



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



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme
de Master académique en Microbiologie appliquée

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présentée par : Mlle. BOUGHARI Djamilia et Mlle. HENNI Kheira

Thème

**Effet des huiles essentielles de cèdre de l'atlas contre
certains germes bactériens responsables d'intoxication
alimentaire**

Soutenu le, 19/06/2022

Devant le Jury :

Bensaadi Nawel	Présidente	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
Dris Ibrahim	Encadreur	M.C.B.	Univ-Tissemsilt
Bekada Ahmed Med Ali	Examineur	Prof.	Univ-Tissemsilt

Année universitaire : 2021-2022

Dédicaces

C'est avec immense fierté et respect que je dédie humblement ce mémoire :

En premier lieu, au le bon DIEU de m'avoir donné la force pour survivre et l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

A mes très chers Parents et ma grande mère pour leurs prières pour moi.

A mes frères : Abdelkader, Yousef et Menad ainsi que mes sœurs : Fatima, Zineb, et Arbia, sans oublier les petits-enfants de ma famille.

À mes plus proches amies : Fatima, Imene, Fatiha, Souhila, Nacéra et Youssra aux souvenirs des moments qu'on a passé ensemble et a touts mes amie que je connais.

Aux mes grandes familles Henni et Ouakid pour son grande aide inconditionnel

A ma chère binôme : Djamila et toute la famille Boughari.

A tous mes collègues de ma promotion.



Et à la fin à tous ceux qui ont consacré un moment pour m'aider, m'encourager ou Priez pour moi.

Un grand merci à tous.

« Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries » Marcel Proust.



Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que

Je dédie ce travail à :



Au Allah qui nous a éclairé le chemin du savoir.

Mon très cher père qui est ma source d'espoir, du savoir, son courage et sa patience toujours pour moi autant d'exemple.

Ma très chère mère qui a sacrifié ses belles nuits rien que pour me voir réussir, et qu'a été toujours pour moi une source de tendresse et de courage.

*Mes sœurs : Naima *sabah*

*Mes frères : Said *Moussa *Abdelkader*

*Toutes mes amies : fatiha * khadidja * kheira * radja * bassair batoul
*hadjer *yousra * nasira *manel *fatima *somia*

*Ma neveu et Mes nièces: younice *tasnim *chahrazad*

En fin, je remercie mon amie et mon binôme kheira qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail, et toute sa famille

A toutes mes collègues de la promotion Master II microbiologie appliquée a l'environnement, qui j'ai passé mes meilleurs moments qui resteront un bon souvenir pour toujours.

Boughari Djamila





Remerciements

*Nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à notre encadreur **Mr. Dris** de nous avoir accordé toute sa confiance en acceptant de diriger ce travail. Sa disponibilité de tous les instants, Sa grande expérience, sa gentillesse et ses grandes qualités scientifiques et ses qualités humaines ont fait de lui un grand Monsieur. Nous lui devons une immense reconnaissance et un grand respect.*

Nous remercions également à tous les membres du jury, pour avoir accepté d'en faire partie et pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce mémoire :

- ❖ **Mme. Bensaadi** maître assistant B, d'avoir accepté de présider le Jury.*
- ❖ **Mr. Bekada** professeur, d'avoir examiné ce travail.*

Nous adressons nos remerciements les plus sincères :

*Aux ingénieurs De laboratoire et plus particulièrement à **Mr. Laafer** et tous les techniciens de laboratoire de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.*

*Et n'oublions pas de remercier le directeur du parc national de Theniet El Had **Mr. BELKAID**, qui nous a aidés dans l'identification de l'espèce végétale sélectionnée pour notre étude.*

*Enfin, il nous est agréable d'adresser nos remerciements au tout **le personnel universitaire** ;*

*Un remerciement spécial pour tous **nos enseignants** durant notre carrière universitaire.*

DJAMILA & KHEIRA

Résumé

Dans le cadre de la contribution au développement durable de notre pays, on offre des nouvelles perspectives pouvant servir la thérapie, à travers la valorisation des métabolites de la plante aromatique, à savoir le Cèdre de l'Atlas «*Cedrus atlantica*», récolté en Algérie, région de Theniet El Had (Tissemsilt). L'extraction des huiles essentielles des rameaux feuillés est réalisée par hydrodistillation (type Clevenger) avec un rendement de 0.21% en huiles essentielles. En outre l'activité antimicrobienne des HEs de *Cedrus atlantica* a été montrée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé «aromatogramme» qui a présenté des zones d'inhibition (13.6 ; 23 ; 0 ; 16.8 ; 12.7 et 0 mm) ce qui suggère que nous avons une bonne activité inhibitrice, puis la concentration minimale inhibitrice «CMI» de (0.0625 ; 0.25 ; 0.125 ; 0.125 ; 0.0625 et 0.625 %) sur six souches de référence testées à savoir : *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*, respectivement.

Mots clés : Cèdre d'atlas «*Cedrus atlantica*», huiles essentielles, activité antimicrobienne, concentration minimale inhibitrice «CMI».

ملخص

في إطار المساهمة في التطور الدائم لبلدنا، نمح آفاقا جديدة قد تخدم ال علاج من خلال تثمين النبات العطري وهو الأرز الأطلسي (*Cedrus atlantica*)، الذي تم جنيه من الجزائر، منطقة ثنية الحد (تيسمسيلت). تم استخراج الزيت الأساسي من الأغصان المورقة بواسطة التقطير بالبخار (نوع Clevenger) بمردود 0.21%. بالإضافة إلى ذلك، تم تقدير فعالية الزيت الأساسي للأرز الأطلسي ضد الميكروبات عن طريق الانتشار على الوسط الصلب «aromatogramme» الذي أظهر أقطار مناطق التثبيط (13.6 ؛ 23 ؛ 0 ؛ 16.8 ؛ 12.7 و 0 مم) مما يوحي أن لدينا نشاط مثبط جيد، غير أن التركيز المثبط الأدنى «CMI» يبلغ (0.0625 ؛ 0.25 ؛ 0.125 ؛ 0.125 ؛ 0.0625 و 0.625 %) اتجاه ست سلالات مرجعية بما في ذلك *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ، *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus cereus* ، *Salmonella enterica* على التوالي.

الكلمات المفتاحية : الأرز الأطلسي (*Cedrus atlantica*)، الزيت الأساسي، فعالية المضاد الميكروبي ، التركيز المثبط الأدنى «CMI».

Abstract

In the Framework of the contribution to the sustainable development of our country, we offer new perspectives that can serve the therapy, through the valorization of the metabolites of the aromatic plant, namely the Cedar «*Cedrus atlantica*» harvested in Algeria, Theniet El Had region (Tissemsilt). The extraction of leaves and twigs essential oils yielded by hydrodistillation (Clevenger type) with a yield of 0.21% in essential oils. Also, the antimicrobial activity of HEs of *Cedrus atlantica* was shown by the diffusion method on agar medium «aromatogram» agar medium which presented zones of inhibition (13.6; 23; 0; 16.8; 12.7 and 0 mm) which suggests that we have good inhibitory activity, then that the minimum inhibitory concentration «MIC» of (0.0625; 0.25; 0.125; 0.125; 0.0625 and 0.625%) on the six reference strains tested including *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica*, respectively.

Keywords: Cedar «*Cedrus atlantica*», hydrodistillation, essential oils, antimicrobial activity, «aromatogram», minimum inhibitory concentration « MIC».

Liste des abréviations et symboles

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Acide adénosine-diphosphorique

AFNOR : Association Française de Normalisation

ARN : Acide ribonucléique

ATPase : Adénosine triphosphatases

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

D.O : Densité optique

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH: Diphényl-picrylhydrazyle

FRAP: Réduction ferrique du plasma

GIEC : Le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat

HEs : Huiles essentielles.

HEs : Huiles essentielles

K⁺ : L'ion potassium

LC-MS: Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse

McF : McFarland

MDO : Maladie infectieuse à déclaration obligatoire

Na₂S₀₄ : Le sulfate de sodium anhydre

PNTEH : Parc National de Theniet El Had

RHE : Rendement en huile essentielle

TIAC : Une toxi-infection alimentaire collective

UFC : Unité Formant Colonie

U.V : Ultra-Violet

WHO : World Health Organization

Liste des tableaux

Tableau n°01: Répartition des cédraies Algériennes selon le climat.....	17
Tableau n°02 : Principaux germes responsables de T.I.A.C.....	23
Tableau n°03 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques.....	25
Tableau n°04 : Fiche technique du site d'échantillonnage.....	32
Tableau n° 05 : Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien.....	35
Tableau n°06 : Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme.....	38
Tableau n°07 : Degrés de sensibilités de la croissance microbienne et leurs diamètres des zones d'inhibition.....	40
Tableau n°08 : Rendement massique des huiles essentielles.....	44
Tableau n°09 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme (en mm).....	47
Tableau n°10 : Les mesures du diamètre de la zone inhibitrice.....	50
Tableau n°11 : Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles vis-à-vis des germes testés.....	53

Liste des figures

Figure n°01 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	09
Figure n°02 : D'une installation d'entrainement à la vapeur.....	10
Figure n°03 : Hydrodistillation assistée par micro-onde.....	11
Figure n°04 : Schéma d'extraction par CO2 supercritique.....	13
Figure n°05 : Le Cèdre de l'Atlas (<i>Cedrus atlantica</i>).....	14
Figure n°06 : Caractères botaniques du Cèdre (A : rameau, B : chatons, C-D : côtes, E : port arbre jeune, F : port arbre âgé, G : écorce d'un arbre jeune, H : graines).....	16
Figure n°07 : Aire naturelle du Cèdre de l'Atlas (en noir).....	18
Figure n°08 : Répartition géographique du genre <i>Cedrus</i> dans le monde.....	19
Figure n°09 : Principaux interactions entre aliment, microorganisme, consommateur.....	22
Figure n°10 : Mode d'action des antibiotiques.....	24
Figure n°11 : Mécanismes qui rendent les bactéries résistantes aux antibiotiques.....	26
Figure n°12 : Effets des huiles essentielles et de leurs constituants sur les cellules bactériennes.....	28
Figure n°13 : Carte de situation du Parc National de Theniet El Had.....	30
Figure n°14 : Carte des cantons du PNTEH.....	31
Figure n°15 : Récolte des rameaux feuillés du cèdre de l'Atlas.....	32
Figure n°16 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (clevenger).....	34
Figure n°17 : Préparation de la suspension bactérienne.....	36

Figure n°18 : Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre.....	36
Figure n°19 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélosé.....	37
Figure n°20 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé.....	38
Figure n°21 : Dépôt des disques contenant l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i> à la surface des boîtes ensemencées.....	40
Figure n°22 : Technique pour réaliser une gamme de dilution.....	41
Figure n°23 : Ensemencement par une strie.....	42
Figure n°24 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles de Cèdre de l'Atlas.....	43
Figure n°25 : Les résultats de l'antibiogramme.....	46
Figure n°26 : Effet d'HE de Cèdre de l'Atlas.....	49
Figure n°27 : Mesure du diamètre du halo à l'aide d'un pied à coulisse.....	50
Figure n° 28 : Détermination de la CMI d'HE de Cèdre de l'Atlas.....	52

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des abréviations et symboles	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	01

Etude bibliographique

Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles.....	03
I.1. Définition.....	03
I.2. Rôle physiologique.....	03
I.3. Répartition systématique des huiles essentielles.....	03
I.4. Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles.....	04
I.5. Propriétés physico-chimiques.....	04
I.7. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	05
I.7.1. Agro-alimentaire.....	05
I.7.2. Santé : pharmacie et aromathérapie.....	06
I.7.3. Secteur parfumerie/ cosmétique.....	06
I.7.4. En agriculture.....	07

I.8. Toxicité des huiles essentielles.....	07
I.9. Méthodes d'extraction.....	08
I.9.1. Distillation.....	08
I.9.1.1. Hydrodistillation.....	09
I.9.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	09
I.9.1.3 Hydrodiffusion.....	10
I.9.2. L'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	10
I.9.3. Extraction à froid.....	11
I.9.4. Extraction par solvants organiques.....	11
I.9.5. Extraction par CO ₂ à l'état supercritique.....	12

Chapitre II. Cèdre de l'Atlas «*Cedrus atlantica*»

II.1. Classification systématique et description botanique.....	15
II.1.1. Classification taxonomique.....	15
II.1.2. Description botanique.....	15
II.2. Situation géographique de Cèdre de l'atlas.....	17
II.2.1. Aire naturelle.....	17
II.2.2. Aire d'introduction.....	18
II.3. Importance du Cèdre de l'Atlas.....	19
II.4. L'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas.....	20
II.4.1. Utilisations de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas.....	20

Chapitre III. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

III.1. Les toxi-infections alimentaires.....	21
III.2. Agents causaux.....	22
III.3. Les antibiotiques.....	23
III.4. Antibiorésistance.....	26
III.5. Effet antimicrobien des huiles essentielles.....	27
III.6. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries.....	27

Etude Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1. Présentation de la zone d'étude.....	29
IV.1.1. Caractéristiques climatiques.....	29
IV.2. Matériel végétal.....	31
IV.2.1. Récolte.....	31
IV.3. Extraction des huiles essentielles de Cèdre d'atlas.....	33
IV.3.1. Extraction par hydrodistillation.....	33
IV.3.2. Calcul du rendement.....	34
IV.4. Procédés d'étude microbiologique.....	35
IV.4.1. Souches microbiennes testées.....	35
IV.4.2. Milieux de cultures utilisées.....	35
IV.4.3. Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum).....	35
IV.4.4. Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques «Antibiogramme».....	37
IV.4.5. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	39
IV.4.5.1. Aromatogramme.....	39
IV.4.5.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	41

Chapitre V. Résultats et Discussion

V.1. Extraction des huiles essentielles de Cèdre d'Atlas.....	44
V.1.1. Rendement en huile essentielle.....	44
V.2. Etude de l'activité antimicrobienne.....	45
V.2.1. L'Antibiogramme.....	45
V.2.2. L'aromatogramme.....	48
V.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	51

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Les plantes médicinales jouent un rôle important en tant que des sources de métabolites secondaires d'intérêt thérapeutique (**Newman., 2019**).

Ces plantes médicinales sont accréditées de pouvoirs mystiques et surnaturels de guérison. Ils sont largement utilisés dans le monde entier pour les soins de santé primaires et également dans la découverte de médicaments modernes. On estime que plus de 13 000 espèces de plantes médicinales et aromatiques, sont utilisées dans les médecines traditionnelles et les cosmétiques à base de plantes à travers le monde et sont également connues pour leurs effets antimicrobiens contre les micro-organismes pathogènes. (**Wilkinson *et al.*, 2002**)

Les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales sont principalement dues à la fraction des huiles essentielles qui sont des produits naturels précieux utilisés comme matières premières dans de nombreux domaines, dont la parfumerie, la cosmétique, l'aromathérapie, la phytothérapie, les épices et la nutrition (**Buchbauer, 2000 ; Billerbeck *et al.* 2002**)

Actuellement la flore algérienne est très diversifiée, elle compte plus de 70 espèces de conifères dont certaines sont endémiques et locales comme le cyprès de Tasiri, le sapin numide, le pin noir et le Cèdre de l'Atlas (**Morsli, 2009**).

Le Cèdre de l'Atlas est un arbre peuvent atteindre 40m de hauteur et 2à3m de circonférence. Très longévifs, datent de plus de 1200 ans. (**M'hirit et Benzyane, 2006**). Il peut également produire des huiles essentielles aromatiques qui ont des intérêts médicinales (**Guenthe., 1952**).

Cependant, peu d'études ont été menées sur les activités biologiques des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas, tel que les activités antimicrobiennes (**Hammer *et al.*, 1999**), antivirales (**Monica *et al.*, 2008**), molluscicides (**Lahlou, 2003**) et anti-activités inflammatoires (**Sugita *et al.*, 2004**).

Notre présent travail s'inscrit dans le cadre de valorisation des plantes médicinales en particulier le cèdre de l'atlas. Il s'intéresse à tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles de rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas obtenue

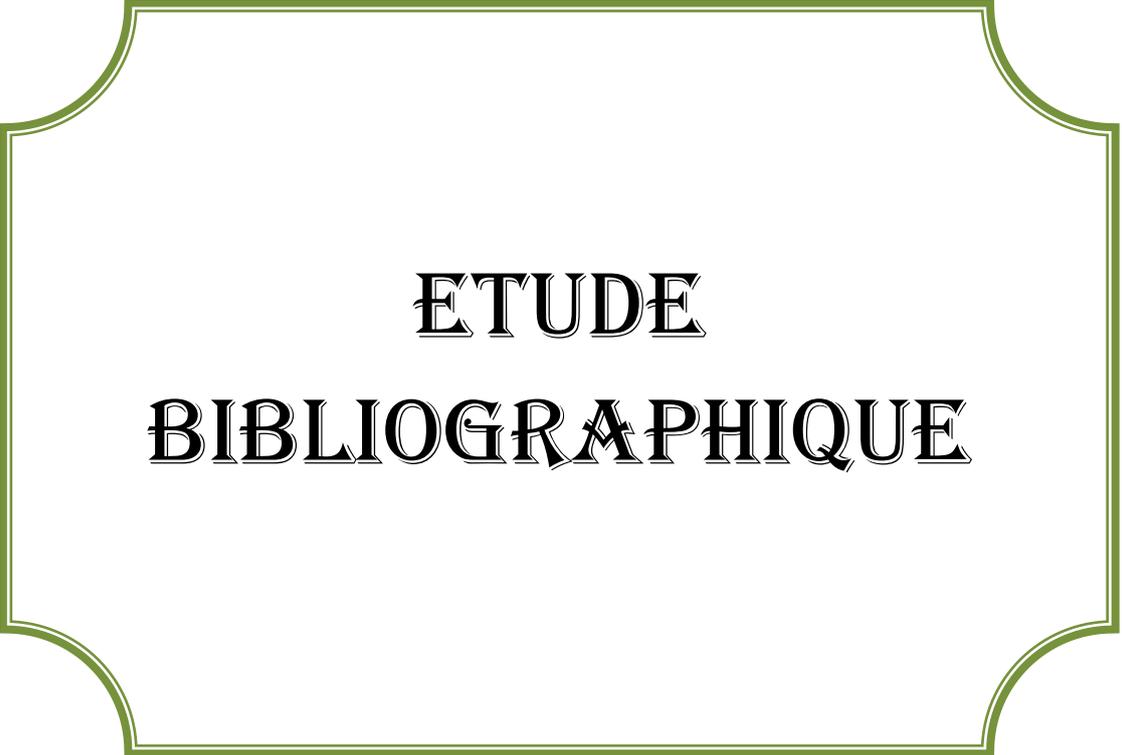
par hydrodistillation sur certains germes bactériens responsables d'intoxication alimentaire, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose (méthodes des disques).

Pour ce faire, une première partie propose une mise au point bibliographique qui est divisée sur trois chapitres :

- ❖ Le premier chapitre : Généralités sur les huiles essentielles.
- ❖ Le deuxième chapitre : Monographie sur l'espèce étudiée
- ❖ Le troisième chapitre : Activité antimicrobienne des huiles essentielles

La deuxième partie est consacrée aux matériels et méthodes mis en œuvre pour l'extraction et l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles :

- ❖ La troisième partie : les résultats et discussion
- ❖ La quatrième partie : Une conclusion générale



**ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE**

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

I- Les huiles essentielles

I.1- Définition

Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, « l'huile essentielle désigne le produit obtenu par entraînement à la vapeur ou par des procédés mécaniques à partir d'épicarpe ou par distillation de matières premières d'origine végétale. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000).

