

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

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie



Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master Académique en Biotechnologies
Option : Biotechnologie et pathologie moléculaire

THEME

Préparation des formes dermocosmétiques naturelles à visée thérapeutique

Présenté par

NOUMA Lina & LAIEB Meriem

Date de Soutenance

02/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme CHELGHOUM H.	Enseignant-chercheur	Présidente	Univ. Blida 1
Mme ZEROUTI K.	Enseignant-chercheur	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATAM M.	Enseignant-chercheur	Promoteur	Univ. Blida 1

REMERCIEMENTS

À l'issue de ce travail de mémoire de master, nous tenons à exprimer notre plus profonde gratitude et nos vifs remerciements à toutes les personnes qui, par leur soutien, leur encadrement ou leurs encouragements, ont contribué à la réalisation de ce projet.

Nous remercions vivement les membres de ce respectable jury :

- Notre promoteur pour avoir encadré ce mémoire ainsi que pour votre aimable disponibilité et vos conseils éclairés dispensés à notre égard, tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous vous prions de croire en notre respect et notre sincère gratitude.

- Les membres du jury. Nous sommes très honorées et heureuses que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire de master et son évaluation.

Permettez-nous de vous exprimer nos remerciements les plus sincères et notre profonde gratitude.

■ Nous vifs et sincères remercions les responsables du laboratoire recherche au sein l'entreprise cosmétique de Blida, pour son accueil chaleureux, sa disponibilité constante et ses conseils éclairés tout au long de notre parcours, ainsi que ses orientations et conseils dans la réalisation des préparations dermocosmétiques et le contrôle de qualité.

■ Un immense remerciement s'adresse aussi au chef de service de laboratoire microbiologie de l'hôpital, ainsi que tous les membres particulièrement pour leur précieuse aide, leur soutien technique, leurs gentillesse et leur disponibilité au quotidien dans réalisation du screening antimicrobien.

■ Nous tenons à remercier la cheffe de service pharmacotoxicologie ainsi que tous les membres de son laboratoire, dont le dévouement, la compétence et la réactivité ont grandement facilité la réalisation de nos expérimentations animales.

Leur assistance précise, leurs conseils avisés et leur esprit collaboratif ont constitué une aide précieuse au quotidien.

■ Sincères et profonds remerciements s'adresseront aussi au chef de service de toxicologie, ainsi tous les membres du Centre pour leurs disponibilités, leurs conseils et leurs précieuses aide pour faciliter la réalisation de nos expérimentations animales.

■ Nous adressons nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance à tout le corps enseignant de la Faculté.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

*A mes chers parents, qui ont été mon pilier, mon refuge et ma source d'inspiration.
Votre patience, vos sacrifices et votre amour inconditionnel ont été la lumière qui m'a
guidée tout au long de ce parcours. Ce mémoire est avant tout le fruit de votre
soutien constant.*

A ma sœur et amie Myriam, qui a toujours été à mes côtés.

*A Hiba mon amie et guide, qui m'a toujours encouragée à donner le meilleur de
moi-même.*

A mon frère et ma famille et à tous ceux qui m'ont soutenu.

Meriem

DEDICACES

Avant de terminer cet important chapitre, il me tient à cœur de rendre hommage à ceux qui ont été à mes côtés tout au long de ce parcours. Leur soutien, leur amour et leur encouragement ont été des sources inestimables de motivation et de force.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à ma merveilleuse mère, qui a été à la fois une mère et un père tout au long de ma vie. Sa force, sa résilience et son amour inconditionnel ont été une source constante d'inspiration. Elle a toujours été présente pour me soutenir, m'encourager et me conseiller, dans tous les moments. Merci pour tous les sacrifices que vous avez consentis. Ce succès est le reflet de votre dévouement et de votre amour, et je vous en suis éternellement reconnaissante.

À mes chers frères Youcef et Sofiane, vous êtes bien plus que de la famille, vous êtes mes amis, mes confidents et mes héros. Votre amour et votre soutien illuminent mes jours, vous êtes mes piliers, sur qui je m'appuie toujours.

Je dédie ce succès à mon cher père, j'espère avoir réalisée ton rêve.

À mon meilleur amie Amine, merci pour votre encouragement.

À ma famille et mes copines merci pour votre soutien.

Lina

RESUME

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils, principalement des monoterpènes, sesquiterpènes et phénols, qui leur confèrent une large gamme de propriétés pharmacologiques. Leur richesse chimique et leur diversité structurale expliquent la variété de leurs effets biologiques. Bien que ces résultats soient prometteurs, des validations cliniques restent nécessaires pour confirmer leur efficacité et leur sécurité.

L'objectif assigné à notre travail consiste à évaluer, *in vitro*, le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle et de déterminer, *in vivo*, ses propriétés toxicologiques. En aromatogramme, l'huile essentielle a présenté une activité particulièrement marquée sur *Candida albicans*, avec un diamètre de zone d'inhibition important. Une activité inhibitrice modérée est notée contre *Staphylococcus* et *Klebsiella*. En microatmosphère, le champignon unicellulaire *Candida* demeure le germe le plus sensible avec une zone d'inhibition significative.

Des préparations dermocosmétiques ont été formulées à base d'huile essentielle. Le contrôle de leur qualité microbiologique, chimique et rhéologique s'est avéré en conformité avec la réglementation en vigueur.

Au final, les résultats obtenus laissent entrevoir, éventuellement, de nouvelles perspectives d'application dermocosmétique des huiles essentielles et extraits naturels comme un bioactif naturel dans des préparations galéniques à visée thérapeutique. En perspective, il serait utile d'explorer les vertus thérapeutiques des huiles sur un large spectre de souches fongiques, ou encore de tester leur efficacité sur des modèles animaux.

Mots-clés : Huiles essentielles ; Produits naturels ; *Candida* ; Préparations dermocosmétiques ; Toxicité dermique.

ABSTRACT

Plant-derived essential oils and aromatic waters (hydrosols) are complex mixtures of volatile compounds, mainly monoterpenes, sesquiterpenes, and phenols, which confer a wide range of pharmacological properties. Their chemical richness and structural diversity explain the variety of their biological effects. Although these results are promising, further clinical validation is still required to confirm their efficacy and safety.

The aim of this study was to evaluate, *in vitro*, the antimicrobial potential of the essential oil and to determine its toxicological properties *in vivo*. In disc diffusion method, the essential oil exhibited a particularly strong activity against *Candida*, with a large inhibition zone. A moderate inhibitory activity was observed against *Staphylococcus* and *Klebsiella*.

In microatmosphere test (disc volatilization method), the unicellular fungus *Candida* remained the most sensitive microorganism, showing a significant inhibition zone, in comparison with other microbial strains.

Dermocosmetic preparations were formulated using the essential oil. The assessment of their microbiological, chemical, and rheological quality proved to be in accordance with current regulatory standards.

Overall, the results obtained suggest potential new dermocosmetic applications of essential oils and natural extracts as natural bioactive agents in therapeutic formulations. Future perspectives include exploring the therapeutic properties of essential oils against a broader spectrum of fungal strains and testing their efficacy in animal models.

Keywords: Essential oils; Natural products; *Candida*; Dermocosmetic preparations; Dermal and cutaneous toxicity.

ملخص

تُعدّ الزيوت العطرية مزيجاً معقداً من المركبات المتطايرة، تتكون أساساً من المونوتربينات، والسيكوتربينات، والفينولات، وهي التي تمنحها نطاقاً واسعاً من الخصائص الدوائية. إن غناها الكيميائي وتنوعها البنيوي يفسّران تعدد آثارها البيولوجية. ورغم أنّ هذه النتائج واعدة، فإنّ التحقق السريري يبقى ضرورياً لتأكيد فعاليتها وسلامتها. يهدف هذا العمل إلى تقييم، في المختبر (*in vitro*)، القدرة المضادة للميكروبات للزيت العطري، وتحديد خصائصه السمية في الجسم الحي (*in vivo*). أظهر اختبار الأروماتوغرام أنّ الزيت العطري يمتلك نشاطاً ملحوظاً ضد المبيضة البيضاء (*Candida*)، حيث سجّل فُطراً واسعاً لمنطقة التثبيط. ولوحظ نشاط مثبط متوسط ضد المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus*) والكلبسيلا الرئوية (*Klebsiella*) أمّا في بيئة الغلاف الجوي المصغر (*microatmosphere*)، فقد ظلّ الفطر أحادي الخلية *Candida* الأكثر حساسية مع تسجيل منطقة تثبيط معتبرة.

تمت صياغة مستحضرات جلدية-تجميلية بالاعتماد على الزيت العطري. وقد أثبت فحص جودتها الميكروبيولوجية والكيميائية والريولوجية مطابقتها للمعايير التنظيمية المعمول بها. في النهاية، تفتح النتائج المتحصّل عليها آفاقاً جديدة محتملة لتطبيقات الزيوت العطرية والمستخلصات الطبيعية في مجال الجلدية-التجميلية، باعتبارها مواداً حيوية طبيعية في مستحضرات دوائية ذات غاية علاجية. ومن منظور مستقبلي، سيكون من المفيد استكشاف الخصائص العلاجية لهذه الزيوت ضد طيف أوسع من السلالات الفطرية، وكذلك اختبار فعاليتها على نماذج حيوانية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية؛ المنتجات الطبيعية؛ *Candida*؛ المستحضرات الجلدية-التجميلية؛ السمية الجلدية.

