



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Tissemsilt



Faculté des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie appliquée

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Réalisé par :

Mlle. DEKICHE Chahrazed et Mlle. BENZAID Mimouna

Thème

**Activités biologiques des huiles essentielles de
*Cupressus sempervirens L***

Devant le jury composé de :

Président Pr. BAGHALIA Mohamed
Promoteur Dr. DRIS Ibrahim
Examineur Pr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali

Soutenu le : 12/06/2023

Université de Tissemsilt
Université de Tissemsilt
Université de Tissemsilt

Année Universitaire : 2022/2023



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Tissemsilt



Faculté des Sciences et Technologies

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques Spécialité : Biochimie appliquée

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Réalisé par :

Mlle. DEKICHE Chahrazed et Mlle. BENZAID Mimouna

Thème

**Activités biologiques des huiles essentielles de
*Cupressus sempervirens L***

Devant le jury composé de :

Président Pr. BAGHALIA Mohamed

Promoteur Dr. DRIS Ibrahim

Examineur Pr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali

Soutenu le :.../06/2023

Université de Tissemsilt

Université de Tissemsilt

Université de Tissemsilt

Année Universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **“ALLAH”** Le Tout Puissant de nous avoir donnés le courage, la volonté et la patience de mener à terme ce présent travail.

Nos remerciements à notre encadreur, **Mr Dris Ibrahim** pour nous avoir dirigée, conseillée, et encouragée, et ainsi pour sa bonne volonté, sa patience et ses précieux conseils.

Pr. BAGHALIA Mohamed de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Pr. BEKADA Ahmed Mohamed Ali d'avoir accepté d'examiner notre travail et de participer au jury de notre soutenance.

Nous adressons nos remerciements les plus sincères :

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

Nos sincères remerciements vont également à tous les enseignants de la Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Ainsi qu'à tous les gens qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

Merci infiniment à nos familles et nos amies pour leur soutien et leurs encouragements.



Dédicaces

Avant tout, merci à Dieu qui m'a aidé et m'a donné la force tout au long de mon parcours universitaire.

Avec joie, fierté et respect, je dédie ce travail de mémoire :

Mon cher père « Que dieu aie son âme ».

Surtout ma chère mère qui a toujours été à mes côtés.

À mes chers frères Mohammed et Walid

À mes belles sœurs Fatima, Naima ,Hakima, Mimouna, Iman et la femme de mon frère Fatiha pour leurs encouragements et leur soutien moral, merci d'être toujours à mes côtés.

sans oublier les petits-enfants de ma famille, Mohamed ,Iyad ,Alaa, Amir, Jihad, Jana, Ihab et Cyrine.

A Mon beau chat «LUKA».

A mes professeurs pour la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont prodigué durant ces cinq années que j'ai passées à l'Université.

À mes plus proches amies :Fatima B ,Fatima Ch, Chahinez , Loubna ,Ahlam,Yassamine aux souvenirs des moments qu'on a passé ensemble et a tous mes amie que je connais.

A ma chère binôme : Mimouna et toute la famille Benzaid.

Enfin je dédie a tous mes collègues de ma promotion 2023.

Chahrazed



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux :

Mes parents les plus chères au monde, maman (Zohra) et papa (Mohamed) de leur Confiance, encouragement et de leur sacrifice durant toute ma vie je souhaite que ce travail soit le fruit de leurs efforts, que dieu les garde et les protège.

A mes sœurs Asma Rachda Fadjer de leurs soutiens, aides, encouragement et de leurs conseils. Dieu me les garde pour le reste de ma vie.

A mes amies Sara et Nawal et Imane et Habiba et mes collègues de la promotion 2023 Yassamine ; Ahlem ; Saida Enfin je dédie à toutes mes amies que je n'ai pas citées à tous ceux qui me connaissent.

**A ma chère binome Chahrazed Dekiche a de leur soutien, aide, encouragement
Merci d'être toujours là pour moi.**

Sans oublier tout les professeurs pour leurs encouragements.

Enfin je dédie à toutes mes amies que je n'ai pas citées à tous ceux qui me connaissent.

Mimouna

Résumé

Les plantes médicinales présentent de nombreuses propriétés thérapeutiques. Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales du Parc national de Theniet El Had (Tissemsilt), un travail a été mené pour l'extraction et l'évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles d'une plante médicinales à savoir le *Cyprès* (*Cupressus sempervirens*).

L'extraction des huiles essentielles des feuilles et rameaux fraîches du *Cyprès* est réalisée en utilisant la méthode d'hydrodistillation (type Clevenger) et qui a donné un rendement de 0.11%.

En outre l'activité antimicrobienne des HEs de *Cupressus sempervirens* a été montrée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé «aromatogramme» qui a présenté des zones d'inhibition (10 ; 14.6 ; 0 ; 17.5 ; 18.3 et 20.65 mm) ce qui suggère que nous avons une bonne activité inhibitrice sur six souches de référence testées dont *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*, respectivement.

Mots clés : *Cupressus sempervirens* , l'hydrodistillation, huiles essentielles, l'activité antimicrobienne, aromatoigramme.

ملخص

في إطار نُؤمِّن النباتات الطبيعية الموجودة في الحظيرة الوطنية ببنزوية الحد والية نيسمبيلات ، تم العمل على استخالص و تقيم النشاط المضاد للميكروبي للزيوت الساسية لسرو (*Cupressus sempervirens*). يتم استخالص الزيت العطري من الأوراق الطازجة وأغصان السرو باستخدام طريقة التقطير المائي (نوع Clevenger) والتي أعطت عائد 1.00%. بالإضافة إلى ذلك ، تم عرض النشاط المضاد للميكروبات من الزيوت الساسية لسرو من خلال طريقة الانتشار على وسط أجار "aromatogram" الذي يُدمج مناطق التثديط (01 ؛ 0.1 ؛ 1 ؛ 0.1 ؛ 0.1 و 51.11 ملم) مما يشير إلى أن لدينا نشاطاً محبباً جويّاً على ست سالالت مرجعية تم اختيارها بما في ذلك *Pseudomonas aeruginosa* و *baumannii* و *Acinetobacter* و *Proteus mirabilis* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *Salmonella enterica* على التوالي.

الكلمات المفتاحية: السرو، التقطير المائي، الزيت الساسي، نعالية المضاد للميكروبي، أروماتوغرام.

Abstract

Medicinal plants have many therapeutic properties. As part of the development of medicinal plants in Theniet El Had National Park (Tissemsilt), work was carried out for the extraction and evaluation of the antimicrobial power of essential oils from a medicinal plant, namely Cypress (*Cupressus sempervirens*).

The extraction of essential oil from the fresh leaves and branches of Cypress is carried out using the hydrodistillation method (Clevenger type) and which gave a yield of 0.11%.

In addition, the antimicrobial activity of EOs from *Cupressus sempervirens* was shown by the diffusion method on “aromatogram” agar medium which presented zones of inhibition (10; 14.6; 0; 17.5; 18.3 and 20.65 mm) which suggests that we have good inhibitory activity on six reference strains tested including *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Salmonella enterica*, respectively.

