



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

FEROUANI Radjaà et TRARI MEDJAOUI Farah Nihel

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Spécialité : Microbiologie fondamentale

Thème

L'inhibition de *Candida albicans* d'origine hospitalière par des molécules bioactives

Soutenu publiquement, le **10/06/2024**, devant le jury composé de:

Présidente	BOUALI W.	MCA	Université Tlemcen
Encadrante	MKEDDER I.	MCA	Université Tlemcen
Examinatrice	KHOLKHAL W.	MCA	Université Tlemcen

Année universitaire: 2024-2025

Remerciements

Avant tout, la louange au Dieu le plus puissant pour ce qu'il nous a donné, comme santé, volonté et surtout patience pour pouvoir achever ce modeste travail.

Ce mémoire a été effectuée dans le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE), université Abou BekrBelkaid Tlemcen, sous la direction de **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.

Nos remerciements vont tout d'abord à notre directrice de mémoire, **Dr MKEDDER Ilham, Maitre de conférences de Classe A**, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekrBelkaid- Tlemcen, pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail de mémoire de Master. On lui remercie pour l'aide qu'elle nous a apporté, pour sa patience, sa confiance, son encouragement pour réaliser ce travail.

Je remercie chaleureusement la Présidente du jury, **Dr BOUALI Waffa, Maitre de conférences de Classe A**, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekrBelkaid- Tlemcen, qui nous fait l'honneur de présider le jury de ce travail. Son engagement à participer dans ce jury est une valeur positive ajoutée à notre travail.

Un grand merci à **Dr KHOLKHAL Wahiba, Maitre de conférences de Classe A**, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université AbouBekrBelkaid- Tlemcen, pour l'honneur d'avoir accepté de d'examiner notre travail. Ses conseils apporteront une valeur supplémentaire à ce travail.

Un remerciement spécial s'adresse à **Douili Zahra, doctorante au laboratoire LAAMABE**, pour son aide généreuse, ses échanges enrichissants et son soutien technique et moral tout au long de ce travail.

On tienà exprimer notre profonde gratitude au **Professeur KHALDI Khadidja, Dr MKEDDER Ikram**, pour leur aide et leurs conseils éclairés tout au long de nos travaux.

Enfin, nos 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

À ceux qui ont tissé les fils de ma force, de mon courage et de mon cœur...

À mes parents, Souhila et Reda,

Vous êtes l'origine de tout. Merci pour chaque regard plein de tendresse, chaque prière murmurée en silence, chaque nuit veillée dans l'ombre de mes rêves. Vous êtes ma fierté et mon refuge. Que Dieu vous garde et vous offre la paix du cœur, la santé et la sérénité pour l'éternité.

À mes sœurs chéries, Inès, Razane, Ikram et Manel,

Vous êtes les battements de mon cœur. Votre présence est un arc-en-ciel dans mes jours sombres. Que Dieu protège chacune de vos âmes et réalise tous vos vœux les plus doux.

À mes grands-parents paternels, qui veillent désormais depuis les étoiles, je vous dédie une pensée tendre et éternelle. Que Dieu vous entoure de Sa lumière et de Sa miséricorde.

A mes grands-parents paternels,

Vous êtes loin de nos yeux mais toujours près de nos cœurs

À mes grands-parents maternels,

Votre tendresse est un repère dans ma vie. Que Dieu vous garde encore longtemps près de nous, dans la santé et la paix.

À mes tantes bien-aimées, Samira, Wafaa, Batoul, Amina,, À mes oncles, Zaki, Nabil, Abdou et et leurs familles.

Merci pour l'amour discret et la chaleur que vous m'avez toujours apportée.

À Walid, mon fiancé,

Mon binôme de vie, merci d'être toujours à mes côtés

À mes meilleures amies, Meriem, Amira et Marwa,

Merci pour vos rires, vos silences partagés, votre loyauté sans faille. Vous êtes mes sœurs de cœur, mes piliers de toujours.

À Radjaa, mon binôme d'âme,

Ce mémoire est aussi un peu le tien. Merci pour ton aide généreuse, ton écoute, ta patience et ton amitié sincère. Tu as été là, vraiment là.

À mes amis, Wail, Ismail

Merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble et pour votre aide

À mes élèves,

Merci de m'avoir donné une raison de transmettre, de persévérer, de croire. Chacun de vous m'a inspirée plus que vous ne le saurez jamais.

Enfin, à la vie, avec ses détours, ses épreuves et ses miracles...

Merci de m'avoir menée jusqu'ici.

TRARI MEDJAOUI Farah Nihel

Dédicace

Je dédie ce travail à *mes chers parents*, pour leur soutien moral inestimable et leurs précieux conseils tout au long de mes études. Leur amour indéfectible a été la source de ma force et de ma persévérance. Je leur dois ce que je suis aujourd'hui. Que Dieu les protège. Je vous aime profondément.

À *ma chère tante Hbibba*, pour ses encouragements constants, sa disponibilité et le temps qu'elle m'a généreusement consacré. Je te témoigne toute mon admiration, ma reconnaissance et mon attachement sincère.

À *ma sœur*, dont la présence à mes côtés a été d'un grand réconfort. Les mots me manquent pour exprimer toute l'affection que je te porte. Merci pour ton soutien indéfectible et ton amour.

À *ma chère grand-mère*, je vous remercie du fond du cœur pour votre tendresse et vos prières.

À *mes oncles Houari et Fethiet leurs petits familles* .

À *mon neveu Mohammed et ma nièce Amira*, qui apportent lumière et joie dans ma vie.

À *mon ami Ahmed Nadir*, merci pour ta présence et ton encouragement

À *mes meilleures amies Meriem et Hanaa*,

À *mes amis, Wail, Ismail*

Merci pour tous les moments qu'on a passé ensemble et pour votre aide

À *mon binôme Nihel*, pour sa sympathie, sa patience, son sérieux et son soutien précieux tout au long de ce travail. Merci pour ton engagement et ton esprit d'équipe.

FEROUANI Radjaà

Table des Matières

INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : *Syzygium aromaticum*

1. Généralités.....	3
2. Origine.....	3
3. Systématique	3
4. Description botanique.....	4
5. Huile essentielle de Clou de girofle.....	5
5.1. Les composés des huiles essentielles.....	6
5.1.1. Les terpènes.....	6
5.1.2. Les sesquiterpènes.....	6
5.1.3. Les composés aromatiques.....	7
5.1.3.1. Les Phénylpropanoïdes	7
5.1.3.2. Les éthers.....	7
5.1.3.3. Les esters aromatiques.....	7
5.1.4. Composants supplémentaires.....	7
5.1.4.1. Les aldéhydes aromatiques.....	7
5.1.4.2. Les oxydes sesquiterpènes	7
5.2. Activités biologiques.....	8
5.2.1. Activité antibactérienne.....	8
5.2.2. Activité antifongique.....	9
5.2.3. Activité antibiofilm.....	9
5.2.4. Activité antivirale.....	9
6. Quelques utilisations de l'huile essentielle de clou de girofle	10
6.1. Dentisterie.....	10
6.2. Aromathérapie.....	10
6.3. Autres utilisations.....	10

Chapitre 2 : Les nanoparticules

1. Généralités	13
2. Chronologie de la nanoscience.....	13

3. Définition des nanoparticules.....	14
4. Diversité des nanoparticules.....	14
4.1. Les nanoparticules organiques.....	15
4.1.1. Système micellaire/lipidique.....	15
4.1.2. Les nanoparticules polymériques.....	15
4.1.3. Les Nanoparticules inorganiques.....	16
5. La synthèse des nanoparticules métalliques.....	16
5.1. Approche descendante (Top-Down)	16
5.2. Approche ascendante, ou bottom-up	16
5.2.1. La méthode physique.....	17
5.2.2. La méthode chimique.....	18
5.2.3. Synthèses biologique.....	18
6. Exemple de nanoparticules métalliques.....	20
7. Activités antimicrobiennes des nanoparticules d'argent.....	21

MATERIEL ET METHODES

1. Lieu d'étude.....	23
2. Prélèvements	23
3. Isolement et purification des souches.....	23
4. Identification des souches.....	23
4.1. Caractères morphologiques.....	23
4.1.1. Examen macroscopique	23
4.1.2. Examen microscopique	24
4.2. Caractères biochimiques	24
4.3. Caractères physiologiques.....	24
4.3.1. Test de blastèse (test de germination)	24
4.3.2. Croissance sur Milieu CHROMagar <i>Candida</i>	25
5. Les huiles essentielles.....	25
6. Essai de biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs)	25
6.1. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) à partir des HE de girofle.....	25
6.2. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) par la levure.....	25
6.2.1. Préparation de la culture de levure	25
6.2.2. Préparation de la solution d'argent.....	26
6.2.3. Synthèse des nanoparticules.....	26

6.2.4. Récupération et purification des AgNPs.....	26
7. Test de sensibilité de <i>C.albicans</i> aux huiles essentielles et aux nanoparticules d'argent.....	26
7.1. Technique de diffusion sur gélose (méthode de puits)	26
7.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	27

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Identifications des souches	29
1.1.Caractères morphologiques.....	29
1.1.1. Examen macroscopique.....	29
1.1.2. Examen microscopique	29
1.2.Caractères biochimiques sur galeries Api <i>Candida</i>	30
1.3.Caractères physiologiques.....	30
1.3.1. Test de blastèse.....	30
1.3.2. Croissance sur milieu CHROMagar <i>Candida</i>	31
2. Synthèse des nanoparticules.....	32
2.1.Biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir des huiles essentielles de <i>Syzygium aromaticum</i>	32
2.2.Biosynthèse des nanoparticules d'argent par la levure.....	32
3. Effet antifongique des huiles essentielles et des nanoparticules biosynthétisées.....	33
CONCLUSION	36
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38

Liste des figures

Figure 1 : Giroflier de Madagascar	4
Figure 2 : fFeuilles du Giroflier	5
Figure 3 : clou de girofle.....	5
Figure 4 : structures principaux constituants d'huile de <i>S.aromaticum</i>	8
Figure 5 : différentes tailles de matière	13
Figure 6 : illustration de la diversité des nanoparticules.....	15
Figure 7 : l'approche «top-down» et de l'approche «Botton-up» d'élaboration des nanoparticules.....	17
Figure 8 : schéma représentant le mécanisme de synthèse des NPs par une cellule fongique	20
Figure 9 : aspect macroscopique des colonies sur milieu Sabouraud.....	29
Figure 10 : observation microscopique de <i>C.albicans</i> (coloration au bleu de méthylène)	30
Figure 11 : formation des tubes germinatifs (Test de blastèse).....	31
Figure 12 : <i>Candida albicans</i> sur milieu CHROMagar <i>Candida</i>	31
Figure 13 : Synthèse des Nanoparticules d'argent par la levure.....	33
Figure 14 : Activité antifongique vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> : a) les HE ; b) les AgNPs.....	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les diamètres des zones d'inhibition (mm).....	34
---	-----------

المخلص

تُعدّ **المبيّضات البيضاء** من الفطريات الانتهازية المسؤولة عن عدد كبير من الإصابات الفطرية وتُمثل مقاومتها المتزايدة للعلاجات التقليدية المضادة للفطريات تحديًا علاجيًا بارزًا، مما يستدعي البحث عن بدائل علاجية جديدة وفعّالة.

تهدف هذه الأطروحة إلى تقييم الفعالية المضادة للفطريات لكل من **زيت القرنفل الأساسي** و**جسيمات الفضة النانوية المُخلّقة حيويًا**، وقد تم ذلك باستخدام طريقة انتشار البئر في وسط الآبار.

أظهرت النتائج أن متوسط قطر منطقة التثبيط بلغ 17 ملم لزيت القرنفل و 22 ملم لجسيمات الفضة النانوية، مما يشير إلى فعالية ملحوظة ضد الفطريات.

تشير هذه المعطيات إلى أن **زيت القرنفل الأساسي** و**جسيمات الفضة النانوية** يُعدّان من المرشحين الواعدين لتطوير استراتيجيات علاجية جديدة ضد المبيّضات البيضاء، غير أن تطبيقهما السريري ما زال يتطلب مزيدًا من الدراسات والأبحاث.

الكلمات المفتاحية: المبيّضات البيضاء، الزيوت الأساسية، الجسيمات النانوية، الفعالية المضادة للفطريات

Résumé

Candida albicans est un champignon pathogène opportuniste responsable de nombreuses infections fongiques. La résistance croissante de ce micro-organisme aux traitements antifongiques classiques pose un défi majeur en thérapeutique, incitant à la recherche de nouvelles alternatives efficaces.

Ce mémoire s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles de clou de girofle et des nanoparticules d'argent biosynthétisées. L'efficacité antifongique a été évaluée par la méthode de diffusion par puits de gélose.

Les résultats ont révélé une zone d'inhibition moyenne de **22 mm** pour les huiles essentielles et de **17 mm** pour les nanoparticules d'argent, démontrant une activité antifongique significative.

Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles et les nanoparticules d'argent constituent des candidats pertinents pour le développement de nouvelles stratégies antifongiques ciblant *Candida albicans*, nécessitant toutefois des recherches approfondies pour leur application clinique.

Mots clés : *Candida albicans*, Huiles essentielles, nanoparticules, activité antifongique.

Abstract

Candida albicans is an opportunistic fungal pathogen implicated in numerous fungal infections. The increasing resistance of this microorganism to conventional antifungal therapies presents a significant therapeutic challenge and underscores the urgent need for effective alternative treatments.