Table des Matières

Résumé	
Abstract	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des Abréviations	
Introduction -----	1
Chapitre 1 = SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE -----	3
1.1. Description et répartition géographique -----	2
1.2. Huile essentielle et composition chimique -----	3
1.3. Vertus thérapeutiques-----	4
1.3.1. Réduction du syndrome prémenstruel -----	4
1.3.2. Effet sur les symptômes de la ménopause -----	4
1.3.3. Pouvoir antibactérien et antifongique -----	5
1.3.4. Effet hypoglycémiant et hypolipémiant -----	5
1.3.5. Effet antitumoral -----	5
1.3.6. Effet anti-inflammatoire et antalgique -----	5
1.3.7. Effet antioxydant -----	6
1.4. Toxicité et effets indésirables -----	5
Chapitre 2 = MATERIEL ET METHODES -----	7
2. Matériel -----	7
2.1. Huile essentielle testée -----	7
2.2. Souches microbiennes -----	7
2.3. Animaux de laboratoire -----	7
2.4. Milieux de culture et produits chimiques -----	7
2.2. Méthodes -----	8
2.2.1. Evaluation des propriétés antimicrobiennes par aromatoigramme -----	8
2.2.2. Evaluation des propriétés antimicrobiennes par microatmosphère -----	8
2.2.3. Préparations galéniques dermocosmétiques -----	9
2.2.3.1. Préparation d'une émulsion hydrophile -----	9
2.2.3.2. Préparation d'un onguent -----	10
2.2.3.3. Contrôle de la qualité des préparations cosmétiques -----	10

2.2.4. Détermination du pouvoir toxicologiques des préparations topiques -----	11
2.2.4.1. Test d'irritation cutanée primaire chez le lapin -----	11
2.2.4.2. Détermination du pouvoir irritant -----	12
 Chapitre 3 = RESULTATS ET DISCUSSION -----	14
3.1. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle in vitro -----	14
3.2. Qualité physico-chimique et microbiologique des préparations dermocosmétiques -----	16
3.3. Comportement rhéologique par test d'écoulement à l'équilibre -----	16
3.4. Détermination du pouvoir irritant des préparations dermocosmétiques -----	17
3.4.1. Indice d'irritation primaire cutanée -----	17
3.4.2. Détermination du pouvoir irritant des préparations dermiques -----	19
 Conclusion -----	21
Références bibliographiques -----	22

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Etude comparative de la composition chimique de l'huile essentielle -----	3
Tableau 2.1. Echelle numérique pour le calcul de l'indice d'irritation primaire cutané-----	11
Tableau 2.2. Notation en fonction du temps et expression des résultats-----	13
Tableau 3.1. Résultats du HET-CAM des préparations topiques testées -----	19

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Illustration de la partie aérienne -----	2
Figure 1.2. Structure chimique des composés caractéristiques de l'huile -----	3
Figure 2.1. Réalisation de l'aromatogramme in vitro -----	8
Figure 2.2. Incubation des boîtes Pétri à température adéquate-----	9
Figure 2.3. Etapes de la préparation de la forme dermique à base d'huile essentielle-----	10
Figure 2.4. Test d'irritation cutané primaire chez le lapin -----	12
Figure 2.5. Etapes du test HET-CAM pour la détermination du pouvoir irritant-----	12
Figure 3.1. Exemples de résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielles en aromatogramme et microatmosphère-----	15
Figure 3.2. Résultats du test de Draize (irritation cutanée) après 72h d'application-----	18

LISTE DES ABREVIATIONS

ANOVA	Analyse de variance
ATCC	American type culture collection
BMR	Bactérie multi-résistantes
CMI	Concentration minimale inhibitrice
COX-2	Cyclo-oxygénase 2
DZI	Diamètre de zone d'inhibition
HE	Huile essentielle
HET-CAM	Hen's Egg Test on Chorioallantoic Membrane
IIPC	Indice d'irritation primaire cutané
IL	Interleukine
ISO	Organisation Internationale de Normalisation
MH	Gélose muller-hinton
NaOH	Hydroxyde de sodium
NF- κ B	Facteur nucléaire kappa B
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
pH	potentiel d'Hydrogène
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale alpha

INTRODUCTION

L'utilisation massive et parfois inappropriée de certains médicaments tels que les antibiotiques et anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) dans le traitement des infections et des maladies inflammatoires a engendré plusieurs problématiques majeures de santé publique. (Mobarki et al., 2019 ; Baquer et al., 2021 ; Nardulli et al., 2022). Au-delà de cette antibiorésistance, les antibiotiques exposent aussi à de nombreux effets indésirables tels que les troubles digestifs, et les atteintes hépatiques ou rénales (Dumas et al., 2008 ; Muller et al., 2015 ; Rusu et al., 2023).

D'un autre côté, l'usage chronique des AINS est associé à de nombreux effets indésirables, notamment des lésions gastriques, des troubles rénaux, des risques cardiovasculaires. Chez certains patients, ces traitements sont contre-indiqués, ce qui restreint considérablement les options disponibles (Marsico et al., 2017 ; Sohail et al., 2023).

Face à cette problématique liée à l'émergence des bactéries multirésistantes (BMR) ou encore les effets indésirables des AINS, la recherche scientifique actuelle s'oriente, de plus en plus, vers l'exploration d'alternatives naturelles, notamment les plantes aromatiques et médicinales et leurs distillats aromatiques, tels que les huiles essentielles (HE) qui sont douées de nombreux vertus thérapeutiques (anti-infectieuses, antioxydantes, analgésiques, anticancéreuses et anti-inflammatoires) (Dhifi et al., 2016 ; Osaili et al., 2023 ; Hassid et al., 2025).

Ainsi, l'intégration des HE dans les soins dermocosmétiques représente une voie prometteuse car ces essences pourraient servir de base à de nouvelles générations de traitements à visée curative, préventive ou adjuvante, notamment dans les pathologies infectieuses (Sarkic et Stappen, 2018 ; Sharmeen et al., 2021). A cet effet, leur emploi nécessite des études cliniques rigoureuses, ainsi qu'une évaluation toxicologique sérieuse.

L'objectif assigné à notre travail consiste à étudier, *in vitro*, le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle distillée à travers l'utilisation de deux méthodes complémentaires (aromatogramme et microatmosphère). En outre, des préparations dermocosmétiques ont été préparées, suivies par un contrôle de la qualité microbiologique, toxicologique et de leur comportement chimique.

Chapitre 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Description et répartition géographique

Elle appartient à la famille des Lamiacées. Son nom latin fait référence aux propriétés thérapeutiques qui lui ont été attribuées au fil du temps. C'est une plante aromatique, vivace, avec une base ligneuse et ramifiée. C'est une plante originaire d'Asie centrale et du sud de l'Europe. Elle peut atteindre 80 cm de hauteur. Elle pousse en terrains calcaires, secs et arides des régions méditerranéennes. Ses feuilles sont d'un vert blanchâtre (à cause d'un revêtement de poils laineux) et opposées. Les fleurs, d'un bleu violacé, sont grandes, groupées en lâches épis terminaux.

Des trichomes glandulaires simples et multicellulaires sont présents des deux côtés des feuilles. La floraison a lieu entre Juin et Août et donne naissance à des fleurs de couleur blanc-violet. On la retrouve principalement sous forme d'huile essentielle (HE), mais on peut aussi trouver les sommités fleuries séchées qui peuvent être consommées en tisane ou en infusion (Aćimović et al., 2018 ; Kačániová et al., 2023).

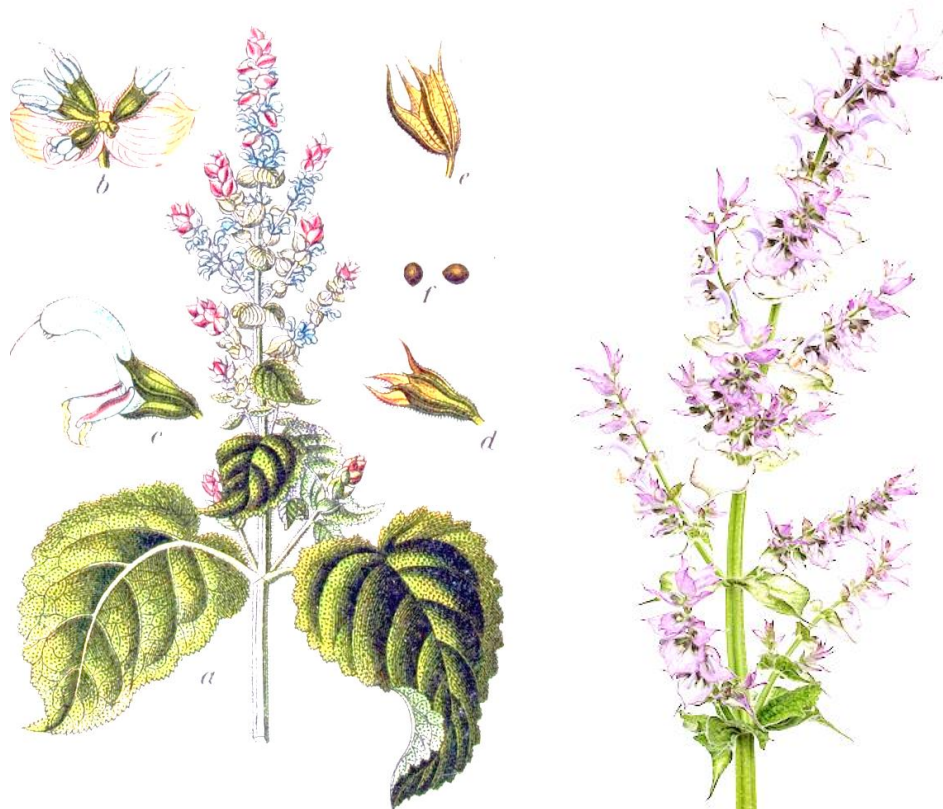


Figure 1.1. Illustration de la partie aérienne.