Keywords: *Cupressus sempervirens* Cypres, hydrodistillation, essential oils, antimicrobial activity, aromatogram.

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1

Etude bibliographique

Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles.....	3
Définition. 3	
Rôles des HE dans la plante	3
Répartition systématique des huiles essentielles.	3
Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles.	4
Propriétés physico-chimiques.....	4
Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	5
Agro-alimentaire.....	5
Santé : pharmacie et aromathérapie.....	5
Secteur parfumerie/ cosmétique	5
En agriculture	6

Toxicité des huiles essentielles.....	6
Méthodes d'extraction.	6
Distillation. 6	
Hydrodistillation.....	6
Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	7
I.9.1.3 Hydrodiffusion.....	8
L'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	8
Extraction à froid.....	9
Extraction par solvants organiques.....	9
Extraction par CO ₂ à l'état supercritique.....	10

Chapitre II. *Cupressus sempervirens L* (Cyprés)

Classification systématique et description botanique.....	11
Classification taxonomique.....	11
Description botanique.....	13
Caractéristiques écologiques.....	15
Répartition géographique de <i>Cupressus sempervirens L</i>	16
Dans le monde	16
En Algérie	17
Utilisations en médecine traditionnelle.....	17
Effets indésirables.....	18
L'huile essentielle de <i>Cupressus sempervirens L</i>	18
Utilisations de l'huile essentielle de <i>Cupressus sempervirens L</i>	18

Chapitre III. Activité biologique des huiles essentielles

III.	Introduction.....	20
	Activité antimicrobienne	20
	Les toxi-infections alimentaires.....	20
	Agents causaux	22
	Les antibiotiques.....	23
	Antibiorésistance	25
	Effet antimicrobien des huiles essentielles.....	26
	Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries.....	26

Etude Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

	Présentation de la zone d'étude.....	28
	Caractéristiques climatiques.....	28
	Matériel végétal.....	30
Récolte	30	
	Extraction des huiles essentielles de <i>Cupressus sempervirens L.</i>	30
	Extraction par hydrodistillation.....	30
	Calcul du rendement.....	31
	Procédés d'étude microbiologique.....	31
	Souches microbiennes testées.....	31
	Milieux de cultures utilisées.....	32
	Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum).....	32

Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des Antibiotiques«Antibiogramme»	33
Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.	35

Aromatogramme35

Chapitre V. Résultats et Discussion

Extraction des huiles essentielles de <i>Cupressus sempervirens L</i>	37
Rendement en huile essentielle.	37
Etude de l'activité antimicrobienne	38
L'Antibiogramme	38
L'aromatogramme	40
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	45
Annexes	52

Liste des abréviations et symboles

ADN : acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association Française de Normalisation

AMR : Anti Microbial Resistance

ARN : Acide ribonucléique

ATB: Antibiotique

COV : composés organiques volatils

D.O : Densité optique

DMSO: Diméthylsulfoxyde

HE: Huile essentielle

MDO : Maladie à déclaration obligatoire

PNTEH: Parc National Theniet El Had

TIA: Toxi-infections alimentaires

TIAC: Toxi-infections alimentaires collectives

Liste des tableaux

Tableau n°01 : Les principaux germes responsables de T.I.A.C	22
Tableau n°02 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques.....	24
Tableau n° 03 : Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien	32
Tableau n° 04 : Les antibiotiques utilisés pour L'antibiogramme	34
Tableau n° 05 : Degrés de sensibilités de la croissance microbienne et Leurs diamètres des zones d'inhibition	36
Tableau n°06 : Rendement massique des huiles essentielles extraites	37
Tableau n° 08 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre la de zone d'inhibition (mm)	39
Tableau n°09 : Mesure du diamètre de la zone d'inhibition.....	41

Liste des figures

Figure n°01 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	7
Figure n°02 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	8
Figure n°03 : Hydrodistillation assistée par micro-onde.....	9
Figure n°04 : Schéma d'extraction par CO2 supercritique	10
Figure n°05 : <i>Cupressus sempervirens L</i>	11
Figure n° 06 : Classification détaillée de l'ordre des <i>Cupressales</i>	12
Figure n°07 : Deux arbres de <i>Cupressus sempervirens. L</i>	13
Figure n°08 : Les feuilles du <i>Cupressus sempervirens</i>	13
Figure n°09 : Fleurs mâles et femelles, cônes et écorce de <i>Cupressus sempervirens L</i>	14
Figure n°10 : Etapes de formation de la graine du <i>Cupressus sempervirens L</i>	15
Figure n°11 : Aire et répartition de <i>Cupressus sempervirens L</i> . dans le monde	16
Figure n°12 : Aire de répartition du Cyprès du Tassili dans la région de Djanet-Algérie	17
Figure n°13 : Principale interactions entre aliment, microorganisme, consommateur.....	21
Figure n°14 : Mode d'action des antibiotiques	23
Figure n°15 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négative	25
Figure n°16 : Mode d'action des HE sur les bactéries	27
Figure n°17 : Carte de situation du parc national de Theniet El Had.....	29

Figure n°18 : Carte des cantons - Parc national de Theniet El Had.....	29
Figure n°19 : Des rameaux feuillés du <i>Cupressus semperviens</i> dans la région de Theniet El Had.	30
Figure n°20 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (Clevenger).....	31
Figure n°21 : Préparation de la suspension bactérienne.....	32
Figure n°22 : Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre.....	33
Figure n°23 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélose Mueller-Hinton.	33
Figure n°24 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé.....	34
Figure n°25 : Dépôt des disques contenant l'huile essentielle de <i>Cupressus sempervirens</i> à la surface des boîtes ensemencées	36
Figure n°26 : Les résultats de l'antibiogramme.....	38
Figure n°27 : Effet d'HE de <i>Cupressus sempervirens</i>	41



Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont connues par leurs effets bénéfiques et cicatrisants sur le corps grâce à leurs principes actifs. Pendant des siècles, les traditions humaines ont su développer et utiliser leurs connaissances botaniques pour améliorer la santé humaine.

Ces plantes sont d'immenses réservoirs de composés attribuables à des métabolites secondaires, qui ont l'avantage de présenter une grande variété de structures chimiques et d'avoir une très large gamme d'activités biologiques (Aissaoui et al., 2022 ; Belgharbi 2020).

L'Algérie, en raison de la diversité de son climat et de sa situation géographique stratégique, abrite un nombre considérable d'espèces naturelles, qui représentent un patrimoine végétal très important compte tenu de leurs schémas de répartition spatiale et de leur rôle dans l'équilibre écologique (Abdelli, 2018). La valorisation de ces ressources est devenue indispensable.

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires extraits des plantes par divers procédés et elles sont produites par les plantes pour se défendre contre les phytoravageurs. Leurs extraits contenaient en moyenne 20 à 60 composés, dont la plupart étaient des molécules de faibles complexités, soit des monoterpènes, soit des terpènes plus complexes, dont des sesquiterpènes.

De nombreuses études réalisées sur les huiles essentielles ont montré que ces dernières ont une activité antibactérienne importante contre certaines souches de bactéries et de champignons, et donc une certaine importance dans le développement de nouveaux médicaments dont le principe actif est naturel, et qui sont plus efficaces et plus respectueux de la santé (Aliane et Amazouz, 2016).