Les huiles essentielles sont des produits aromatiques et volatils composés de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui leur donnent leur odeur spécifique. Le terme « volatil » s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement. C'est pourquoi il est nécessaire de les conserver correctement afin qu'elles gardent intacts leurs principes actifs (Moro Buronzo, 2008).

I.2- Rôle physiologique

De nombreuses plantes produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Ces derniers ne sont pas essentiels pour la croissance des plantes (Croteau *et al.*, 2000).

La plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, ou comme source énergétique, facilite certaines réactions chimiques et pour préserver l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Mohammedi Z, 2006).

Les huiles essentielles font partie de produits naturels dérivés de plantes médicinales et aromatiques, qui sont connues pour être douées de propriétés antimicrobienne et antiseptiques (Haddouchi et Benmansour, 2008).

En effet, beaucoup d'entre elles ont des propriétés anti-toxiques, anti virales, anti oxydantes et anti parasitaires. Plus récemment ils ont été connus pour avoir des propriétés anticancéreuses (Valnet, 2005).

I.3- Répartition systématique des huiles essentielles

Une huile essentielle, selon la pharmacopée européenne, le produit de la distillation de l'essence végétale (sécrétion naturelle synthétisée par les plantes aromatiques et excrétée dans des organes spécifiques) (Deschepper, 2017).

Ces essences végétales sont largement distribuées dans le règne végétal et ne se trouvent que chez les végétaux supérieurs. En effet, elles regorgent d'environ 2000 espèces, réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Lamiacées (lavande, basilic, menthe...), les Myrtacées (eucalyptus.....), les Lauracées (cannelle et sassafras) et les Apiacées (coriandre, cumin, fenouil, persil, **(Richter, 1993)**).

I.4- Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont souvent associées à la présence de structures histologiques spécifiques. Le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal **(Bruneton, 1987)**.

Ils sont produits dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent généralement dans des cellules glandulaires spécialisées. Ce sont donc des structures histologiques servant à leur synthèse et à leur stockage **(Kaloustain et Hadj-Minaglon, 2013)**. Ces dernières (poils, poches et canaux sécréteurs) peuvent être situées le plus souvent dans les feuilles et les fleurs .mais elles peuvent également être présentes dans les fruits, le bois ou encore dans la racine du végétal **(Lardry et Haberkorn, 2007)**.

I.5- Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont composées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire **(Degryse et al., 2008)**. Ils sont généralement liquides à température ambiante, volatiles, inflammables, très odorantes et ne sont que très rarement colorées.

À l'exception des huiles essentielles de sassafras (*Sassafras. albidum*), de clou de girofle (*Syzygiumaromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum. zeylanicum*), leurs densités sont généralement inférieures à 1.

Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) **(Bruneton, 1999; Charpentier et al., 2008 ; Desmares et al., 2008)**.

Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent être remises à l'état de vapeur sans

laisser de trace, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol...etc.) qui ne sont pas volatiles et laissent une trace grasse durable sur le papier (**Bernad, 2000**).

Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais sont peu solubles dans l'eau (**Bruneton, 1999**). Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (**Martini et Seiller, 1999**). Elles sont également très altérables et s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (**Bruneton, 1993**).

I.7- Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs saveurs sont utilisées dans de nombreux domaines tels que l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie, etc. en raison de leurs propriétés nombreuses et diverses (**Richard, 1992**).

I.7.1- Agro-alimentaire

Plusieurs segments alimentaires utilisent les huiles essentielles à des degrés divers, leur offrant un formidable potentiel d'arômes évolutifs à l'infini. On les retrouve presque dans tous les secteurs alimentaires: boissons non alcoolisées, confiseries, produits laitiers, soupes, sauces, produits de boulangerie, produits carnés...etc (**Richard, 1992**).

Les consommateurs sont toujours à la recherche d'une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Une technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles (**Lachowicz et al., 1998**).

Leur activité antimicrobienne reconnue a également été exploitée pour augmenter la durée de conservation des aliments. On sait par exemple que les huiles essentielles de cannelle, de coriandre, de thym ou encore d'origan sont effectivement efficaces pour conserver la viande, alors que la menthe est plus efficace pour contrôler la contamination dans les yaourts (**Fernandez, 2012**).

I.7.2- Santé : pharmacie et aromathérapie

Depuis des milliers d'années, les gens ont utilisé les huiles essentielles et généralement les plantes aromatiques pour l'auto-guérison. Aujourd'hui, les médecines dites naturelles sont de plus en plus populaires auprès du grand public (Garneau, 2005).

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter de nombreuses maladies internes et externes (infections bactériennes ou virales, troubles humoraux ou nerveux). En dentisterie, certaines huiles essentielles ont montré des résultats cliniques très satisfaisants dans la stérilisation de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries dentaires (Sourai, 1989 ; Kato *et al*, 1990).

De plus, le potentiel thérapeutique diversifié des huiles essentielles a attiré l'attention des chercheurs ces dernières années pour leur possible activité anticancéreuse. Par conséquent, les huiles essentielles et leurs composants volatils sont actuellement à l'étude à la recherche de nouveaux produits anticancéreux naturels (Edris, 2007).

Dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, tels que le thymol et le carvacrol, sont couramment utilisés comme antiseptiques, agents antibactériens et agents antifongiques (Zambonelli *et al.*, 2004).

I.7.3- Secteur parfumerie/ cosmétique

Les HEs ont été largement utilisées dans l'industrie cosmétique en raison de leurs propriétés organoleptiques, principalement leur odeur agréable et persistante. Cette propriété aromatique est due au captage des molécules volatiles de la plante aromatique. De plus, le potentiel aromatisant des HEs est également utilisé dans les produits pharmaceutiques, notamment dans les solutions et lotions de l'hygiène buccodentaire telles que les dentifrices et les bains de bouche (Brud, 2010).

L'utilisation d'huiles essentielles dans les crèmes et les gels préserve ces cosmétiques grâce à leurs activités antiseptiques et antioxydants, et assure leur odeur agréable (Vargas *et al.*, 1999).

I.7.4- En agriculture

L'utilisation des huiles essentielles dans l'agriculture en est encore à ses balbutiements mais devrait se développer. En effet, le contexte réglementaire actuel incite fortement au développement des produits phytosanitaires d'origine naturelle comme alternative aux moyens de lutte chimique. Les huiles essentielles sont actuellement testées sur différentes cibles : insectes, champignons, bactéries, les adventices et également pour la conservation des semences (**Deschepper, 2017**).

Les modes d'application sont divers, par fumigation, ajout d'un piège à phéromones, répulsif ou par contact (**Regnault-Roger et Hamraoui, 1995**). En plus de leurs activités biologiques, les huiles essentielles possèdent d'autres propriétés qui en font des produits adaptés à la lutte contre les nuisibles. Ceux-ci comprennent :

- ❖ De nombreuses huiles essentielles testées sur les insectes à ce jour semblent avoir de plusieurs modes d'action et sites d'action dans le système nerveux des insectes et ailleurs.
- ❖ Les huiles essentielles et leurs principaux constituants sont relativement non toxiques pour les mammifères
- ❖ A cause de leur volatilité, les huiles essentielles sont instables dans l'environnement, avec demi-vies en extérieures < 24 h sur les surfaces, dans sol et dans l'eau (**Isman et al., 2010**).

I.8- Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles gagnent du terrain. Le public est en demande de produits naturels pour se soigner « autrement ». Bien qu'en vente libre, y compris en dehors du circuit officinal, les huiles essentielles ne sont pas des produits anodins et présentent certains risques de toxicité. Dans son exercice quotidien, le pharmacien doit s'assurer du bon usage des huiles essentielles par ses patients et du respect des précautions d'emploi et éventuelles contre-indications.

Rappelons que les huiles essentielles sont susceptibles d'entraîner plusieurs types de toxicité :

- ❖ Hépatotoxicité.
- ❖ Dermotoxicité (irritations, brûlures, hypersensibilité, phototoxicité) et irritation des muqueuses exposées.
- ❖ Neurotoxicité (dépression ou excitation du système nerveux central, effet stupéfiant, convulsions).
- ❖ Néphrotoxicité.
- ❖ Effets tératogènes et abortives.
- ❖ Propriétés carcinogéniques.
- ❖ Hypersensibilité.

Les cas d'intoxications aiguës graves sont encore relativement rares et concernent généralement l'ingestion accidentelle d'huiles essentielles par de jeunes enfants.

La principale toxicité chronique observée en aromathérapie est liée à l'utilisation prolongée d'huiles essentielles phénoliques, nocives pour les hépatocytes sur le long terme. Une hypersensibilité à un ou plusieurs composés volatils se rencontre chez des personnes régulièrement exposées dans le cadre professionnel. Certaines huiles essentielles, sensibles par leur toxicité ou les usages détournés possibles, sont intégrées au monopole pharmaceutique (**Robin, 2017**).

I.9- Méthodes d'extraction

L'extraction d'une huile essentielle est nécessairement une opération complexe et délicate. En effet, il vise à capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et fragiles issus des végétaux, sans en altérer la qualité (**Lahlou, 2004**).

Différentes méthodes sont employées pour l'extraction des essences végétales, cette diversité étant due à la variété des matières premières et à la grande sensibilité de certains de leurs constituants à être plus ou moins modifiés lors de processus de préparation (**Bruneton, 1995**).

I.9.1- Distillation

La distillation à la vapeur d'eau est une méthode ancienne et répandue pour extraire les huiles essentielles des plantes aromatiques. Il est simple dans son principe et utilise un équipement peu coûteux. Il comporte trois (03) variantes : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur et hydrodiffusion (**Silou et al., 2004**).

I.9.1.1- Hydrodistillation

L'hydrodistillation reste la technique la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et permet de les séparer à l'état pur, mais donne également de meilleurs rendements (**Figure n°01**) (**Bruneton, 1993 ; Ferhat *et al.*, 2010**). Le principe consiste à immerger la matière végétale à traiter directement dans un ballon rempli d'eau, puis porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE va alors être séparée par différence de densité (**Bruneton, 1993 Lucchesi, 2005 ; Baser et Buchbauer, 2010 ; Ferhat *et al.*, 2010**). Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage trop puissant et prolongé provoque la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005 ; Ferhat *et al.*, 2010**).

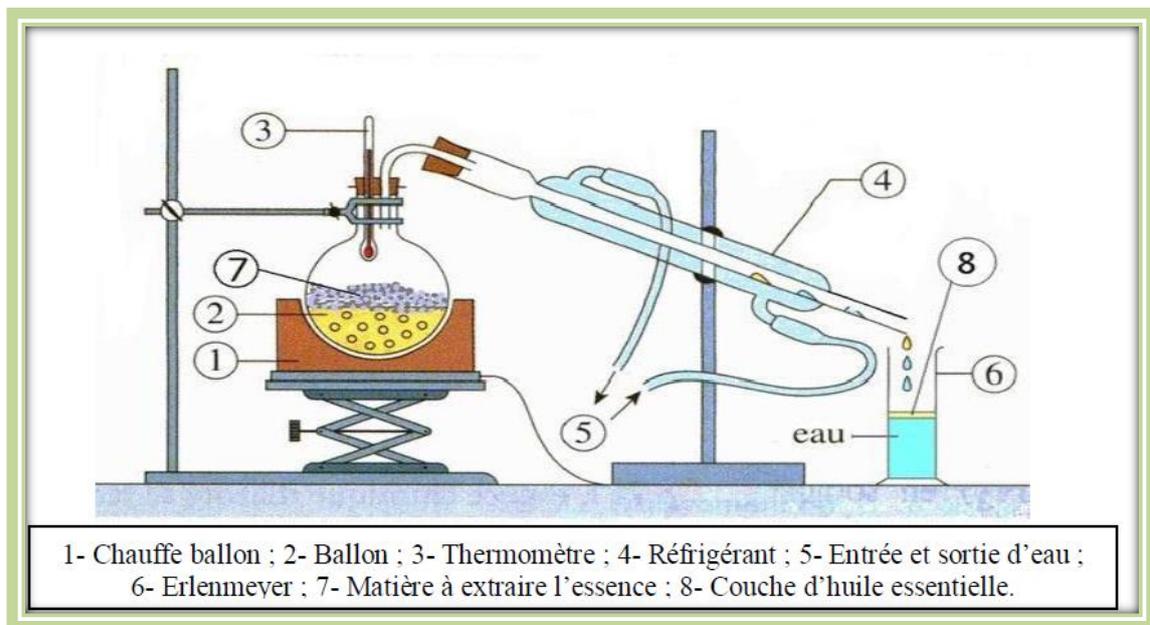


Figure n°01 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (**Lucchesi, 2005**)

I.9.1.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles d'obtention des huiles essentielles (**Figure n° 02**). Contrairement à l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est de vaporiser les constituants volatils du produit brut. La vapeur

détruit la structure des cellules végétales, libérant des molécules qui contiennent et entraînent les substances les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence distillée de la matière première, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). La fraction insoluble du condensat est décantée pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). On recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits (**Dastmalchi et al., 2008**).

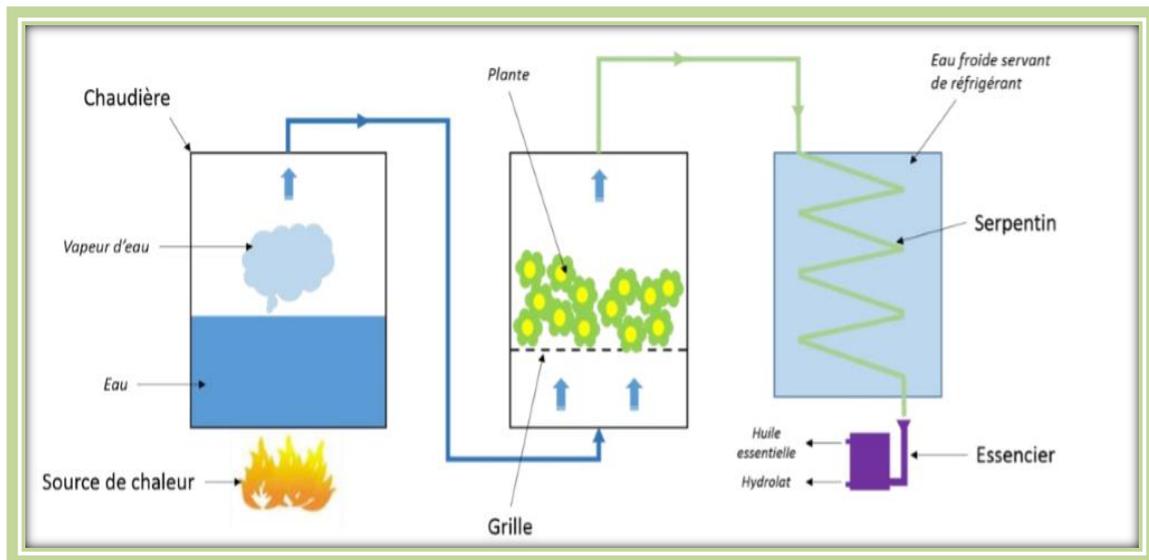


Figure n° 02 : Schéma d'une installation d'entraînement à la vapeur
(Deschepper, 2017)

I.9.1.3- Hydrodiffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression «0.02-0.15 bar» à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce processus permet d'économiser du temps et de l'énergie (**Bruneton, 1999**).

I.9.2- L'hydrodistillation assistée par micro-ondes

Il s'agit d'une technique développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables à l'HE et à l'extraction aromatique (**Figure n° 3**). La plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de

façon séquentielle : les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azeotropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (**Marrouf et Tremblin, 2009**). Cet échauffement, en évaporant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée une surpression à l'intérieur de celles-ci, qui brise les parois végétale et libère ainsi le contenu en huile. Cette technique réduit le temps d'extraction, la dégradation thermique et économise de l'énergie (**Huie, 2002**).

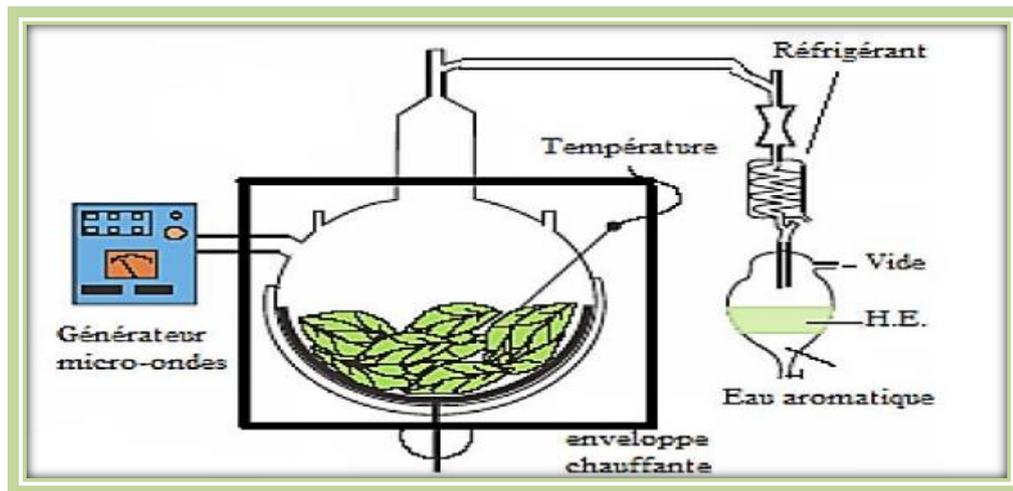


Figure n° 03 : Hydrodistillation assistée par micro-onde (M.E. Lucchesi, 2005)

I.9.3- Extraction à froid

Cette technique consiste à récupérer les composés volatils par des moyens mécaniques (abrasion, compression, incision, perforation). Par conséquent, nous obtenons HE. Cette technologie est utilisée industriellement pour l'obtention d'HE d'agrumes. En général, on couple la récupération d'HE avec l'extraction du jus (**Richard, 1992**). Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois (**Dugo et Di Giacomo, 2004**).

I.9.4- Extraction par solvants organiques

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière

ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (**Hubert, 1992**).

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats (eau comme solvant), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen des solvants divers) (**Hernandez Ochoa, 2005**).

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (**Lucchesi, 2005**).

I.9.5- Extraction par CO₂ à l'état supercritique

L'extraction par CO₂ critique est la technologie alternative à l'extraction par solvant organique pour les composés naturels, notamment les plus fragiles. Elle nécessite d'utiliser des appareils résistants à des pressions pouvant aller jusqu'à 400 fois la pression atmosphérique (**Figure n° 04**). Cette technologie est basée sur le pouvoir solvant du CO₂ qui est modulable à volonté, dans certaines limites, selon les conditions de pression et de température qu'on lui applique. A l'état supercritique (plus de 74 bars et de 31 °C), le CO₂ possède des propriétés très particulières. Le fluide obtenu est caractérisé par une grande diffusivité (de l'ordre de celle des gaz), ce qui lui confère une bonne aptitude à la dissolution, et une densité élevée qui le dote d'une capacité de transport et d'extraction importante (**Bachelot *et al.*, 2006; Haderbache, 2011**).