Elle est originaire du sud de l'Europe et est cultivée dans le monde entier, comme plante ornementale, industrielle et productrice d'HE. Elle est répartie dans les régions tempérées et subtropicales, notamment dans le bassin méditerranéen et en Europe centrale. Commercialement, elle est cultivée à grande échelle en Russie, en Bulgarie, en France et au Maroc, avec une production mondiale annuelle d'environ 150 tonnes d'HE (Levaya et al., 2025).

1.2. Huile essentielle et composition chimique

Elle est bien connue pour son HE de haute qualité, largement utilisée dans les industries de la parfumerie comme source de parfum avec une note rafraîchissante et durable. L’huile essentielle est obtenue par distillation à la vapeur d’eau des sommités fleuries. La plante comme l’HE ont une odeur puissante et épicée. La couleur de l’HE peut varier de l’incolore au jaune brun (Peana et Moretti, 2002 ; Acimović et al., 2018).

La composition biochimique est susceptible d’évoluer en fonction des conditions de production et de la qualité de l’huile. Le composant majoritaire de l’HE est l’acétate de linalyle, un ester terpénique, qui peut représenter plus de 60% du total des principes actifs. D’autres monoterpènes alcooliques sont aussi présents tels que le linalol (aux alentours de 20%) et l’ α -terpinéol (moins de 5%).

Dans des proportions beaucoup plus faibles, on retrouve, dans l’HE, le germacrène et le sclaréol (Luca et al., 2023 ; Kačániová et al., 2023 ; Levaya et al., 2025).

Tableau 1.1. Etude comparative de la composition chimique de l’huile essentielle distillée classés par pays d'origine (Levaya et al., 2025).

Composant	Teneur (%)				
	Iran	Ouzbékistan	Lituanie	Pologne	Slovaquie
Linalool	26,2	–	–	–	20,6
Acétate de linalyle	20,5	4,7	–	–	49,1
Myrcène	1,85	–	–	–	0,6
Spathuléol	–	2,5	1,5	–	–
α -terpinéol	–	2,5	0,8	–	4,9
β -caryophyllène	–	–	–	–	5,1

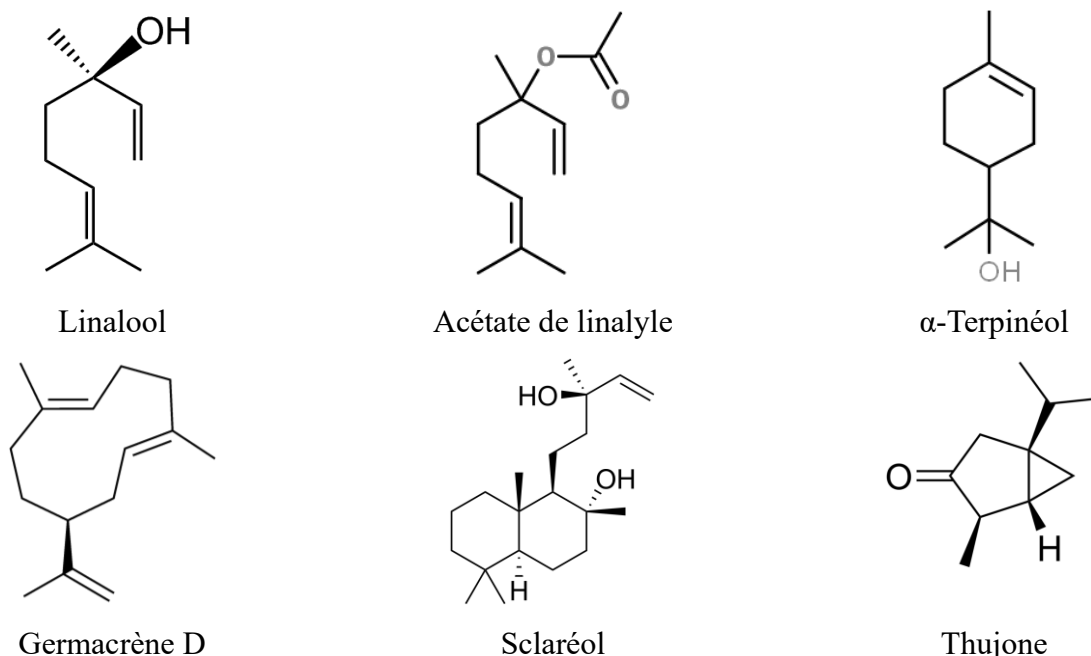


Figure 1.2. Structure chimique des composés caractéristiques de l'huile essentielle.

Les compositions d'HE d'Ouzbékistan, d'Iran, d'Inde, de Bulgarie, du Tadjikistan, de Slovaquie, de Géorgie et d'Italie étaient évidemment liées à un chimiotype riche en linalol/acétate de linalyle. Cependant, en HE de Lituanie et la Pologne, linalol et acétate de linalyle n'ont pas été détectés, ces composés étaient donc évidemment liés à des chémotypes différents (tableau 1.1).

1.3. Vertus thérapeutiques

L'activité biologique est attribuée à son capacité à synthétiser divers métabolites qui présentent divers effets pharmacologiques.

1.3.1. Réduction du syndrome prémenstruel

L'administration pendant 2 mois chez des femmes souffrant de syndrome prémenstruel permettait de réduire de façon significative les symptômes physiques et psychologiques du syndrome prémenstruel de façon comparative au groupe placebo (Abdnezhad et al., 2019).

1.3.2. Effet sur les symptômes de la ménopause

Des études se sont intéressées dans la prise en charge des symptômes de la ménopause. Une étude récente (Wilfried et al., 2021) a mis en évidence que l'utilisation chez des femmes ménopausées permettait de réduire de façon significative les symptômes de la ménopause en particulier les bouffées de chaleur. D'autres études menées chez des femmes ménopausées ont confirmé qu'elle permettait d'améliorer certains symptômes tels que la fatigue, les bouffées de chaleur, les sueurs nocturnes, les palpitations, les douleurs musculaires et articulaires, la dépression, l'anxiété et les troubles du sommeil et le désir sexuel (Bommer et al., 2011 ; Maggini et al., 2023).

1.3.3. Pouvoir antibactérien et antifongique

Plusieurs études se sont intéressées aux effets antibactériens. L'étude publiée dans la revue « Microbial pathogenesis » (Wijesundara et al., 2018) a mis en évidence l'effet antibactérien de l'HE sur des souches de *Streptococcus pyogenes* responsables de nombreuses infections chez l'homme. L'HE et son extrait hydro-alcoolique a ainsi fait l'objet de plusieurs études ayant confirmé des effets bactéricides et bactériostatiques contre différents types de bactéries à Gram positive et négative, telles que *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus epidermidis* (Cui et al., 2015 ; Ben Akacha et al., 2023 ; Speranza et al., 2023).

Concernant l'effet antifongique, l'étude de De Oliveira (2019) a confirmé les effets antifongiques d'un extrait sur des souches de *Candida* ssp. D'autres études ont confirmé l'effet antifongique de l'HE sur différentes souches de champignons telles que *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *C. parapsilosis* (Hristova et al., 2013 ; Küçük et al., 2019). Une étude scientifique (Ahangari et al., 2019) a démontré que son utilisation seule ou en association avec le clotrimazole en application locale (un comprimé vaginal - 7 jours) était un traitement efficace de la candidose vulvovaginale.

1.3.4. Effet hypoglycémiant et hypolipémiant

Plusieurs études se sont intéressées aux effets hypoglycémiants et hypolipémiants que ce soit chez des volontaires sains ou chez des patients ayant un diabète de type 2. Ces études ont démontré que l'administration (extrait hydro-alcoolique, infusion), pendant plusieurs semaines (2 à 3 mois), permettait d'améliorer les paramètres métaboliques du diabète (diminution de la glycémie et du taux d'hémoglobine glyquée, et du bilan lipidique (baisse des taux de cholestérol total, de LDL-cholestérol, de triglycérides) (Kianbakht et Dabaghian, 2013 ; Guetat et al., 2025).

1.3.5. Effet antitumoral

L'activité anticancéreuse potentielle a été étudiée à la fois *in vitro* (sur plusieurs types de cellules cancéreuses) et *in vivo* chez l'animal (modèles de cancer induits chez l'animal) (Loizzo et al., 2014 ; Jiang et al., 2016).

1.3.6. Effet anti-inflammatoire et antalgique

Une étude contre placebo a démontré les effets antalgiques et anti-inflammatoires d'un spray appliquée localement lors d'un épisode de pharyngite aigue d'origine virale (Hubbert et al., 2006). Une autre étude publiée en 2011 a montré qu'un extrait hydro-alcoolique permettait de mieux contrôler la douleur neuropathique liée à une neuropathie périphérique induite par des traitements de chimiothérapie à base de vincristine sur un modèle induit chez la souris (Abad et al., 2011).