Cupressus sempervirens L ou *Cyprès vert*, est un conifère de la famille des *Cupressacées* originaires des régions tempérées de l'hémisphère nord. De nombreuses espèces sont cultivées à des fins ornementales. En médecine traditionnelle, il est utilisé pour soulager les maux d'estomac, les inflammations, les maux de dents et pour traiter le diabète. Cette plante aromatique et médicinale joue un rôle économique important dans les industries agro-alimentaires, parfumerie, cosmétique et pharmaceutique (Aissaoui et al., 2022 ; Belgharbi 2020).

Cependant, peu de recherches ont été menées sur l'activité biologique de l'huile essentielle de *C. sempervirens*, notamment : activités antibactériennes, antivirales, molluscicides et anti-inflammatoires.

Nos travaux actuels s'inscrivent dans le développement des plantes médicinales, en particulier *Cyprès vert*. Nous nous sommes intéressés à l'utilisation de la méthode de diffusion sur gélose (méthode du disque) pour tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles de rameaux de feuilles de *C. sempervirens* obtenues par hydrodistillation contre des bactéries spécifiques responsables d'intoxication alimentaire.

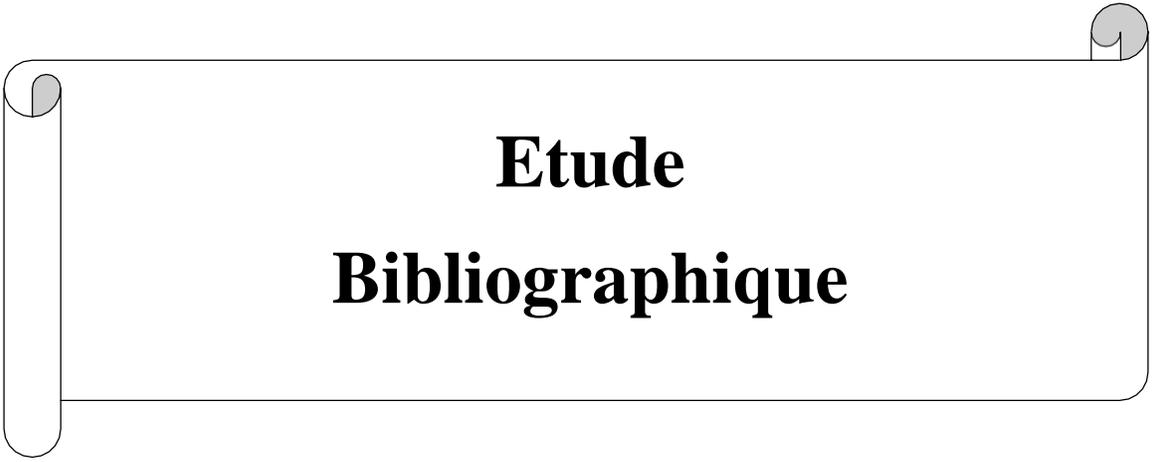
Pour ce faire, Une première partie propose une mise au point bibliographique qui est divisée sur trois chapitres :

- Le premier chapitre : Généralités sur les huiles essentielles.
- Le deuxième chapitre : La description botanique de l'espèce végétale étudiée tandis que.
- Le troisième chapitre : Activité biologique des huiles essentielles.

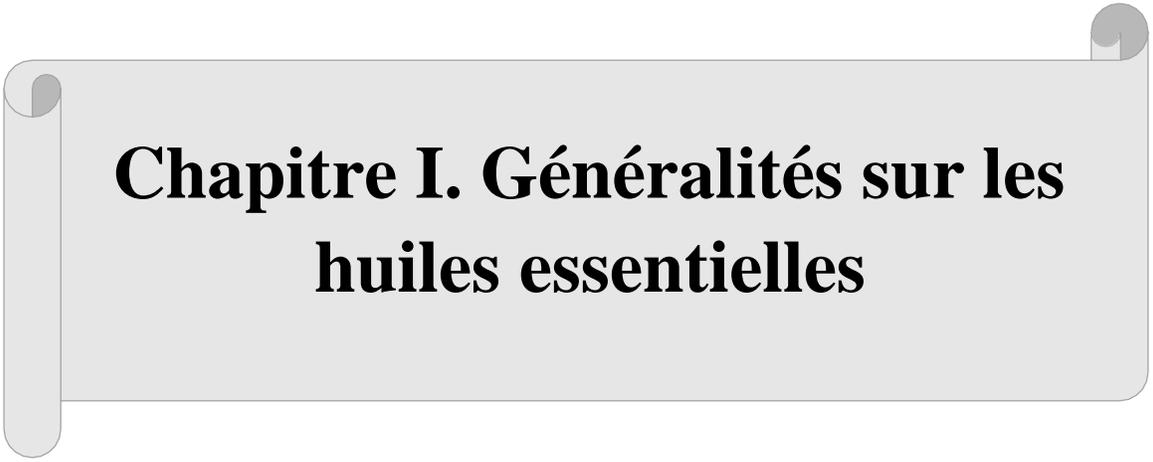
La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (quatrième chapitre) présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- Extraction des huiles essentielles du *C. sempervirens* par hydrodistillation
- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de l'aromatogramme.

Le second (cinquième chapitre) est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus. Et dans la dernière partie il y a la conclusion générale.



Etude
Bibliographique



Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles

I- Les huiles essentielles

I.1- Définition

Les huiles essentielles sont définies comme des « produits parfumés », généralement composition complexe dérivée de sources végétales distillation à la vapeur, distillation sèche ou procédé mécanique adapté sans chauffage. Les huiles essentielles sont les plus courantes séparées de la phase aqueuse par un processus physique qui n'implique pas de changement remarquablement de par sa composition (**Pharmacopée Européenne, 2008**).

Les HEs, également appelées « huiles volatiles », sont des mélanges complexes de composés volatils produits comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques. Ils se caractérisent par une forte odeur, car ils sont responsables des propriétés des plantes aromatiques. Les huiles essentielles sont généralement liquides, volatiles, solubles dans les lipides et les solvants organiques, et présentes dans tous les organes végétaux. (**Valdivieso-Ugarte et al., 2019**).

I.2- Rôles des HEs dans la plante

La fonction exacte des essences végétales est encore largement inconnue, mais elle semble fonctionner un rôle important dans l'adaptation à l'environnement. Certains composés volatils produits par les plantes et contenus dans leurs essences régulent le comportement des micro-organismes tels que les champignons, les essences pourraient être des outils de défense contre les prédateurs, de répulsion des insectes et herbivores ou encore de protection contre les pathogènes (**De Sousa, 2012**). L'essence joue également un rôle dans la plante elle-même. Présumé faire partie de leurs composants deviennent des messagers internes ou des intermédiaires dans le métabolisme de plante.

Enfin, les essences pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante (**Figueredo, 2007**).