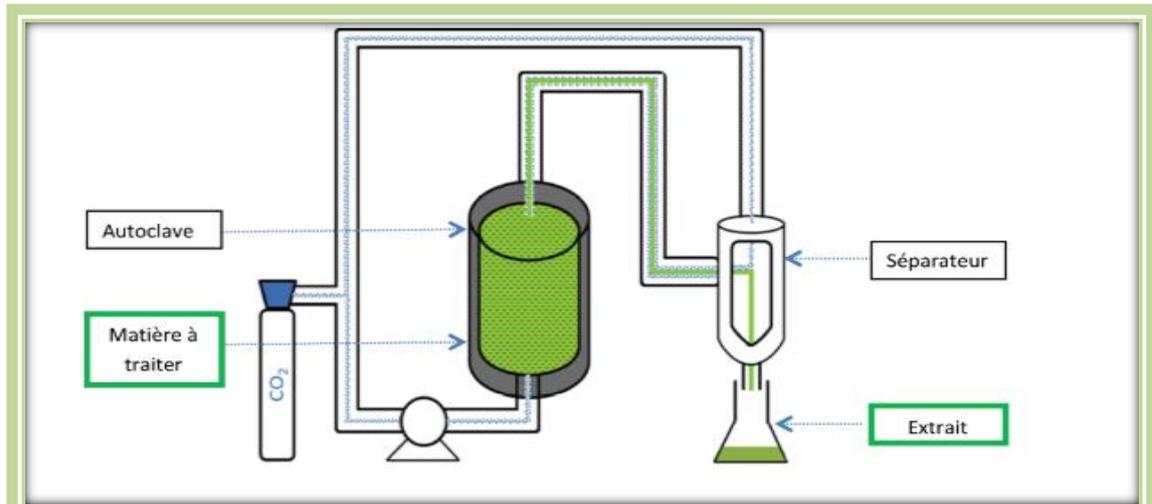


Figure n° 04 : Schéma d'extraction par CO₂ supercritique

Chapitre II

Cèdre de l'Atlas «*Cedrus atlantica* »

Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*), appartient de la famille des pinacées et est considéré comme le plus ancien après le genre *Pinus* (**Figure n° 05**). C'est l'essence noble de l'Afrique du Nord et a une importance écologique indéniable. Essence montagnarde, endémique de l'Afrique septentrionale (Atlas d'Algérie et du Maroc) elle présente des qualités forts considérables à travers sa croissance, la qualité de son bois et sa splendeur d'attrait touristique (**Zemirli, 2006**).

Ses huiles essentielles se retrouvent dans plusieurs parties de la plante: le bois, les feuilles, les écorces, les rameaux, les graines, les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués de plus d'une dizaine, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques (**EI Haib, 2011**).



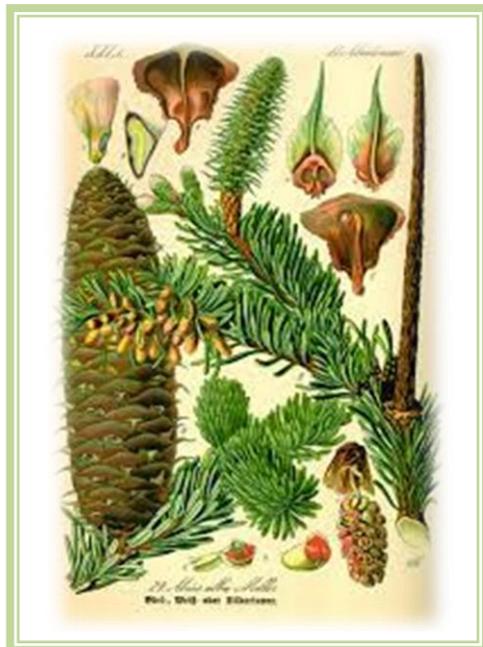
Figure n° 05 : Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) (Original)

II.1- Classification systématique et description botanique

II.1.1- Classification taxonomique

Actuellement le genre *Cedrus* est représenté par quatre espèces montagnardes de la région méditerranéo-himalayenne. Seulement une espèce, *Cedrus deodora*, le Cèdre de l'Himalaya comme son nom l'indique est une espèce himalayenne. Les trois autres sont : *Cedrus atlantica* (cèdre de l'Atlas), *Cedrus Libani* (cèdre du Liban) et *Cedrus brevifolia* (cèdre de Chypre) (Emberger, 1960).

- ❖ Règne : *Plantae*
- ❖ Embranchement: *Spermaphytes*
S/Embranchement: *Gymnospermes*
- ❖ Classe: *Vectrices*
- ❖ Ordre: *Coniférales*
- ❖ S/Ordre: *Abiétales*
- ❖ Famille: *Pinacées*
- ❖ Sous famille : *Abiétéés*
- ❖ Genre: *Cedrus*
- ❖ Espèce: *Cedrus atlantica* Manetti
(Arar, 2020).



II.1.2- Description botanique

Le port : C'est un grand arbre, souvent de plus de 50 m de hauteur, et en moyenne 40m dans les peuplements soit anciens en sol profond, soit serrés (Boudy, 1952 ; Toth, 1990). Le port de l'arbre est pyramidal avec un fût droit, cime régulière et pointue à flèche courbée quand il est jeune ou d'âge moyen, il prend une forme tabulaire en vieillissant (Boudy, 1952).

Les Racines : Les racines sont très étendues et ramifiées. Ainsi que, elles sont pivotantes ce qui assure une bonne stabilité de l'arbre (Toth, 1970).

Ecorce : L'écorce est épaisse, rugueuse de couleur noirâtre (M'hirit, 2006).

Feuilles: Aiguilles persistantes 3-4 ans, aigues, assez rigides, 15 à 20mm, leur couleur allant du vert clair foncé ou glauque jusqu'au bleu (Boudy, 1952 ; Toth, 1990). Les feuilles de Cèdre de l'Atlas sont disposées sur deux types de rameaux à la différence des autres genres de *Pinaceae*, soit groupées en rosettes sur des rameaux courts, ou bien se trouvent isolées sur des rameaux longs (Arar, 2020).

Les organes reproducteurs : Le Cèdre de l'Atlas est une essence monoïque dont les inflorescences sont portées par des rameaux Courts. Les inflorescences mâles portent des chatons de forme ovoïde et de couleur jaune- orangée, apparaissent à mi-juin et achèvent leur maturité vers miseptembre et les inflorescences femelles plus petites, ovoïdes et vert bleuâtres, elles se distinguent des chatons mâles 3 mois plus tard (M'hirit, 2006).

Fruit : La maturité des cônes dure 2ans après la floraison, de couleur brune violacée, ils ont 5-8 cm de dimension. Atteignent au plus 10cm (Quezel et Santa, 1962).

Graine : La graine est marron-roux, subtriangulaire, assez grosse, sont huileuses, longues de 10 à 15 mm, tendre, très résineuse, à aile large. En raison de leur poids, leur dissémination par le vent est difficile (Debazak, 1964).

Longévité : Elle est remarquable et dépasse 700 ans, voire 1000 ans et plus (Chbouki, 1994). Le Cèdre donne des graines fertiles jusqu'à un âge avancé (Boudy, 1952). Au Djurdjura des Cèdres millénaires (Krouchi, 2010).



Figure n° 06 : Caractères botaniques du Cèdre (A : rameau, B : chatons, C-D : cônes, E : port arbre jeune, F : port arbre âgé, G : écorce d'un arbre jeune, H : graines). (Benseraï née Souyad, 2012)

II.2- Situation géographique de Cèdre de l'Atlas

Le Cèdre de l'Atlas occupe naturellement les hautes montagnes de l'Algérie et du Maroc. Ce dernier a été introduit dans des pays hors de son aire naturelle d'abord comme espèce d'ornement et par la suite comme espèce de reboisement (**Djoumi, 2018**).

Aire naturelle

Le Cèdre de l'Atlas est localisé sur les montagnes du Maghreb ; le Maroc détient à lui seul la plus grande surface, répartie sur deux blocs d'inégale importance, le premier dans le moyen Atlas et le grand Atlas oriental (116 000 ha), le second dans le Rif occidental et central avec une superficie d'environ 16 000 ha (**M'herit, 1994**).

En Algérie la Cédraie qui couvre une surface de 27000 ha, individualise des îlots plus ou moins importants observés d'Ouest en Est (**Boudy, 1952**), il se décline en deux types :

- ❖ Les cédraies sèches caractérisées par les conditions climatiques les plus sévères et soumises directement aux influences sahariennes.
- ❖ La cédraies humides qui bénéficie d'un climat particulièrement favorable (**Abdessemed, 1981 ; Pradal, 1979 in Boudjerda, 1990**).

**Tableau n° 01 : Répartition des cédraies Algériennes selon le climat
(Abdessemed ,1981)**

Type de cédraies	Région	Superficie (ha)
cédraies sèches	Aurès	12022
	Hodna	8000
	Théniet el Had	1000
cédraie humides	Babor	1300
	Djurdjura	1200
	Atlas Blideen	1000

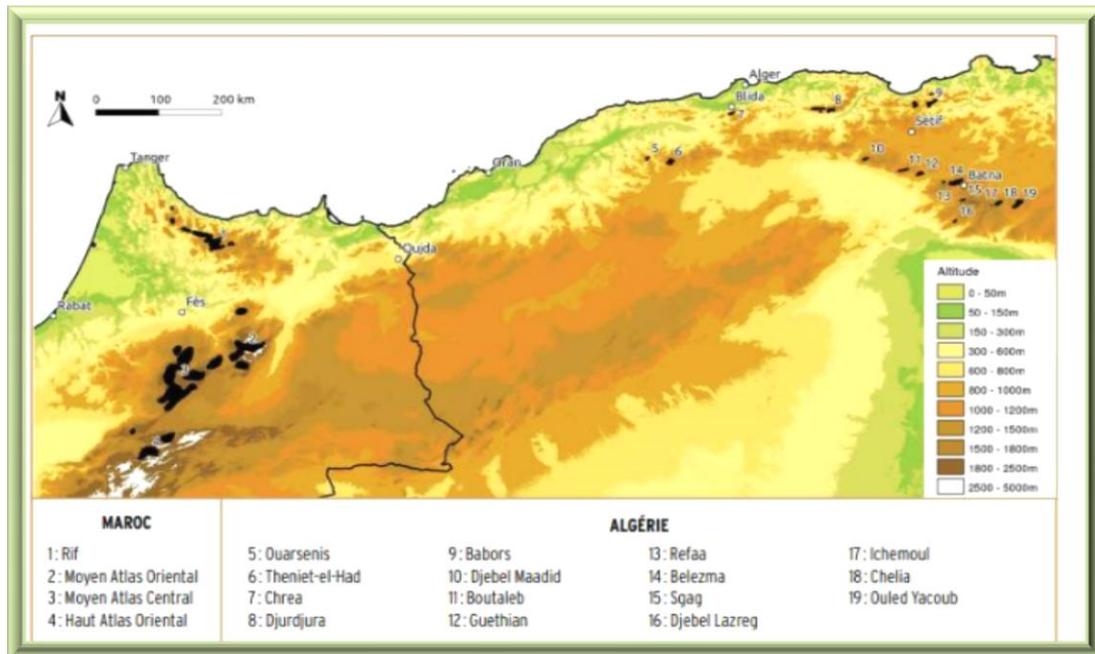


Figure n° 07 : Aire naturelle du Cèdre de l'Atlas (en noir) (Coubret *et al.*, 2012)

Aire d'introduction

La France est le premier pays avec des forêts de Cèdres hors de l'aire de répartition naturelle de l'espèce. Son introduction remonte à 1862. La plus grande zone de reboisement était le Mont de Ventoux, totalisant 20 000 hectares, où le cèdre a multiplié sa surface par plus de cent en un peu plus d'un siècle, soit 15 ha en 1862 et 20000 en 1997 (Toth, 2005).

Aussi, Il a été également introduit en 1864 en Italie et 1890 en Bulgarie. L'introduction du Cèdre de l'Atlas est signalée aussi dans quelques états américains : Pennsylvanie, New York, Côte pacifique. Introduit en URSS, en Crimée et dans le Caucase vers 1890, par la suite le cèdre de l'Atlas fut employé sur une grande échelle dans les reboisements (M'hirit, 1999 ; Fabrej *et al.*, 1999).

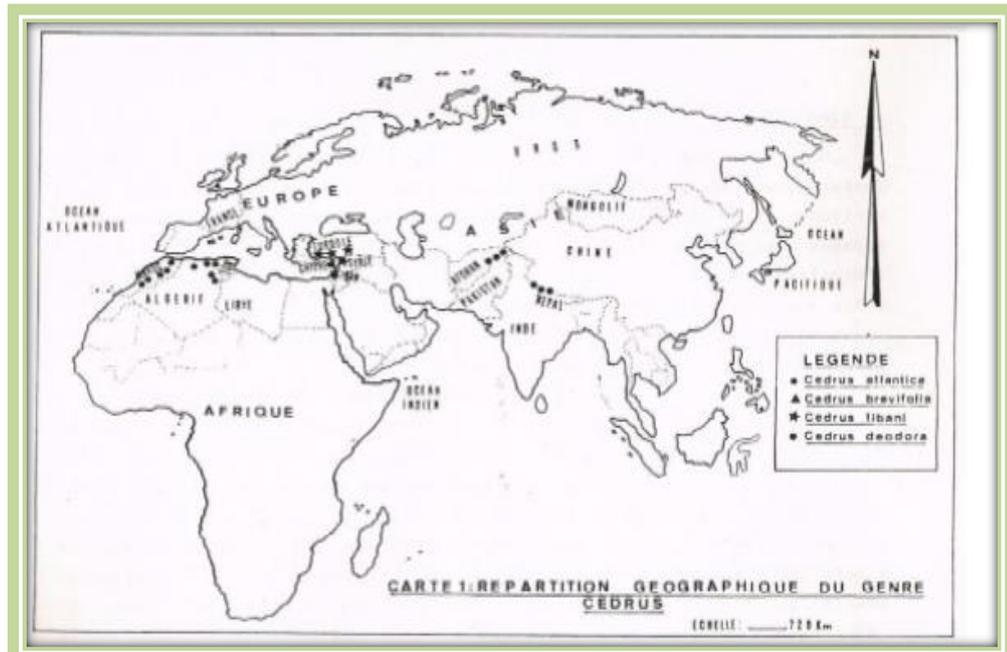


Figure n° 08 : Répartition géographique du genre *Cedrus* dans le monde (Derridj, 1990)

II.3- Importance du Cèdre de l'Atlas

Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) est considéré par plusieurs auteurs comme l'espèce la plus importante, économiquement et écologiquement, de la montagne méditerranéenne (M'hirit *et al*, 2006 ; Terrab *et al*, 2006).

Le Cèdre de l'Atlas bénéficie d'une grande facilité de régénération naturelle dans les étages de chêne vert en Afrique du Nord et chêne pubescent en France, assurant ainsi la pérennité des peuplements et permettant des reboisements économiques par point d'appui (M'hirit et Benzyane, 2006).

M'hirit *et al.* (2006) notent aussi que le Cèdre rend de multiples services, fournissant des produits très utiles tels que, le bois, le charbon, le goudron, la résine et le tanin. Il abrite aussi un pâturage important et constitue un apport en unités fourragères pendant les périodes difficiles. Son bois est utilisé dans la construction, la fabrication de meubles, en charpente, en ébénisterie, en déroulage, en tranchage et en coffrage (Coubret et Albouy, 1995 ; Barrero *et al.*, 2005).

La protection des sols contre l'érosion et la désertification (ceinture verte de l'Atlas). En effet, le Cèdre possède un système racinaire étendu et ramifié lui permettant de bien protéger le sol contre l'érosion (Toth, 1970).

La production d'huile aromatique obtenue par distillation, à usage multiple (savon et shampoing, médecine moderne et traditionnelle, parfumerie). Elle traite de nombreux problèmes de peau et de Cuir chevelu.

II.4- L'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas

Les huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas est constituée en majeure partie de produits ses qui terpéniques d'odeur agréable. Elle a fait l'objet de nombreuses recherches en raison de son utilisation en industrie des parfums, cosmétique et pharmaceutique

II.5- Utilisations de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas

- ❖ Les huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas sont des fongicides efficaces, non phytotoxiques. Parce qu'ils contrôlent la détérioration fongique de certaines épices pendant le stockage. Ils entrent également dans la composition chimique de certaines lotions et shampoings qui traitent le cuir chevelu (**Bardeau, 2009**).

- ❖ L'huile essentielle de *Cedrus atlantica* possède des propriétés antifongiques (**Bouchra et al., 2003**), antibactériennes (**Hammer et al., 1999**), antivirales (**Monica et al., 2008**), molluscicides (**Lahlou, 2003**). et une activité anti-inflammatoire (**Sugita et al., 2004**).

- ❖ Les qualités particulières de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas en aromathérapie peuvent se résumer ainsi : Lymphatique (décongestionnant lymphatique), drainage puissant, lipolyse puissante (élimination des graisses), régénération et cicatrisation des artères (**Sarrouy, 2013**).

Chapitre III

Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Depuis des siècles, les plantes aromatiques et épices sont utilisées dans les préparations alimentaires pour la saveur qu'elles apportent et également pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Les huiles essentielles de ces plantes possèdent une particularité commune : riches en composés phénoliques (l'eugénol, le thymol et le carvacrol), les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques, qui ont une activité antibactérienne très précieuse (**Pauli, 2001; Fabian *et al.*, 2006**).

III.1- Les toxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires sont des maladies infectieuses (**Bouza, 2009**), d'origine alimentaire, causées par l'ingestion d'une denrée alimentaire contaminée par des agents pathogènes (**Who, 2007**), dont les causes les plus fréquentes sont les méthodes inadéquates de manipulation, préparation, stockage ou conservation des aliments (**Birembaux, 2017**).

La symptomatologie dominante inclut des vomissements, une diarrhée accompagnée de douleurs abdominales, de la fièvre et diverses algies. Ils apparaissent en moyenne 12 h 24 heures après le repas infectant.

Elle se manifeste par un accident de caractère individuel ou collectif, avec des signes digestifs dominants (**Gledel, 1978**). Les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) sont des maladies infectieuses à déclaration obligatoire (MDO) qui ont lieu lorsqu'il existe au moins deux cas groupés, avec des manifestations similaires dues à des contaminations par des microorganismes (généralement des bactéries) ou des toxines. La plus grande toxi-infection alimentaire collective est la «crise alimentaire» (**Diallo, 2010**).