1.3.7. Effet antioxydant

Plusieurs travaux se sont intéressés aux effets antioxydants (Jasicka-Misiak et al., 2018 ; Yücel et Özdemir, 2023). Une étude a montré que l'administration d'extrait chez des rats (ajout dans leur eau de boisson) permettait d'augmenter la résistance des hépatocytes (cellules hépatiques) au stress oxydatif (Lima et al., 2005). L'Agence européenne du médicament considère comme « traditionnel » son usage dans « le traitement symptomatique des petits problèmes digestifs (brûlures d'estomac, ballonnements) et, en application locale, dans celui des inflammations de la bouche, de la gorge et de la peau ». L'Agence recommande de limiter le traitement à deux semaines (usage interne) ou une semaine (applications locales). La Coordination scientifique européenne en phytothérapie (ESCR) reconnaît son usage dans le traitement « des inflammations et des infections buccales telles que les stomatites et les gingivites » (ESCR, 2003 ; EFSA, 2024).

1.4. Toxicité et effets indésirables

L'HE contient de la thujone, une substance abortive et neurotoxique. Pour cette raison, son utilisation est interdite aux femmes enceintes, mais aussi aux personnes souffrant d'épilepsie (Pelkonen et al., 2013). L'article rapporte deux cas cliniques de convulsions généralisées chez un nouveau-né et un enfant de 5 ans, survenus après une ingestion accidentelle d'huile. Elle contient des substances telles que le thujone, le camphre et le cinéole, qui sont reconnues pour leur potentiel epileptogène. La toxicité de cette huile peut survenir même après une ingestion unique, en particulier chez les nourrissons et les jeunes enfants, qui sont plus vulnérables aux effets nocifs de ces composés (Halicioglu et al., 2011). Elle est aussi chez l'enfant, en cas d'allergie connue. L'HE contient certaines molécules pouvant être l'origine de réactions et de rougeurs cutanées (Mayer et al., 2011 ; Nacaroglu et al., 2018).

Chapitre 2

MATERIEL ET METHODES

Nous avons effectué notre stage pratique dans différents laboratoires pour une durée de temps estimée à 5 mois. Nos différentes expérimentations ont été effectuées dans plusieurs laboratoires hospitaliers et industriels.

2. Matériel

2.1. Huile essentielle testée

L'huile essentielle a été fournie par une société de production des huiles aromatique et hydrolats au niveau de la région de Blida. L'extraction de l'huile aromatique a été faite à échelle industrielle (alambic) de la partie aérienne récoltés. Ces huiles ont été conservées dans des flacons stériles et teintés à température ambiante.

2.2. Souches microbiennes

Nous avons utilisé plusieurs souches bactériennes, Gram-négatif et Gram-positif provenant des prélèvements purulents au niveau de l'hôpital. Aussi, une souche fongique *Candida albicans* a été utilisée (origine urinaire).

2.3. Animaux de laboratoire

L'expérimentation animale a été menée sur des lapins albinos néo-zélandais qui ont été utilisés pour évaluer le potentiel d'irritation cutanée des préparations cosmétiques. Tous ces animaux de laboratoire ont été stabulés dans des cages à une température ambiante avec un régime alimentaire de granulés, de l'eau de manière *ad-libitum*.

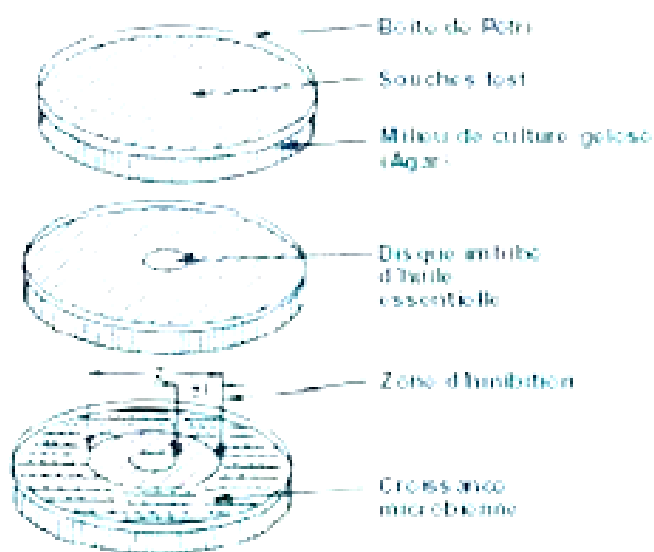
2.4. Milieux de culture et produits chimiques

Les deux milieux de culture utilisés sont la gélose Muller-Hinton (MH) pour les bactéries et la gélose Sabouraud-chloramphénicol pour la levure *C. albicans*. Aussi, nous avons utilisé plusieurs antibiotiques comme contrôle positif.

2.2. Méthodes

2.2.1. Evaluation des propriétés antimicrobiennes par aromatogramme

Cette technique est basée sur le pouvoir migratoire de l'HE sur un milieu solide (Pibiri, 2006 ; Tyagi et Mali, 2011). Nous avons utilisé des disques stériles (9 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité précise en huiles. Par la suite, le disque est déposé au centre d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la souche microbienne (figure 2.1). A noter que la densité optique de la suspension microbienne n'a pas été mesurée (non disponibilité du densimètre). Les boîtes Pétri ont été incubées à température adéquate (37°C/24h pour les bactéries et 25°C/48h pour la levure). A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par l'apparition d'un halo translucide autour du disque et dont le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) sera mesuré et exprimé en millimètres.



Dépôt du disque imprégné en huile essentielle.

Figure 2.1. Réalisation de l'aromatogramme *in vitro*.

2.2.2. Evaluation des propriétés antimicrobiennes *in vitro* par microatmosphère

Nous avons adopté cette technique dans le but de vérifier les propriétés inhibitrices de la phase volatile (Pibiri, 2006 ; Tyagi et Malik, 2011). La différence entre cette technique et l'aromatogramme réside dans la position du disque imprégné qui sera déposé au centre du couvercle de la boîte (figure 2.2). La préparation de l'inoculum, l'ensemencement, l'incubation et la lecture des résultats ont été réalisés de la même manière que l'aromatogramme.



Figure 2.2. Incubation des boîtes Pétri à température adéquate.

2.2.3. Préparations galéniques dermocosmétiques

2.2.3.1. Préparation d'une émulsion hydrophile

L'objectif assigné à cette étude sera la mise au point d'une formule galénique topique adaptée à l'huile aromatique. A cet effet, nous avons opté pour deux types de formes galéniques à savoir une émulsion hydrophile. Ce choix a été orienté par la meilleure disponibilité des bioactifs qu'offre ces formules (Klusiewicz et Fonteneau, 2008 ; Martini, 2011).

La formulation dermique débute par la préparation de la phase aqueuse. Dans un bécher, nous avons introduit l'eau distillé qui sera portée à une température de 70 °C, sous agitation. Nous avons dissous les composants hydrosolubles, sous agitation.

En parallèle, nous avons préparé la phase grasse dans un second bécher. Ces ingrédients sont chauffés à environ 70 °C pour les faire fondre complètement. Une fois la phase grasse liquide et homogène, nous avons ajouté l'huile d'amande douce, qui sert d'agent adoucissant. Lorsque les deux phases atteignent une température similaire, on procède à l'émulsion, en versant lentement la phase aqueuse dans la phase grasse fondue, sous agitation. L'émulsion se forme rapidement.

Une fois l'émulsion est refroidie, nous ajustons le pH de la préparation, ce qui permet également de stabiliser la viscosité finale. L'huile aromatique a été incorporée goutte à goutte sous agitation lente, suivie par l'introduction du conservateur afin d'assurer la stabilité microbiologique du produit fini.



Préparation de la phase aqueuse



Préparation de la phase huileuse



Mélange et émulsification des deux phases

Figure 2.3. Etapes de la préparation de la forme dermique à base d'huile essentielle.

2.2.3.2. Préparation d'un onguent

Nous avons préparé la phase grasse qui constitue la base de la texture. Les agents de consistance et les émulsifiants à savoir ont été introduits dans un bécher, suivis par l'huile végétale (adouçissant). Ce mélange est chauffé au bain-marie à environ 70 °C jusqu'à ce que les composants solides soient totalement fondus et que l'ensemble forme une phase huileuse homogène. En parallèle, nous avons préparé une phase aqueuse légère. Elle sera ajoutée à chaud à la phase huileuse pour former une émulsion épaisse. Lorsque les deux phases sont à température équivalente, la glycérine est incorporée lentement à la phase grasse fondue, sous agitation continue. Enfin, l'huile aromatique a été incorporée goutte à goutte sous agitation lente.

2.2.3.3. Contrôle de la qualité des préparations cosmétiques

- Evaluation de la qualité microbiologique

L'évaluation de la qualité microbiologique des cosmétiques constitue une étape incontournable dans le contrôle de sécurité et de conformité des produits destinés à l'application cutanée. En effet, la contamination microbienne peut compromettre non seulement la stabilité physicochimique des formulations, mais également leur innocuité pour le consommateur.

La présence de bactéries pathogènes ou de levures et moisissures peut entraîner des infections cutanées, des irritations ou encore altérer les propriétés sensorielles et l'efficacité du produit.