I.3- Répartition systématique des huiles essentielles

Dans le règne végétal, les huiles essentielles se trouvent couramment dans les plantes supérieures. Quantitativement, la teneur en huiles essentielles des plantes susceptibles d'en contenir est très faible, souvent inférieure à 1 %. Les fortes concentrations de clous de girofle (15%) sont

rare et exceptionnelles. ils peuvent être stockés dans un ou plusieurs organes (**Nadia, 2014; Samate, 2002**).

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

Les huiles essentielles peuvent être obtenues à partir de différentes parties de la plante fleurs, feuilles, racines, graines, etc. Les propriétés de ses différentes huiles sont très différentes et il n'y a pas deux utilisations identiques. Les huiles essentielles se trouvent dans des cellules sécrétoires spécifiques. Ce sont des structures tissulaires spécialisées utilisées pour la synthèse et le stockage. Les cellules sécrétoires sont rarement isolées, mais sont le plus souvent regroupées en poches (*Myrtacées, Rutacées*), conduits sécrétoires (*Apiacées*) ou poils sécrétoires (*Lamiacées*) (**Bruneton, 1999**).

La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs. Souvent localisées sur la surface de la plante (**Hamada, 2016 ; Samate, 2002**).

I.5- Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles ont un certain nombre de propriétés physico-chimiques communes malgré la différence dans leur composition et ces propriétés peuvent être résumées comme suit :

- Les HEs sont généralement incolores, mais certaines d'entre elles possèdent une teinte jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées ;
- Elles sont liquides à température ambiante (ordinaire) et certaines d'entre elles cristallisent à basse température.

Chaque HE est unique et se caractérise par une odeur, une couleur, une viscosité et des propriétés spécifiques.

Les huiles essentielles sont connues pour leur propriété thérapeutique, résultante de leur composition chimique. La composition majeure de l'huile détermine souvent l'action principale de la plante origine. Or certaines huiles ont plusieurs composantes en quantité importante ce qui offre à la molécule plus de propriétés (**Raymond, 2005**).

I.6- Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont étroitement liées à l'histoire de l'humanité. En effet depuis les anciennes civilisations, L'homme utilise les substances odorantes à chaque instant de sa vie quotidienne, les principaux domaines d'application étant les suivants :

I.6.1- Agro-alimentaire

L'alimentation : les huiles essentielles entrent dans la composition des aliments sous formes d'aromates ou d'épices et peuvent servir en même temps comme agents de conservation des aliments, grâce à leur effet antimicrobien, et ce d'autant plus qu'elles sont reconnues comme saines (Caillet, 2007 ; Langumier et al.,2009).

I.6.2- Santé : pharmacie et aromathérapie

L'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique est liée à leurs propriétés pharmacodynamiques diverses et souvent remarquables. Certaines plantes aux huiles essentielles sont des conservateurs utilisés principalement pour les affections des voies respiratoires et urinaires, et certaines agissent comme des stimulants du système nerveux central qui peuvent provoquer des crampes à fortes doses.

L'huile essentielle contient des substances antivirales et possède également des propriétés antifongiques, des propriétés antibactériennes et une activité antioxydante due au menthol, au néomenthol, au menthane et à l'acétate de menthyle (Langumier et al.,2009).

I.6.3. Secteur parfumerie/ cosmétique

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans les cosmétiques et dans les produits d'hygiène grand public naturels et synthétiques. Elles sont incorporées dans des baumes pour la peau. Les huiles essentielles pour la protection solaire sont utilisées dans des crèmes, des gels, des rouges à lèvres, des shampoings et des dentifrices qui préservent ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante tout en conservant un parfum agréable (Rhayour, 2002).

Les huiles essentielles les plus couramment utilisées sont la lavande, le citron. Il convient de noter qu'il existe un potentiel d'absorption percutanée des composés terpéniques (Bouamer et al., 2004 ; Buanan et Buseher, 2005).

I.6.4- En agriculture

L'utilisation des huiles essentielles dans en 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 méthodes de lutte chimique.

Les HEs sont actuellement testées sur différentes cibles : insectes, champignons, bactéries, les adventices et également pour la conservation des semences (**Deschepper, 2017**).

I.7- Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger » mais sont aussi des composés puissants. Les huiles essentielles peuvent être toxiques, et ce selon la dose administrée, mais aussi de la voie d'exposition, par ingestion (souvent d'une grande quantité, et avec utilisation aléatoire), par contacte (exposition à des importantes concentrations) (**Degryse et al., 2008**).

Certaines huiles essentielles peuvent provoquer des irritations au niveau de la peau, d'autres peuvent être allergène, photo-toxiques et certaines ont un effet neurotoxique, ou peuvent induire au développement de cancer tel que les dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes (**Piochon, 2008**).

I.8- Méthodes d'extraction

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Plusieurs techniques d'extraction des HEs sont connues et utilisées elles sont choisies en fonction de la plante et de la fragilité de ses composants (**Barbelet, 2015**).

I.8.1- Distillation

Il existe plusieurs méthodes qui permettent d'extraire les huiles essentielles de la plante, les plus utilisées sont la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodistillation.

I.8.1.1. Hydrodistillation

La technique d'hydrodistillation est le procédé le plus couramment employé pour l'extraction des HEs. Elle est considérée comme étant la plus simple et la plus anciennement utilisée (Lucchesi, 2005).

Dans cette technique, la matière végétale à traiter est entière ou broyée (turbodistillation) dans un alambic (ballon) rempli d'eau qui est par la suite portée à ébullition. La vapeur hétérogène qui en résulte se condense sur une surface froide (réfrigérant) et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par une simple différence de densité. Les huiles essentielles sont plus légères que l'eau (à quelques exceptions près), elles flottent donc au-dessus des hydrolats. (Bruneton, 1999).

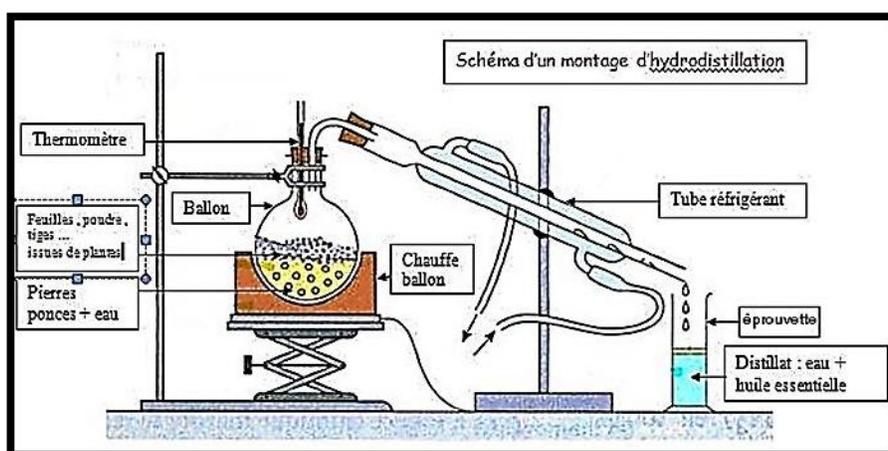


Figure n°01 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

I.8.1.2- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Distillation par entraînement à la vapeur. Cette technologie ne permet pas de contact direct entre l'eau et le matériel végétal à traiter. Le principe de la distillation à la vapeur consiste à faire passer de la vapeur dans la plante à une température appropriée pour détruire les cellules végétales et libérer des molécules aromatiques qui sont aspirées dans le serpentin de refroidissement.