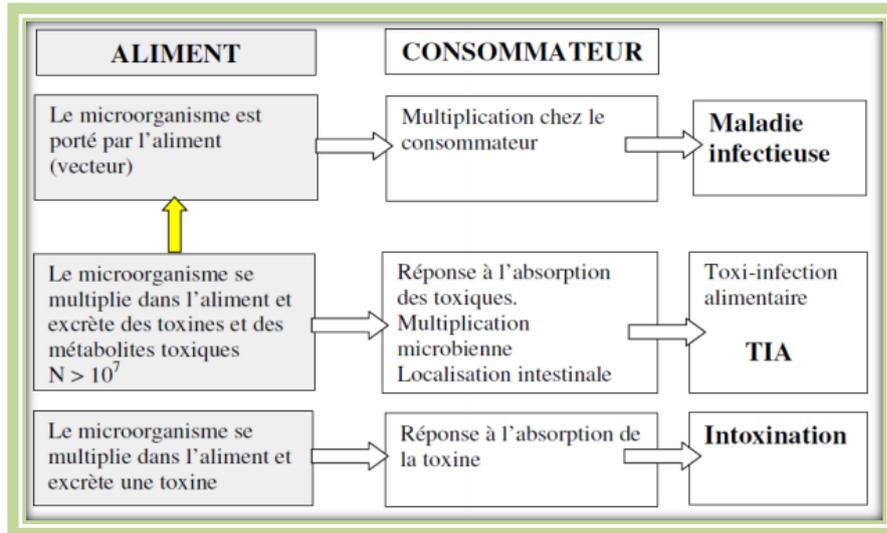


Figure n° 09 : Principaux interactions entre aliment, microorganisme, consommateur (Jean-Louis, 2007)

III.2- Agents causaux

Parmi les causes les la plus fréquentes des toxi-infections alimentaires (Manfred et Nicol, 2000), sont les infections bactériennes :

Tableau n° 02 : Les principaux germes responsables de T.I.A.C

Agent pathogène	Caractères morphologiques	Aliments à risqué
<i>Salmonella enterica</i>	Bacilles à gram négatif (Tanouti, 2016).	<ul style="list-style-type: none"> - viandes crues (volaille, porc) - des produits à base d'œufs (pâtisseries) - des produits laitiers et des produits préparés (salade de pomme de terre) (Birembaux, 2017).
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactéries à gram positif (Tanouti, 2016).	<ul style="list-style-type: none"> - les gâteaux à la crème, la charcuterie (pâte, cachir) - les conserves de poissons (sardines à l'huile) - les plats cuisinés, les viandes et dérivés et les crèmes glacées (Bouza, 2009).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Un bacille à Gram négatif ubiquitaire (Kerr & Snelling, 2009).	- L'eau (Kerr & Snelling, 2009).
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Diplo-coccobacilles, gram négatif (Hélène pailhories, 2016).	- L'eau douce, lait, viande et volailles (Perrault ; Grondin, 2016).
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacilles (en forme de bâtonnets) Gram négatif (Abbott, 2007).	- L'eau polluée (Abbott, 2007).
<i>Bacillus cereus</i>	Bacilles Gram positif (Murray., Baron., Jorgensen., Landry, & Pfaller, (Eds.), 2007).	- Les régions où les aliments sont manipulés de façon inadéquate (Kotiranta., Lounatmaa & Haapasalo, 2000).

III.3. Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des produits microbiens, ou leurs dérivés, capables de tuer les micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance (**Prescott et al., 1995**). Leur action est spécifique et dirigée contre les micro-organismes et également ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes.

L'étendue de l'activité antibactérienne d'un antibiotique détermine son spectre d'action. Plus un antibiotique agit sur des espèces bactériennes différentes, plus son

Chapitre III Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Le spectre est large. L'action des antibiotiques peut agir sur des structures ou des mécanismes essentiels à la croissance ou à la survie des bactéries.

Le terme «bactériostatiques» concerne tous les antibiotiques qui inhibent la croissance bactérienne alors que ceux qui tuent les bactéries sont dits «bactéricides». L'administration d'antibiotiques bactériostatiques est généralement suffisante pour arrêter les processus infectieux. En outre, le système immunitaire de l'hôte se chargeant d'éliminer les bactéries restantes. Cependant, chez les sujets immunodéprimés, le recours à un antibiotique bactéricide est recommandé (Newman *et al.*, 2003 ; Singh et Barrett, 2006).

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie (Figure n°10).

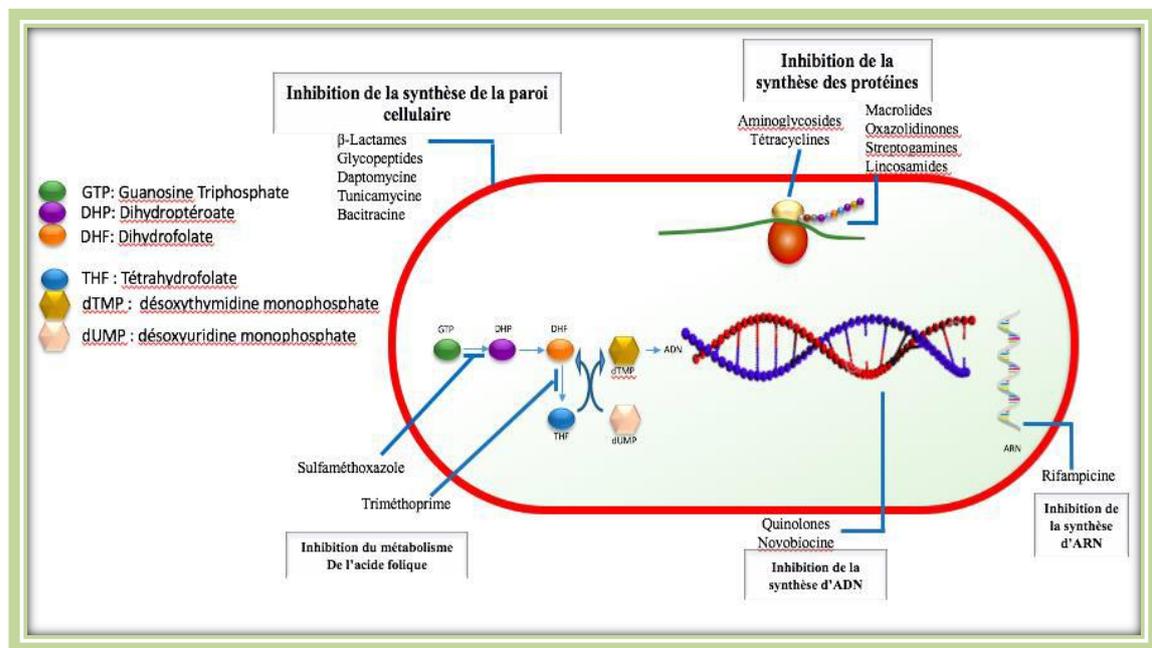


Figure n°10 : Mode d'action des antibiotiques (Singh & Barrett, 2006)

Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN). Ainsi, interférer avec les voies métaboliques de synthèse de l'ADN mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (Tableau n° 03).

Chapitre III Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Tableau n°03 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)

Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structure chimique
Sulfamides	Synthétique	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibent la synthèse de l'acide folique. - Entraînent une diminution de la production. 	Sulfaméthoxazole	
β-Lactames de 1^{ère} génération	- <i>Penicillium notatum</i> - <i>Penicillium chrysogenum</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibent la synthèse du péptidoglycane par blocage de la transpeptidation.. 	Pénicilline	
β-Lactames de 2^{ème} génération	<i>Cephalosporium</i>		Céphalosporine	
Phénylpropanoïdes	<i>Streptomyces venezuelae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Se fixent sur l'ARN 23S de la sous-unité 50S du ribosome empêchant l'élongation du peptide au cours de la traduction. 	Chloramphénicol	
Macrolides	<i>Streptomyces erythraeus</i>		Erythromycine	
Tétracyclines	<i>Streptomyces</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Bloquent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome. 	Tétracycline	
Aminoglycosides	<i>Streptomyces</i> ou <i>Micromonospora</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Se fixent sur la sous-unité 30S du ribosome et bloquent en partie la traduction en engendrant des erreurs de lecture. 	Streptomycine	
Quinolones et fluoroquinolones	Synthétique	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibent la gyrase bactérienne. 	Ciprofloxacine	

III.4- Antibiorésistance

Une souche bactérienne est dite résistante à un antibiotique donné lorsqu'elle est capable de se développer à une concentration de cet antibiotique significativement supérieure à la concentration qui inhibe le développement de la plupart des souches appartenant à la même espèce bactérienne (El bouamri, 2017).

La **figure n° 11** montre les mécanismes pouvant être mis en place pour contourner l'effet d'un antibiotique. Les bactéries peuvent (1) induire la destruction d'agents antibactériens grâce à des enzymes inactivées nouvellement synthétisées pour empêcher les antibiotiques d'atteindre leurs cibles (2) par modification chimique ou (3) en modifiant leurs cibles de telle sorte que les interactions deviennent impossibles (Bocquet, 2018).

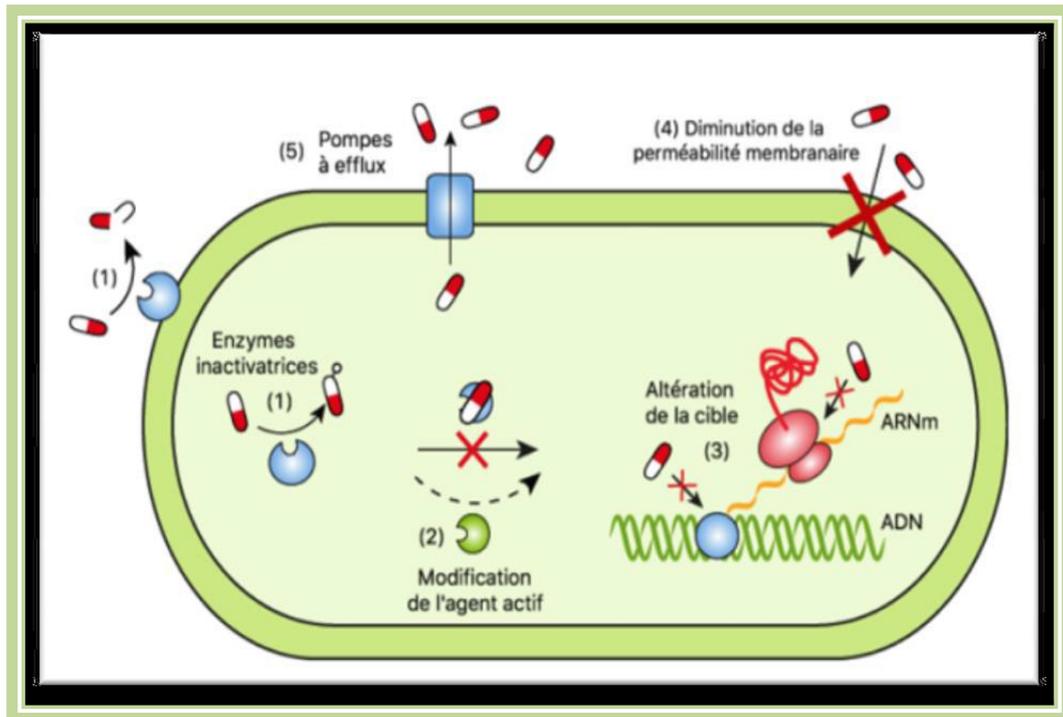


Figure n°11 : Mécanismes qui rendent les bactéries résistantes aux antibiotiques (Bocquet, 2018)

III.5- Effet antimicrobien des huiles essentielles

Dans le domaine médical, le rôle des HE est indéniable, car elles sont utilisées pour traiter diverses pathologies, en tant qu'agents antibactériens, antiparasitaires, insecticides, antiviraux, antifongiques et antioxydants. Ils possèdent également des pouvoirs antispasmodiques, diurétiques, expectorants, cicatrisants et sédatifs, ainsi que des actions antitoxique, antivenimeuse et anticancéreuse (**Kouch, 2015**).

Le mode d'action des HE dépend initialement des propriétés chimiques et physico-chimiques des substances bioactives, en particulier de leur hydrophobicité (**Benmeddour, 2016**).

L'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas est utilisée dans différents domaines pour ses propriétés thérapeutiques et organoleptiques (**EL Haib, 2011**).

III.6- Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries

En raison de la variabilité de la quantité et des profils des composants des huiles essentielles, leur activité antimicrobienne ne peut être attribuée à un mécanisme unique, mais à de multiples sites d'action au niveau cellulaire (**Carson *et al.*, 2002**) (**Figure n° 12**). En général, une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries a été observée, tels que la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules (**Davidson, 1997**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur hydrophobicité, qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela entraîne un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K⁺) (**Cox *et al.*, 2000 ; Carson *et al.*, 2002**).

Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines membranaires microbiennes, comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, ou en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Les huiles essentielles inhibent également la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides (**El Amri *et al.*, 2014**).

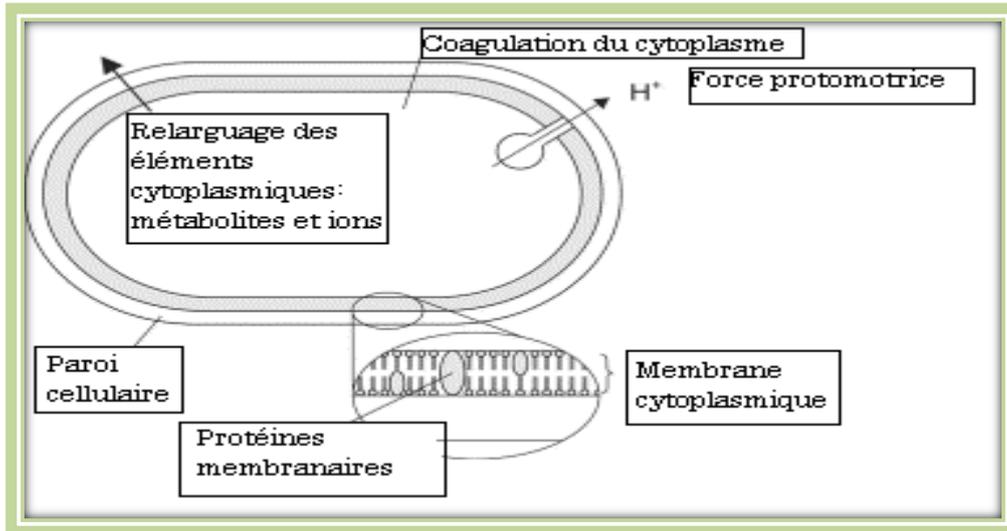


Figure n° 12 : Effets des huiles essentielles et de leurs constituants sur les cellules bactériennes (Burt, 2004)

Le mode d'action des huiles essentielles dépend également du type de microorganisme : d'une façon générale, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif en raison de la structure de leur membrane externe (Dorman, 2000).



**ETUDE
EXPÉRIMENTALE**

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

Notre travail qui porte sur l'extraction des huiles essentielles et l'étude de leur activité biologique, s'est déroulé au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université de Tissemsilt.

IV.1- Présentation de la zone d'étude :

Le Parc national de Theniet El Had est un massif forestier occupant les deux versants du Djebel El Meddad (Montagne des Cèdres). Il est situé à 02km au sud-ouest de la ville de Theniet El Had dans la wilaya de Tissemsilt. Il est partie prenante de l'Ouarsenis. Ensemble, ils constituent la chaîne sud de l'atlas tellien. Sa superficie est de 3424ha dont 87% de couvert végétal. Les limites du parc national sont matérialisées par des bornes numérotées de 01 à 558, La forêt des cèdres de Theniet El Had fut le premier espace protégé en Algérie. Elle fut proclamée parc national par arrêté gouvernemental du 03/08/1923. **(Belkaid, 2022).**

Le Parc se situe entre les coordonnées géographiques : **35° 49' 41'' et 35° 54' 04''** de latitude Nord et **01° 52' 45'' et 02° 02' 04''** de longitude Est.

Le parc National de THniet El Had est comprend une Biodiversité de 1.304 espèces (Flore: 650 et Faune: 654) **(Belkaid, 2022).**

IV.1.1- Caractéristiques climatiques

Le Parc national de Theniet El Had (PNTEH) est soumis au climat subhumide ou humide à hiver froid et ce en fonction de l'altitude ainsi que le versant. Son climat est caractérisé par une très grande variabilité durant l'année, elle s'élève en moyenne à 792 mm **(Loukkas, 2006).**

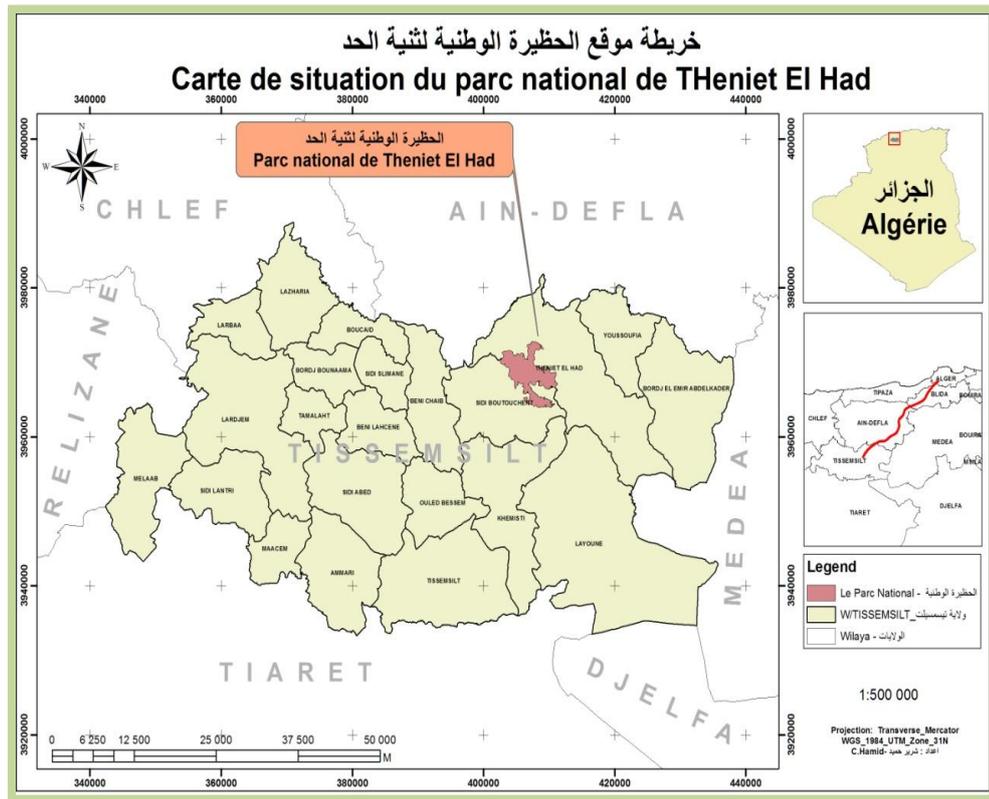


Figure n° 13 : Carte de situation du parc national de Theniet El Had (Belkaid, 2022)

Le (PNTEH) est divisé en dix cantons, dont la grande partie de superficie se trouve au niveau du versant Sud sur une étendue de 2052 ha (Mahdjoubi et Zerka, 2018).