L'objectif de ce contrôle est d'apporter les moyens de vérifier que les préparations dermocosmétiques répondent aux exigences microbiologiques spécifiées par les normes en vigueur (ISO, 2014). Les analyses réalisées se résument en la recherche et le dénombrement des germes aérobies viables totaux et la recherche des champignons.

- Mesure du pH

L'acidité de la préparation formulée est très importante étant donné que cette dernière est destinée à être appliquée sur la peau. La mesure du pH a été effectuée à l'aide d'un pH mètre de type Hanna®. Cet instrument est équipé d'une électrode spécifique pour la mesure du pH de la préparation topique dermique.

- Détermination du comportement rhéologique par test d'écoulement

La procédure se résume à mesurer la viscosité apparente η (Pa.s) en variant la vitesse de cisaillement ($\dot{\gamma}$) de 0,001 à 1000 s⁻¹.

2.2.4. Détermination du pouvoir toxicologiques des préparations topiques

2.2.4.1. Test d'irritation cutanée primaire chez le lapin

Le test d'irritation cutanée primaire chez le lapin a été mené conformément à la Ligne Directrice 404 (OCDE, 2015), en utilisant des lapins albinos adultes (race New Zealand), pesant entre 2,5 et 3 kg. Ce test consiste en une série d'étapes visant à évaluer la sécurité du produit sur la peau. L'irritation cutanée se mesure à l'aide d'un test cutané pratiqué sur la peau scarifiée et sur la peau intacte de lapin. Les lapins sont épilés et rasés l'avant-veille de l'épreuve (figure 2.4). L'ensemble du tronc est recouvert d'une bande. Après cette période, le patch est retiré, et les lapins sont observés après 1h, puis à des intervalles de 24, 48 et 72 heures pour évaluer les signes d'irritation, tels que la rougeur, l'œdème, et d'autres réactions cutanées. L'indice d'irritation primaire (IIP) a ensuite été déterminé pour classer le potentiel irritant du produit selon les critères définis dans les réglementations internationales. Les observations sont faites selon l'échelle numérique rapportée dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1. Echelle numérique pour le calcul de l'indice d'irritation primaire cutané (OCDE, 2015).

Erythème	Score	Résultats
Absence	0	Non irritant
Léger	1	Légèrement irritant
Visible	2	Irritant
Important	3	Très irritant
Grave	4	



Figure 2.4. Test d'irritation cutané primaire chez le lapin.

2.2.4.2. Détermination du pouvoir irritant par HET-CAM

Le test HET-CAM (Hen's Egg Test on Chorioallantoic Membrane) est une méthode *in ovo* utilisée pour évaluer le potentiel irritant des substances chimiques. C'est une méthode rapide, économique et relativement simple pour évaluer le potentiel irritant des substances, offrant une alternative intéressante aux tests sur animaux, en particulier pour le dépistage des irritants sévères. Ce test exploite la membrane chorioallantoïque (CAM) d'un œuf de poule fécondé, qui est riche en vaisseaux sanguins. La procédure implique l'application directe de la substance testée sur la CAM et l'observation des réactions vasculaires telles que l'hémorragie, la coagulation et l'hyperémie (Steiling et al., 1999).

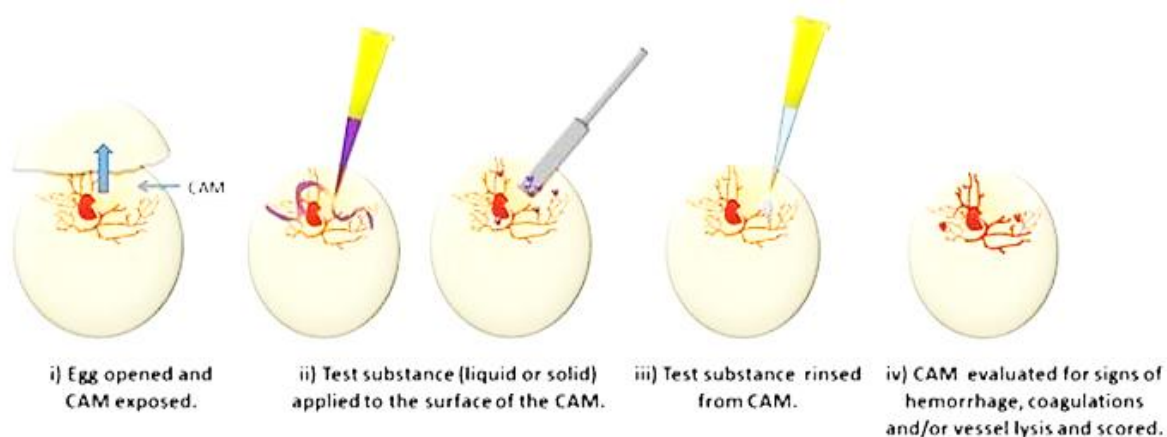


Figure 2.5. Etapes du test HET-CAM pour la détermination du pouvoir irritant.

Pour commencer, des œufs embryonnés de 9 à 10 jours d'incubation sont sélectionnés et désinfectés soigneusement. À l'aide d'un scalpel stérile, une fenêtre est découpée dans la coquille au niveau de la chambre à air pour exposer la CAM sans l'endommager (figure 2.6). Chaque type de réaction est chronométré à partir de l'application de la substance (Tableau 2.2).

Ces phénomènes observés ne sont pas retenus en fonction de leur intensité mais en fonction de leur présence. Ces réactions sont notées sur une échelle de temps définie. Ces temps sont ensuite convertis en un score d'irritation cumulatif.

La notation maximum est 21. Le score final permet de classer la substance comme non irritante, légèrement, modérément ou fortement irritante (Tableau 2.2.).

Tableau 2.2. Notation en fonction du temps et expression des résultats (Steiling et al., 1999).

Phénomène	Score	Notation (N)	Classification
Hyperémie	5	$N < 1$	Pratiquement non irritant
	3		
	1		
Hémorragie	7	$1 \leq N < 5$	Faiblement irritant
	5		
	3		
Coagulation	9	$5 \leq N < 9$	Modérément irritant.
	7		
	5		
		$9 \leq N$	Irritant.

Chapitre 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle *in vitro*

La figure présente les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile aromatique évaluée, dans un premier temps, par la technique d'aromatogramme (diffusion en milieu gélosé) contre plusieurs souches microbiennes, en utilisant trois volumes différents d'huile essentielle. L'efficacité est mesurée par le diamètre des zones d'inhibition en millimètres.

Les résultats montrent une activité antimicrobienne variable selon la souche et le volume utilisé. L'huile végétale présente une activité particulièrement marquée contre *Candida albicans*, avec une zone d'inhibition supérieure à 40 mm, et une différence hautement significative avec les autres espèces bactériennes testées. Une activité modérée est observée contre les autres espèces bactériennes telles que le staphylocoque doré ou la bactérie multirésistante *Klebsiella*, avec des diamètres de zone d'inhibition ne dépassant pas 21 mm.

En revanche, une faible activité inhibitrice est notée contre *E. coli* avec des diamètres d'inhibition n'excédant pas 10 mm, sans différence significative entre les volumes testés. Globalement, l'essence végétale démontre une efficacité anti-candidosique remarquable et une activité antibactérienne plus sélective, plus marquée sur le staphylocoque doré que sur les Gram négatives.

En ce qui concerne les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile aromatique évaluée par la technique de microatmosphère (diffusion en phase vapeur), l'huile a démontré une efficacité antimicrobienne plus marquée en phase vapeur qu'en milieu gélosé. L'effet est fortement dose-dépendant, avec une augmentation des diamètres d'inhibition à mesure que le volume augmente.

Parmi les souches testées, *C. albicans* montre la plus grande sensibilité (figure 3.1), avec une zone d'inhibition importante et significative. Cette activité est statistiquement très significative, ce qui confirme une forte efficacité antifongique de l'huile végétale en phase vapeur. *M. morganii* a été aussi inhibée modérément. Toutefois, les différences pour *Klebsiella* et *Staphylocoque doré* ne sont pas statistiquement significatives, malgré une certaine croissance des zones.

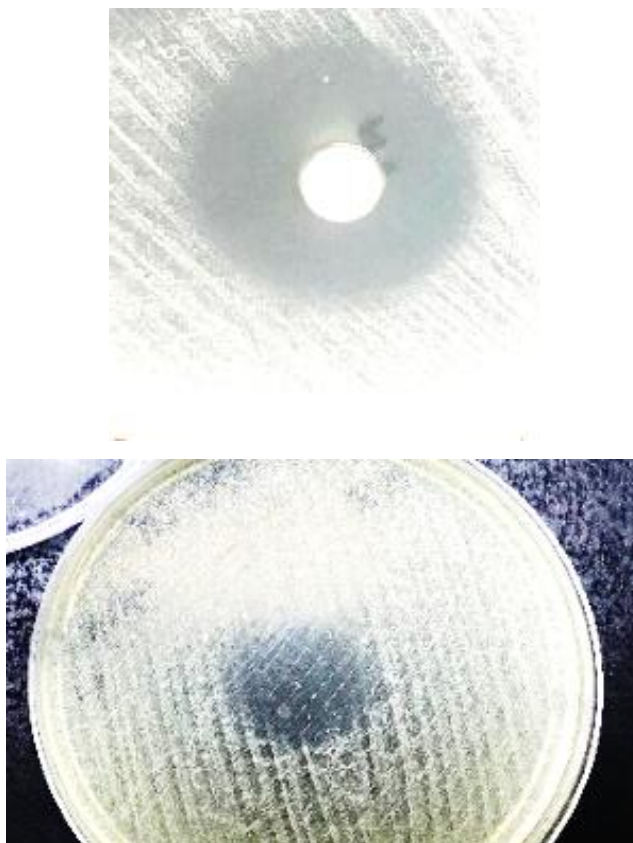


Figure 3.1. Exemples de résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielles en aromatoigramme et microatmosphère.