Forme un mélange « eau + huile essentielle ». Les huiles essentielles et les eaux florales collectées sont séparées par de simples différences de densité. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale et entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de décomposition pouvant affecter la qualité de l'huile. (Neffati, 2010).

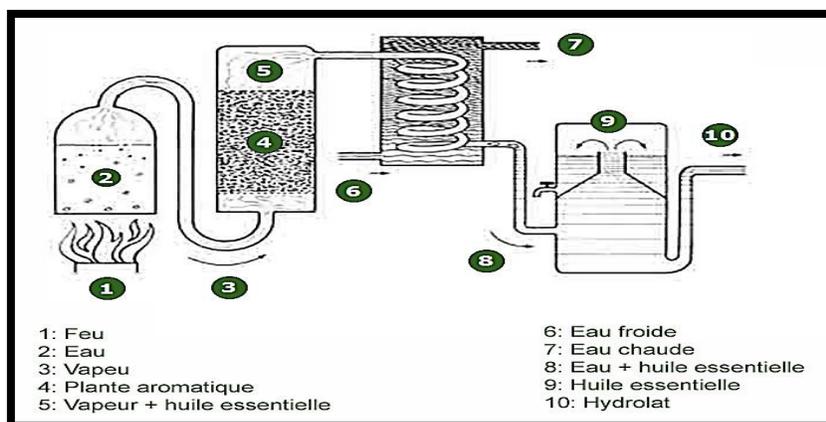


Figure n° 02 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau

I.8.1.3- Hydrodiffusion

Dans l'hydrodiffusion, une variante de la distillation à la vapeur, le flux de vapeur est descendant et pas ascendant, ce qui entraîne un temps de distillation plus court, moins nocif pour les composés volatils et en plus de réduire la vapeur d'eau, peut également économiser de l'énergie. Cette technique utilise des matériaux en bois ou en fibres que la vapeur peut pénétrer (**Lucchesi, 2005 ; Lardy et Haberkorn, 2007**).

I.8.2- Extraction par micro-ondes

Dans ce procédé, le matériel végétal est chauffé par des micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont emportés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau de la plante. Il est ensuite récupéré par les méthodes classiques de condensation, de refroidissement et de décantation. (**Koubaa et al., 2016**).

Cette technique possède plusieurs avantages tels que la rapidité, l'utilisation de petites quantités de solvant, et donne un bon rendement d'extraction (**Barba et al., 2016; Boukhatem et al., 2019**).

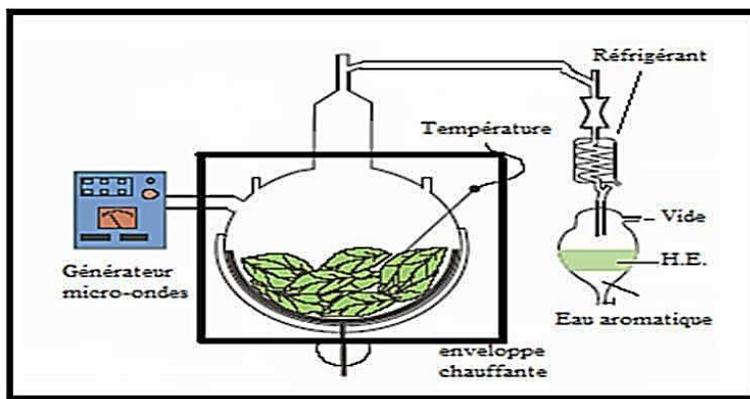


Figure n° 03 : Hydrodistillation assistée par micro-onde (Lucchesi, 2005)

I.8.3- Expression à froid

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes sont dits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. Pour cette raison, un tout autre procédé que la distillation traditionnelle est utilisée notamment pour cette catégorie de matières premières, qui est l'expression à froid (Lucchesi, 2005 ; Vian et al., 2008).

Le principe de cette technique consiste à casser ou déchirer les parois des sacs oléifères contenus dans la peau du fruit et à presser le contenu de ces sacs contre les parois. Un courant d'eau permet d'exercer une action abrasive sur la surface du fruit, ce dernier éclate libérant l'huile est le jus. Après élimination des déchets solides, les huiles essentielles sont séparées de la phase aqueuse par centrifugation (Bruneton, 1999 ; Lucchesi, 2005).

I.8.4- Extraction par solvants organiques

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux avec des concentrations d'essences relativement faibles et des essences qui ne peuvent pas être obtenues par distillation. Elle est basée sur la capacité de certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite.

Le produit ainsi obtenu est un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé "concret". Cette concrète est ensuite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et congelée pour en extraire la cire végétale. Après la concentration finale, on obtient une « absolue » (Abbes,2014 ; Benouali,2016).

1.8.5-Extraction par CO₂ à l'état supercritique

Une des méthodes les plus récentes. L'extraction par CO₂ supercritique consiste à envoyer dans une enceinte fermée contenant les plantes un courant de CO₂, qui, par augmentation de pression, fait éclater les « poches à essence » et entraîne les substances aromatiques. Cette méthode d'extraction est actuellement la plus fiable en termes de qualité et restitue l'essence naturelle. Cependant, cela reste cher.

L'originalité de ce procédé d'extraction réside dans le type de solvant utilisé. Au-dessus du point critique ($P = 73,8$ bar et $T = 31,1$ °C), le CO₂ a des propriétés intermédiaires entre liquide et gaz, d'où de bonnes performances d'extraction. qui plus est facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression ajustable. Cette méthode présente de nombreux avantages. (Michel , 1998).

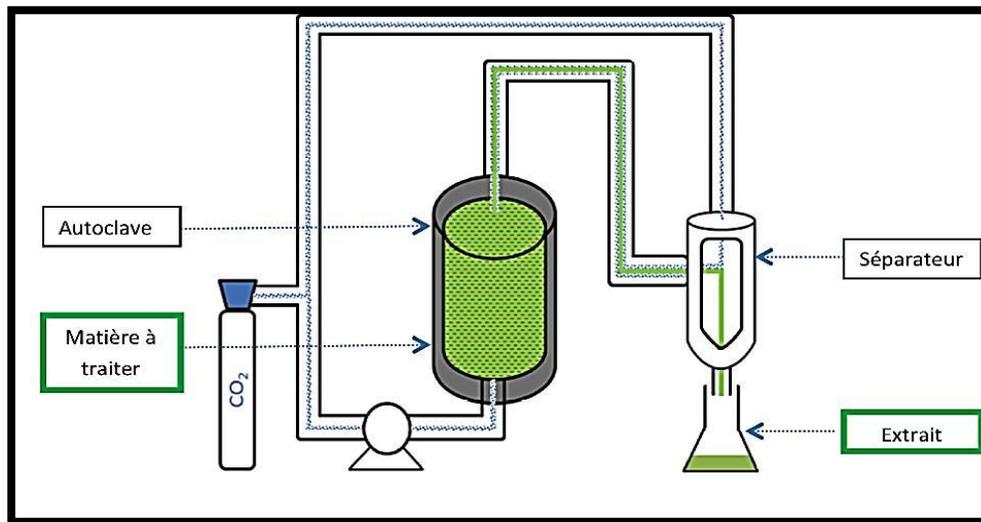


Figure n° 04 : Schéma d'extraction par CO₂ supercritique

Chapitre II

Cupressus sempervirens L
(*Cyprès*)



Nom scientifique: *Cupressus sempervirens L*. Anglais : *Italian Cypress, evergreen Cypress*; Français : *Cyprès d'Italie, Cyprès toujours vert*. Arabe: السرو ; Nom vernaculaire: (*Sarwel*) ; Italien : *Cipresso comune* (**Farjon, 2010 ; Ghrabi, 2005 ; Goetz et Ghedira, 2012**).