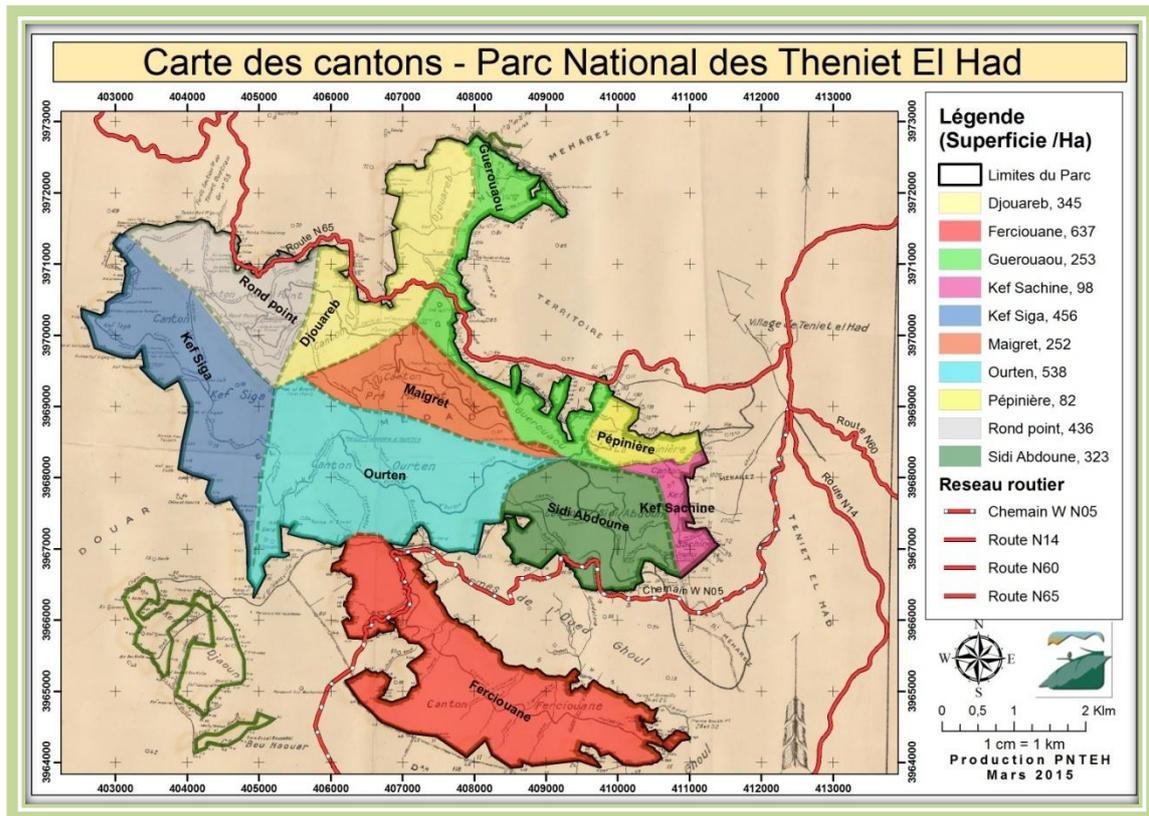


Figure n° 14 : Carte des cantons du PNTEH (Belkaid, 2022)

IV.2- Matériel végétal

IV.2.1- Récolte

Les rameaux et les feuilles du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) ont été récolté dans la région de Theniet El Had durant la période matinale vers 12:00 heures au mois de février 2022 (**Figure n°15**). Les Caractéristiques de matériel végétal que nous avons suivies pour faire la récolte sont la densité et la couleur des aiguilles qui sont déterminées par une analyse visuelle à l'œil nu, les échantillons récoltés sont mis dans des sachets en plastique pour être utilisé par la suite au laboratoire.



Figure n°15 : Récolte des rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas dans la région de Theniet El Had (**Original**)

Le **tableau n° 04** ci-dessous résume des informations sur le site d'échantillonnage

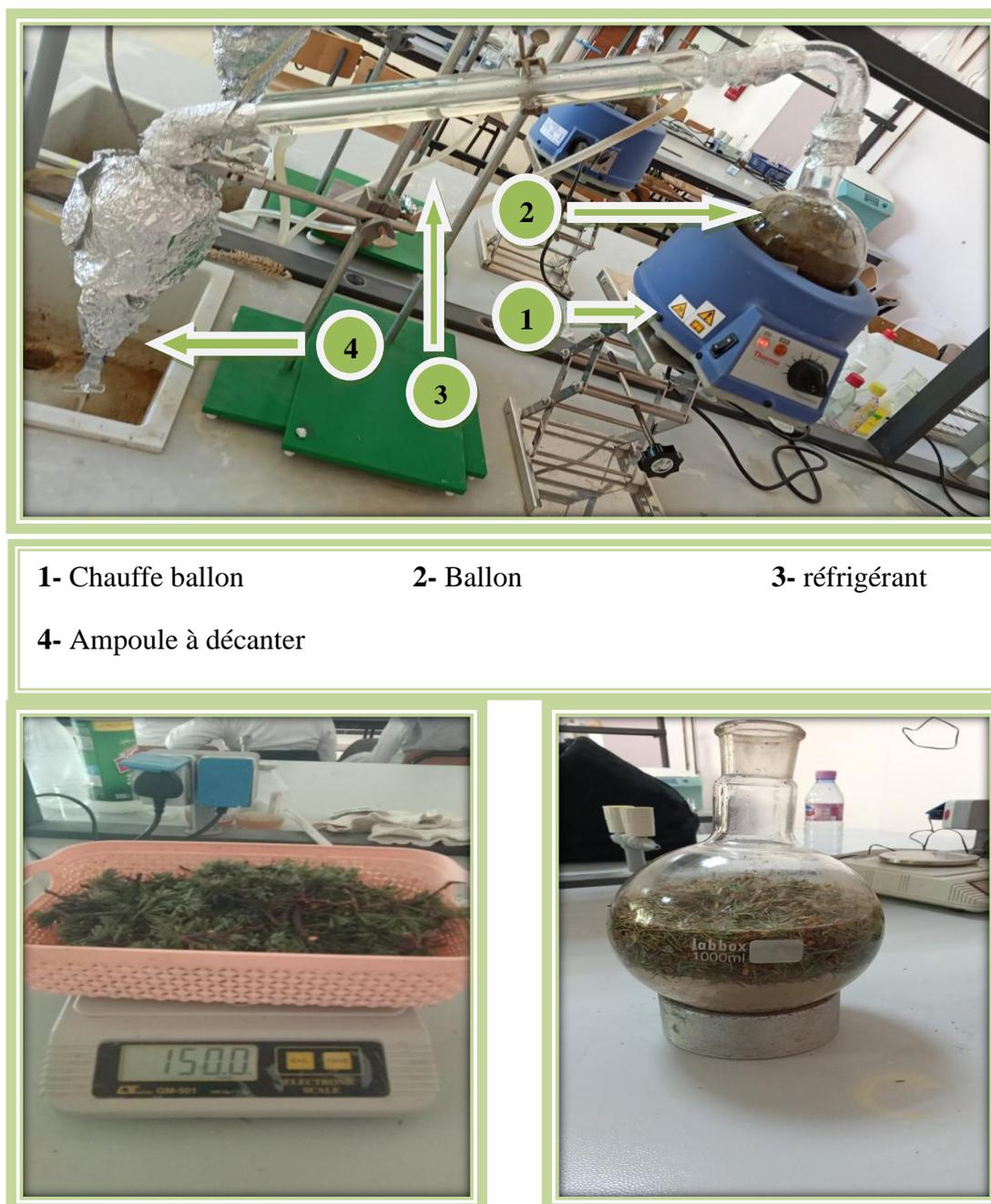
Tableau n° 04 : Fiche technique du site d'échantillonnage (**Belkaid, 2022**)

Canton	Ferciouane
Coordonnées géographiques	35° 49' 41'' et 35° 54 '04'' de latitude Nord 01° 52' 45'' et 02° 02' 04'' de longitude Est
Altitude	853-1.787 m
Pente	25° - 40°
Type de Sol	argilo-sablonneux
Exposition	Nord – Est
Parcelle	N°38

IV.3- Extraction des huiles essentielles de Cèdre d'Atlas

IV.3.1- Extraction par hydrodistillation

L'extraction a été réalisée par un appareil du type Clevenger « extraction par hydrodistillation » (**Figure n° 16**). 150g du matériel végétal frais est mis en contact avec 750 ml de l'eau distillé (**Annexe n° 01**) dans un ballon (1L). En suite le mélange est porté à l'ébullition pendant 3 à 4heures à l'aide d'une chauffe ballon. L'huile essentielle obtenue a été séchée en utilisant le sulfate de sodium anhydre (Na₂S₀₄) (**Annexe n° 01**), puis stockée à l'obscurité à 4°C dans des flacons en verre opaque (**Gardeli *et al.*, 2008**).



1- Chauffe ballon

2- Ballon

3- réfrigérant

4- Ampoule à décanter

Figure n°16 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (Clevenger) (Original)

IV.3.2- Calcul du rendement

Le rendement en HE «RHE» est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE extraite «M'» et la matière végétale traitée «M» (AFNOR, 1986). Il est exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

M': Masse d'huile essentielle en gramme ;

M : Masse de la plante en gramme.

$$RHE = M'/M \times 100$$

IV.4- Procédés d'étude microbiologique

IV.4.1- Souches microbiennes testées

Afin de effectuée les tests antibactériens de l'HE, nous avons utilisé six souches microbiennes de référence appartenant de l'Institut Pasteur d'Alger (**Tableau n° 05**) qui ont été choisies pour leur pouvoir pathogène et sa fréquence élevée d'altération alimentaire.

Tableau n° 05 : Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien

	Souche	Type de souche «Gram»	Référence
01	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	ATCC 27853
02	<i>Acinetobacterbaumannii</i>	-	ATCC 19606
03	<i>Proteus mirabilis</i>	-	ATCC 35659
04	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	ATCC 6538
05	<i>Bacillus cereus</i>	+	ATCC 14579
06	<i>Salmonella enterica</i>	-	ATCC 35664

IV.4.2- Milieux de culture utilisés

- ✓ la Gélose nutritive
- ✓ la Gélose Mueller Hinton (M.H) (**Annexe n° 02**)

IV.4.3- Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24H, en milieu de gélose nutritive.

A l'aide d'un écouvillon stérile, on prélève quelques colonies bien isolées et identiques des souches cibles puis diluées dans un tube contenant de 5 ml de l'eau physiologique stérile à 0.9 % (**Annexe n° 01**) et bien homogénéisées la suspension par la suite.



Figure n°17 : Préparation de la suspension bactérienne (Original)

La suspension bactérienne a été standardisée à 0.5 McF (McFarland) comparable à la densité d'une suspension bactérienne $1,5 \times 10^8$ unité formant colonies (UFC/ml), soit une densité optique (D.O) de 0,08 à 0,10 lue à une longueur d'onde de 625 nm sur un spectrophotomètre U.V (**Annexe n° 01**) (**Jenway 670**) avec un contrôle négative.



Figure n°18 : Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre (Original)

IV.4.4- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques (Antibiogramme)

Selon le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Jehl *et al.*, 2015), la méthode de diffusion par disque en milieu gélosé est la méthode la plus simple et fiable pour mettre en évidence la sensibilité des bactéries aux antibiotiques les plus fréquemment prescrits.

Nous avons fait l'antibiogramme pour le but d'apprécier la sensibilité et la résistance des bactéries face à plusieurs antibiotiques, ainsi que pour comparer ses résultats avec ceux obtenus par l'aromatogramme (pouvoir antibactérien des huiles essentielles) donc trouver la méthode qui sera plus efficace contre les germes bactériens testés.

Pour ce faire, sous des conditions stériles (à proximité d'un bec bunsen (Annexe n° 01)), un volume de suspension bactérienne standardisée a été ensemencée par écouvillonnage sur un milieu de culture gélosé approprié (Mueller Hinton) dans lequel on fait des stries serrés, sans oublier le tour des bordures du pétri.



Figure n°19 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélosé (**Original**)

S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée, et à l'aide d'une pince stérile on dépose les disques d'antibiotiques (**Annexe n° 1**) sur la surface de gélose (**Figure n°20**).

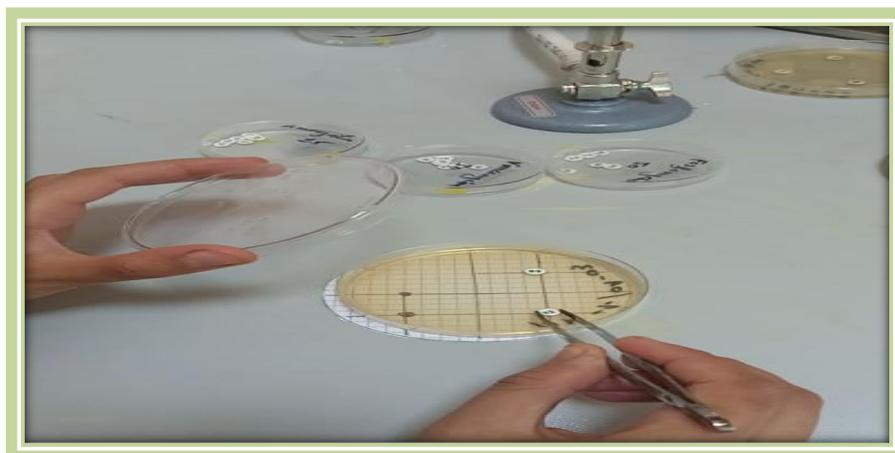


Figure n°20 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé (**Original**)

Les disques sont clairement identifiés par un sigle, comportant 1 à 3 lettres, (**Tableau n° 06**)

Tableau n° 06 : Les antibiotiques utilisés pour l'antibiogramme

Sigle	Antibiotique	Charge du disque (µg)
AMX	Amoxicilline	25
VA	Vancomycine	30
FF	Fosfomycine	50
TE	Tétracycline	30
E	Erythromycine	15
IPM	Imipénème	10
FA	acidefusidique	10

Les boîtes de Pétri (**Annexe n° 1**) ont été fermées puis laisser diffuser à température ambiante au moins 30 min et sont incubées par la suite à 37 °C pendant 24 à 48H.

Après incubation, la lecture des résultats est effectuée par mesure des zones d'inhibitions à l'aide d'un pied à coulisse (**Annexe n° 1**) autour de chaque pastille d'antibiotique. Les zones d'inhibition résultantes seront uniformément circulaires où aucune croissance n'est observée.

Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un antibiotique est différente. Selon la standardisation nationale de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2011 et le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (2015), la lecture des diamètres d'inhibition permet de définir 3 catégories : sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I).

IV.4.5- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

IV.4.5.1- Aromatogramme

L'antibiogramme est une technique qui sert à déterminer l'effet des antibiotiques sur les germes bactérienne, mais lorsqu'on substitue les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par les huiles essentielles, on l'appelle «l'aromatogramme» (**Bouchekrit, 2018**).

Nous avons adopté la méthode par diffusion en milieu gélose «Aromatogramme» pour évaluer l'activité bactérienne de l'HE.

Pour cela, on ensemence une suspension bactérienne standardisée par étalement et étendu uniformément sur la gélose Muller Hinton (MH).

Des disques de papier stériles de 6 millimètres de diamètre (Whatman TM) (**Annexe n° 1**) sont imbibés de 10µl d'HE puis distribués sur la surface de la gélose (un disque par boîte) (**Figure n° 21**).

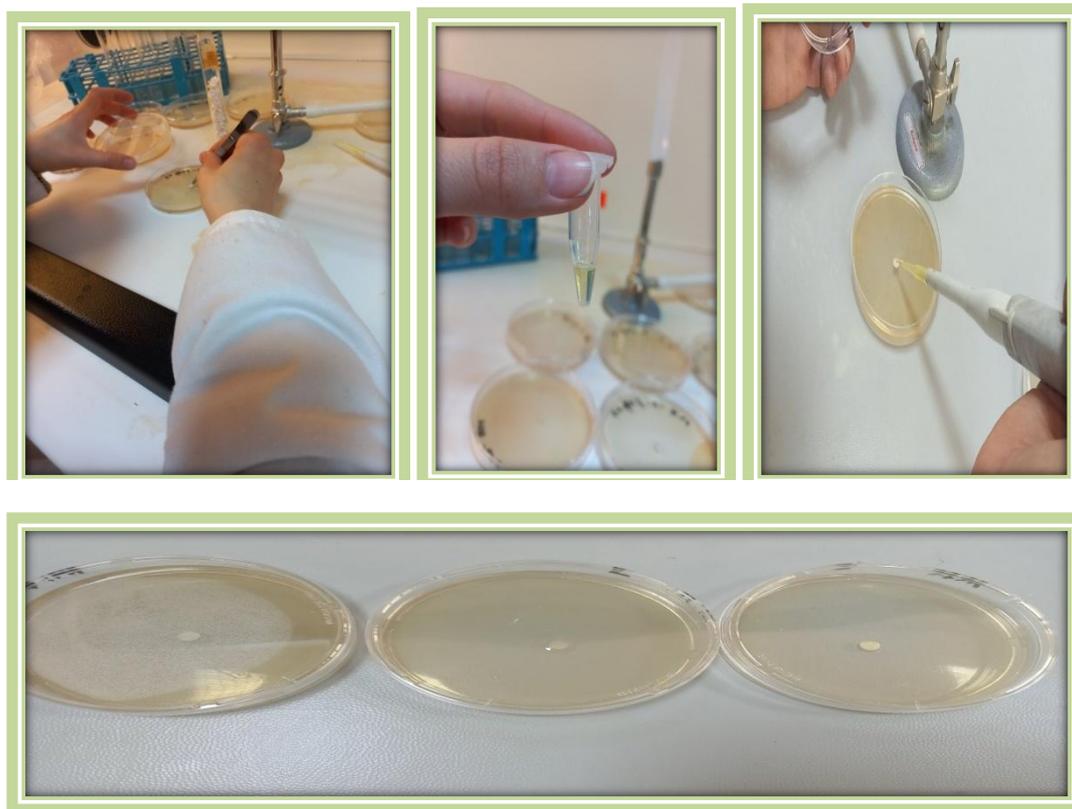


Figure n°21 : Dépôt des disques contenant l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* à la surface des boîtes ensemencées (**Original**)

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Après ce délai, les résultats sont lus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

D'après (**ponce *et al.*, 2003**), la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

Tableau n° 07 : Degrés de sensibilités de la croissance microbienne et leur diamètres des zones d'inhibition (**ponce *et al.*, 2003**)

Diamètre d'inhibition	Sensibilité
D < 8mm	Non sensible (-) «résistante»
D entre 9 à 14mm	Sensible (+)
D entre 15 à 19mm	Très sensible (++)
D > 20mm	Extrêmement sensible (+++)

IV.4.5.2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI se définit comme la plus faible concentration d'huile essentielle qui inhibant totalement la croissance bactérienne. Jusqu'à 48 heures d'incubation (Wan *et al.*, (1998)., Canillac & Mourey (2001).

On commence par la solution mère de l'huile essentielle qu'est préparée par émulsion à raison de 10%² (DMSO) (Annexe n° 1).

Ensuite une gamme de dilutions de la solution obtenue est effectuée.

On procède à une dilution successive par progression comme suit: 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 et 1/640 dans la solution de DMSO.

Le contenu de chaque tube (1,5 ml) est versé immédiatement dans une boîte Pétri contenant 13,5 ml du milieu MH, pour obtenir un milieu homogène, on faire pivoter les boîtes de manière circulaire. La gamme de concentrations finales d'huile essentielle utilisée est de: 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/6400 (v/v).



Figure n°22 : Technique pour réaliser une gamme de dilution (Original)

À l'aide d'un écouvillon stérile (**Annexe n° 1**) on fait une strie des suspensions bactériennes standardisées avec chaque dilution. (avec un contrôle négative).