En résumé, l'HE a montré une efficacité antifongique notable contre *C. albicans*, une levure opportuniste fréquemment impliquée dans les infections cutanées, buccales, génitales et systémiques. Plusieurs études, *in vitro* et *in vivo*, ont démontré son potentiel en tant qu'agent antifongique naturel, grâce à ses composés bioactifs aux propriétés fongicides (Badiée et al., 2012 ; Sookto et al., 2013 ; Hristova et al., 2013 ; Kačániová et al., 2023).

En revanche, des résultats contradictoires ont été publiés dans l'étude menée par Mandra et al. (2016) qui ont rapporté que l'HE présentait une faible activité anti-candidosique avec une CMI élevée. L'activité antimicrobienne des HE, peut présenter des résultats variables selon les études, avec parfois des contradictions apparentes entre les niveaux d'efficacité observés.

Concernant le mécanisme d'action antifongique, L'HE exerce une action inhibitrice contre *C. albicans* à travers plusieurs modes complémentaires ciblant la structure, la fonction et le métabolisme de la levure (Bona et al., 2016 ; Nazzaro et al., 2017).

3.2. Qualité physico-chimique et microbiologique des préparations dermocosmétiques

La gamme de pH des préparations cosmétiques est de 5,5, et est compatibles avec le pH physiologique de la peau qui est légèrement acide, compris entre 4,5 et 6. Cette acidité naturelle, connue sous le nom de film hydrolipidique ou film acide protecteur, joue un rôle essentiel dans la protection de la peau contre les agressions microbiennes, les infections et la déshydratation. Idéalement, ces produits doivent avoir un pH proche de celui de la peau afin de ne pas perturber la barrière cutanée.

L'analyse microbiologique a révélé un taux de contamination bactérienne et fongique nulle. Les préparations dermocosmétiques sont déclarées conformes aux normes et exigences microbiologiques de la norme ISO 17516 (2014). Cette stabilité microbiologique est due principalement à la présence d'un conservateur, le benzoate de sodium, qui permet ainsi de garantir la sécurité d'emploi des produits cosmétiques la tout au long de la durée de vie, évitant la dégradation des ingrédients (Güven, 2014 ; Poddebnia et al., 2024).

L'évaluation microbiologique s'appuie sur des normes internationales, notamment les référentiels ISO 17516 et les pharmacopées (européenne, américaine, japonaise), qui fixent des seuils limites en termes de charge microbienne et définissent les micro-organismes à rechercher. Le respect de ces exigences garantit non seulement la conformité réglementaire, mais aussi la confiance des utilisateurs vis-à-vis de la sécurité et de la qualité du produit cosmétique.

La qualité microbiologique dépend également de bonnes pratiques de fabrication et d'hygiène (BPF). Une maîtrise rigoureuse de l'environnement de production, de la qualité des matières premières et des conditions de conditionnement contribue à réduire significativement le risque de contamination.

3.3. Comportement rhéologique par test d'écoulement à l'équilibre

Le comportement rhéologique des préparations cosmétiques constitue un paramètre essentiel pour évaluer leur qualité, leur stabilité et leur acceptabilité par le consommateur. Le test d'écoulement à l'équilibre permet de déterminer la relation entre la contrainte de cisaillement appliquée et la vitesse de cisaillement induite.

Ce test met en évidence la nature newtonienne ou non-newtonienne de la formulation, ainsi que la présence éventuelle d'un seuil d'écoulement.

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des préparations topiques qui sont en écoulement variable afin de déterminer leur modèle rhéologique.

Le comportement montre une courbe de viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement (ou de la vitesse de cisaillement). La courbe d'écoulement de la préparation topique présente une allure typique d'un comportement non-newtonien. Aux faibles vitesses de cisaillement, le comportement la viscosité augmenet légèrement aux vitesses de cisaillement de 10^{-3} s^{-1} . Au-delà d'une certaine valeur de vitesse de cisaillement, la viscosité diminue jusqu'au 0.1 Pa.s. Le comportement de la préparation dermique à base l'huile végétale est globalement non newtonien.

Du point de vue formulation, ce comportement est souvent lié à la présence d'agents structurants amphiphiles, tels que les alcools gras, les émulsifiants non ioniques et les corps gras comme l'huile végétale, qui forment un réseau structuré en phase continue. Ce réseau se fragilise sous contrainte mais se reconstitue ensuite, permettant à la préparation de conserver sa forme après application sans couler (Ribeiro et al., 2004).

Ainsi, l'analyse du comportement rhéologique à l'équilibre ne se limite pas à une caractérisation physique, mais constitue un outil de prédiction de la performance d'une préparation cosmétique. Un profil rhéologique adapté garantit à la fois une bonne stabilité du produit, une facilité d'utilisation et une perception sensorielle favorable chez l'utilisateur final.

3.4. Détermination du pouvoir irritant des préparations dermocosmétiques

3.4.1. Indice d'irritation primaire cutané (test de Draize)

Le test de Draize constitue la méthode de référence traditionnelle pour l'évaluation du potentiel irritant de formulations dermocosmétiques. Il consiste à appliquer le produit testé sur une zone déterminée de la peau rasée d'animaux de laboratoire, généralement des lapins, afin d'observer les réactions cutanées locales. Ce protocole permet de calculer l'indice d'irritation primaire cutané (IIPC), qui reflète la sévérité des réponses inflammatoires provoquées par la préparation.

Dans le cas des préparations dermocosmétiques à base d'huiles essentielles, ce test est essentiel car ces substances contiennent des composés bioactifs pouvant présenter un risque d'irritation cutanée. Le calcul de l'IIPC fournit donc une garantie supplémentaire quant à la sécurité d'emploi des formulations développées. Les résultats obtenus orientent par ailleurs les ajustements de concentration en huiles essentielles et la sélection d'excipients adoucissants afin d'optimiser la tolérance cutanée du produit final.

Le test d'irritation primaire cutanée chez le lapin est un protocole classique d'évaluation toxicologique permettant de déterminer la tolérance cutanée d'un produit appliqué sur la peau. Dans le cas présent, les préparations topiques testées ont obtenu une notation du score IIP nul, témoignant de l'absence de toute réaction érythémateuse (rougeur) ou œdémateuse (gonflement). Ce résultat indique que ces préparations topiques ne provoquent aucune irritation visible (figure 3.2) sur la peau des animaux testés, et sont donc classées comme non irritantes.

L'absence de réaction inflammatoire ou irritative montre que les formules cosmétiques sont dermo-compatibles à la concentration utilisée. Bien que certaines huiles soient connues pour leur potentiel irritant lorsqu'elles sont utilisées à forte dose ou sur une peau sensible (Wojtunik-Kulesza, 2022 ; Soni et al., 2023), leur intégration dans une formulation cosmétique bien équilibrée (pH adapté, base émolliente, concentration faible) peut atténuer, voire éliminer, leur effet nocif. Le score nul confirme donc que ces produits sont susceptibles d'être bien tolérés chez l'humain, en particulier pour un usage topique.



Zone scarifiée après 72h d'application

Figure 3.2. Résultats du test de Draize (irritation cutanée chez le lapin) après 72h d'application.

Bien que le test d'irritation chez le lapin fournisse des résultats reproductibles, il présente des limitations éthiques et biologiques ; les réactions cutanées du lapin ne sont pas toujours extrapolables à l'humain, car leur peau est plus fine et plus sensible. De plus, l'expérimentation animale est de plus en plus encadrée, notamment en Europe par le Règlement (CE) n°1223/2009 interdisant les tests sur animaux pour les cosmétiques. Cela justifie l'intérêt croissant pour des tests alternatifs comme HET-CAM, ou *in vitro* sur kératinocytes humains (Filaire et al., 2022).

3.4.2. Détermination du pouvoir irritant des préparations dermiques

Le test HET-CAM (Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane) est une méthode alternative largement utilisée pour évaluer le potentiel irritant de substances appliquées sur la peau ou les muqueuses. Ce test repose sur l'utilisation de la membrane chorioallantoïdienne d'embryons de poulet, qui présente une forte vascularisation et constitue un modèle sensible pour détecter les réactions irritatives. Contrairement aux tests in vivo sur les animaux, la méthode HET-CAM est considérée comme plus éthique et respectueuse du bien-être animal, puisqu'elle permet de limiter les expérimentations douloureuses.

Dans le cadre de l'évaluation de préparations dermiques à base d'huiles essentielles, le test HET-CAM se révèle particulièrement pertinent. En effet, les huiles essentielles, riches en composés volatils et bioactifs, peuvent induire des réactions d'irritation cutanée, allant de simples rougeurs à des lésions plus sévères.

L'application des formulations testées sur la membrane chorioallantoïdienne permet d'observer en temps réel les réactions vasculaires telles que les hémorragies, les coagulations ou les phénomènes de lyse vasculaire. Ces observations sont ensuite quantifiées à l'aide d'un score d'irritation standardisé.