This dissertation investigated the antifungal properties of clove essential oil and biosynthesized silver nanoparticles. Antifungal activity was evaluated using the agar well diffusion method. The results demonstrated mean inhibition zones of 22 mm for clove essential oil and 17 mm for silver nanoparticles, indicating notable antifungal efficacy.

These findings suggest that both clove essential oil and silver nanoparticles hold promise as potential candidates for the development of novel antifungal strategies against *Candida albicans*. However, additional research is necessary to validate their safety and efficacy for clinical use.

Keywords: *Candida albicans*, essential oils, nanoparticles, antifungal activity.

Introduction

Introduction

Candida albicans est une levure opportuniste fréquemment impliquée dans les infections fongiques, notamment chez les patients immunodéprimés. Sa virulence repose en grande partie sur sa capacité à former des biofilms, structures protectrices qui réduisent considérablement l'efficacité des antifongiques conventionnels. Cette aptitude favorise l'émergence de souches résistantes, rendant les traitements classiques de plus en plus inefficaces (**Southern et al., 2008; Naglik et al., 2011; Vila et al., 2020**).

Dans ce contexte, les alternatives naturelles comme les huiles essentielles attirent l'attention. Issues de plantes aromatiques, elles renferment une grande variété de composés bioactifs aux propriétés antifongiques. Certaines, telles que celles de girofle, de thym ou de l'arbre de thé, se sont révélées capables de limiter la croissance de *C. albicans* et d'inhiber la formation de biofilms. Leur mode d'action implique souvent une altération de la membrane cellulaire fongique, une perturbation du métabolisme ou une inhibition de la morphogénèse (**Jafri et Ahmad, 2020**).

Parallèlement, les nanoparticules d'argent (AgNPs) représentent une autre voie prometteuse. Grâce à leur taille nanométrique et leur surface réactive, elles peuvent interagir efficacement avec les cellules microbiennes. Elles exercent une action antifongique multiple : génération de stress oxydatif, perturbation de la perméabilité membranaire, et inhibition des processus cellulaires essentiels. Des études ont montré que les AgNPs peuvent non seulement inhiber la croissance de *C. albicans*, mais également désorganiser les biofilms déjà établis. (**Gebreslassie et Gebremeskel, 2024**).

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique des huiles essentielles et des nanoparticules d'argent biosynthétisées sur des souches de *Candida albicans* d'origine hospitalière, en vue d'explorer leur potentiel en tant qu'alternatives aux antifongiques conventionnels.

Synthèse bibliographique
Syzygium aromaticum

1. Généralités

Syzygium aromaticum, également connu sous le nom d'*Eugenia caryophyllum* ou encore « قرنفل » et en français « giroflier » ou « clou de girofle », est un membre de la famille des Myrtacées (Ghediraet al., 2010). Cette famille regroupe près de 3800 espèces de plantes dicotylédones, la plupart étant tropicales et tous possédants des propriétés aromatiques. Elles contiennent des monoterpènes, du 1,8-cinéole, du caryophyllène, de l'eugénol et des tanins, ce qui justifie leur attrait pour le personnel pratiquant l'aromathérapie (Vermeulen et Johnston, 2011 ; Dupont, et al., 2012).

2. Origine

Le Giroflier est un arbre tropical qui fait partie de la vaste famille des Myrtacées. Il est originaire de l'Indonésie, plus précisément du sud des Philippines et des îles Moluques. (Ghediraet al., 2010). Cette plante est largement cultivée en Inde, en Indonésie, à Madagascar, au Pakistan et au Sri Lanka, et elle est employée comme épice dans divers pays du monde (Allahverdiyev et al., 2013).

3. Systématique

Le giroflier ou *Syzygium. Aromaticum* présente la systématique suivante (Goetz et al., 2012) :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta (=Phanérogames)

Sous-embranchement : Magnoliophyta (=Phanérogames)

Classe : Magnoliophytina (=angiospermes)

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Syzygium*

Espèce : *Syzygium. Aromaticum*

4. Description botanique

Il s'agit d'un arbre fruitier imposant et élancé, de forme conique, qui se dresse généralement à une hauteur de 10 à 12 mètres, bien qu'il puisse atteindre jusqu'à 20 mètres. Il possède un port pyramidal et un tronc grisonnant aux rides marquées (**Barbelet et al., 2015**) (**Figure 1**). Actuellement, il a souvent l'apparence d'un buisson, car il est fréquemment taillé pour simplifier la récolte.



Figure 1 : Giroflier de Madagascar (**Barbelet et al., 2015**)

Il possède un système racinaire radulaire, peu évolué (**Maistre, 1964**), avec une silhouette pyramidale et un tronc de couleur gris clair ridé. Les feuilles se distinguent par leur ténacité et leur robustesse. Elles s'alignent de manière opposée le long de la branche, avec un limbe unique dont les dimensions atteignent environ 10 cm de long pour 3 cm de large. Cette configuration leur confère une forme ovale, presque en forme de lance. Le pétiole, qui soutient le limbe, présente une longueur variant entre 0,5 et 1 cm. À maturité, les feuilles affichent un vert profond brillant, mais lors de leur croissance, elles deviennent roses et semblent être parsemées d'or (**figure 2**). On peut distinguer de petites ponctuations sur les

feuilles, qui correspondent à des glandes schizogènes, dans qui enveloppe l'essence (Sophie, 2015).



Figure 2 : Feuilles du Giroflier (Sharada et Lalitha, 2017)

On désigne les boutons floraux récoltés avant leur ouverture sous le nom de « clous de girofle » (figure 3), ainsi que l'huile essentielle qui en est extraite, grâce à leurs propriétés thérapeutiques ; les baies pourpres comestibles issues du giroflier sont également connues sous ce nom (Rakotoatimanana *et al.*, 2010).



Figure 3 : Clou de girofle

5. Les Huiles essentielles de Clou de girofle

Les huiles essentielles se retrouvent presque exclusivement chez les plantes supérieures (Brunetton, 1999). Sur les 1 500 000 espèces végétales, seules 10% sont qualifiées d'« aromatiques », c'est-à-dire qu'elles produisent et libèrent de petites quantités d'essence aromatique (Degryse *et al.*, 2008). Le clou de girofle est une épice prisée, non seulement pour

ses saveurs culinaires, mais aussi pour ses vertus thérapeutiques. De cette épice est extraite une huile essentielle (représente 20% de la composition de clou de girofle), particulièrement reconnue dans le domaine de la médecine dentaire.

L'huile essentielle de girofle, majoritairement composée d'eugénol - un phénol à la fois doux et puissant qui confère l'arôme du clou de girofle -, représente entre 72% et 90% de sa composition. Ce dernier agit comme un agent anti-infectieux à large spectre (Cortés-Rojas *et al.*, 2014 ; Bouzaa *et al.*, 2022). Parmi les composants fréquemment présents dans l'huile essentielle (figure 4), on compte l'acétate d'eugénol (5 à 10%), le β -caryophyllène (5 à 12%), le salicylate de méthyle, le pinène, la vanilline et l' α -humulène (Medfouni *et al.*, 2018). Elle provient des boutons de girofle, c'est-à-dire des inflorescences non ouvertes, obtenue par distillation à la vapeur d'eau. D'après la pharmacopée européenne, l'huile essentielle de clous de girofle se présente sous forme d'un liquide jaune, transparent, qui tend à brunir lorsqu'il est en contact avec l'air (EDQM, 2004).

5.1. Les composés des huiles essentielles

On distingue donc généralement deux principales catégories de composants dans les huiles essentielles : les terpènes, les sesquiterpènes, et les molécules aromatiques (figure 4).

5.1.1. Les terpènes

On retrouve les terpènes de manière très courante dans le règne animal et végétal. Ce sont de grandes molécules, et durant le processus de distillation, leur poids les empêche d'être formées dans le distillat. Ainsi, elles ne dominent pas quantitativement dans les huiles essentielles (Padua *et al.*, 1999).

5.1.2. Les sesquiterpènes

Ce sont des composés organiques qui appartiennent à la classe des terpènes, caractérisés par leur structure chimique comprenant quinze atomes de carbone. Les terpènes sont constitués de $C_{15}H_{24}$, tandis que le terme « sesqui- » indique un rapport de 1,5. Un monoterpène contient 10 atomes de carbone et 16 atomes d'hydrogène ($C_{10}H_{16}$), alors qu'un diterpène en possède 20 atomes de carbone et 32 atomes d'hydrogène ($C_{20}H_{32}$). Le suffixe -ène indique que ces molécules contiennent des liaisons doubles entre atomes de carbone. Les sesquiterpènes possèdent des propriétés apaisantes et anti-inflammatoires (Mailhebiau *et al.*, 1989 ; Werner *et al.*, 2008), le β -caryophyllène est un exemple de sesquiterpène trouvé dans l'huile essentielle du giroflier, représentant entre 5 et 14% de sa composition.

5.1.3. Les composés aromatiques

5.1.3.1. Les phénylpropanoïdes

L'eugénol est le principal composant des huiles essentielles de girofle. L'eugénol, qui résulte de la décomposition de la phénylalanine (un acide aminé), dispose d'une structure C_6C_3 à laquelle se fixent diverses autres fonctions. L'eugénol est un composé classé parmi les phénylpropanoïdes, soit des molécules issues du phénylpropane. Ce composé a une forte activité anti-infectieuse (bactéricides, virucides et parasitocides) et possède également des propriétés immunostimulantes. Il convient de les utiliser avec soin en raison de leur potentiel irritant pour les muqueuses et de leur toxicité hépatique à des doses élevées ou répétées. Avant d'être appliqués sur la peau, ils seront systématiquement mélangés à une huile végétale (Mailhebiau *et al.*, 1992 ; Werner *et al.*, 2008).

5.1.3.2. Les éthers

En réalité, ce sont des phényléthers, en raison de la présence d'un cycle benzénique. Un exemple de phényléther serait le méthyl-eugénol (Iso, 1997 ; Merr et Perry, 2004).

5.1.3.3. Les esters aromatiques

Un ester est le résultat de l'union chimique d'un acide avec un alcool aromatique. Généralement, l'ester d'une huile essentielle provient de l'alcool qu'elle renferme. Concernant l'huile essentielle de clou de girofle, l'ester est l'acétate d'eugényle dérivé de l'eugénol

(Mailhebiau *et al.*, 1989).

5.1.4. Composants supplémentaires

Même s'ils sont présents en petite quantité dans l'huile essentielle de clou de girofle, ces composants amplifient l'effet des constituants, révélant une synergie d'action.

5.1.4.1. Les aldéhydes aromatiques

L'eugénol subit une oxydation qui conduit à la création d'un aldéhyde aromatique : la vanilline. C'est grâce à cette méthode que l'arôme synthétique de la vanille a été produit pendant de nombreuses années (Sophie, 2015).

5.1.4.2. Les oxydes sesquiterpènes

Ces composés proviennent de l'oxydation des sesquiterpènes et sont faiblement présents dans les huiles essentielles. Bien que leurs caractéristiques soient encore mal comprises, ces

molécules seraient de nature anti-inflammatoire et légèrement anxiolytiques, l'H.E. de clou de girofle contient, entre autres, l'oxyde de caryophyllène (<1%) (Werner *et al.*, 2008).

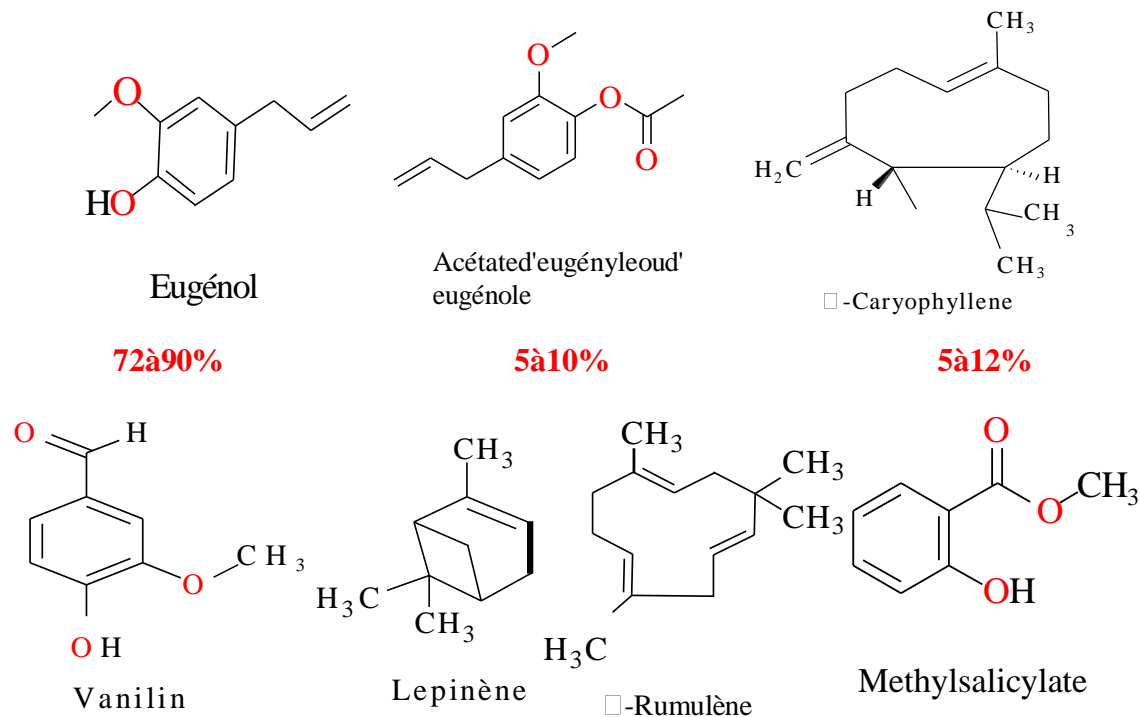


Figure 4 : Structures principaux constituants d'huile de *S.aromaticum* (Medfouni *et al.*, 2018).