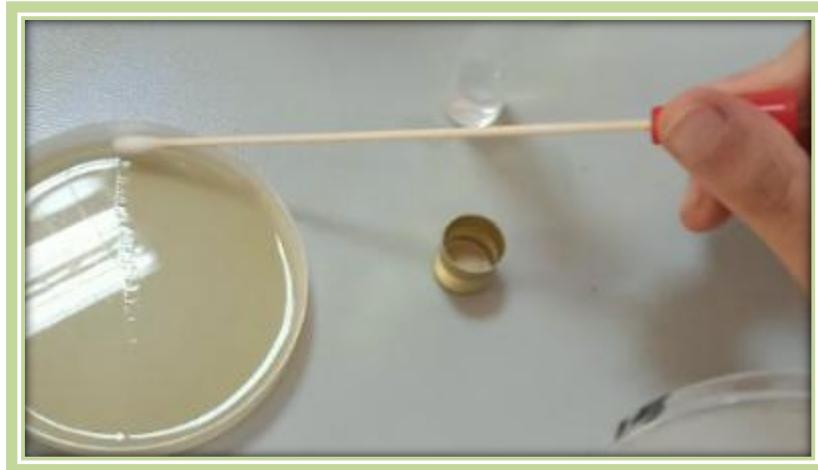


Figure n°23 : Ensemencement par une strie
(Original)

Les boîtes de Pétri ont été incubées par la suite à 37°C pendant 24-48H

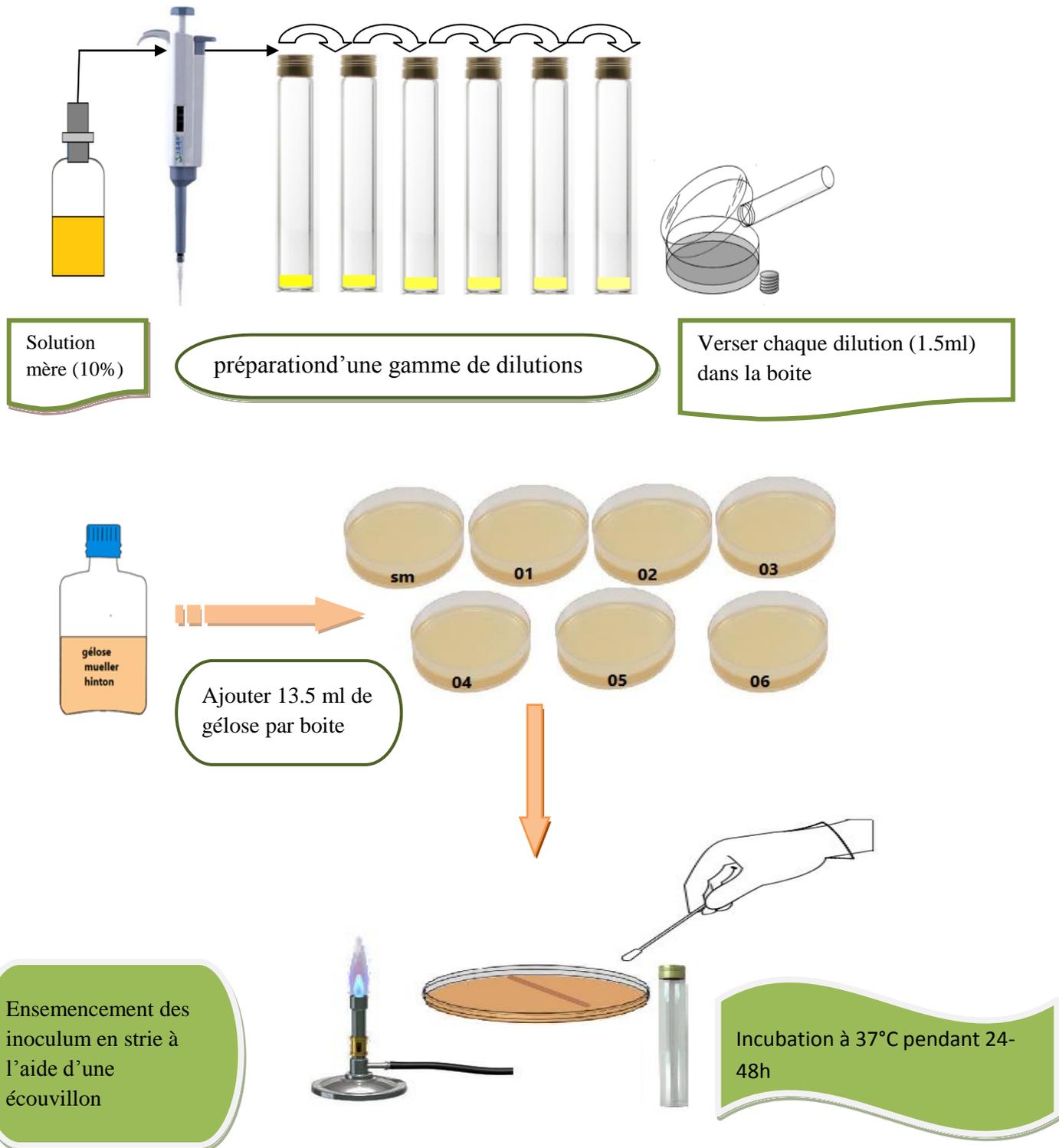


Figure n°24 : Détermination de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles de Cèdre de l'Atlas (Original)

Chapitre V

Résultats et Discussion

Dans le présent chapitre, on traite tous les résultats obtenus au cours de ce travail, à partir de l'extraction des huiles essentielle de Cèdre d'Atlas jusqu'à l'effet antibactérien de ces dernières.

V.1- Extraction des huiles essentielles de cèdre d'atlas

V.1.1- Rendement en huile essentielle (R)

Les rendements en huiles essentielles révèlent une valeur de l'ordre de 0.21% (Tableau n° 08) qui à été calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse d'huile essentielle «g»}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé «g»}} \times 100$$

Les huiles essentielles de *Cedrus atlantica* extraites par hydrodistillation sont liquides, hydrophobes et solubles dans le DMSO, de couleur jaune clair avec une odeur coupante.

Tableau n° 08 : Rendement massique des huiles essentielles extraites

N° d'essai	Masse du matériel végétal utilisé «g»	Volume d'eau distillée utilisé «ml»	Masse des huiles essentielles extraites «g»	Rendement en huile essentielle «%»	Rendement Moyen «%»
01	900	4500	1.91	0.21	0.21
02	900	4500	1.81	0.20	
03	900	4500	1.92	0.21	
04	900	4500	1.86	0.20	
05	900	4500	1.81	0.20	
06	900	4500	1.91	0.21	

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que le rendement en huiles essentielle des rameaux feuillés de la plante étudiée semble inférieur à celui

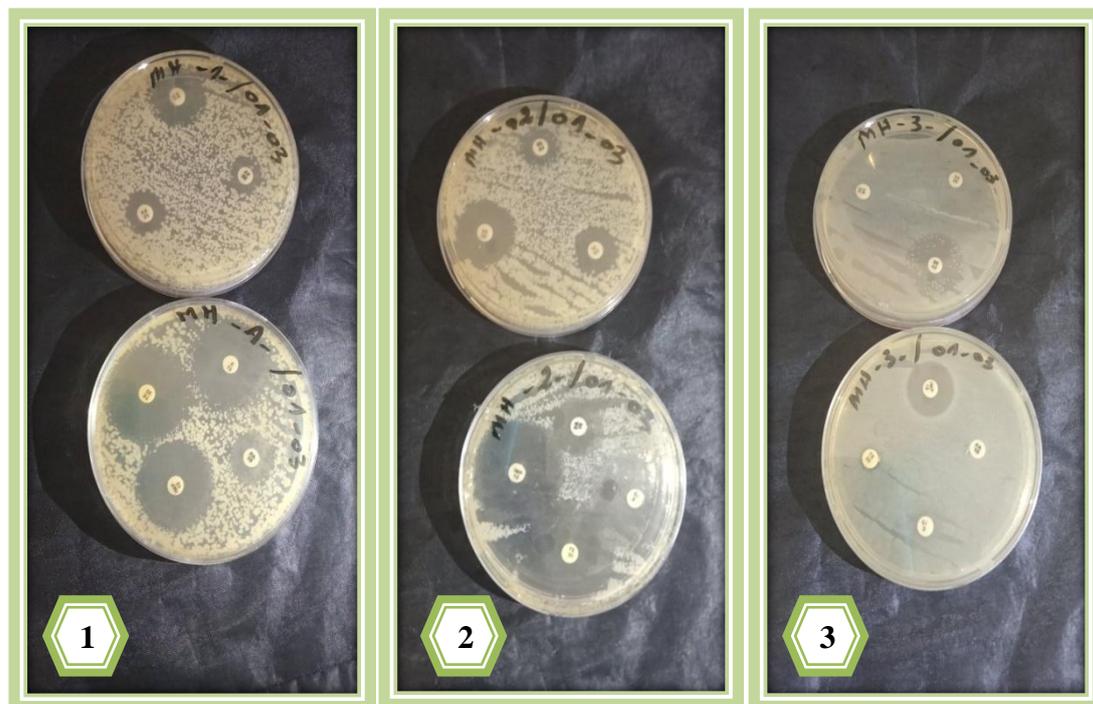
mentionné par **Boudarene *et al.*, 2004** sur les aiguilles du Cèdre de l'Atlas d'Algérie dans la région des Aurès et du Djurdjura (1.2% et 1.7% respectivement), ainsi que ceux ramenés par **Derwich *et al.*, 2010** pour le Cèdre de l'Atlas du Maroc (1.82%).

La différence du rendement en huile essentielle observée a été liée à plusieurs facteurs biotiques et abiotiques notamment, la provenance, la période de récolte, l'âge de plante, l'humidité du matériel végétal, la technique d'extraction est d'autre (**Zhao *et al.*, 2012**).

V.2- Etude de l'activité antimicrobienne

V.2.1- L'antibiogramme

Les résultats obtenus de l'antibiogramme présentent des diamètres des zones d'inhibitions importantes (**Figure n° 25**).



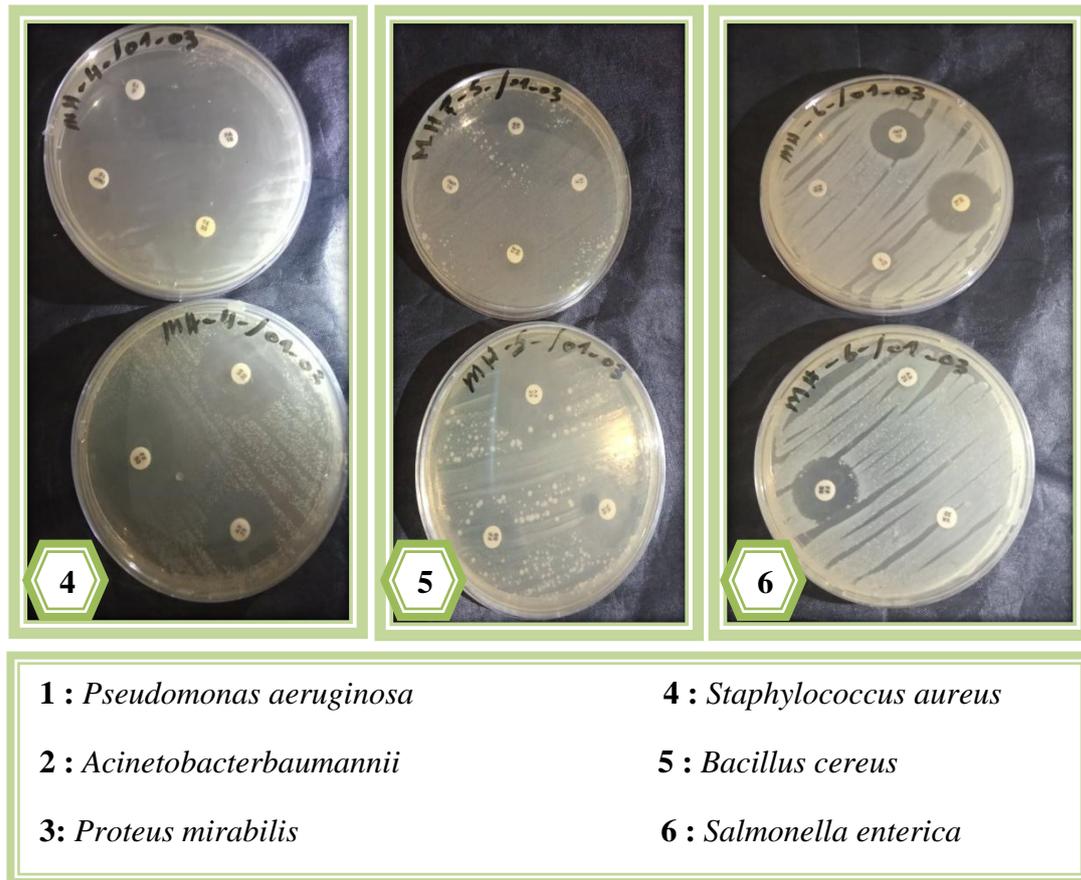


Figure n°25 : Les résultats de l'antibiogramme (Original)

Nous remarquons une large variation des diamètres des zones d'inhibition (entre 5 et 36mm) qui sont résumés dans le **tableau n° 09** :

Tableau n° 09 : Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme (en mm)

Antibiotiques	Souches											
	<i>Pseudomonas</i> .a		<i>Acinetobacter</i> .b		<i>Proteus</i> .m		<i>Staphylococcus</i> .a		<i>Bacillus</i> .c		<i>Salmonella</i> .e	
	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT
Amoxicilline	17	++	19	++	06	-	18	++	25	+++	09	-
Vancomycine	22	+++	23	+++	08	-	28	+++	22	+++	07	-
Fosfomycine	12	+	14	+	15	++	22	+++	05	-	16	++
Tétracycline	32	+++	36	+++	07	-	26	+++	13	+	20	+++
Erythromycine	28	+++	31	+++	10	+	20	+++	09	-	08	-
Imipénème	30	+++	34	+++	16	++	29	+++	08	-	18	++
Acidefusidique	16	++	20	+++	05	-	22	+++	26	+++	05	-

- <10 Non sensible (-)
- 10 à 14 Sensible (+)
- 15 à 19 Très sensible (++)
- >20 Extrêmement sensible (+++)

(Ponce et al. 2003 et Moreira et al. 2005)

INT : interprétation
D (mm) : diamètre des zones (mm)

D'après ces résultats, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, et *Staphylococcus aureus* sont sensibles à tous les antibiotiques.

On a trouvé que certaines souches bactériennes sont extrêmement sensible aux quelques antibiotiques comme :

- ❖ Imipenème et Tétracycline contre *Pseudomonas aeruginosa* (30mm et 32mm) respectivement.
- ❖ Tétracycline, Imipenème et Erythromycine contre *Acinetobacter baumannii* (de 31 à 36mm).
- ❖ Tétracycline, vancomycine et Imipenème contre *Staphylococcus aureus* (de 26 à 29mm).

Par contre, on constate des résistances contre autres antibiotiques dont Tétracycline contre *Proteus mirabilis* et Fosfomycine contre *Bacillus cereus* (de 5 à 7mm).

V.2.2- l'aromatogramme

La méthode de diffusion des disques appliquée est celle décrite par **Mayachiew&Devahastin 2008 ; Gachkar *et al.*, 2006 et Hussain *et al.*, 2010.**

La méthode de diffusion des disques sur milieu gélose est la technique utilisée pour déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans lequel on obtient les résultats présentés dans la **figure n°26**, ce qui permet d'évaluer le pouvoir antimicrobien des HE.

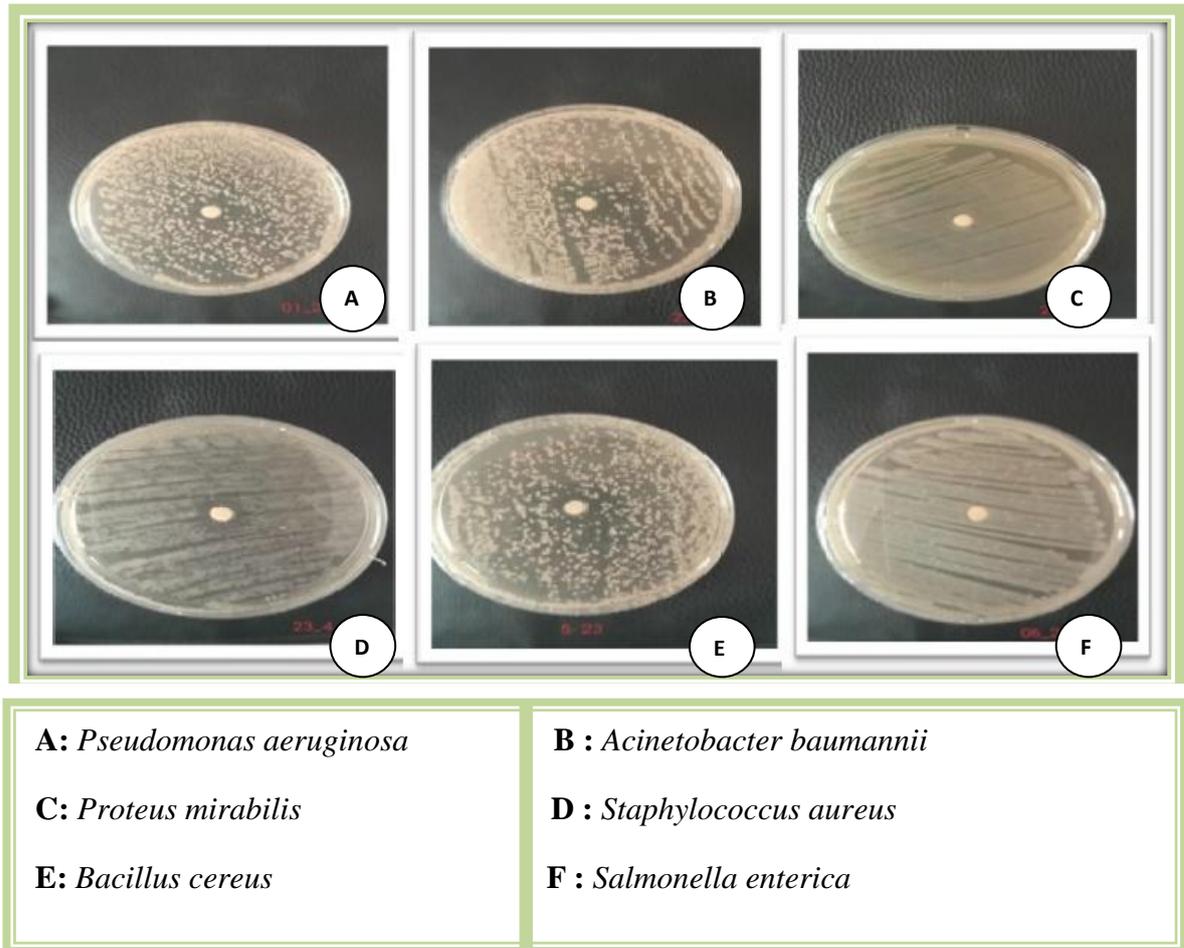


Figure n°26 : Effet d'HE de Cèdre de l'Atlas (Original)

Dans la littérature relative aux huiles essentielles, les résultats de l'aromatogramme sont exprimés par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (en mm) (Baser & Buchbauer, 2010).

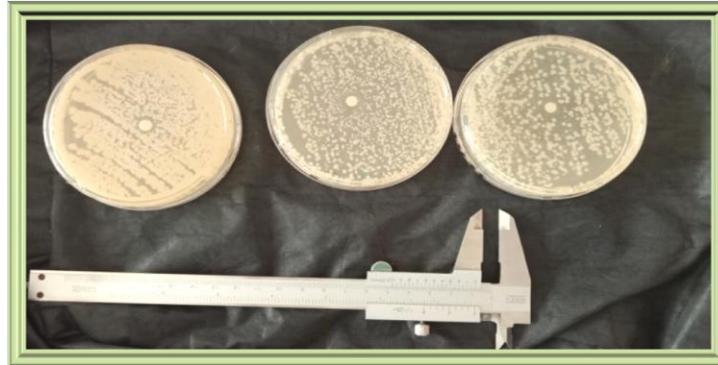


Figure n°27 : Mesure du diamètre du halo à l'aide d'un pied à coulisse (Original)

La mesure du diamètre de la zone inhibitrice (**Tableau n° 10**) permet d'estimer la sensibilité ou la résistance de la souche bactérienne vis-à-vis de l'huile essentielle utilisée (**Fertout-Mouri et al., 2017**)

Tableau n° 10 : Les mesures du diamètre de la zone inhibitrice

	Souches	Diamètre (mm)
A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Gram-)	13.6
B	<i>Acinetobacterbaumannii</i> (Gram-)	23
C	<i>Proteus mirabilis</i> (Gram-)	8
D	<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	16.8
E	<i>Bacillus cereus</i> (Gram+)	12.7
F	<i>Salmonella enterica</i> (Gram-)	8

D'après les résultats illustrés sur **tableau n°09** nous remarquons que les diamètres des zones d'inhibition varient selon la sensibilité des souches employées.