Le genre *Cupressus* est l'un des nombreux genres de la famille des *Cupressaceae* et, sur la base d'analyses génétiques et morphologiques, le genre *Cupressus* est classé dans la sous-famille des *Cupressoideae*. Il comprend 12 espèces réparties dans la région méditerranéenne, l'Amérique du Nord et Asie subtropicale (**Dahah, 2019**).

Cupressus sempervirens (Cyprès) est une espèce originaire de l'Est du bassin méditerranéen (Iran, Syrie et chypre) mais elle est cultivée sur tout le pourtour méditerranéen. C'est un arbre élancé, conique et toujours vert (**Hedjal, 2014**).



Figure n° 05: *Cupressus sempervirens L*

II.1- Classification systématique et description botanique

II.1.1- Classification taxonomique

Cupressus sempervirens est une belle plante aux racines fixes solidement ancrées au sol assurant la stabilité de la plante. D'une taille moyenne de 20 à 30 m au feuillage toujours vert, elle est d'une longévité exceptionnelle de 2000 ans (**Cheraief et al., 2006**).

Il existe 12 espèces dans le genre *Cypress* (*Cupressaceae*), qui sont réparties en Amérique du Nord, dans la région méditerranéenne et en Asie subtropicale de haute altitude. Cinq d'entre elles ont été signalées comme faisant partie de la flore indienne, à savoir *Cupressus torulosa*, *C. sempervirens*, *C. funebris*, *C. Lusitania* (*C. glauca*) et *C. macrocarpa*, tandis que *C. cashmeriana* n'est considérée que comme une forme de *C.torulosa* (Rawat et al., 2010).

Le Cyprès, *Cupressus Sempervirens L.* est classé comme suit (Rahmani, 2022 ; Gharbi, 2005) :

- ❖ Règne : Plante
- ❖ Sous règne : Virideaplantea
- ❖ Embranchement : Spermaphytes
- ❖ Sous-embranchement : Gymnospermes
- ❖ Division : Coniferophyta
- ❖ Classe : Equisetopsida
- ❖ Sous classe : Pinidea
- ❖ Ordre : *Cupressales*
- ❖ Famille : *Cupressaceae*
- ❖ Genre : *Cupressus*
- ❖ Espèce : *Cupressus sempervirens L*

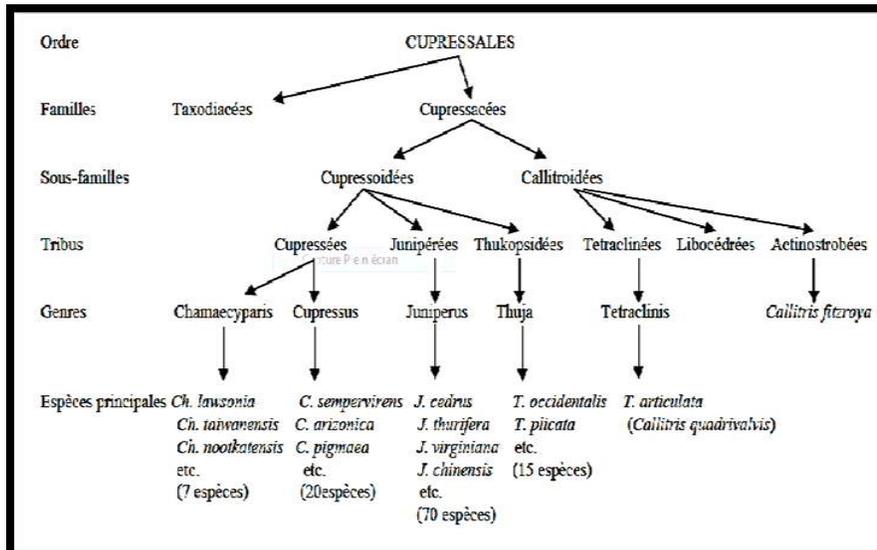


Figure n° 06: Classification détaillée de l'ordre des *Cupressales* (Hireche et Ferhat, 2019).

Description botanique

Cupressus sempervirens L est un arbre pouvant atteindre une hauteur de 25 m. Il a un tronc élancé d'où poussent de nombreuses branches disposées en longue cyme pyramidale étroite et en aigue. Il a une écorce grise rougeâtre et fissurée (**Amara et Boughérara, 2017**).



Figure n°07 : Deux arbres de *Cupressus sempervirens. L* (**Hireche et Ferhat, 2019**).

- **Feuilles :**

Ses feuilles sont persistantes, aromatiques, verts foncé et sont disposées en écailles fines le long des rameaux ; elles les recouvrent étroitement en formant à chaque fois une rangée de 4 écailles poussant tout autour des rameaux (**Riom, 2010**).



Figure n° 08: Les feuilles du *Cupressus sempervirens* (**Parc du jardin des plantes de Nantes, 2009**)

- **Fleurs**

Les fleurs unisexuées sont situées aux extrémités des rameaux et sont regroupées en chatons, parmi lesquels on distingue les chatons mâles de couleur jaune à marron clair chargés de pollen pouvant être allergisant (en février - mars), les chatons femelles sont de couleur verte sphérique réunis en un bouquet au bout de jeunes pousses (**Nichane, 2015**).

- **Écorce**

Cupressus sempervirens a une écorce grise-brun, fibreuse, sillonnée verticalement avec des crêtes filamenteuses disposées par paires opposées à l'extrémité des rameaux écailleux (**Dahah, 2019**).

- **Les fruits**

Les fruits de cette espèce sont coniques, strobilet-sphériques, de 3 à 4 cm de diamètre, verts et brillants, avec de légères épines à ces extrémités.

Ces cônes sont constitués de 6 à 14 écailles polygonales en bois qui sont brun clair à brun foncé à maturité et contiennent de nombreuses petites graines ailées de 4 à 7 mm de long (**Hireche et Ferhat, 2019**).