5.2. Activités biologiques

5.2.1. Activité antibactérienne

Les solutions contenant une forte concentration en eugénol possèdent un effet bactéricide grâce au groupe phénol. Plusieurs souches subissent une lyse bactérienne en présence d'eugénol. Elle revêt une plus grande importance pour les bactéries à Gram négatif. L'hydroxyle du phénol interagit avec la membrane cellulaire, entraînant une fuite des éléments cytoplasmiques. Cette réaction entraîne également un changement de structure des acides gras et des phospholipides, ainsi qu'une altération de la synthèse du matériel génétique. Tout comme pour les composés phénoliques, l'endroit où agissent les terpènes est la membrane cellulaire. Ils la franchissent par diffusion, entraînant un gonflement et une inhibition des enzymes respiratoires (Dobler *et al.*, 2020 ; Bouacida, 2021).

5.2.2. Activité antifongique

Candida albicans est l'agent infectieux le plus souvent identifié dans les cas de candidose. L'eugénol, considéré comme le composant phénolique majeur de l'huile essentielle de clou de girofle, exerce une notable activité antifongique durant la phase d'adhérence initiale et en fonction de la concentration de ce monoterpène. Ce terpène isolé présente ainsi un potentiel thérapeutique notable pour les infections à candidose (**Oliveira et al., 2013 ; Belarmino et al., 2016**).

5.2.3. Activité antibiofilm

Le biofilm microbien représente la forme la plus difficile à éliminer avec les agents antimicrobiens conventionnels. Toutefois, grâce à des études menées, il a été démontré que les huiles essentielles aune concentrations reduit ont la capacité d'inhiber la formation de biofilm par divers procédés (**Niu et Gilbert, 2004**). Principalement, l'activation des gènes de réaction au stress qui entraîne la réduction des polysaccharides extracellulaires, ou par l'interaction des HEs avec les protéines de surface microbienne qui entrave leur adhésion (**Benbelaid, 2015**). De plus, des recherches indiquent que l'efficacité anti-biofilm des huiles essentielles est influencée par plusieurs éléments tels que : le type et la concentration d'huiles essentielles employées, la souche ciblée, ainsi que l'ancienneté du biofilm (**Barchanetal., 2014**).

5.2.4. Activité antivirale

L'huile essentielle de *S. aromaticum* a un effet inhibiteur sur le virus de l'herpès simplex, elle agit à divers niveaux : inhibition de la synthèse de l'ADN viral et utilisation de la protéase dans le traitement de l'hépatite virale (**Goetz et al., 2010**). On utilise l'eugénol pour soigner les infections à HSV-1. Il est également efficace contre les virus de la grippe et les virus non enveloppés comme le poliovirus, le virus Cocksackie B1 et l'adénovirus de type 3 (**Tariqetal., 2019**).

5.2.5. Activité anticancéreuse

L'huile essentielle de clous de girofle a fait l'objet de recherches en tant que possible agent anti-cancérigène (**Zheng et al., 1992**). Une recherche a révélé que l'eugénol présente des propriétés anti-prolifératives et antimétastatiques contre les cellules cancéreuses du sein triple négatives et HER2 positives, dans les deux situations. Ces mêmes chercheurs ont constaté que la substance a amplifié l'expression des gènes associés à l'apoptose dans les cellules tumorales, comme la caspase 3, la caspase 7 et la caspase 9.

Par ailleurs, une autre recherche a révélé que l'association de l'eugénole et du 5-fluorouracile manifeste une action cytotoxique sur les lignées cellulaires HeLa, provoquant leur apoptose (**Dinizet al.,2020**).

5.3. Utilisations de l'huile essentielle de clou de girofle

5.3.1. Dentisterie

L'odeur de l'huile de clou de girofle rappelle sans aucun doute le cabinet dentaire, en effet pendant de nombreuses années, cette plante était très utilisée par des chirurgiens dentistes, grâce à ses propriétés anti-infectieuses et analgésiques. Cela permettait d'apaiser rapidement le patient. Malgré l'émergence d'autres méthodes, les dentistes continuent d'utiliser l'eugénole. Il est souvent associé à de l'oxyde de zinc pour la pose temporaire de couronnes dentaires ou en cas de petites complications douloureuses. (**Klein,2013**). Certaines références indiquent que l'application minutieuse d'huile essentielle pure, via un coton-tige, peut être bénéfique pour traiter des aphtes, des alvéolites ou diverses autres douleurs. De plus, des combinaisons aromatiques contenant de l'huile essentielle de Clou de girofle ou d'eugénole, ils se présentent sous forme de gels gingivaux et peuvent être employés pour apaiser les éruptions dentaires du bébé dès l'âge de 6 mois, en appliquant une goutte dans 15 ml d'huile végétale comestible(**Lobsteinet al.,2017**).

5.3.2. Aromathérapie

Durant le Moyen-Age, l'aromathérapie était considérée comme la science fondamentale de la pharmacie, et on désignait le pharmacien sous le titre d'«Aromathérii » (**Festy,2008**). Dans le domaine des spécialités pharmaceutiques et des produits de médecines alternatives (comme la phytothérapie et l'aromathérapie), utilisés pour leurs vertus thérapeutiques, anti-infectieuses, cicatrisantes et réparatrices (**Hamamouchiet al., 1990**), ainsi que comme stimulant de l'expectoration en cas de bronchites chroniques, ou dans le soin des inflammations du nez et de la gorge(**Adjanohoumet al., 1988**).

5.3.3. Autres utilisations

Ces essences sont employées dans l'industrie du parfum et de la cosmétique pour leurs vertus aromatiques, leur finesse olfactive, parfois considérées comme uniques ou inégalables en raison de leur singularité ou intensité. Leur odeur plaisante est prisée en cosmétique et en parfumerie de luxe. Elles sont souvent combinées avec d'autres essences comme le santal, le patchouli ou la rose, qui agissent comme fixateurs naturels (**Jouhanneau, 1975**). L'huile essentielle extraite du clou de girofle est employée Dans le domaine de l'agroalimentaire, on

s'en sert pour aromatiser les vins chauds et les punches aux fruits (**Iwu, 1993**). Elle est également utilisée dans les produits laitiers et les boissons non alcoolisées pour leurs vertus aromatiques (**Sandret, 1967**).

Synthèse bibliographique

Les nanoparticules

1. Généralités

La nanoscience correspond à l'étude des phénomènes et à la manipulation de substances à l'échelle atomique, macromoléculaire et moléculaire, où les propriétés présentent des différences substantielles par rapport à des échelles plus grandes (**Whatmore ,2006**). Ce domaine scientifique en plein essor se concentre sur l'analyse de matériaux à l'échelle du nanomètre (**figure 5**). Le terme « nanoscience » est la combinaison du préfixe « nano », signifiant la petitesse, et du mot « science », qui désigne le savoir. Il s'agit d'un domaine interdisciplinaire, visant à développer des nanotechnologies avancées, axé sur la convergence de disciplines telles que la physique, la biologie, l'ingénierie, la chimie et l'informatique au niveau nanométrique (**Yousaf et Ali, 2008**).

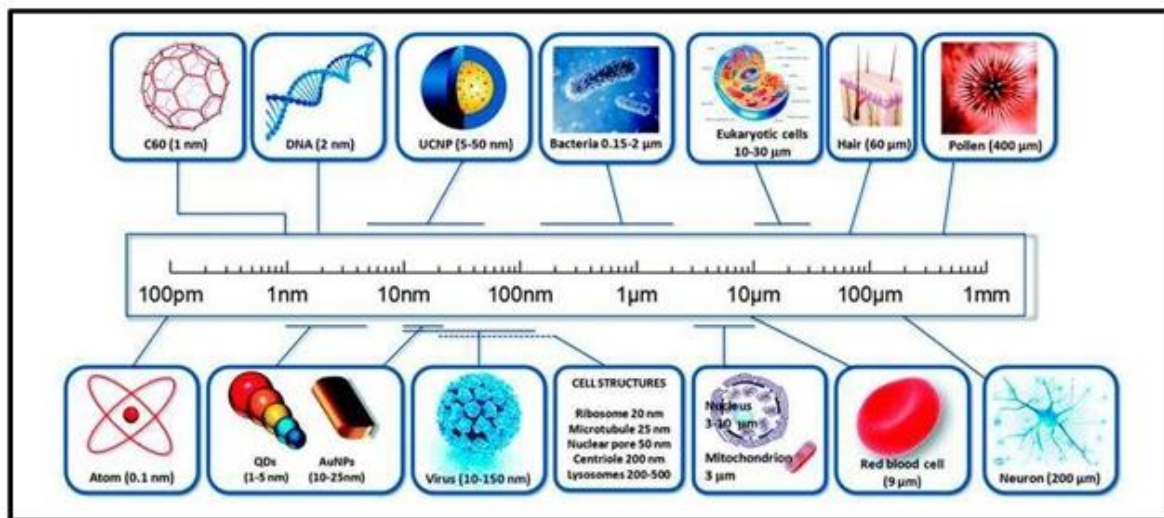


Figure 5 : différentes tailles de matière (**Baydaet al., 2020**)

2. Chronologie de la nanoscience

Avant notre ère, les civilisations humaines ont découvert les nanomatériaux et les ont utilisés, notamment les Chinois et les Égyptiens, qui les intégraient dans leurs pigments (**Durlo, 2023**).

En **1989**, **Richard et al.**, ont identifié de petites molécules de carbone pur comportant 60 atomes, connues sous le nom de fullerènes. En **1990**, **Eigler** a utilisée une pointe de microscope à effet tunnel pour manipuler 35 atomes de xénon, formant ainsi le mot « IBM ». En **1991**, **Sumiolijima** a mis au jour les nanotubes de carbone au Laboratoire NEC à Tsukuba, et en **1993**, **Eigler** a assemblé 48 atomes de fer en un tambour électronique. Le premier transistor utilisant un nanotube de carbone a été élaboré en **1996**. En **1997**, le premier haut-parleur électromécanique basé sur une molécule unique a été conçu.

En **1999**, le Réseau des Métiers de la Nanotechnologie (RMNT) a été établi en France dans le but de rapprocher le secteur industriel et les laboratoires publics. **Bill Joy** a exprimé des préoccupations concernant les risques pour la santé associés aux nanotechnologies (effet viral). À la même époque, le marché mondial des nanotechnologies était estimé à environ 40 milliards de dollars, et la Nouvelle Initiative Nationale a été mise en place.

En **2002**, la **National Science Foundation (NSF)** a lancé le programme « Converging Technologies », dont l'objectif est d'intégrer les biotechnologies, les technologies de l'information et les sciences cognitives. De plus, l'Institut des Sciences Nanotechnologiques (ISN) a été fondé en mars 2002 grâce à une collaboration entre l'armée américaine et le Massachusetts Institute of Technology (MIT).

Le **9 mai 2005**, **Motorola** a utilisé des nanotubes de carbone pour la fabrication d'un écran, tandis que l'Agence pour la Protection de l'Environnement (EPA) a identifié les risques et établi des normes de sécurité. En **2010**, au Royaume-Uni, l'utilisation des nanotechnologies dans le secteur alimentaire a fait l'objet d'une étude.

3. Définition des nanoparticules

Le terme "nanoparticules" désigne des particules uniques dont la taille varie de 1 à 100 nanomètres (nm), le préfixe « nano » indiquant un milliardième (10^{-9}), ce qui signifie qu'un nanomètre est équivalent à un milliardième de mètre. Ces particules se distinguent par leur surface élargie, entraînant ainsi une augmentation de leur activité catalytique en présence d'autres particules (**Shah et al., 2015 ; Naik, 2020**).

4. Diversité des nanoparticules

La **figure 6** présente de manière succincte la diversité des nanoparticules existantes. Le premier critère qui permet de différencier une nanoparticule d'une autre est sa composition. On identifie deux catégories de nanoparticules : les nanoparticules inorganiques et organiques. (**Khadanga et Mishra, 2024**).