Acinetobacter baumannii est la seule souche extrêmement sensible aux huiles essentielles (23mm), suivi par *Staphylococcus aureus* qu'est très sensibles avec une zoned'inhibition de (16.8mm).

Concernant les bactéries les moins sensibles aux HE sont *Pseudomonas aeruginosa* (13.6mm) et *Bacillus cereus* (12.7mm)

Par contre, *Salmonella enterica* et *Proteus mirabilis* présentent une résistance à l'huile essentielle de *C. atlantica*, (On n'a observé aucune zone inhibitrice autour du disque imbibé par l'HE).

Il est généralement connu que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries négatif (**Trombetta et al., 2005 ; Su et al., 2012**).

Dans ce sens, certaines études suggèrent que la différence de sensibilité aux antimicrobiens entre les bactéries Gram positif et Gram négatif pourrait être attribuée à la structure et à la composition de l'enveloppe cellulaire (**Shrivastava et al., 2007 ; Tamboli et Lee., 2013 ; Yala et al., 2016**).

(**Satrani .,2006**) a également conclu que l'huile essentielle de *C. atlantica* a une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* ceci est cohérent avec nous résultats.

(**Derwich et al., 2010**) ont constaté que *Pseudomonas aeruginosa* est la souche la plus sensibles testées à l'huile de *Cedrus atlantica* avec la zone d'inhibition la plus forte de 25 mm, respectivement.

De même, (**Zrira, Ghanmi, 2016**) ont trouvé que *Bacillus Creus* est avérés sensibles à l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*.

Selon l'étude menée par (**Belhadj et al., 2017**) *Salmonella enterica* y était résistante.

V.2.3- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les résultats obtenus de la concentration minimale inhibitrice CMI de HE examinées sont illustrée sur les **figures n° 28** et dans le **tableau n° 11**

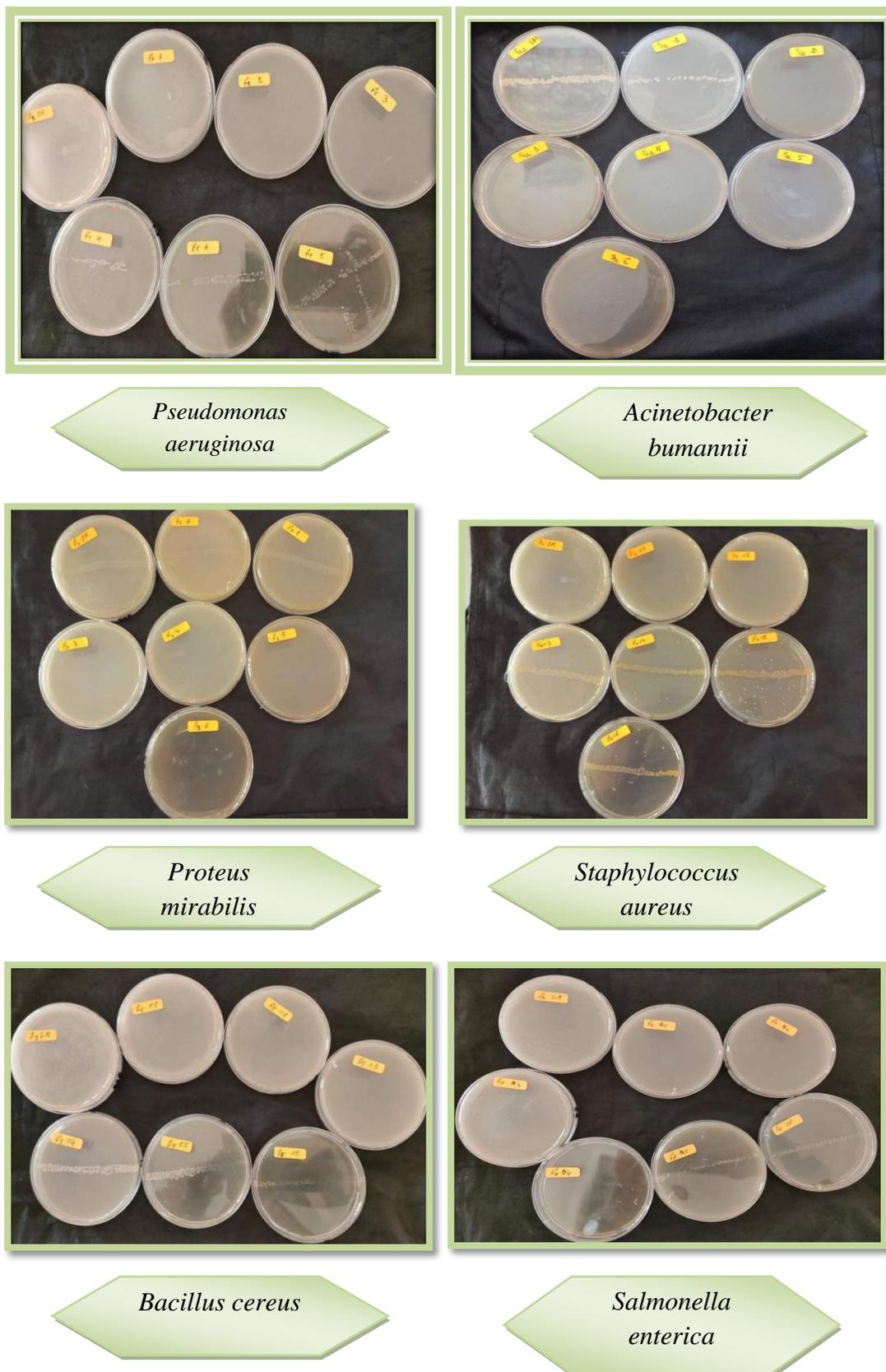


Figure n° 28 : Détermination de la CMI d'HE de Cèdre de l'Atlas (Original)

Tableau n° 11 : Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice des huiles essentielles vis-à-vis des germes testés

Bactéries	Concentrations de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas						
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400
	1%	0.5%	0.25	0.125	0.0625%	0.0312	0.0156%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	-	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i>	-	-	-	-	-	+	+

- = inhibition ; + =croissance

D'après les résultats obtenus dans le **tableau n°10**, *Salmonella enterica* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus* ont été inhibées avec la plus faible concertation de 1/1600 (v/v).

Cependant *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter baumannii* ont été inhibées avec la plus grande concentration de 1/400 (v/v).

Par ailleurs, une concentration moyenne de 1/800a été obtenue avec *Proteus mirabilis*.

D'après **Zaika, 1988**, les bactéries à gram positives soient plus résistantes que les bactéries à gram négatives aux propriétés antibactériennes des huiles essentielles, ainsi que, il ya une relation entre les composés volatils les plus abondants dans l'huile essentielle testée et l'activité antimicrobienne selon **Koutsoukadi et al., 2005** ; **Ghalem et Mohamed, 2009** .

Elgayyar et al., 2001; Delaquis et al., 2002 donnent une autre opinion et notent qu'il est difficile de faire de telle généralisations, car chaque huile essentielle est unique dans sa composition et, chaque type de bactérie ayant une structure significativement différente et en fonctionnalité y compris en pouvoir pathogène.

Selon **Zrira&Ghanmi 2016**, les huiles essentielles de *C. atlantica* ont démontré une activité antibactérienne efficace, avec des valeurs de CMI de 0,4 µl/ml (1/2500 v/v) contre *Bacillus cereus* tandis que sont avérée inactive contre *Salmonella* et *Staphylococcus*

Par ailleurs **Derwich et al., 2010** ont révélé une activité antibactérienne modérée pour l'huile de *C. atlantica* contre *Pseudomonas aeruginosa* (CMI = 0,98 mg/ml) et *Staphylococcus aureus* (CMI=0,68 mg/mL)

De même, **Aberchane et al., 2003** ont trouvé que *Staphylococcus aureus* n'est inhibe qu'a la concentration de 10 µl/ml.

Vu La CMI des huiles essentielles de *Cèdre de l'atlas* constatée chez *Proteus mirabilis* et *Salmonella enterica* malgré leurs résistance dans l'aromatogramme (méthode de diffusion des disques), ce qui confirme que la méthode employée peut être considéré comme un facteur influant sur les résultats de l'activité antibactérienne.

L'absence de relation entre les deux méthodes d'étude pourrait s'expliquer par l'environnement où se trouve l'huile essentielle ainsi que le type de contact. Dans l'aromatogramme, les constituants actifs ont trouvé une difficulté pour diffuser sur la gélose ; alors qu'avec la méthode de dilution, les constituants actifs sont en émulsion avec les ingrédients du milieu de culture et sont donc en contact direct avec les constituants du milieu de culture, ces résultats ont été déjà rapportés par **Bouguerra, 2012**.



CONCLUSION

Dans nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie.

La flore de Parc national de Thniétel-Had, wilaya de Tissemsilt joui d'une biodiversité considérable, elle possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques.

Dans la présente étude on a tenté d'extraire les huiles essentielles de Cèdre de l'atlas de Thniet el Had (Tissemsilt) et d'évaluer leurs activités antimicrobiennes contre certains germes qui sont responsables d'intoxication alimentaire.

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *Cedrus atlantica* de Thniet el Had (Tissemsilt) a donné un rendement de l'ordre de 0,21%.

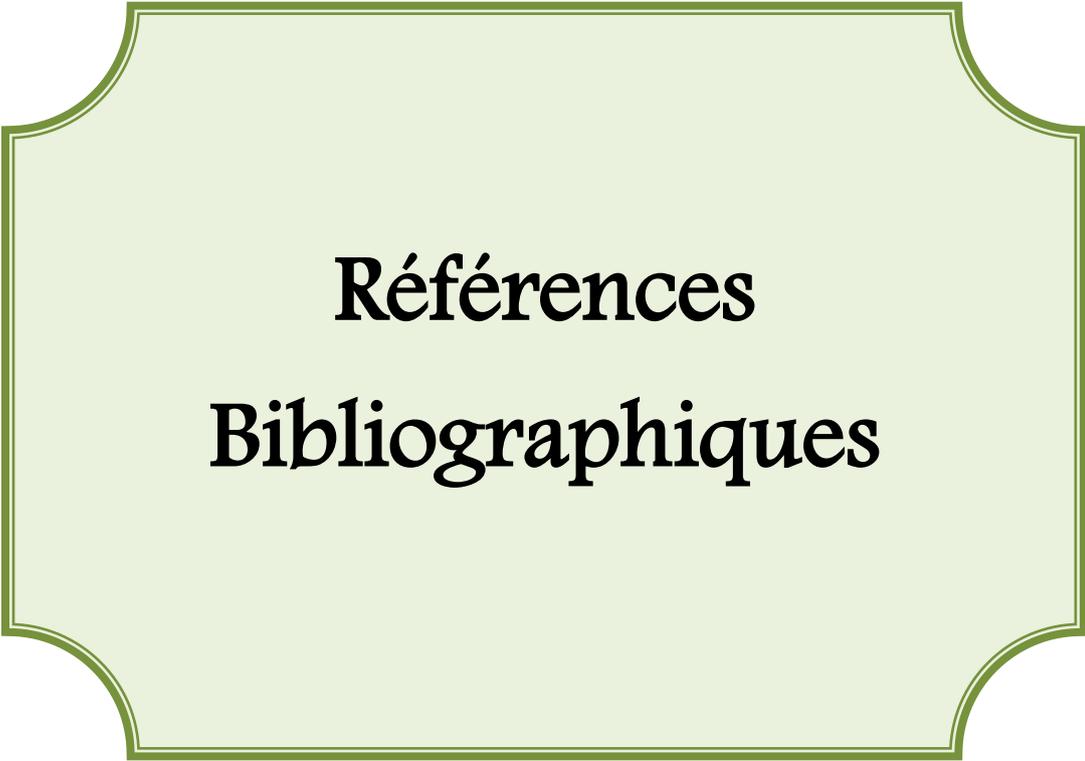
L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas montre une efficacité contre les bactéries testés (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*) et ce par la méthode d'aromatogramme. Dans lequel *Acinetobacter baumannii* est la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition de 23 mm.

Pour les valeurs des CMI (concentrations minimales inhibitrices) *Salmonella enterica*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus* ont été inhibées avec la plus faible concertation de 0.0625%.Cependant, *Staphylococcs aureus* et *Acinetobacter baumannii* ont été inhibées avec la plus grande concentration de 0.25 %. Par ailleurs, une concentration moyenne de 0.125% a été obtenue avec *Proteus mirabilis*

Par comparaison aux huiles essentielles de Cèdre de l'Atlas, les antibiotiques n'étaient pas tous actifs contre les souches testées, certains étaient même inactifs tels que Tétracycline et Fosfomycine. Le plus grand diamètre d'inhibition a été enregistré par l' Imipénème (36mm) contre *Acinetobacter baumannii*.

A la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autres perspectives :

- ❖ il serait nécessaire également de faire une étude analytique détaillée à l'aide de techniques plus performantes tels que : LC-MS pour identifier et quantifier les composés actifs de la plante étudiée.
- ❖ Évaluer d'autres activités biologiques de l'HE de Cèdre d'Atlas telles que l'activité antifongique, antivirale et insecticide.
- ❖ L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de Cèdre d'Atlas «in vitro» par différentes méthodes tels que : DPPH, FRAP.
- ❖ Identifier et isoler les principaux actifs des huiles essentielles responsables de pouvoir antimicrobien.



**Références
Bibliographiques**

A

Abbott, 2007. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry & M. A. Pfaller (Eds.), Manual of Clinical Microbiology (9th ed., pp. 698-711). Washington, USA: ASM Press.

Abdessemed, 1981. Le Cèdre de l'Atlas dans les massifs de l'Aurès et du Belezma - Étude phytosociologique et problèmes de conservation et d'aménagement – Thèse. Doct. Ing. Fac. St. Jérôme, Marseille. 199 p

Aberchane, Satrani, Fechtal, and Chaouch, 2003. Effet de l'infection du bois de Cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles. *Acta botanica Gallica*, 150 (2), pp. 223-229

Achhal, Akabli., Barbero . *EcologiaMediterranea*.49P

AFNOR (Association Française de Normalisation), 2000. Recueil des normes françaises "huiles essentielles". Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.

Arar, 2020. Évaluation de la dynamique des niches écologiques distributionnelles des écosystèmes forestiers du Nord Algérien. Thèse de doctorat : Sciences Biologiques, Biodiversité, Santé et Environnement. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. p : 23-30.

B

Bachelot, Blaise, Corbel & Le Guernic, 2006 . Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France. pp. 26.

Bardeau, 2009« Huiles Essentielles »,Edition,LANOR ,Paris.315P

Bared, 2016. L'évolution de la régénération naturelle du Cèdre de l'Atlas dans la forêt

Barrero, Qaulez-del-moral,jf.Mar-herrador, Artega jf.Aksira, Benhrref. Dakir, 2005. Abietane diterpenes from the cones of *Cedrus Atlantic*. *Phytochemisry*. N°66 : 105-111

Baser et Buchbauer, 2010.Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.

Références bibliographiques

Baser and Buchbauer, 2010. Handbook of essential oils: Science, technology and applications. CRC Press, Boca Raton/London/New York.

Belkaid, 2022. chargé de valorisation des espèces végétales. Parc Nationale de Thniet El Had, Tissemsi

Benmeddour, 2016. Etude de l'activité biologique de quelques espèces végétales dans la région de Aurès et au nord du Sahara algérien. Thèse de doctorat. Université de Ferhat Abbas Sétif 1. Algérie. 152p.

Benseraï née Souyad OUYAD, 2012. «Phytoécologie, phytodynamique et évaluation patrimoniale de quelques formations à *Cedrus atlantica*, (Endl.) Carrière de la région des Aurès (Ouled Yagoub, Khenchela) ». université Houari Boumediene. diplôme de magister. 25p

Bernadet, 2000, Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes. Dangles, Toulouse, France, 384p.

Birembaux Julie, 2017. Conseils à l'officine: prévention des infections alimentaires chez les populations à risques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille 2 de droit et santé. 73 p.

Bocquet, 2018. Les composés phénoliques du houblon, *Humulus lupulus* L. : Lutte contre la résistance microbienne et perspective industrielles. Thèse de doctorat. Université de Lille. France.

Bouchra, Achouri, Idrissi Hassani, Hmamouchi, 2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr. Phytochem. 89 : 165-69.

Bouchra, Mohamed, Mina and Hmamouchi, 2003. Antifungal activity of essential oils from several medicinal plants against four post harvest citrus pathogens Phytopathol. Mediterr., 42: 251–256.

Boudarene, Baaliouamer, Meklatib ; Scharffc, 2004. «composition of the seed oils from *Cedrus atlantica* Manetti». Journal of essential oil essential n°16. Algeria. 63p.

Boudy, 1952. Guide forestier en Afrique du Nord. Edit La Maison rustique, Paris, 288 p

Références bibliographiques

Bouguerra Ali, 2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire, 69p.

Bouza, 2009. Gestion de la Qualité des Aliments (GESQUAL) : Les Toxi infections Alimentaires Collectives dans l'Est Algérien. Mémoire de stage. Option : Alimentation, Nutrition et Santé, Filière Sciences Alimentaires et Nutrition : Institut De La Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires (INATAA). Constantine, 66 p.

Brud, 2010. Industrial uses of essential oils. Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. Can Başer K. H. et Buchbauer G. Florida: USA, CRC Press: 843–853.

Bruneton, 1993, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 915p.

Bruneton, 1999, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 1120p.

Bruneton, 1993. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, pp. 91.

Bruneton, 1995. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Ed. Lavoisier, Paris. 915 P.

Bruneton, 1999 : Pharmacognosie – phytochimie ; plantes médicinales. 3^{ème} édition Technique et documentation, Lavoisier, Paris.

Bruneton, 1987. Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Technique et

Brunetti ; Bondi ; Comastri & Setti, 2001. in press

Buronz, 2008. «Grand guide des huiles essentielles ». Hachette pratique. France. 256P.

Burt, 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods □ a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223-253.

C

Canillac and Mourey, 2001. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiol.* 18: pp. 261-268.

Caplin J.L., Allan I. & Hanlon G.W., 2009. Enhancing the in vitro activity of *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* by blending oils from specific cultivars. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 3, pp. 35-39.

Références bibliographiques

Carson ; Mee & Riley, 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 1914–1920.

Charpentier ; Hamon-Lorleac'h ; Harlay ; Huard ; Ridoux ; Chanselle, 2008, Guide du préparateur en pharmacie. 3ème édition, Elsevier Masson, Paris, 1358p.

Chbouki, 1994. Une synthèse dendroclimatique du cèdre de l'Atlas. *Ann. Rech. For.Maroc*, T (27), PP :33-59.

Chiguer, 2014. Toxi-infections Alimentaires Collectives : Fléau Mondial à surveiller (Exemple du Maroc 2008-2012). Thèse de Doctorat en Médecine. Faculté de Médecine et de Pharmacie : Université Mohammed V- Souissi, Rabat. 104 p.