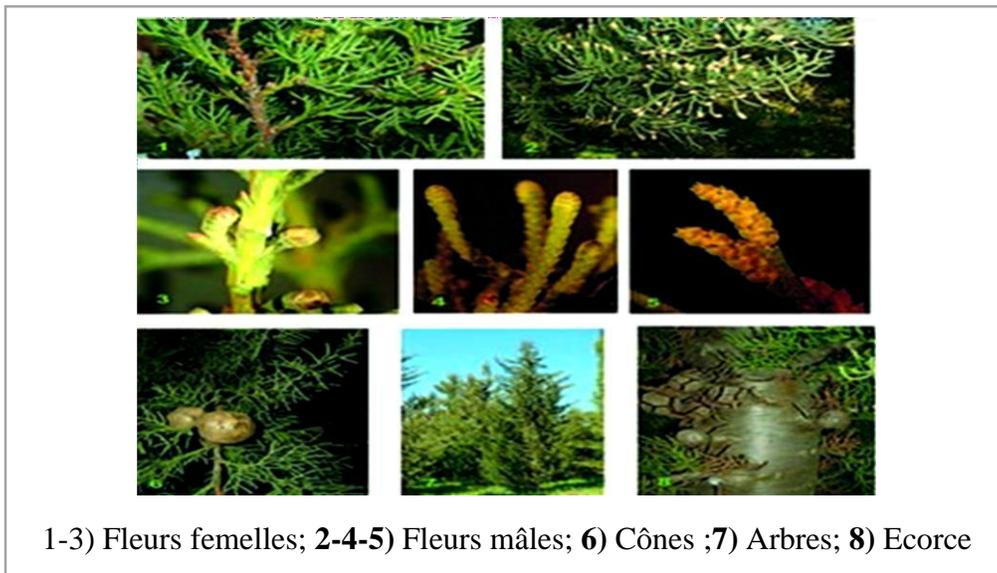


Figure n° 09 : Fleurs mâles et femelles, cônes et écorce de *Cupressus sempervirens L.* (**Nichane, 2015**).

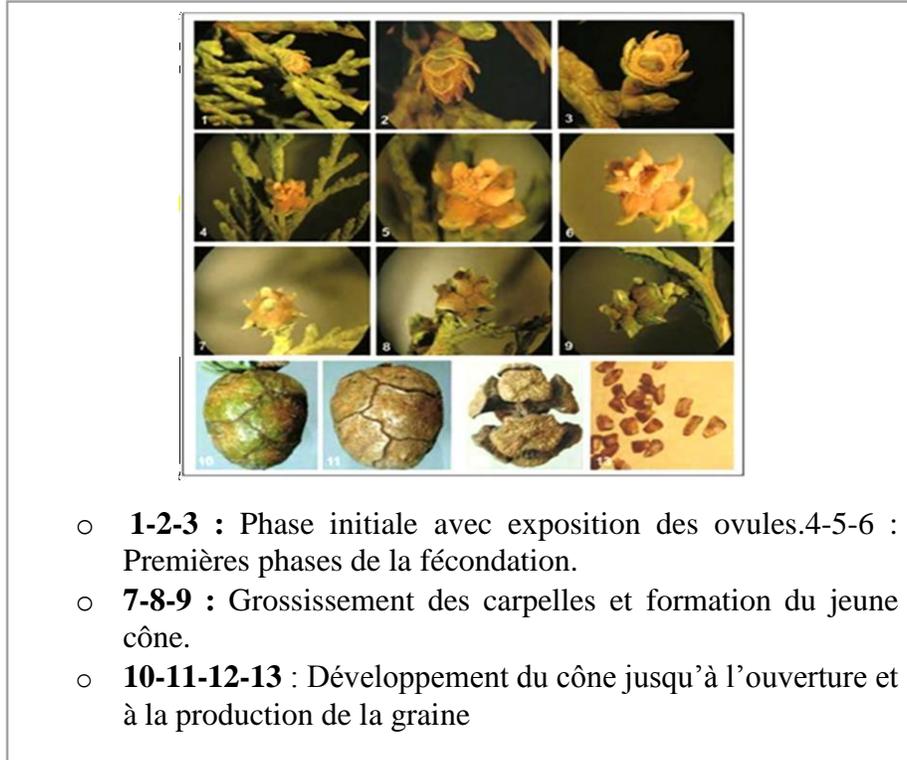


Figure n° 10 : Etapes de formation de la graine du *Cupressus sempervirens L* (Nichane, 2015).

Caractéristiques écologiques

Le *Cyprès* a de nombreuses caractéristiques écologiques qui sont :

- **Température** : le *Cyprès* a besoin de chaleur ; c'est une plante de climat doux. Mais comme d'autres plantes méditerranéennes, il peut résister aux basses températures, jusqu'à -20°C, en hiver ; le froid humide peut affecter négativement sa longévité (Nichane, 2015).
- **Altitude** : on trouve cette plante dans toutes les zones basses (500 m) du pourtour méditerranéen notamment dans les limites des zones agricoles ou à côté des parcs et des propriétés (Nichane, 2015).
- **Précipitation** : le *Cyprès* est une plante xérophile car il s'adapte à des conditions physiques très sévères, il peut se développer dans des climats humides, il n'a pas d'exigences de précipitation, 250-350 mm / an peuvent le satisfaire (Nichane, 2015).

Le *Cupressus Sempervirens* n'exige pas un Sol particulier seulement qu'il ne soit pas argileux ou trop salin (Riom, 2010). Aussi, il tolère la faible teneur en nutriments du sol, et préférable de le cultiver dans un sol fertile avec un degré d'humidité modéré.

Répartition géographique

Dans le monde

Cupressus sempervirens.L était originaire de la Méditerranée et du Moyen-Orient comme arbre d'ornement. Cependant, la plante est distribuée dans les hautes terres tropicales d'Asie (Iran, Palestine, Jordanie, Liban, Syrie, Irak et Turquie), dans le sud de l'Europe (Grèce et Italie), en Amérique du Nord et en Afrique du Nord (Algérie, Tunisie, Maroc).

Trois espèces se trouvent dans la flore d'Afrique du Nord sont appelés *Cupressus sempervirens*, mais sont souvent confondus, étant étroitement apparentés et similaires en apparence extérieure (Dahah, 2019).



Figure n° 11 : Aire et répartition de *Cupressus sempervirens L.* dans le monde (Nichane, 2015).

2. En Algérie

Les relevés botaniques réalisés démontrent clairement la richesse et la diversité de la flore algérienne. Cependant, la richesse du couvert forestier est affectée par plusieurs facteurs, notamment l'altitude, le bioclimat, l'influence anthropique et les risques naturels. Les regroupements forestiers des deux atlas diffèrent donc, selon les secteurs. Même à l'intérieur d'un même secteur, c'est-à-dire d'un quartier à l'autre. Les bosquets de l'Atlas algérien qui nous intéressent contiennent des *Cupressinées* (Dahah, 2019).

Le genre *Cupressus* est présent en arbres solitaires ou en arbres d'ornement ou orientés, à l'exception de quelques rares petites formations. Les espèces endémiques ou naturalisées de ce genre sont : *Cyprès du Tassili* (*Cupressus dupreziana* A. Camus), *Cyprès de l'Atlas* (*Cupressus atlantica* Gaussen), *Cyprès à feuilles persistantes* (*Cupressus sempervirens. L*) originaire du désert du Tassili Nager (Nichane, 2015).