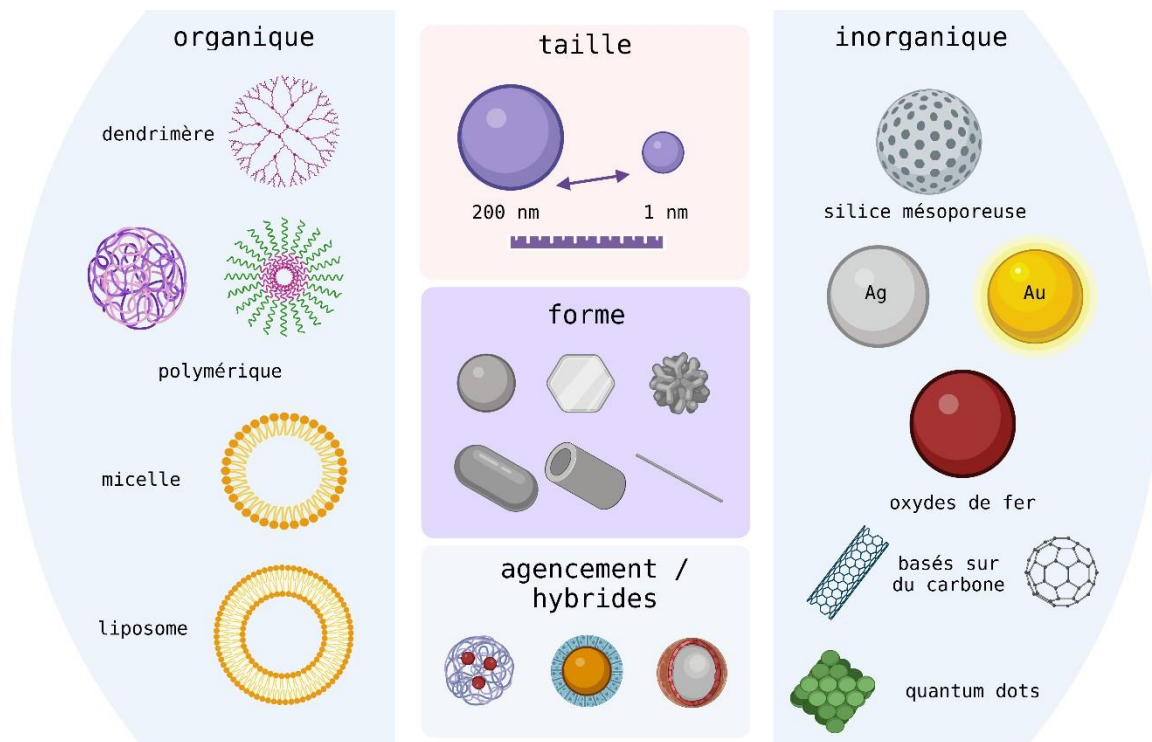


Figure 6 : illustration de la diversité des nanoparticules (**Marets, 2023**)

4.1. Les nanoparticules organiques

Les nanoparticules organiques sont des systèmes synthétiques ou naturels constitués de molécules organiques tels que les micelles, les dendrimères, les liposomes, les nanoparticules polymériques (**Fang et al., 2020**).

4.1.1. Système micellaire/lipidique

Ces nanoparticules constituent des regroupements flexibles et déformables, imitant l'agencement des membranes cellulaires. Elles se forment par l'auto-assemblage d'une monocouche de phospholipides, dont la tête polaire est hydrophile et la queue est hydrophobe (**Guitou, 2015**).

4.1.2. Les nanoparticules polymériques

Un large éventail de polymères organiques est élaboré à l'échelle nanométrique, tels que le chlorure de polyvinyle et le polystyrène, qui peuvent faire l'objet de modifications chimiques (**Chuto et Chamet-Riffaud, 2010**).

4.2. Les Nanoparticules inorganiques

Les nanoparticules inorganiques peuvent être fabriquées à partir de divers matériaux : or, argent, oxydes de fer ou d'autres métaux, lanthanides, silice, points quantiques (chalcogénures de métaux, avec ou sans coque), bismuth, lanthanides, carbone et bimétalliques. Les plus couramment utilisés, en raison de leur production à grande échelle, comprennent la silice (SiO_2), le dioxyde de titane (TiO_2), l'oxyde de zinc (ZnO) et le nitrate d'argent (AgNO_3) (Chuto et Chaumet-Riffaud, 2010 ; Namara et Tofail, 2017).

En règle générale, les nanoparticules organiques présentent une biocompatibilité supérieure par rapport aux nanoparticules inorganiques (Fang *et al.*, 2020). Cependant, ces dernières offrent l'avantage d'être plus aisément modifiables et ajustables en dimension et en forme (Mitchell *et al.*, 2021), d'améliorer l'efficacité de certains traitements grâce à une durée de circulation prolongée et une meilleure infiltration dans les tissus (Spirescu *et al.*, 2021).

5. La synthèse des nanoparticules métalliques

Les nanoparticules métalliques ont des propriétés particulières liées à leurs remarquables caractéristiques physicochimiques, comme un fort potentiel en optoélectronique, thermique et catalytique, un ratio surface-volume élevé, une morphologie maîtrisable et une cristallinité bien définie facile à produire. Des nanoparticules de métaux précieux comme l'or, l'argent et le platine font partie des nanoparticules métalliques (Jemilugba *et al.*, 2019). Il existe deux approches pour la synthèse des nanoparticules : l'approche descendante (Top-Down) et Approche ascendante (bottom-up) (Ana-Alexandra *et al.*, 2016).

5.1. Approche descendante (Top-Down)

La première méthode consiste à transformer une matière solide en particules nanométriques plus petites par voie mécanique, comme le broyage, puis les particules sont ajustées à la taille souhaitée. Néanmoins, il est compliqué d'obtenir une taille réduite de cette façon (JoudJalaba et AdawiaKitaza, 2021). (figure7).

5.2. Approche ascendante, ou bottom-up

La seconde méthode emploie un matériau de dimension atomique, produit à l'échelle nanométrique nécessaire grâce à des techniques chimiques comme la technique hydrothermale, la technique sol-gel, la technique en phase gazeuse et l'hydrolyse. En outre, ces techniques compliquent la supervision de la chimie de surface, des dimensions et de la

configuration des nanoparticules. Généralement, la méthode ascendante pour la production de nanoparticules est favorisée, car elle débute avec des particules plus élémentaires que les agrégats, avant d'évoluer vers les nanoparticules. Elle offre un meilleur contrôle sur la forme et la taille des particules créées (Devatha et Thalla, 2018) (figure7). On compte plusieurs techniques de fabrication de nanoparticules d'argent, comme les procédés physiques, chimiques et biologiques.

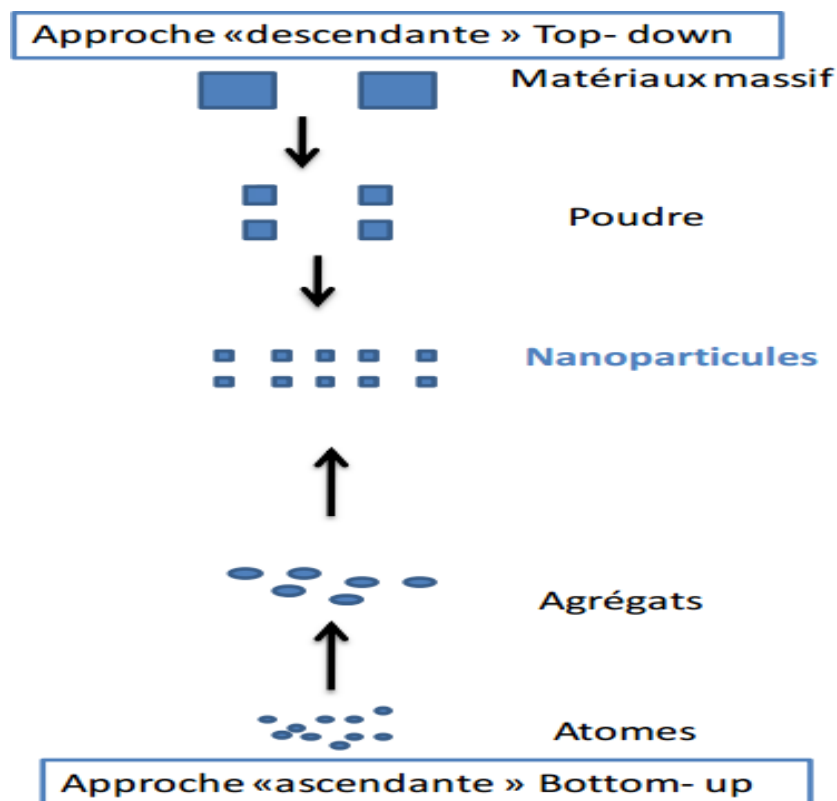


Figure 7 : l'approche «top-down» et de l'approche «Botton-up» d'élaboration des nanoparticules (Djoumessi, 2010)

5.2.1. La méthode physique

Utilise des techniques telles que le dépôt en phase gazeuse, la gravure laser et le broyage mécanique pour synthétiser des nanoparticules. Ses avantages sont une simplicité de principe et une pureté accrue, mais la taille des particules est supérieure à celle des nanoparticules synthétisées par les méthodes chimiques et biologiques (Renet *al.*, 2019).

5.2.2. La méthode chimique

Nécessite un agent stabilisant externe pour protéger les nanoparticules de l'agrégation et des agents réducteurs pour réduire Ag^+ en Ag^0 afin de synthétiser des nanoparticules d'argent, telles que le citrate de sodium et le borohydrate de sodium (**Pandey et al., 2018**).

5.3. Synthèse biologique

Les méthodes chimiques permettent de préparer des nanoparticules de taille uniforme et contrôlable. Toutefois, elles utilisent des solvants organiques qui peuvent présenter des risques pour l'environnement. Il est donc essentiel de se tourner vers des méthodes biologiques afin de développer une approche respectueuse de notre écosystème pour la synthèse des nanoparticules (**Shankar et al., 2004 ; Willner et al., 2006; Nair et al., 2008**). La production de nanoparticules à l'aide d'entités biologiques englobant notamment les plantes, les algues, les champignons, les levures, les bactéries, les actinomycètes et les virus (**Prateek et al., 2017**) est devenu un aspect essentiel de la nanotechnologie, la membrane cellulaire chargée interagit de manière électrostatique négative avec les ions métalliques chargés positivement et réduit biologiquement ces derniers en NPs (**Tran et al., 2013 ; Mathur et al., 2017**).

Les plantes constituent une option intéressante pour la synthèse des NPs, car les techniques basées sur des sources végétales ne contiennent pas de substances toxiques. De même, les agents stabilisants naturels sont facilement accessibles à partir de la flore (**Aromal et al., 2012**). Des extraits de plantes ont été préparés à partir de différentes parties, telles que les graines, les feuilles et les fleurs, afin d'étudier leur capacité à synthétiser des nanoparticules (**Diallo et al., 2015 ; Sharma et al., 2018**).

Les bactéries procaryotes, ainsi que les actinomycètes, les champignons, les algues et les levures, sont fréquemment employées comme bioréacteurs pour la synthèse de nanoparticules. De nombreux travaux scientifiques ont été consacrés au développement de cette approche, dans le but de produire une vaste gamme de nanoparticules, telles que l'argent (Ag), l'or (Au), le palladium (Pd), le dioxyde de titane (TiO_2), et le sulfure de cadmium (CdS) (**Dhand et al., 2015**). La biogénèse des nanoparticules par les micro-organismes peut se réaliser par deux processus, intracellulaire ou extracellulaire. Dans le processus intracellulaire, les micro-organismes comme les bactéries absorbent d'abord les ions à travers leur membrane cellulaire, puis ces derniers sont réduits au sein de la cellule grâce à l'action des enzymes, ce qui donne lieu à la création de germes de nanoparticules emprisonnés

dans la cellule. Dans le processus extracellulaire, la réduction des ions se produit dans l'environnement extracellulaire sous l'effet des enzymes libérées par les microorganismes, ce qui facilite la production de nanoparticules de petite taille bien dispersées (**Kumar et al., 2023**).

Les bactéries ont été au cœur des recherches intensives sur la synthèse des nanoparticules (NPs), en raison de leur croissance rapide et de leur manipulation génétique relativement aisée. Parmi celles-ci, des espèces comme *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Geobacillus* et *Klebsiella* se distinguent. Le mécanisme principal de synthèse des NPs chez les bactéries repose sur l'action d'enzymes, telles que les réductases, qui ont démontré leur rôle dans la production de nanoparticules d'argent à partir de *Bacillus licheniformis* (**Enshasyet al., 2018**).

Les levures offrent plusieurs avantages par rapport aux bactéries, notamment leur capacité à produire des nanoparticules (NPs) en grande quantité, leur facilité de manipulation en laboratoire, leur aptitude à synthétiser une multitude d'enzymes, ainsi que leur croissance rapide avec des nutriments simples. De nombreuses études ont été réalisées pour examiner la synthèse de NPs métalliques en utilisant des levures. Parmi ces recherches, l'emploi de systèmes eucaryotes, tels que *Candida glabrata* et *Schizosaccharomyces pombe*, s'est révélé être l'une des méthodes les plus prometteuses pour tirer parti du matériel biologique (**Boroumandet al., 2015**).

La mycosynthèse fait référence à la production biologique de nanoparticules métalliques (NPM) à partir de champignons, également appelées myconanoparticules (**figure 8**). Ces organismes eucaryotes, hétérotrophes et non prototrophes, possèdent une paroi cellulaire rigide. Grâce à leurs caractéristiques uniques, les champignons agissent comme de véritables « bio-nano-usines » (**Subashini et Bhuvaneswari, 2018**).