Les résultats obtenus par HET-CAM permettent de classer les préparations dermiques selon leur potentiel irritant : non irritant, légèrement irritant, modérément irritant ou fortement irritant. Ce classement facilite la sélection des formulations dermocosmétiques les plus sûres et les mieux tolérées par la peau.

Tableau 3.1. Résultats du HET-CAM des préparations topiques testées.

Phénomène observé	Normes	Classification
Aucun	$N < 1$	Non irritant
Aucun	$N < 1$	Non irritant
Hyperémie	$1 \leq N < 5$	Faiblement irritante
Coagulation	$9 \leq N$	Irritant
Hémorragie		
Hémorragie	$9 \leq N$	Irritant
Hyperémie		
Aucun	$N < 1$	Non irritant

Le test HET-CAM repose sur l'observation des effets d'une substance appliquée sur la membrane chorioallantoïdienne très vascularisée de l'embryon de poulet. Les résultats de ce test sont consignés dans le tableau 3.1.

Lors de l'application des préparations dermiques contenant l'huile essentielle, aucune réaction inflammatoire ou vasculaire significative n'a été observée dans les cinq minutes suivant l'application.

Cela se traduit par un score HET-CAM nul, ce qui classe le produit comme non irritant selon les critères standards (score < 1). Ce résultat suggère que les formulations sont bien tolérées au niveau tissulaire et qu'elles ne présentent pas de danger immédiat pour la peau ou les muqueuses, malgré la présence d'HE.

En revanche, l'application d'une solution soude, reconnue pour ses propriétés caustiques, ou encore le tensio-actif, ont entraîné l'apparition rapide de phénomènes tels que l'hémorragie, la coagulation et l'hyperémie des vaisseaux de la CAM, dans les 30 premières secondes suivant l'application. Cette réponse intense conduit à un score HET-CAM élevé, ce qui les classe comme irritants sévères.

Dans le domaine des cosmétiques, le test HET-CAM s'est imposé comme une méthode alternative aux tests d'irritation cutanée ou oculaire chez l'animal, notamment après les interdictions progressives de l'expérimentation animale en Europe. Il est utile pour évaluer la tolérance des formulations. Il permet de détecter précocement des formulations susceptibles d'entraîner des réactions inflammatoires locales, ce qui est crucial pour garantir la sécurité des produits avant mise sur le marché (Pimentel et al., 2023).

CONCLUSION

Eu égard de l'importance, sans cesse grandissante, des essences aromatiques distillées dans plantes à parfum en général, il nous a semblé nécessaire de leur consacrer cette étude pour vérifier les activités antimicrobienne (*in vitro*) pour éventuelle intégration dans l'arsenal dermocosmétique ou parapharmaceutique.

Globalement et en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé, l'huile a présenté une efficacité anti-candidosique élevée et une activité antibactérienne sélective, plus marquée sur les bactéries Gram positives que sur les Gram négatives. En phase vapeur, cette huile s'est révélée particulièrement efficace toujours sur la levure *Candida albicans* et certaines bactéries Gram négatives.

Cette technique semble donc favoriser la volatilisation des composés actifs de l'huile aromatique, augmentant son efficacité antimicrobienne comparativement à la diffusion en milieu gélosé. Ces résultats soulignent l'intérêt potentiel de l'usage en diffusion atmosphérique des essences végétales pour des applications antimicrobiennes, notamment en désinfection de l'air ou de surfaces confinées.

Plusieurs préparations dermocosmétiques, à base d'huile essentielle, ont été préparées. La détermination du pouvoir irritant de ces préparations a été réalisée *in vivo* (test de Draize) et *in ovo* (HET-CAM). Les résultats obtenus ont démontré que ces formulations topiques ne provoquent aucune réaction indésirable visible et sont donc classées comme non irritantes, témoignant de leur dermo-compatibilité à la concentration utilisée.

Comme perspectives, il serait intéressant de combiner l'utilisation des métabolites terpéniques avec des antibiotiques et des anti-inflammatoires non stéroïdiens. C'est là une nouvelle stratégie pour limiter les effets indésirables inhérents aux médicaments synthétiques ou encore pour surmonter le problème de l'antibiorésistance.

Pour améliorer la compréhension des mécanismes d'action pharmacologiques, un travail plus approfondi, impliquant les molécules actives des huiles, devra être entrepris. D'autres formulations galéniques (micro- et nano-émulsions) peuvent être préparées pour tester leur stabilité et efficacité dans les affections cutanées *in vivo* et *in vitro* (culture cellulaire).

Références Bibliographiques

1. Abad, A. N. A., Nouri, M. H. K., & Tavakkoli, F. (2011). Effect of *Salvia* hydroalcoholic extract on vincristine-induced neuropathy in mice. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 9(5), 354-358.
2. Abdnezhad, R., Simbar, M., Sheikhan, Z., Mojab, F., & Nasiri, M. (2019). *Salvia officinalis* reduces the severity of the premenstrual syndrome. *Complementary Medicine Research*, 26(1), 39-46.
3. Aćimović, M., Kiproviski, B., Rat, M., Sikora, V., Popović, V., Koren, A., & Brdar-Jokanović, M. (2018). *Salvia sclarea*: Chemical composition and biological activity. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management (JATEM)*, 1(1), 18-28.
4. Ahangari, F., Farshbaf-Khalili, A., Javadzadeh, Y., Adibpour, M., & Sadeghzadeh Oskouei, B. (2019). Comparing the effectiveness of *Salvia officinalis*, clotrimazole and their combination on vulvovaginal candidiasis: A randomized, controlled clinical trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 45(4), 897-907.
5. Badiie, P., Nasirzadeh, A. R., & Motaffaf, M. (2012). Comparison of *Salvia officinalis* L. essential oil and antifungal agents against candida species. *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Release*, 1(7), 1-5.
6. Baquer, F., Giraudon, E., & Jehl, F. (2021). Bactéries multirésistantes et hautement résistantes émergentes: définition et mécanismes de résistance d'intérêt épidémiologique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(537), 28-36.
7. Ben Akacha, B., Ben Hsouna, A., Generalić Mekinić, I., Ben Belgacem, A., Ben Saad, R., Mnif, W., & Garzoli, S. (2023). *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* essential oils: Chemical composition, biological activities and preservative effects against *Listeria monocytogenes* inoculated into minced beef meat. *Plants*, 12(19), 3385.
8. Bommer, S. A. G. E., Klein, P., & Suter, A. (2011). First time proof of sage's tolerability and efficacy in menopausal women with hot flushes. *Advances in Therapy*, 28, 490-500.
9. Bona, E., Cantamessa, S., Pavan, M., Novello, G., Massa, N., Rocchetti, A., & Gamalero, E. (2016). Sensitivity of *Candida albicans* to essential oils: are they an alternative to antifungal agents?. *Journal of applied microbiology*, 121(6), 1530-1545.
10. Cui, H., Zhang, X., Zhou, H., Zhao, C., & Lin, L. (2015). Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. *Botanical Studies*, 56, 1-8.
11. De Oliveira, J. R., Vilela, P., Almeida, R., De Oliveira, F. E., Carvalho, C., Camargo, S., & de Oliveira, L. D. (2019). Antimicrobial activity of noncytotoxic concentrations of *Salvia* extract against bacterial and fungal species from the oral cavity. *Gen. Dent*, 67(1), 22-26.

12. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
13. Dumas, F. R., Bougnoux, M. E., Zahar, J. R., & Lortholary, O. (2008). Émergence des levures de type *Candida* sous antibiotiques-Impact clinique. *médecine/sciences*, 24, 24-31.
14. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), Villa, R. E., Azimonti, G., Bonos, E., Christensen, H., Durjava, M., & Manini, P. (2024). Safety and efficacy of a feed additive consisting of an essential oil derived from the leaves of *Salvia officinalis* L. (sage oil) for use in all animal species (FEFANA asbl). *EFSA Journal*, 22(12), e9135.
15. European Scientific Cooperative on Phytotherapy. (2003). E/S/C/O/P monographs: the scientific foundation for herbal medicinal products. Thieme.
16. Filaire, E., Nachat-Kappes, R., Laporte, C., Harmand, M. F., Simon, M., & Poinot, C. (2022). Alternative in vitro models used in the main safety tests of cosmetic products and new challenges. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(6), 604-613.
17. Guetat, A., Selmi, S., Abdelwahab, A. T., Abdelfattah, M. A., Elhaj, A. E. M., Mogharbel, R. T., & Boulila, A. (2025). *Salvia deserti* Decne., an endemic and rare subshrub from Arabian desert: antidiabetic and antihyperlipidemic effects of leaf hydroethanolic extracts. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1537071.
18. Güven, N. (2014). Investigation of antimicrobial and antibiofilm effects of some preservatives used in drugs, cosmetics and food products. *Mikrobiyoloji bulteni*, 48(1), 94-105.
19. Halicioglu, O., Astarcioglu, G., Yaprak, I., & Aydinlioglu, H. (2011). Toxicity of *Salvia officinalis* in a newborn and a child: an alarming report. *Pediatric neurology*, 45(4), 259-260.
20. Hassid, A., Salla, M., Krayem, M., Khaled, S., Hassan, H. F., & El Khatib, S. (2025). A review on the versatile applications of plant-based essential oils in food flavoring, culinary uses and health benefits. *Discover Food*, 5(1), 1-17.
21. Hristova, Y., Gochev, V., Wanner, J., Jirovetz, L., Schmidt, E., Girova, T., & Kuzmanov, A. (2013). Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Salvia sclarea* L. from Bulgaria against clinical isolates of *Candida* species. *Journal of BioScience & Biotechnology*, 2(1).
22. Hubbert, M., Sievers, H., Lehnfeld, R., & Kehrl, W. (2006). Efficacy and tolerability of a spray with *Salvia officinalis* in the treatment of acute pharyngitis-a randomised, double-blind, placebo-controlled study with adaptive design and interim analysis. *European Journal of Medical Research*, 11(1), 20-26.
23. ISO. (2014). ISO 17516:2014 – Cosmetics — Microbiology — Microbiological limits. International Organization for Standardization.

