شجرة الشاي)

ضد الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والمبيضات البيضاء باستخدام طريقة نشر الأقراص.

أظهرت النتائج أن الجسيمات النانوية المحملة بالزيت أظهرت نشاطًا كبيرًا مضادًا للبكتيريا ضد السلالات التي تم اختبارها، ولكن كانت المبيضات البيضاء مقاومة.

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية، سيزيجيوم أروماتيكوم، ميلاليوكا ألتيرنيفوليا، جسيمات نانوية، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطريات.

Résumé

Au cours de la dernière décennie, les OE ont fait l'objet d'une attention considérable dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétiques grâce à leurs nombreuses activités biologiques. Toutefois, en raison de leur nature volatile, de leur susceptibilité chimique et de leur faible solubilité, leur développement en tant qu'agents antimicrobiens est limité. Les nanoparticules composées de polymères biodégradables et de matériaux inorganiques ont été étudiées pour surmonter ces limitations.

Dans la présente étude, les propriétés antimicrobiennes des nanoparticules d'argent chargée des huiles essentielles *Syzygium aromaticum* (Clou de Girofle) et *Melaleuca alternifolia* (Arbre de thé) préalablement synthétisés ont été évaluées vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans* en utilisant la technique de diffusion par disque.

Les résultats ont montré que les nanoparticules chargées des huiles présentent une activité antibactérienne significative contre les souches testées, cependant *candida albicans* est résistante.

Mots clés : Huiles essentielles, *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca alternifolia*, nanoparticules, activité antibactérienne, activité antifongique.

Abstract

Over the past decade, EOs have received considerable attention in the pharmaceutical, food and cosmetics fields due to their diverse biological activities. However, their development as antimicrobial agents is limited because of their low solubility, chemical susceptibility, and volatile nature. To get around these restrictions, researchers have looked into using inorganic and biodegradable polymer nanoparticles.

In the present study, nanoparticles loaded with essential oils of *Syzygium aromaticum* (Clove) and *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) are synthesized and their antimicrobial activity has been evaluated against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* using the disk diffusion technique.

According to the findings, the oil-loaded nanoparticles significantly inhibited the growth of the tested strains of bacteria. however *candida albicans* was resistant.

Key words: Essential oils, *Syzygium aromaticum*, *Melaleuca alternifolia*, nanoparticles, antibacterial activity, antifungal activity