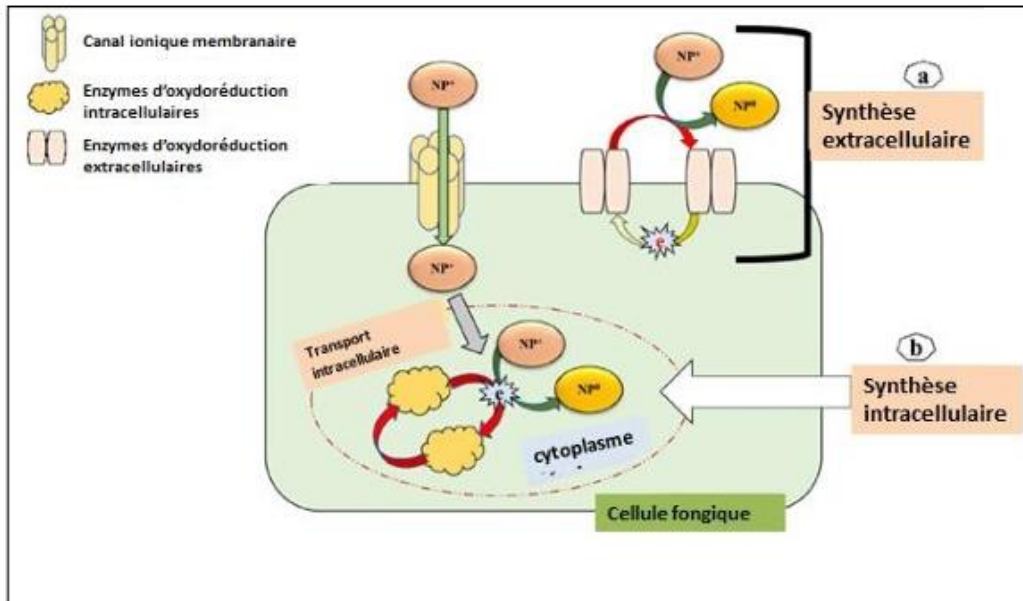


Figure 8 : schéma représentant le mécanisme de synthèse des NPs par une cellule fongique (Ur *et al.*, 2021)

6. Exemple de nanoparticules métalliques

Les nanoparticules métalliques, considérées comme les éléments fondamentaux des structures en nanotechnologie, se distinguent par leur caractère exceptionnel, attribuable à une synergie unique de propriétés avantageuses, telles qu'une conductivité élevée, une stabilité chimique, ainsi que des caractéristiques catalytiques, électriques et magnétiques. Parmi les nanoparticules de métaux nobles relativement accessibles, les nanoparticules d'argent (AgNPs) se distinguent par leur polyvalence remarquable, s'intégrant dans la fabrication de capteurs que dans des applications antimicrobiennes et antifongiques (Mukherjee *et al.*, 2001).

Les nano-argent, sont des entités mesurant entre 20 et 40 nm, constituées à 80% d'atomes d'argent et à 20% d'ions argent. Face aux nanotubes de carbone et aux nanoparticules de titane, elles se classent parmi les nanoparticules les plus commercialisées et diffusées. L'industrie pharmaceutique et agroalimentaire apprécie particulièrement les nano-argent, notamment pour leur capacité biocide. Cependant, l'emploi de ces nanoparticules suscite encore des controverses en raison de leur potentiel nuisible pour la santé et l'environnement (Arora *et al.*, 2009).

6.1. Activités antimicrobiennes des nanoparticules d'argent

Les AgNPs suscitent un intérêt considérable parmi les chercheurs grâce à leur remarquable capacité de défense contre une diversité de micro-organismes pathogènes (**Rajeshkumar et Bharath, 2017**).

Elles ont prouvé leur efficacité en tant que biocide contre une multitude de bactéries, englobant à la fois les Gram négatifs et les Gram positifs tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans* et *Bacillus subtilis* (**Zhang et al., 2016**). Les AgNPs présentent une activité antifongique notable sur *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Trichophyton mentagrophytes* (**Li et al., 2011**).

Les nanoparticules sont capables de perturber les biofilms de certains micro-organismes nuisibles. Cette aptitude à entraver le biofilm est due à plusieurs facteurs, y compris l'efficacité de l'activité antimicrobienne, les propriétés physiques comme la taille des nanoparticules qui influencent leur capacité à pénétrer le biofilm, ainsi que d'autres caractéristiques chimiques telles que l'attraction entre la matière et le biofilm (**Barapatreet al., 2016**).

Grâce à leurs multiples interactions avec la glycoprotéine réceptrice et/ou l'enveloppe virale, les nanoparticules possèdent un potentiel antiviral considérable. Elles peuvent entraver la propagation du virus au sein de la cellule hôte en freinant soit la réplication virale, soit l'intrusion des particules virales dans la cellule hôte (**Li et al., 2011 ; Carolina et al., 2014**).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Cette étude a été réalisée au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (**LAMAABE**) de l'Université Abou-BekrBekaid-Tlemcen.

2. Prélèvements

Les prélèvements ont été fournis par une doctorante de laboratoire (LAMAABE), ils ont été collectés à partir de diverses surfaces hospitalières. Ces prélèvements ont été réalisés à l'aide d'écouvillons stériles, qui ont ensuite été immédiatement placés dans des milieux de transport adaptés afin de préserver la viabilité des microorganismes. L'ensemble des échantillons a été acheminé au laboratoire pour les analyses microbiologiques.

3. Isolement et purification des souches

Les échantillons collectés ont été ensemencés directement sur un milieu de culture spécifique, la gélose Sabouraud additionnée de chloramphénicol, afin de favoriser la croissance des levures et inhiber les contaminants bactériens. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les colonies obtenues ont ensuite été purifiées par repiquages successifs sur le même milieu jusqu'à l'obtention de cultures homogènes. Par la suite, les souches purifiées ont été transférées sur gélose Sabouraud inclinée en tubes, incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures, puis conservées à 4°C en vue des analyses ultérieures.

4. Identification des souches

L'identification des souches a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

4.1. Caractères morphologiques

4.1.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique a été réalisé afin d'évaluer les caractères cultureux des isolats fongiques, en particulier *C.albicans*. Après incubation sur milieu Sabouraud à 30 °C pendant 24 à 48 heures, les colonies obtenues ont été observées à l'œil nu. Les paramètres pris en compte comprenaient la forme générale de la colonie, sa taille, sa couleur (face et revers), sa texture (lisse, rugueuse, crémeuse, etc.), son relief (plate, surélevée, bosselée), ainsi que la présence éventuelle d'exsudats ou de pigments diffusibles dans le milieu. Ces caractères

Matériel et méthodes

permettent d'apporter des indices sur l'identité de l'isolat et son comportement en culture (Hébrard et Boutigny, 2004).

4.1.2. Examen microscopique

L'examen microscopique a été réalisé afin d'observer les caractéristiques morphologiques cellulaires de *C.albicans*. Après incubation sur milieu Sabouraud, une petite portion de colonie a été prélevée à l'aide d'une anse stérile, puis étalée sur une lame de microscope. Une coloration au bleu de méthylène a été effectuée afin de mieux visualiser les cellules. L'observation a été réalisée au microscope optique à fort grossissement ($\times 100$ à immersion), ce qui a permis de mettre en évidence la forme, la taille, le bourgeonnement des cellules, ainsi que la présence de formation de pseudohyphes, caractéristique de *C.albicans*. Cette étape a permis de confirmer les observations macroscopiques et d'affiner l'identification morphologique de la souche étudiée.

4.2.Caractères biochimiques

L'identification des levures a été réalisée à l'aide de la galerie *API Candida*(bioMérieux, France), un système miniaturisé basé sur l'étude des profils métaboliques des levures. Une colonie isolée de chaque souche a été prélevée et mise en suspension dans une solution de chlorure de sodium stérile (NaCl 0,85 %) jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à 3 McFarland.La suspension a ensuite été utilisée pour ensemercer les cupules de la galerie *API Candida*, qui contient différents substrats permettant l'évaluation de l'activité enzymatique et des capacités fermentaires des levures. Après inoculation, la galerie a été incubée à 30 °C pendant 24 à 48 heures. L'interprétation des résultats a été réalisée en comparant les réactions observées avec le tableau d'identification fournie par le fabricant.

4.3.Caractères physiologiques

4.3.1. Test de blastèse (test de germination)

L'identification de *Candida albicans* a été réalisée en utilisant le test de blastèse, également appelé test de germination. Cette méthode repose sur l'observation de la capacité des levures à produire des tubes germinatifs en milieu liquide.Pour ce faire, une colonie de *C. albicansa* été prélevée à l'aide d'une anse stérile et suspendue dans 1 ml de sérum humain frais contenu dans un tube stérile. L'échantillon est ensuite incubé à 37 °C pendant une durée

Matériel et méthodes

de 3 à 4 heures. Après incubation, une goutte de la suspension a été déposée sur une lame de microscope et examinée à un grossissement de 100 X. Si des tubes germinatifs sont présents, il s'agit probablement de *C.albicans*. Si aucun tube germinatif n'est observé, d'autres tests doivent être réalisés pour identifier l'espèce de *Candida* en question.

4.3.2. Croissance sur Milieu CHROMagar *Candida*

Le milieu CHROMagar *Candida* est un outil d'identification rapide et efficace des espèces de *Candida*, basé sur l'utilisation de substrats chromogènes. Ces substrats réagissent avec des enzymes spécifiques produites par différentes espèces de levures, ce qui entraîne l'apparition de colonies de couleurs distinctes sur le milieu de culture. Dans notre étude, le milieu CHROMagar*Candida* a été utilisé pour l'identification de *Candida albicans*. Pour cela, des colonies isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et ensemencées sur la surface du milieu. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, l'identification des colonies a été réalisée en fonction de leur morphologie et de leur couleur.

5. Les huiles essentielles

Cette étude a été réalisée en utilisant des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* (huile de clou de girofle) commerciales. Le giroflier appartient à la famille des Myrtaceae et est originaire des îles Moluques (Cortés-Rojas *et al.*, 2014). L'huile essentielle est extraite des boutons floraux séchés, et sa principale molécule active est l'eugénol (Prashar *et al.*, 2006).

6. Essai de biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs)

6.1. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) à partir des HE de girofle

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 0,31 mmol.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. (Vilaset *et al.*, 2014).

6.2. Biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) par la levure

La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) a été réalisée à l'aide d'une levure, utilisée comme agent réducteur biologique. Cette méthode repose sur la capacité de la souche à réduire les ions argent en argent métallique sous forme nanoparticulaire (Jalal *et al.*, 2018).

6.2.1. Préparation de la culture de levure

Matériel et méthodes

Une à deux colonies isolées de levure, issues de cultures fraîches, ont été inoculées dans 100 ml de bouillon Levures Peptone Dextrose (YPD) et incubées pendant 48 heures sous agitation.

6.2.2. Préparation de la solution d'argent

Une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à une concentration de 2 mM a été préparée en dissolvant 0,034 g d' AgNO_3 dans 100 ml d'eau distillé stérile.

6.2.3. Synthèse des nanoparticules

Pour la biosynthèse des AgNPs, 100 ml de culture a été ajoutée à 100 ml de nitrate d'argent, puis la solution a été incubée à 30°C pendant 5 jours sous agitation à l'obscurité.

6.2.4. Récupération et purification des AgNPs

Le contenu de flacon a été transféré dans des tubes coniques. Le surnageant a été directement versé dans ces tubes, tandis que le culot a subi deux cycles de choc thermique, alternant entre un bain-marie à 100 °C et un passage au congélateur à -4 °C pendant 15 minutes. Pour éliminer l'excès, d'argent non réduits et d'autres impuretés possibles, le mélange réactionnel contenant les NPs a été centrifugé à 14 000 rpm pendant 20 min avec de l'eau. Le processus de centrifugation a été répété au moins trois fois pour assurer une meilleure séparation des NPs. Les particules séparées ont été remises en suspension puis stockées dans des conditions contrôlées en vue d'analyses expérimentales ultérieures.

7. Test de sensibilité de *Candida albicans* aux huiles essentielles et aux nanoparticules d'argent

Deux techniques sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antifongique des HE et des AgNPs, il s'agit de la technique de diffusion sur gélose puis sur milieu solide et la technique de microdilution sur milieu liquide.

7.1. Technique de diffusion sur gélose (méthode de puits)

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs. Des boîtes de Pétri contenant du milieu Sabouraud dextrose

Matériel et méthodes

agar additionné de 2% de glucose (pour les levures) sontensemencées aseptiquement par une suspension de 10^6 cellules/ml qui provient d'une culture jeune de levures. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boites, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Les cavités ainsi formées sont remplies de l'huile essentielle ou d'AgNPs (environ 20 μ L par puits). Les boites sont mises à incubées dans une étuve à 30°C pendant 24h, l'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Mehani, 2015).

7.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La technique de micro-dilution dans des microplaques à 96 puits est la méthode choisie pour déterminer la CMI des extraits testés (Fadipe *et al.*, 2015).

Chaque puits a été inoculé avec 100 μ l de bouillon de Sabouraud. Ensuite, 100 μ l de HE ont été mélangés à 100 μ l de bouillon de Sabouraud déposés dans 1 puits pour obtenir une dilution de 1/2. Ensuite, 100 μ l du premier puits ont été déposés dans le deuxième puits pour obtenir 1/4. Ces dilutions ont été répétées jusqu'au dernier puits. Enfin, 100 μ l de d'une suspension de *candida albicans* dont la DO a été ajustée à 0.12- 0.15 a été ajoutée dans chaque puits pour obtenir 200 μ l comme volume final. La plaque a été scellée et incubée en aérobiose à 30°C pendant 24 h. Des contrôles négatifs et positifs, avec respectivement du bouillon de Sabouraud. ou du bouillon de Sabouraud plus des cellules fongiques, ont été inclus dans tous les tests.