24. Jasicka-Misiak, I., Poliwoda, A., Petecka, M., Buslovych, O., Shlyapnikov, V. A., & Wieczorek, P. (2018). Antioxidant phenolic compounds in *Salvia officinalis* L. and *Salvia sclarea* L. *Ecological Chemistry and Engineering*, 25(1), 133.
25. Jiang, Y., Zhang, L., & Rupasinghe, H. V. (2016). The anticancer properties of phytochemical extracts from *Salvia* plants. *Botanics: Targets and Therapy*, 25-44.
26. Kačániová, M., Vukovic, N. L., Čmíková, N., Galovičová, L., Schwarzová, M., Šimora, V., & Vukic, M. D. (2023). *Salvia sclarea* essential oil chemical composition and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6), 5179.
27. Kianbakht, S., & Dabaghian, F. H. (2013). Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo. *Controlled clinical trial. Complementary Therapies in Medicine*, 21(5), 441-446.
28. Klusiewicz, P., & Fonteneau, J. M. (2008). *Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments*. Porphyre, Wolters Kluwer France.
29. Küçük, S., Soyer, P., & Tunalı, Y. (2019). Determination of antimicrobial and biological activities of *Salvia sclarea* L. (Lamiaceae) extracts. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*, 6(1), 15-20.
30. Levaya, Y., Atazhanova, G., Gabe, V., & Badekova, K. (2025). A review of botany, phytochemistry, and biological activities of eight *Salvia* species widespread in Kazakhstan. *Molecules*, 30(5), 1142.
31. Lima, C. F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M., & Pereira-Wilson, C. (2005). The drinking of a *Salvia* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 383-389.
32. Loizzo, M. R., Abouali, M., Salehi, P., Sonboli, A., Kanani, M., Menichini, F., & Tundis, R. (2014). In vitro antioxidant and antiproliferative activities of nine *Salvia* species. *Natural Product Research*, 28(24), 2278-2285.
33. Luca, S. V., Skalicka-Woźniak, K., Mihai, C. T., Gradinaru, A. C., Mandici, A., Ciocarlan, N., & Aprotosoae, A. C. (2023). Chemical profile and bioactivity evaluation of *Salvia* from Eastern Europe. *Antioxidants*, 12(8), 1514.
34. Maggini, V., Bertazza, G., Gallo, E., Mascherini, V., Calvi, L., Marra, C., & Firenzuoli, F. (2023). The different phytochemical profiles of *Salvia* dietary supplements labelled for menopause symptoms. *Molecules*, 29(1), 94.
35. Mandras, N., Nostro, A., Roana, J., Scalas, D., Banche, G., Ghisetti, V., & Tullio, V. (2016). Liquid and vapour-phase antifungal activities of essential oils against *Candida albicans* and non-albicans *Candida*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 1-7.
36. Marsico, F., Paolillo, S., & Filardi, P. P. (2017). NSAIDs and cardiovascular risk. *Journal of Cardiovascular Medicine*, 18, e40-e43.

37. Martini, M. C. (2011). Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie. Edition Lavoisier, France.
38. Mayer, E., Gescheidt-Shoshany, H., & Weltfriend, S. (2011). Allergic contact dermatitis caused by *Salvia officinalis* extract. *Contact Dermatitis* (01051873), 64(4).
39. Mobarki, N., Almerabi, B., & Hattan, A. (2019). Antibiotic resistance crisis. *International Journal of Medicine in Developing Countries*, 40(4), 561-564.
40. Muller, Y., Andrey, D., Emonet, S., & Harr, T. (2015). Allergies et effets indésirables dus aux fluoroquinolones. *Revue Medoicale Suisse*, 11, 826-30.
41. Nacaroglu, H. T., Erdem, S. B., Karaman, S., & Can, D. (2018). Angioedema due to lamiaceae allergy. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 97-99.
42. Nardulli, P., Hall, G. G., Quarta, A., Fruscio, G., Laforgia, M., Garrisi, V. M., & De Vito, D. (2022). Antibiotic abuse and antimicrobial resistance in hospital environment: a retrospective observational comparative study. *Medicina*, 58(9), 1257.
43. Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, 10(4), 86.
44. OCDE. (2015). Lignes directrices de l' Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) pour les essais de produits chimiques, n° 404 : Irritation-corrosion cutanée. Organisation de coopération et de développement économiques.
45. Osaili, T. M., Dhanasekaran, D. K., Zeb, F., Faris, M. E., Naja, F., Radwan, H., & Obaid, R. S. (2023). A status review on health-promoting properties and global regulation of essential oils. *Molecules*, 28(4), 1809.
46. Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., & Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721-726.
47. Pelkonen, O., Abass, K., & Wiesner, J. (2013). Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. *Regulatory Toxicology and pharmacology*, 65(1), 100-107.
48. Pibiri, M. C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse.
49. Pimentel, E. F., Portes, D. B., & Endringer, D. C. (2023). HET-CAM method as an alternative model to ocular irritation test for natural product. *InterSciencePlace*, 18(3).
50. Poddębniak, P., & Kalinowska-Lis, U. (2024). A survey of preservatives used in cosmetic products. *Applied Sciences*, 14(4), 1581.

51. Ribeiro, H. M., Morais, J. A., & Eccleston, G. M. (2004). Structure and rheology of semisolid o/w creams containing cetyl alcohol/non-ionic surfactant mixed emulsifier and different polymers. *International journal of cosmetic science*, 26(2), 47-59.
52. Rusu, A., Munteanu, A. C., Arbănași, E. M., & Uivarosi, V. (2023). Overview of side-effects of antibacterial fluoroquinolones: new drugs versus old drugs, a step forward in the safety profile?. *Pharmaceutics*, 15(3), 804.
53. Sarkic, A., & Stappen, I. (2018). Essential oils and their single compounds in cosmetics—A critical review. *Cosmetics*, 5(1), 11.
54. Sharmeen, J. B., Mahomoodally, F. M., Zengin, G., & Maggi, F. (2021). Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules*, 26(3), 666.
55. Sohail, R., Mathew, M., Patel, K. K., Reddy, S. A., Haider, Z., Naria, M., & Razzaq, W. (2023). Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastroprotective NSAIDs on the gastrointestinal tract: a narrative review. *Cureus*, 15(4).
56. Soni, V., Bharti, D., Bharadwaj, M., Soni, V., Saxena, R., & Arora, C. (2023). Toxicity of essential oils. *Essential Oils: Sources, Production and Applications*, 253.
57. Sookto, T., Srithavaj, T., Thaweboon, S., Thaweboon, B., & Shrestha, B. (2013). *In vitro* effects of *Salvia* essential oil on *Candida albicans*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 376-380.
58. Speranza, B., Guerrieri, A., Racioppo, A., Bevilacqua, A., Campaniello, D., & Corbo, M. R. (2023). Sage and lavender essential oils as potential antimicrobial agents for foods. *Microbiology Research*, 14(3), 1089-1113.
59. Steiling, W., Bracher, M., Courtellemont, P., & De Silva, O. (1999). The HET–CAM, a useful in vitro assay for assessing the eye irritation properties of cosmetic formulations and ingredients. *Toxicology in vitro*, 13(2), 375-384.
60. Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126(1), 228-235.
61. Wijesundara, N. M., & Rupasinghe, H. V. (2018). Essential oils from *Origanum* and *Salvia* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. *Microbial pathogenesis*, 117, 118-127.
62. Wilfried, D., Nina, C. D. G., & Silvia, B. (2021). Effectiveness of Menosan® *Salvia* in the treatment of a wide spectrum of menopausal complaints. A double-blind, randomized, placebo-controlled, clinical trial. *Heliyon*, 7(2).
63. Wojtunik-Kulesza, K. A. (2022). Toxicity of selected monoterpenes and essential oils rich in these compounds. *Molecules*, 27(5), 1716.

64. Yücel, Y. Y., & Özdemir, E. (2023). Determination of antioxidant activity of *Salvia sclarea* L. and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and monoamine oxidase A. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(2), 255-264.

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

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et la Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Écologie



Laboratoire des Sciences Animales & Recherche en Biobanking
Laboratoire de Biotechnologie de Productions Végétales

Mémoire de Fin d'Etudes en vue de l'obtention du Diplôme de
Master Académique en Biotechnologies
Option : Biotechnologie et pathologie moléculaire

THEME

**Préparation des formes dermocosmétiques naturelles
à visée thérapeutique**

Présenté par

NOUMA Lina & LAIEB Meriem

Date de Soutenance

02/07/2025

Devant le jury composé de :

Mme CHELGHOUM H.	Enseignant-chercheur	Présidente	Univ. Blida 1
Mme ZEROUTI K.	Enseignant-chercheur	Examinatrice	Univ. Blida 1
M. BOKHATAM M.	Enseignant-chercheur	Promoteur	Univ. Blida 1