Coubret ; Lagacherie ; Marty ; Ladier ; Ripert, 2012. Le cèdre en France face au changement climatique : bilan et recommandations. 32 p

Coubret et Albouy, 1995. Modélisation dendrométrique de l'architecture du cèdre de l'Atlas en peuplement. INRA, Colloques n°74 « Architecture des arbres fruitiers et forestiers, Montpellier (France) le 23-25 novembre 1993, Paris : 191-207.

Cox ; Mann ; Markham ; Bell ; Gustafson; Warmington & Wyllie, 2000. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology* 88: 170-175.

Croteau ; Kutchan ; Lewis, 2000. Natural products (secondary metabolites), in *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (eds B. Buchanan, W. Gruissem, and R. Jones), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, USA, pp. 1250–1268.

D

Dastmalchi ; Damien Dorman ; Oinonen ; Darwis ; Laakso & Hiltunen, 2008. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *Food. Sci. tech LWT*. 41(3): 391-400.

Davidson, 1997. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P. Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville (eds.) ASM, Washington. *Food Microbiology*. 520-556 p.

Références bibliographiques

Debazak, 1964. Manuel des conifères. Éditions de l'École nationale des eaux et forêts Gap, impr. L. Jean, 172 pages.

Degryse ; Delpla and Voinier, 2008. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87p.

Delaquis ; Stanich ; Girard et Mazza, 2002. Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill , Cilantro, Coriander and Eucalyptus Essential Oils. *Int. J. Food Microbiol.*, Vol. 74, pp : 101-109.

Derridj, 1990. Etudes des populations de *Cedrusatlantica*M. en Algérie. Thèse. Doc : Uni. Paul Sabatier. Toulouse. Pp : 112-122.

Derwich ; Benzaine ; Boukir, 2010. «chemical composition and In vitro antibacteria activity of the essential oil of *Cedrusatlantica*», *Int.Agric.Biol.*, 13 :385p.

Deschepper, 2017. variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat, université d'aix-marseille,france,11p.

Deschepper, 2017. variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. thèse de doctorat , université d'aix-marseill, france,31p.

Desmares ; Laurent ; Delerme, 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS. Anatole, France*, 18p. Documentation - Lavoisier, Paris,585p.

Diallo, 2010. Contribution à l'étude de qualité bactériologique des repas servis par Dakar Catering selon les critères du groupe SERVVAIR Thèse :Méd ; Vét. Dakar.

Djomi, 2018. Contribution à l'étude de la variabilité stationnelle sur la croissance radiale du cèdre de l'Atlas (*Cedrusatlantica*Manetti) au niveau de Tikjda (Massif Djurdjura) , Diplôme de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, Universitéaklimohandoulhadj – bouira.7p

Dorman & Deans, 2000. Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volatils oils. *Journal of Applied Microbiology*. **88**: 308-316.

Dugo et Di Giacomo, 2004. *Citrus: The Genus Citrus*. Taylor & Francis Group, 656 p.

E

Edris, 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *PhytotherapyReserch*, Vol. 21, p.p. 308 R 323.

El Amri ; Elbadaoui ; Zair ; Bouharb ; Chakir ; Alaoui, 2014. "Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucriumcapitatum*L et l'extrait de *Siléne vulgaris* sur différentes souches testées." *Journal of Applied Biosciences* 82(1): 7481-7492.

El bouamri, 2017. Etudeépidémio-moléculaire des entérobactéries productrices de β lactamasesa spectre elargi au chu de Marrakech. Thèse de doctorat. Université Mohammed – Rabat. Maroc. 144p.

EL haib, 2011. « valorisation de terpènes naturels issus de plante marocaine par transformation catalytique », thèse de doctorat d'université de toulouse-paulsabatie, France, pp158.

Elgayyar ; Draughon ; Golden et Mount, 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Protec.*, Vol. 64, N°7, pp : 1019 – 1024.

Emberger, 1960. Les végétaux vasculaire.Tome2. Ed. Masson &Cie, 682p

F

Fabian ; Sabol ; Domaracké ; Bujnéková, 2006. Essential oils - their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicol. in vitro* 20, 1435-1445.

Fabrej ; Mouna ; MERLEP et BENHALIMA, 1999. Le point sur certains ravageurs du cèdre de l'Atlas en Afrique du nord, en France et en Europe. *Forêt méditerranéenne* t. xx, n ° 4 : 203-218.

Ferhat ; Meklati ; Chemat, 2010. Citrus d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions .Ed. Office des publications universitaires, Alger. 157p.

Fernandez ; Chemat F. La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 2012). 288p.

Références bibliographiques

Fertout-Mouri ; Latrèche ; Mehdadi ; Toumi-Bénali & Khaled, 2017. Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6): 346-353.

G

Gardeli ; Vassiliki ; Athanasios ; Kibouris ; Komaitis, 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L. : Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* **107**, 1120–1130. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.036>.

Garneau, 2005. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi (2005). 185p.

Garneau. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi (2005). 185p.

Gledel, 1978. *Médecine et Maladies Infectieuses*, Volume 8, Issue 5, pp 250-261.

H

Haddouchi ; Benmansour. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire* : 2008, 8, 20-27.

Haderbache, 2011. Les techniques d'extraction des huiles essentielles par: micro ondes. Editions Universitaires Europeennes, Paris. pp. 68.

Haloui ; Farah ; Balouiri ; Chraïbi ; Fadil ; Fikri Benbrahim ; Belrhiti Alaoui, 2015. Bacteriostatic and bactericidal profile of leaves and twigs essential oils of Moroccan *Pistacialentiscus*L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **5**(6), 50-53.

Hammer ; Carson and T.V. Riley, 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 86: 985– 990

Hélène pailhories, 2016. réservoirs extrahospitaliers et non humains d'*acinobacterbaumannii* sur l'Ile de la réunion.

Références bibliographiques

Hernandez Ochoa, 2005. Substitution des solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.

Hubert, 1992. Epices et aromates. Edition Tec& Doc, Lavoisier, France.

Huie, 2002. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 373(1-2), 23-30.

J

Jean-louiscuq, 2007. microbiologie alimentaire, Science et technologies des industries alimentaire 4^{ème} année, université Montpellier 2.

Jehl ; Lina ; Bonnet ; Bru ; Caron ; Cattoir ; Chardon ; Courvalin ; Dubreuil ; Jarlier ; Lambert ; Lefort ; Merens ; Nicolas-Chanoine ; Plesiat ; Poly ; Soussy ; Varon ; Weber, 2015. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandation de 2015). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST, 117.

K

Kerr & Snelling, 2009. *Pseudomonas aeruginosa*: A formidable and ever-present adversary. *Journal of Hospital Infection*, 73(4), 338-344. doi: 10.1016/j.jhin.2009.04.020.

Kotiranta ; Lounatmaa & Haapasalo, 2000. *Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections. Microbes and Infection*, 2(2), 189-198.

Kouch, 2015. Etude phytochimique et biologique d'une espèce végétale endémique Algérienne « *Thymus numidicus* Poiret ». Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 148.

Koutsoudaki ; Krsek ; Rodger, 2005. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of *Pistacia lentiscus* var. chia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7681-7685.

Krouchi, 2010. Étude de la diversité de l'organisation reproductive et de la structure génétique du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) en peuplement naturel (Tala-Guilef. Djurdjura nord-ouest, Algérie). Thèse de Doctorat de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou (UMMTO). 127 p.

L

Lachowicz ; Jones ; Briggs ; Bienvenu ; Wan ; Wilcock ; Coventry, 1998. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L) against acid-tolerant food microflora. *Letter Applied Microbiology*, Vol. 26, N°. 3, p.p. 209-214.

Lahlou, 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.

Lahlou, 2003. Composition and molluscicidal properties of essential oils of five Moroccan pinaceae. *Pharmaceutical Biol.*, 41: 207-210.

Lardy ; Haberkorne ; Kinesither, 2007. « l'aromathérapie et les huiles essentielles » *Rev*, 61, 14-7.

Loukkas, 2009. Atlas des parcs nationaux Algériens. Direction générale des forêts. Parc nationale théniet EL HAD.98p.

Lucchesi, 2005, Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France, 146p.*

Lucchesi, 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université

Lucchesi, 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.

M

M.E. Lucchesi, 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des HES, Thèse, La Réunion.

M'hirit et Benzyane, 2006. Taxonomie et répartition historique, in M'HIRIT O, le cèdre de l'Atlas. Ed. Mardaga. Pp : 13-26.

Références bibliographiques

- M'hirit, 2006** . Le cèdre de l'atlas : mémoire du temps. Ed. Mardaga.288 p.
- M'hirit ; Benzyane et Blerot, 2006**. Le cèdre de l'Atlas : Mémoire du temps, Éd. Mardaga. 245p.
- M'hirit, 1999**. Mediterranean forest: ecological space and economic and community wealth. *Unasyuva.* 197 : 3-15
- Manfred et Nicol Moll, 2000**. Précis des Risques Alimentaires (2eme tirage). Edition TEC et DOC, London, Paris, NEW YORK. p 6, 243.
- Marrouf ; Tremblin, 2009**. Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences.
- Martini ; Seiller, 1999**, Actifs et additifs en cosmétologie. *Tec & Doc édition, Paris*, 656p.
- M'hirit, 1994**. Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). Présentation générale et état des connaissances à travers le réseau *Silva Mediterranea* "Le Cèdre". In : Le cèdre del'Atlas. Actes du séminaire international sur le cèdre de l'Atlas. Ifrane (Maroc), 7 – 11 Juin 1993. *Annales de la recherche forestière au Maroc* 27 (spécial). 4-21.
- Mohammedi, 2006**. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UABB de Tlemcen.
- Murray ; Baron ; Jorgensen ; Landry & Pfaller (Eds.), 2007**. *Manual of Clinical Microbiology (9th ed.) American Society of Microbiology Press.*

N

- Newman ; Cragg & Snader, 2019**. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Product*, **66**: 1022-1037.

P

- Paul Goetz Kamel Ghedira, 2012**. Herbal Phytothérapie anti-infectieuse, Paris. p 73.
- Pauli, A. 2001**. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *Int. J. Aromather.* 11, 126-133.
- Perrault Geoffroy ; Grondin-hoareau Jean, 2016**. christophe *Acinobacterbaumannii*.
- Ponce AG, Fritz R, Del Valle C, Roura SI. 2003**. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food Science and Technology*, **36**, 679-684.
- Pradal, 1979**. Variabilité génétique et écophysiological du cèdre. Résumé. INRA départementForêt. Nancy.

Prescott ; Harley & Klein, 1995. Microbiologie. De Boeck ed. p 1014.

Q

Quezel et Santa, 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales désertiques .C.N.R.S.Paris

R

Regnault-Roger ; Hamraoui ; Holeman ; Theron & R. Pinel, 1993. Insecticidal effect of essential oils from mediterranean plants upon *A. obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Chern. Ecol.*, 19 (6), 1233- 1244.

Richard, 1992. Connaissance de la nature des arômes. In H. Richard & J. L. Multon (Eds). *Les arômes alimentaires*. Paris: Tec et Doc-Lavoisier: APRIA. 21-37.

Richard, 1992. *Epices et aromates*. Ed. Lavoisier, Paris. 339 P. (Technique & Documentation).

Richard. «Epices et aromates», Edition Lavoisier, Paris, 339p (Technique et documentation). 1992.

Richter. « *Métabolisme des végétaux* », Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires, Romandes,1993, 292.

Robin, 2017. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse-doctorat, université d'Aix-Marseille-France.

S

Satrani, 2006. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta Botanica Gallica* 153: 97– 104

Shrivastava ; Bera ; Roy ; Singh ; Ramachandrarao & Dash, 2007. Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 18(22): 225-232.

Silou ; Malanda ; Loubaki, 2004. Optimisation de l'extraction de huile essentielle de *cymbopogoncitrus* grace à un plan factoriel complet 23.*Journal of food engineering*.

- Singh & Barrett, 2006.** Empirical antibacterial drug discovery □ foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*. **71**: 1006-1015.
- Su ; Wang ; Hsiung ; Chien ; Chi ; Yu & Chang, 2012.** Increase of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in acute care hospitals in Taiwan: association with hospital antimicrobial usage. *PloS one*, *7*(5): 77-88.
- Sugita ; Ouchi ; Okajima and H. Watanabe, 2004.** Topical NonSteroidal Anti-Inflammatory Agents Containing Essential Oils and Body-Warming Substances. *Jpn. Kokai Tokyo JP 2004175723 A2 2004062*.

T

- Tamboli & Lee, 2013.** Mechanistic antimicrobial approach of extracellularly synthesized silver nanoparticles against gram positive and gram negative bacteria. *Journal of hazardous materials*, *260*: 878-884.
- Tanouti, 2016.** Microorganismes Pathogènes Portés Par les Aliments : classification épidémiologie et moyens de prévention. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. Université MOHAMMED V-RABAT, Faculté de Médecine et de Pharmacie. 85p.
- Taoudia, 2018/2019.** Effet de l'aromatization par des huiles essentielles sur la stabilité photo-oxydative de l'huile d'olive vierge pendant le stockage. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. El-Harrach – Alger. 38p.
- Terrab ; Paun ; Talavera ; Tremetsberger ; Arista et Stuessy, 2006.** Genetic diversity and population structure in natural populations of Moroccan Atlas cedar (*Cedrus atlantica*; Pinacea) determined with cpSSR markers. *American Journal of Botany* *93*(9). Pp: 1274-1280.
- Toth, 1970.** Plus que centenaire et plein d'avenir: le cèdre en France. *Revue forestière française*, vol. XXII, n°3: 355-364
- Toth, 1990.** Le cèdre : utilisation et qualité technologique. *La forêt prévue* n° 194, pp : 57 – 60. intérêt paysage : cédraies touristiques *la prévue* n° 195, pp : 50 – 57
- Toth, 2005.** Le cèdre de France. Etude approfondie de l'espèce. Paris, L'Harmattan. Biologie. Ecologie, Agronomie. 207 p
- Trombetta ; Castelli ; Sarpietro ; Venuti ; Cristani ; Daniele & Bisignano, 2005.** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial agents and*

chemotherapy, 49(6): 2474-2478. 506. Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12): 1231-1246.

V

Valnet J. L'aromathérapie. Ed. Maloine S. A. ISBNE : 2005, 2-25303564-5.

Vargas ; Sanz ; Prima-Yufer, 1999. Antimicrobial and Antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil. *Journal of Food Protection*, Vol. 62, N°. 8, p.p. 929 R 932.

W

Wan ; Wilcock and Coventry, 1998. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: pp. 152158

World Health Organization (WHO), 2007. WHO Initiative to Estimate the Global Burden of Foodborne Diseases. In First formal meeting of the Foodborne Disease: Burden Epidemiology Reference Group (FERG). Geneva, 26-28 November 2007. 55 p.

Y

Yala ; Ntsameso-Mve-Mba ; Issembe ; Lepengue & Souza, 2016. Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103(1): 9886-9893.

Z

Zaika, 1988. Spices and herbs : their antimicrobial activity and its determination. *Journal of Food Safety* 97-118.

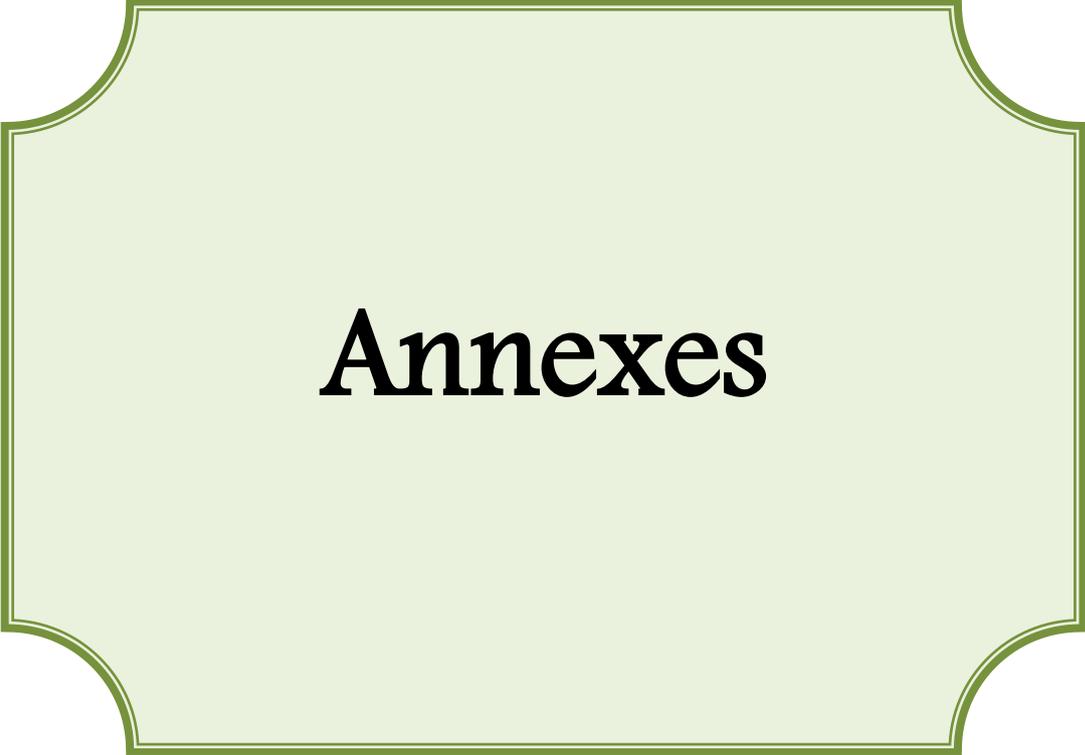
Zambonelli ; D'Aurelio ; Severi ; Benvenuti ; Maggi ; Bianchi, 2004. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L. *Journal of Essential Oil Research*.

Zemirli, 2006. Contribution à l'étude écodendrométrique du *Cedrus atlantica* Manetti (cèdre de l'Atlas) dépéris dans le parc national de Theniet el Had (w. Tissemsilt) Algérie. Diplôme d'ingénieur d'état en écologie végétale et environnement. Université Ibn Khaldoun Tiaret (Algérie).157p.

Références bibliographiques

Zhao ; YANGA ; HUSAINIB ; WUA, 2012. Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq and *Mentha spicata* L. from China, *Industrial Crops and Products* 42, 251-260.

Zrira ; Ghanmi, 2016. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil). *Journal of Essential Oil Bearing Plants.*, 19:5, 1267-1272.



Annexes

Annexe n° 01: Matériel utilisé dans laboratoire

Matériels	
Ecouvillon	
Bec benzen	
Bécher	
Boite de pétri	
Réactifs	
Papier Whatman et disque d'antibiotique	Alcool
Étiquettes	Eau distillé
Papier aluminium	Eau physiologique stérile
Pince	DMSO
Pipette et micropipette	Le sulfate de sodium anhydre (Na ₂ S ₀₄)
Pissette	
Portoir	
seringues	
Les tubes à essai	
Pied à coulisse	

❖ Appareillage



Etuve



Bain-marie



Spectrophotométrie



Balance

Annexe n° 02 : Milieux de culture utilisés

❖ Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone.....	10 g
Extrait de viande.....	3 g
Extrait de levure.....	3 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar.....	18 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH = 7,3 ± 0,2	

❖ Mueller Hinton gélosé (M-H) (g/l)

Extrait de viande.....	3 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g
Amidon.....	1.5 g
Agar.....	16 g
Eau distillée.....	1000 ml
pH = 7,3	