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 h.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Identifications des souches

1.1. Caractères morphologiques

1.1.1. Examen macroscopique

L'observation macroscopique des souches ayant poussées sur le milieu Sabouraud (**figure 9**) montre les caractères suivants : leur couleur est blanche à crème, leur texture crémeuse, leur surface luisante et présentaient un aspect lisse. En effet, ce sont les mêmes caractères morphologiques des colonies de l'espèce *C.albicans* observés par **Kammalac (2014)**, ainsi confirmés par **Sullivan et al. (2004)**.



Figure 9 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu Sabouraud

1.1.2. Examen microscopique

Les examens microscopiques des colonies, entre lame et lamelle, permet d'apporter des informations supplémentaires sur la forme, la taille et le mode de bourgeonnement (**Pianetti ,2015**). Le bleu de méthylène, utilisé comme colorant vital, permet de distinguer les cellules vivantes, qui apparaissent claires ou faiblement colorées, des cellules mortes, intensément bleues en raison de la perméabilité accrue de leur membrane cellulaire (**Cheesbrough, 2006 ; Lanoix et al., 2007**). Cette distinction est utile dans l'évaluation de la viabilité cellulaire dans un contexte clinique. L'observation microscopique de l'échantillon coloré au bleu de méthylène (**figure10**) révèle la présence de nombreuses cellules de *Candida albicans* dont la majorité semblent viables, reconnaissables par leur forme ovale à arrondie, typique des levures. Certaines cellules présentent un bourgeonnement, indiquant une activité de reproduction (**Tortora et al., 2013 ; Murray et al., 2021**).

Résultats et discussion

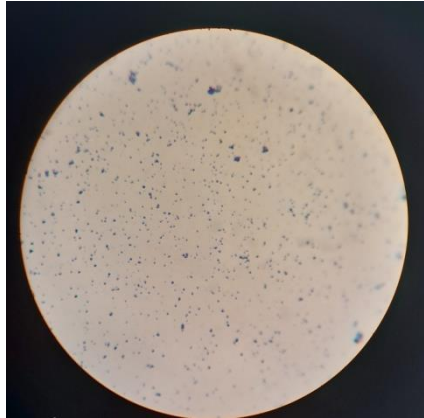


Figure 10 : observation microscopique de *C.albicans* (coloration au bleu de méthylène)

1.2.Caractères biochimiques sur galeries Api *Candida*

L'identification des levures isolées a été effectuée à l'aide de la **galerie API *Candida*** (bioMérieux®, France), un système standardisé de tests biochimiques permettant l'identification des principales espèces de levures pathogènes. Après ensemencement et incubation, le profil biochimique obtenu a conduit à un code numérique de **6140**, qui, après consultation de la base de données de référence, a permis d'identifier l'espèce *Candida albicans*. L'identification biochimique repose sur des caractéristiques métaboliques bien établies de *C. albicans*, notamment l'assimilation du glucose, du maltose, du saccharose et du galactose, tout en ne métabolisant pas d'autres sucres spécifiques à d'autres espèces. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature scientifique et les spécifications du fabricant (Pfaller, et Diekema, 2007; De Hoog et al., 2011 ; bioMérieux, 2012).

1.3. Caractères physiologiques

1.3.1. Test de blastèse

L'observation microscopique à l'objectif 100x a révélé la présence de tubes germinatifs émis par les cellules levuriques. Ces résultats suggèrent fortement l'identification de la souche isolée comme *Candida albicans* (**figure11**), Ces structures apparaissent sous forme de prolongements filamenteux sans rétrécissement au point d'insertion avec la cellule mère, caractéristiques du test de blastèse positif. (Anane et Khalfallah, 2007).



Figure 11 : Formation des tubes germinatifs (Test de blastèse)

1.3.2. Croissance sur milieu CHROMagar *Candida*

Après ensemencement et incubation sur milieu CHROMagar *Candida* à 37 °C pendant 24 à 48 heures, des colonies de couleur verte, lisses et brillantes ont été observées. Cette coloration verte est caractéristique de *Candida albicans* sur ce type de milieu chromogène. (**figure 12**).



Figure 12 : *Candida albicans* sur milieu CHROMagar *candida*

2. Synthèse des nanoparticules

2.1. Biosynthèse des nanoparticules d'argent à partir des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum*

La tentative de synthèse de nanoparticules d'argent à l'aide des huiles essentielles n'a pas abouti à un résultat concluant. Aucune formation visible de nanoparticules n'a été observée, ce qui suggère que les conditions expérimentales n'étaient pas optimales. Plusieurs facteurs pourraient expliquer cet échec, notamment la faible quantité d'huiles essentielles utilisée, qui pourrait avoir limité la réduction des ions argent. De même, la concentration en AgNO_3 ($0,31 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) pourrait avoir été insuffisante pour initier ou soutenir le processus de formation des nanoparticules. Par ailleurs, la durée de réaction (30 minutes) ou la température (100°C) pourraient également ne pas avoir été adaptées. Des ajustements de ces paramètres seront nécessaires pour optimiser la synthèse.

2.2. Biosynthèse des nanoparticules d'argent par la levure

La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) à l'aide de la levure s'est révélée efficace. Cette méthode exploite les capacités réductrices de la souche, attribuées à la production de métabolites secondaires et d'enzymes extracellulaires. L'apparition d'une coloration brunâtre après l'ajout de la solution d' AgNO_3 constitue un premier indicateur visuel fort de la formation des nanoparticules (**figure 13**). Ce changement de couleur est dû à la résonance plasmonique de surface, phénomène typique des nanoparticules d'argent. Ce résultat confirme le potentiel de la levure choisie comme agent biologique de réduction dans la synthèse verte des AgNPs (**Kambaleetal., 2020**).

La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs) par les levures est considérée comme plus simple, rapide et efficace, grâce à un bagage enzymatique abondant, ce qui permet une production plus stable d'AgNPs. En tant que microorganismes eucaryotes, les levures sécrètent des polymères qui facilitent la réduction des ions argent en nanoparticules d'argent (**Roychoudhury, 2020**), le processus utilisé repose sur une bioréduction des ions argent (Ag^+) en argent élémentaire (Ag^0) grâce à l'action d'enzymes, notamment les nitrate réductases, produites par les micro-organismes. Ces enzymes peuvent être localisées dans la paroi cellulaire ou sécrétées dans le milieu de culture (**Boroumand et al., 2015 ; Mounika et Katta M., 2017**).



Figure 13 : Synthèse des Nanoparticules d'argent par la levure

3. Effet antifongique des huiles essentielles et des nanoparticules biosynthétisées

La technique de diffusion sur gélose (méthode de puits) a été utilisée *in vitro* pour évaluer l'efficacité antifongique des HE ou des nanoparticules d'argent vis-à-vis la de *Candida albicans*. 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.

Le **Tableau 1** et **Figure 14** représentent les résultats des diamètres des zones d'inhibition et des CMI obtenus. L'huile essentielle de clou de girofle (CMI = 3,75 $\mu\text{g/ml}$) a exercé une forte activité antifongique contre *Candida albicans*, induisant des zones d'inhibition allant jusqu'à 22 mm de diamètre dans les conditions expérimentales testées. Ce résultat est en accord avec les données rapportées dans la littérature, qui soulignent l'efficacité antifongique de cette huile

Résultats et discussion

essentielle contre plusieurs espèces de *Candida* (Pinto *et al.*, 2009 ; Mastelariet *al.*, 2016 ; Katarzynaet *al.*, 2017). L'effet inhibiteur observé pourrait être attribué à une action délétère sur la paroi cellulaire fongique, entraînant une désorganisation de sa structure et une altération de ses fonctions, ce qui pourrait expliquer la diminution du taux de bourgeonnement constatée chez la levure.

Tableau 1 : Les diamètres des zones d'inhibition (mm)

Souche	Diamètresdeszonesd'inhibition(mm)		CMI ($\mu\text{g/ml}$)	
	HE	AgNPs	HE	AgNPs
<i>Candida albicans</i>	22	17	3,75 $\mu\text{g/ml}$	Non déterminé

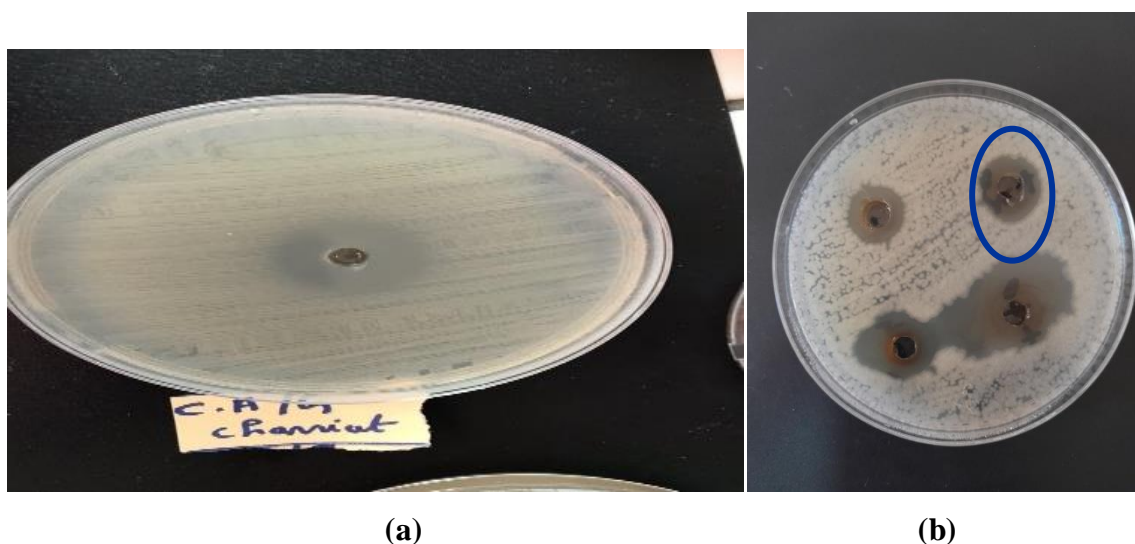


Figure 14 : Activité antifongique vis-à-vis de *Candida albicans* : a) les HE ; b) les AgNPs

L'huile essentielle de clou de girofle, dont l'eugénol constitue le principal composé actif, inhibe de manière significative la biosynthèse de l'ergostérol chez *Candida albicans* (Pinto *et al.*, 2009). L'ergostérol, stérol spécifique aux champignons, représente un constituant clé de la membrane plasmique fongique, assurant sa fluidité, sa perméabilité sélective ainsi que l'intégrité et la fonctionnalité cellulaires (Rodriguez *et al.*, 1985). Le mécanisme d'action antifongique de cette huile semble impliquer une lésion directe de la membrane cytoplasmique.

Résultats et discussion

Selon **Burt (2004)**, les huiles essentielles exercent leur activité antimicrobienne via plusieurs mécanismes, notamment en raison de leur hydrophobicité. Cette propriété favorise leur insertion dans la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une altération de la perméabilité membranaire et entraînant des fuites de composants intracellulaires. En tant que molécules lipophiles, les huiles essentielles sont capables de franchir la paroi cellulaire et la membrane plasmique, où elles perturbent la structure des couches de polysaccharides, d'acides gras et de phospholipides, induisant ainsi une perméabilisation cellulaire. Ces perturbations membranaires seraient à l'origine de la cytotoxicité observée."

Les résultats expérimentaux indiquent que *Candida albicans* présente une sensibilité marquée aux nanoparticules d'argent biosynthétisées, comme en témoigne la formation de zones d'inhibition pouvant atteindre 17 mm de diamètre dans les conditions opératoires évaluées. Ces observations sont en accord avec les données rapportées dans la littérature (**Mabrouk et al., 2021 ; Rodrigues et al., 2021 ; Zwart et al., 2023**), en effet, les AgNPs ont démontré une activité antifongique significative, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) variant de 1,25 à 40 µM contre différentes souches cliniques de *Candida*, notamment *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis.*, (**Gustavo et al., 2023**). Une valeur de CMI de 12,5 µg/ml de AgNPs biogénique (11–15 nm) contre *C. albicans* avait été rapportée précédemment (**Ahamad et al., 2022**).

L'activité antifongique des nanoparticules d'argent biogéniques (AgNPs) est fortement influencée par des paramètres physico-chimiques tels que la taille, la morphologie et la nature des agents de stabilisation. Cette hétérogénéité structurelle complique l'élucidation d'un mécanisme d'action standardisé. Par conséquent, les investigations se sont majoritairement focalisées sur les AgNPs obtenues par synthèse chimique, dont le mode d'action repose principalement sur une interaction électrostatique avec la membrane fongique.

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) manifestent une activité antifongique via plusieurs modes d'action, comprenant l'interaction électrostatique avec les composants de la paroi cellulaire et de la membrane plasmique, la translocation à travers les barrières cellulaires, la perturbation des structures organellaires, l'induction de stress oxydatif par génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ainsi que l'interférence avec les voies de transduction du signal intracellulaire (**Chwalibog et al., 2010 ; Le et al., 2012 ; Vazquez-Munoz et al., 2014 ; Lara et al., 2015 ; Mussin et al., 2019**)

Conclusion

Conclusion

L'étude menée dans le cadre de ce mémoire avait pour objectif d'évaluer le potentiel antifongique de deux agents distincts mais complémentaires : les huiles essentielles et les nanoparticules d'argent biosynthétisées, appliquées contre *Candida albicans*, un agent pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans les infections humaines.

Les résultats expérimentaux ont révélé une **activité antifongique marquée des huiles essentielles de clou de girofle**, avec une **zone d'inhibition de 22 mm**, indiquant une forte sensibilité de *C. albicans* à ces composés naturels. De manière complémentaire, les **nanoparticules d'argent biosynthétisées**, ont également démontré une inhibition significative de la croissance fongique, avec une **zone d'inhibition de 17 mm**.

Ces résultats soulignent le potentiel thérapeutique des huiles essentielles et des nanoparticules d'argent biosynthétisées en tant qu'agents antifongiques alternatifs. Leur efficacité ouvre des perspectives intéressantes, notamment dans un contexte où la résistance aux traitements conventionnels devient préoccupante. De plus, la biosynthèse des nanoparticules, méthode respectueuse de l'environnement, constitue un atout majeur dans le cadre d'une approche durable.

Dans la continuité de ce travail, plusieurs pistes de recherche peuvent être envisagées. Il serait pertinent d'approfondir la **caractérisation physico-chimique des nanoparticules d'argent**, en utilisant des techniques comme la microscopie électronique à transmission (TEM), la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie UV-Vis, ou encore la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). Ces analyses permettraient de mieux comprendre la morphologie, la structure cristalline, la surface chimique et la stabilité des nanoparticules, des éléments clés pour corréler leurs propriétés physiques à leur efficacité biologique.

D'autre part, des investigations supplémentaires sont indispensables, en particulier des études de cytotoxicité ainsi que des essais *in vivo*, afin de confirmer la sécurité et l'efficacité de ces agents en vue d'une application biomédicale. De plus, l'exploration d'études combinant huiles essentielles et nanoparticules pourrait permettre d'évaluer un potentiel effet synergique, ouvrant ainsi la voie au développement de formulations antifongiques hybrides, plus performantes et optimisées.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Adjanohoum, E. J., Ahyi, A. M. R., et al. (1988). *Médecine traditionnelle et pharmacopée : Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République du Congo*. Paris : ACCT, p. 15–58.

Ahamad, I., Bano, F., Anwer, R., Srivastava, P., Kumar, R., & Fatma, T. (2022). *Antibiofilm activities of biogenic silver nanoparticles against Candida albicans*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 741493.

Allahverdiyev, A. M., Bagirova, M., et al. (2013). *Development of new antiherpetic drugs based on plant compounds*. In: **Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components** (pp. 245–259). Elsevier.

Ana-Alexandra, S., Nuta, A., Ion, R. M., & Bunghez, R. (2016). *Green synthesis of silver nanoparticles using plant extracts*. *The 4th International Virtual Conference on Advanced Scientific Results*, 1, 188–193.

Anane, S., & Khalfallah, F. (2007). *Diagnostic biologique des candidoses systémiques : difficultés et perspectives*. *Pathologie Biologie*, 55, 262–272.

Aromal, S. A., Vidhu, V. K., & Philip, D. (2012). *Green synthesis of well-dispersed gold nanoparticles using Macrotylomauniflorum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 85(1), 99–104.

Arora, S., Jain, J., Rajwade, J. M., & Paknikar, K. M. (2009). Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 236, 310–318.

-B-

Barapatre, A., Aadil, K. R., & Jha, H. (2016). Synergistic antibacterial and antibiofilm activity of silver nanoparticles biosynthesized by lignin-degrading fungus. *Bioresources and Bioprocessing*, 3(1), 1–13.

Barbelet, S. (2015). *Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle*. Mémoire de fin d'étude, Université de Lorraine.

Barbelet, S. (2015). *Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle* [Mémoire de fin d'études pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, Université de Lorraine].

Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., & Laglaoui, A. (2014). *Évaluation des propriétés anti-adhésives et biocides des huiles essentielles vis-à-vis des biofilms formés sur de l'acier inoxydable*. Journées Jeunes Chercheurs, 3e Édition, Université Moulay Ismail, Meknès, Maroc.

Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2020). The history of nanoscience and nanotechnology: nanomedicine. *Molecules*, 25(1), 112.

Références bibliographiques

Belarmino de Souza, T., Oliveira Brito, K. M., &Chaves Silva, N. (2016). *New EugenolGlucoside-based Derivative Shows Fungistatic and Fungicidal Activity against Opportunistic Candida glabrata*. *Chemico-Biological Drug Design*, 87, 83–90. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12625>

Benbelaïd, F. (2015). *Effets des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques sur Enterococcusfaecalis responsable d'infections d'origine dentaire* [Thèse de doctorat, Université de Tlemcen], 123 p.

BoroumandMoghaddam, A., Namvar, F., Moniri, M., Azizi, S., & Mohamad, R. (2015). *Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: A review of their preparation, properties, and medical applications*. *Molecules*, 20(9), 16540–16565.

Bouacida, K. (2021). Étude de l'effet de l'eugénol extrait de la plante *Syzygiumaromaticum* sur le biofilm dentaire. Mémoire de Mastère, Département de Biologie, Université de Sfax, 64 p.

Bouacida, K. (2021). *Étude de l'effet de l'eugénol extrait de la plante Syzygiumaromaticum sur le biofilm dentaire* [Mémoire de Mastère, Université de Sfax, Département de biologie, Biotechnologie végétale], 64 p.

Bouzaa, F., Zid, H., &Hariza, E. (2022). *Étude des activités antimicrobiennes de l'huile essentielle de la plante Syzygiumaromaticum*. Université de Constantine.

Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (3e éd.). Paris : Lavoisier - Techniques et Documentation, 1120 p.

Brunetton, J. (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris: Lavoisier-techniques et Documentation.

Burt, S. (2004). *Essential oils: theirantibacterialproperties and potential applications in foods – a review*. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.

-C-

Carolina, D. S., Marcelo, S., Avinach, P., et al. (2014). Silver nanoparticles: Therapeutical uses, toxicity, and safety issues. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>

Chronologie. (2013). Nanotechnologie : les découvreurs. *Courrier International*, Paris. Consulté le 28 mai 2015.

Chuto, G., &Chaumet-Riffaud, P. (2010). Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire*, 34(6), 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.mednuc.2010.03.003>.

Chwalibog, A., Sawosz, E., Hotowy, A., Szeliga, J., Mitura, S., Mitura, K., et al. (2010). *Visualization of interaction between inorganic nanoparticles and bacteria or fungi*. *International Journal of Nanomedicine*, 5, 1085–1094. <https://doi.org/10.2147/IJN.S13532>

Cortés-Rojas, D. F., et al. (2014). Clove (*Syzygiumaromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.

Références bibliographiques

Cortés-Rojas, D. F., Fernandes de Souza, C. R., & Oliveira, W. P. (2014). *Clove (Syzygium aromaticum): A precious spice*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 4(2), 90–96.

Courrier International. (2013). *Nanotechnologie : les découvreurs*. Chronologie, Paris.

-D-

DeSouza, C. D., Silva, M., Patil, A., et al. (2014). *Silver nanoparticles: Therapeutical uses, toxicity, and safety issues*. Journal of Pharmaceutical Sciences. <https://doi.org/10.1002/jps.24001>

Degryse, A. C., Depla, I., & Voinier, M. A. (2008). *Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles*. Paris : Presses de l'EHESP, 87 p.

Devatha, C. P., & Thalla, A. K. (2018). *Green synthesis of nanomaterials*. In: Synthesis of Inorganic Nanomaterials (Chapter 7, pp. 169–184).

Dhand, C., Dwivedi, N., Loh, X. J., Ying, A. N. J., Verma, N. K., Beuerman, R. W., Lakshminarayanan, R., & Ramakrishna, S. (2015). *Methods and strategies for the synthesis of diverse nanoparticles and their applications: A comprehensive overview*. RSC Advances, 5(127), 105003–105037.

Diallo, A., Ngom, B. D., Park, E., & Maaza, M. (2015). *Green synthesis of ZnO nanoparticles by Aspalathus linearis: Structural and optical properties*. Journal of Alloys and Compounds, 646, 425–430.

Diniz do Nascimento, L., et al. (2020). *Bioactive Natural Compounds and Antioxidant Activity of Essential Oils from Spice Plants: New Findings and Potential Applications*. Biomolecules, 10(7), 988. <https://doi.org/10.3390/biom10070988>

Direction de la Qualité du Médicament du Conseil de l'Europe. (2004). *Pharmacopée Européenne* (5e éd.). Sainte-Ruffine : Maisonneuve S.A.

Dobler, D., Runkel, F., & Schmidts, T. (2020). Effect of essential oils on oral halitosis.

Donaldson, K., & Poland, C. A. (2009). Nanotoxicology: new insights into nanotubes. *Nature Nanotechnology*, 4(11), 708.

Dupont, F., & Guignard, J. L. (2012). *Botanique : les familles des plantes* (15e éd.). Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. p.15

Dupont, F., & Guignard, J. L. (2012). *Botanique : les familles des plantes* (15e éd.). Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, p. 16.

Durlo, A. (2023). How old is nano? 1950-2022: A history of nanotechnology into physical and mathematical relationship. Graduate School Engineering and Systems Sciences (ENGSYS ED 632), Lille University, France.

Références bibliographiques

-E-

Enshasy, H. A. El, Marzugi, N. A. El, & Elsayed, E. A. (2018). Medical and cosmetic applications of fungal nanotechnology: Production, characterization, and bioactivity. In *Fungal nanobionics: Principles and applications* (pp. 21–59). <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8666-3>

Fadipe, V. O., Mongalo, N. I., & Opoku, A. R. (2015). In vitro evaluation of the comprehensive antimicrobial and antioxidant properties of *Curtisiadentata* (Burm.f) C.A. Sm: Toxicological effect on the human embryonic kidney (HEK293) and human hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines. *EXCLI Journal*, 14, 971–983.

-F-

Fang, F., Li, M., Zhang, J., & Lee, C.-S. (2020). Different strategies for organic nanoparticle preparation in biomedicine. *ACS Materials Letters*, 2(5), 531–549. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialslett.0c00078>

Festy, D. (2008). *Ma bible des huiles essentielles*. Paris : Éd. Leduc.s. 549 p.

-G-

Gebreslassie, Y. T., & Gebremeskel, F. G. (2024). Green and cost-effective biofabrication of copper oxide nanoparticles: Exploring antimicrobial and anticancer applications. *Biotechnology Reports*, 41, 100350.

Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2010). *Syzygiumaromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*, 8(1), 37–43.

Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Syzygiumaromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) : Giroflier. *Phytothérapie anti-infectieuse*, 12(3), 281–292. Springer.

Goetz, P., & Le Jeune, R. (2010). *Syzygiumaromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*, 8, 37–43.

Guitou, M.-A. *Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂*. [Document non publié].

-H-

Hamamouchi, M., Tantaoui-Elaraki, A., Es-Safi, N., & Agoumi, A. (1990). *Mise en évidence des propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles d'eucalyptus*. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 24(4), 278–289.

Hikmet, R. A., & Hussein, N. N. (2021). Mycosynthesis of silver nanoparticles by *Candida albicans* yeast and its biological applications. *Archives of Razi Institute*, 76(4), 857–869. <https://doi.org/10.22092/ari.2021.355935.1741>

Références bibliographiques

-I-

ISO. (2004). *ISO 3143:1997(fr) : huile essentielle de griffes de giroflier [Syzygium aromaticum (L.) Merr. et Perry, syn. Eugenia caryophyllus (Sprengel) Bullock et S. Harrison]* [En ligne]. Consulté le 26 mars 2015. Disponible sur : <https://www.iso.org/obp/ui/fr/#iso:std:iso:3143:ed-2:v1:fr>.

Iwu, M. M. (1993). *Handbook of African medicinal plants*. Boca Raton, FL : CRC Press.

-J-

Jafri, H., & Ahmad, I. (2020). *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug-resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal de Mycologie Médicale*, 30(1), 100911.

Jalaba, J., Abdelwahed, W., Kitaza, A., & Al-Kayali, R. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity. *Heliyon*, 7, e08033.

Jalal, M., Ansari, M. A., Alzohairy, M. A., Ali, S. G., Khan, H. M., Almatroudi, A., & Raees, K. (2018). Biosynthesis of silver nanoparticles from oropharyngeal *Candida glabrata* isolates and their antimicrobial activity against clinical strains of bacteria and fungi. *Nanomaterials*, 8(8), 586.

Jemilugba, O. T., Sakho, E. M., Parani, S., Mavumengwana, V., & Oluwafemi, O. S. (2019). *Green synthesis of silver nanoparticles using Combretum erythrophyllum leaves and its antibacterial activities*. *Colloid and Interface Science Communications*, 31, 100191.

Jouhanneau, D. G. (1975). *La médecine des plantes aromatiques : phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan Indien*. Saint-Denis : Azalées Éditions, p. 153.

-K-

Kambale, E. K., Nkanga, C. I., Mutonkole, B. P. I., et al. (2020). *Green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles using aqueous leaf extracts from three Congolese plant species*. *Heliyon*, 6(8), e04493.

Kammalac, T. N. (2014). *Diversité génétique d'isolats de Cryptococcus et Candida issus des patients VIH positifs à Yaoundé et étude de leur sensibilité aux antifongiques et aux extraits de plantes* (Thèse de doctorat). Université Montpellier I & Université de Yaoundé I.

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

Khadanga, P., & Mishra, A. (2024). *A review on toxicity mechanism and risk factors of nanoparticles in respiratory tract*. *Toxicology*, 504, 153781. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153781>

Références bibliographiques

Khan, T., Abbas, S., Fariq, A., & Yasmin, A. (2018). *Microbes: Nature's cell factories of nanoparticle synthesis*. In: Exploring the Realms of Nature for Nanosynthesis (pp. 25–50). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-99570-0>

Klein, A. H., Carstens, M. L., & Carstens, E. (2013). Eugenol and carvacrol induce temporally desensitizing patterns of oral irritation and enhance innocuous warmth and noxious heat sensation on the tongue. *Pain*, 154(10), 2078–2087.

Kumar, V., Kaushik, N. K., Tiwari, S. K., Singh, D., & Singh, B. (2023). *Green synthesis of iron nanoparticles: Sources and multifarious biotechnological applications*. International Journal of Biological Macromolecules, 253, 127017. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127017>

-L -

Lara, H. H., Romero-Urbina, D. G., Pierce, C., Lopez-Ribot, J. L., Arellano-Jiménez, M. J., & Jose-Yacaman, M. (2015). *Effect of silver nanoparticles on Candida albicans biofilms: An ultrastructural study*. Journal of Nanobiotechnology, 13, 91.

Le, A. T., Le, T. T., Nguyen, V. Q., Tran, H. H., Dang, D. A., Tran, Q. H., et al. (2012). *Powerful colloidal silver nanoparticles for the prevention of gastrointestinal bacterial infections*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, 3, 045007.

Lekeufack, D. D. (2010). *Synthèse et fonctionnalisation des nanoparticules d'or pour des applications en optique : perspective en photocatalyse* (Thèse de doctorat). Université Claude Bernard - Lyon I.

Li, W., Xiao-Bao, X., & Qing-Shan, S. (2011). *Antibacterial effect of silver nanoparticles on Staphylococcus aureus*. Biometals, 24, 135–141. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9381-6>

Lobstein, A., Couic-Marinier, F., & Barbelet, S. (2017). *Huile essentielle de clou de girofle*. Elsevier Masson SAS, 569, 59–61.

Luiz, G. R., Roque, C. G. S., Conrado, R., & De Souza, A. O. (2023). *Antifungal activity of mycogenic silver nanoparticles on clinical yeasts and phytopathogens*. Antibiotics, 12(1), 91. <https://doi.org/10.3390/antibiotics1201009>

-M-

Prateek M., Ramteke, S., & Jain, N. K. (2017). *Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles*. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825>

Mabrouk, M., Das, D. B., Salem, Z. A., & Beherei, H. H. (2021). Nanomaterials for biomedical applications: Production, characterisations, recent trends and difficulties. *Molecules*, 26, 1077.

Magdi, H. M., Mourad, M. H., & El-Aziz, M. (2014). Biosynthesis of silver nanoparticles using fungi and biological evaluation of mycosynthesized silver nanoparticles. *Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany)*, 10(1), 1–12.

Références bibliographiques

- Mailhebiau, P. (1989). *La nouvelle aromathérapie : caractérologie des essences et tempéraments humains*. Toulouse : Éditions Nouvelle Vie, 372 p.
- Mailhebiau, P., Soulier, J. M., & Azemar, J. (1992). *Collège d'aromathérapie Philippe Mailhebiau : étude et prescription de la médecine aromatique*. Avesnelles : Nouvelles Presses Internationales, 163 p.
- Maistre, J. (1964). *Les plantes à épices*. Paris : Maisonneuve et Larose..
- Marets, C. (2023). *Élaboration de nanoparticules inorganiques pour l'étude des interactions nanoparticules–protéines* [Thèse de doctorat, Université Bourgogne Franche-Comté].
- Mastelari, M. R., D'Avila, F. M., Fernanda, N., et al. (2016). *Antimicrobial and cytotoxic evaluation of eugenol derivatives*. *Medicinal Chemistry Research*, 25, 2360–2367.
- Mathur, P., Jha, S., Ramteke, S., & Jain, N. K. (2017). *Pharmaceutical aspects of silver nanoparticles*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup1), 1–12. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1414825>
- Mbaveng, A. T., & Kuete, V. (2017). *Syzygium aromaticum*. In: *Medicinal Spices and Vegetables from Africa* (pp. 611–625). Elsevier.
- McNamara, K., & Tofail, S. A. M. (2017). *Nanoparticles in biomedical applications*. *Advances in Physics*: X, 2(1), 54–88. <https://doi.org/10.1080/23746149.2016.1254570>
- Medfouni, R., Hafsi, N., & Mazouz, W. (2018). *Contribution à l'étude phytochimique et des activités biologiques d'une plante médicinale : Syzygium aromaticum* [Mémoire de Master, Université Oum El Bouaghi].
- Mehani, M. (2015). *Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camaldulensis dans la région de Ouargla* (Thèse de doctorat). Université de Ouargla, Algérie.
- Mitchell, M. J., Billingsley, M. M., Haley, R. M., Wechsler, M. E., Peppas, N. A., & Langer, R. (2021). *Engineering precision nanoparticles for drug delivery*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(2), 101–124. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
- Mounika, K. C., & Katta, M. (2017). *Biosynthesis of silver nanoparticles and characterization*. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 7(8), 000–000. (Note : pages manquantes, à compléter si possible)
- Mukherjee, P., Ahmad, A., Mandal, D., Senapati, S., Sainkar, R. S., Khan, I. M., Parishcha, R., Ajaykumar, V. P., Alam, M., Kumar, R., & Sastry, M. (2001). *Fungus-mediated synthesis of silver nanoparticles and their immobilization in the mycelial matrix: A novel biological approach to nanoparticle synthesis*. *Nano Letters*, 1, 515–519.
- Mursaleen, Y., Adnan, Y., Talha, J., et al. (2021). *River Tea Tree Oil: Composition, antimicrobial and antioxidant activities, and potential applications in agriculture*. *Plants*, 10(10), 2105.

Références bibliographiques

Musk, D. J., Banko, D. A., & Hergenrother, P. J. (2005). Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry and Biology*, 12(7), 789–796. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2005.05.007>

Mussin, J. E., Roldán, M. V., Rojas, F., Sosa, M. de L. Á., Pellegrini, N., & Giusiano, G. (2019). Antifungal activity of silver nanoparticles in combination with ketoconazole against *Malassezia furfur*. *AMB Express*, 9, 131.

-N-

Naglik, J. R., Moyes, D. L., Wächtler, B., & Hube, B. (2011). *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes and Infection*, 13(12–13), 963–976.

Naik, B. S. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles from endophytic fungi and their role in plant disease management. *Microbial Endophytes*.

Nair, S., Sasidharan, A., Nair, S., & Raina, S. (2008). Role of size scale of ZnO nanoparticles on toxicity toward bacteria and osteoblast cells. *Journal of Materials Science*, 20, S235–S241.

Niu, C., & Gilbert, E. (2004). Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12), 6951–6956.

-O-

O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47, e2437.

Oliveira Pereira, P., Mendes, J. M., & Oliveira Lima, E. (2013). Investigation on mechanism of antifungal activity of eugenol against *Trichophyton rubrum*. *Medical Mycology*, 51(5), 507–513. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.742966>

-P-

Padua, L. S., Bunyaphatsara, N., & Lemmens, R. H. M. J. (1999). *Plant Resources of South-East Asia* (Vol. 12).

Pianetti, C. (2015). *Place du sérodiagnostic dans les infections fongiques invasives à Candida. Enquête sur la prescription des sérologies Candida au CHU de Nancy et comparaison de deux kits commerciaux ELISA* (Thèse de doctorat). Université de Lorraine, 181p.

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.

Références bibliographiques

-R-

Rajeshkumar, S., & Bharath, L. V. (2017). *Mechanism of plant-mediated synthesis of silver nanoparticles – A review on biomolecules involved, characterization and antibacterial activity*. *Chemico-Biological Interactions*. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.06.019>

Rakotoatimanana, B. V., et al. (2010). *Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles* [Mémoire de fin d'études, Département Génie chimique, ESPA, Antananarivo].

Ren, Y. Y., Yang, H., Wang, T., & Wang, C. (2019). Bio-synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activity. *Materials Chemistry and Physics*, 235, 121746.

Rodrigues, A. G., Ruiz, R. C., Selari, P. J. R. G., Araújo, W. L., & De Souza, A. O. (2021). *Anti-biofilm action of biological silver nanoparticles produced by Aspergillus tubingenensis and antimicrobial activity of fabrics carrying it*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11, 14764–14774.

Rodriguez, R. J., Low, C., Bottema, C. D., & Parks, L. W. (1985). *Multiple functions for sterols in Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 837, 336–343.

Roychoudhury, A. (2020). Yeast-mediated green synthesis of nanoparticles for biological applications. *Indian Journal of Pharmacy and Biological Research*, 8(3), 26–31.

-S-

Sandret, F. G. (1967). *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, Tome 9, rapport 1965, p. 259.

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.

Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., & Tripathy, S. K. (2015). Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities. *Materials*, 8, 7278–7308.

Shankar, S. S., Rai, A., Ankamwar, B., Singh, A., Ahmad, A., & Sastry, M. (2004). *Biological synthesis of triangular gold nanoprisms*. *Nature Materials*, 3, 482–488..

Sharada, R., & Lalitha, B. (2017). *Lavanga (Syzygium aromaticum LINN.) — A spicy boon*. [Publication universitaire non précisée].

Sharma, D., Sabela, M. I., Kanchi, S., Bisetty, K., Skelton, A. A., & Honarparvar, B. (2018). *Green synthesis, characterization and electrochemical sensing of silymarin by ZnO nanoparticles: Experimental and DFT studies*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 808, 160–172.

Sophie, B. (2015). *Le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de son huile essentielle*. Diplôme d'État de docteur en pharmacie, Université de Lorraine.

Références bibliographiques

Southern, P., Horbul, J., Maher, D., & Davis, D. A. (2008). *C. albicans* colonization of human mucosal surfaces. *PloS One*, 3(4), e2067.

Spirescu, V. A., Chircov, C., Grumezescu, A. M., Vasile, B. Ş., & Andronescu, E. (2021). *Inorganic nanoparticles and composite films for antimicrobial therapies*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4595. <https://doi.org/10.3390/ijms22094595>

Subashini, G., & Bhuvaneshwari, S. (2018). *Nanoparticles from fungi (myconanoparticles)*. In: **Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives**, 753–779.

Sullivan, D. J., Moran, G. P., Pinjon, E., et al. (2004). *Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of Candida dubliniensis and Candida albicans*. *FEMS Yeast Research*, 4, 369–376.

-T-

Tariq, S. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>

The Royal Society and Royal Academy of Engineering. (2004). *Nanoscience and Nanotechnologies: Opportunities and Uncertainties*. London, UK.

Tran, Q., Nguyen, V., et al. (2013). *Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 4(3), 033001. <https://doi.org/10.1088/2043-6262/4/3/0>

-U-

Ur, S., Qamar, R., & Nazeer, J. (2021). *Nanoparticles: Mechanism of biosynthesis using plant extracts, bacteria, fungi, and their applications*. *Journal of Molecular Liquids*, 334, 116040. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116040>

-V-

Vermeulen, F., & Johnston, M. D. L. (2011). *Plants, homeopathic and medicinal uses from a botanic family perspective* (Vol. 3). Glasgow : Saltire Books.

Vila, T., Sultan, A. S., Montelongo-Jauregui, D., & Jabra-Rizk, M. A. (2020). Oral candidiasis: A disease of opportunity. *Journal of Fungi*, 6(1), 15.

Vilas, V., Philip, D., & Mathew, J. (2014). Catalytically and biologically active silver nanoparticles synthesized using essential oil. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 132, 743–750.

Références bibliographiques

-W-

Wang, X., Yang, L., Chen, Z. G., & Shin, D. M. (2008). Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 58, 97–110.

Wang, X., Yang, L., Chen, Z.-G., & Shin, D. M. (2008). Application of nanotechnology in cancer therapy and imaging. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 58(2), 97–110.

Werner, M., & Von Braunschweig, R. (2008). *L'aromathérapie : principes, indications, utilisations*. Paris : Éditions Vigot, 334 p.

Whatmore, R. W. (2006). Nanotechnology—What is it? Should we be worried? *Occupational Medicine*, 56(5), 295–299.

Willner, I., Baron, R., & Willner, B. (2006). *Growing metal nanoparticles by enzymes*. *Advanced Materials*, 18, 1109–1120.

-Y-

Yousaf, A. S., & Ali, S. (2008). Why Nanoscience and Nanotechnology? What is there for us? *Journal of Faculty of Engineering & Technology*, 5, 11–20.

-Z-

Zhang, X., Liu, Z., Shen, W., et al. (2016). *Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches*. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1534. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>

Zheng, G. Q., Kenny, P. M., & Lam, K. T. (1992). *Sesquiterpenes from clove (Eugenia caryophyllata) as potential anticarcinogenic agents*. *Journal of Natural Products*, 55, 999–1003.

Zwar, I. P., Trotta, C. V., Ziotti, A. B. S., Lima, N. M., Araújo, W. L., De Melo, I. S., Ottoni, C. A., & De Souza, A. O. (2023). Biosynthesis of silver nanoparticles using actinomycetes, phytotoxicity on rice seeds, and potential application in the biocontrol of phytopathogens. *Journal of Basic Microbiology*, 63(6), 64–74