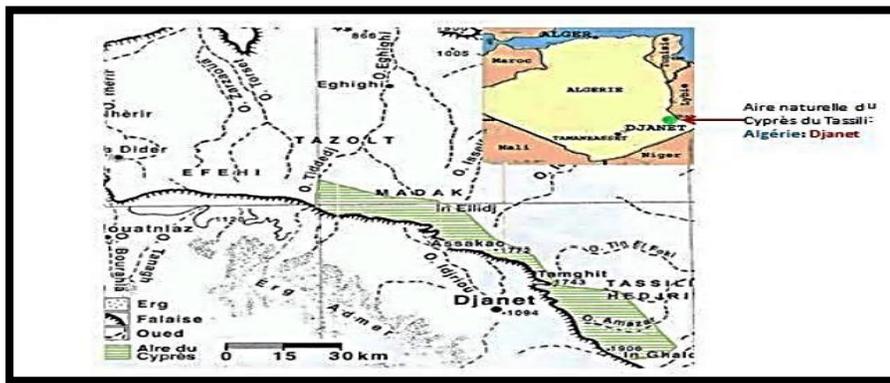


Figure n°12 : Aire de répartition du *Cyprès du Tassili* dans la région de Djanet-Algérie

Utilisations en médecine traditionnelle

Les êtres humains ont compté sur les plantes pendant des siècles comme source de médecine, de protection, de nourriture, de parfum et de goût. Les habitants utilisent le *Cyprès vert* en médecine traditionnelle pour ses multiples propriétés curatives. Les parties aériennes des plantes sont utilisées en médecine traditionnelle depuis nombreuses années (Rawat et al., 2010).

Cupressus sempervirens est communément appelé 'Sarwel'. Ses feuilles séchées sont utilisées pour traiter les maux d'estomac et pour traiter le diabète. La résine de *Cyprès* est utilisée par voie orale pour traiter la toux et les maladies rhumatismales.

Lorsqu'il est appliqué à l'extérieur, il est utilisé contre les fissures, les coupures et les ulcères des pieds. L'huile est appliquée sur la plaie pour traiter les cicatrices. À l'intérieur du corps, la purée de fruits et utilisée comme remède contre la diarrhée, les saignements et les rhumes (**Rahmani, 2022**).

Effets indésirables

Le pollenose au *cyprès* touche près de 40 % de la population allergique méditerranéenne. Le *Cyprès* peut être à l'origine d'allergies qui se manifestent par des rhinites saisonnières, associées la plupart du temps au classique rhume des foins printanier.

Dans une étude précédente, une approche visant à identifier un nouvel allergène du pollen de *Cyprès italien* basé sur l'homologie et la réactivité croisée avec d'autres allergènes apparentés a été décrite. Cup s 3, un allergène du pollen de *Cyprès italien*, a été identifié sur la base de sa réactivité croisée et de son homologie avec d'autres protéines de pollen PR-5 (**Rahmani, 2022**).

Huile essentielle de *Cupressus sempervirens L*

Les huiles essentielles forment un groupe très important de composés naturels, tant dans l'industrie pharmaceutique, la parfumerie, alimentaire et industrielle (**Dalia et Benkhemissa, 2020**).

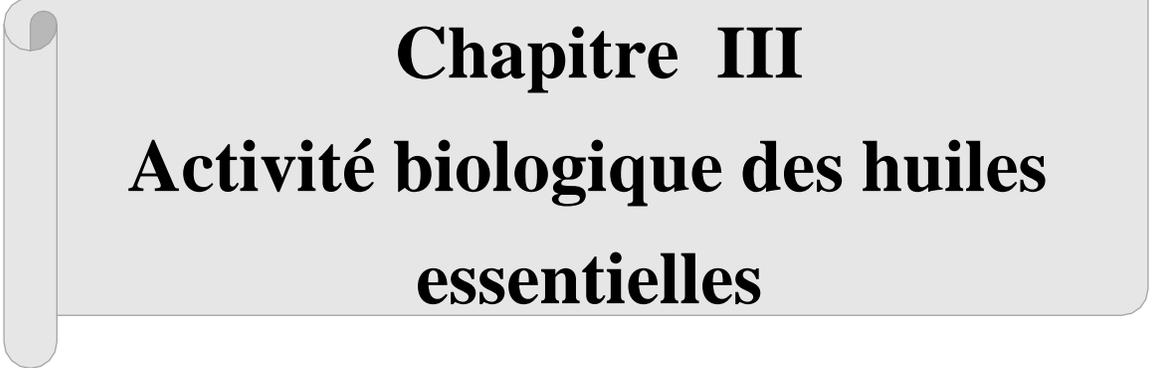
L'HE du *Cyprès vert* est constitué majoritairement de monoterpènes (82%) et les principaux monoterpènes qu'on y rencontre sont : α -pinène, β -myrcène, δ^3 -carène, limonène et terpinolène, ainsi que les sesquiterpènes dont les principaux sont : δ -cadinène, α -cubécène, α -humulène et β -caryophyllène (**Aliane et Amazouz, 2016**).

Utilisations de l'huile essentielle de *Cupressus sempervirens L*

Cette HE a des propriétés antiseptiques, antispasmodiques, hémostatiques et diurétiques et est tonique, apaisante, neutralisante des odeurs et purifiant des vaisseaux sanguins. De ce fait, leurs

usages sont aussi variés que : Asthme, bronchite, maladies cardio-vasculaires, kystes ovariens, hémorroïdes, varices, douleurs veineuses (**Shirner, 2004**).

L'HE de *Cyprès vert* a des propriétés insecticides et répulsives (contre les insectes) (**Tapondjou et al., 2005**).



Chapitre III
Activité biologique des huiles
essentielles

III- Introduction

L'activité biologique des huiles essentielles est liée à leur composition chimique, en particulier les groupes fonctionnels de la plupart des composés. Phénols (thymol, carvacrol, eugénol), alcools (alpha-terpinéol, terpinène-4-ol, linalol), aldéhydes, composés terpéniques et cétoniques (**Boulouaret et Boufroua, 2020**).

L'efficacité d'une huile essentielle dépend ainsi de sa richesse en composés phytochimiques ; plus elle est riche en substances actives, plus son activité est importante (**Zhiri, 2006**).

III.1- Activité antimicrobienne

III.1.1- Les toxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires (TIA) sont des maladies qui surviennent lorsque des aliments ou des boissons sont contaminés par des micro-organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites), avec une multiplication ultérieure chez l'hôte, accompagnée d'une invasion des tissus et/ou d'une libération de toxines qui provoquent par la suite des troubles (**Amamra et al., 2020**).

Les pénuries alimentaires obligent les consommateurs à accepter des aliments modifiés. Dans les pays dits développés, notamment dans les pays d'Europe occidentale, il existe un contrôle préventif strict, mais la concentration croissante de la population entraîne de nombreuses manipulations, ce qui est souvent source de pollution.

En été, en particulier, en raison de la croissance rapide des bactéries, la température est plus élevée. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire sont divisées en infection et empoisonnement (**Ait Abdelouhab, 2008**).

Une toxi-infection alimentaire collective (TIAC) est une maladie infectieuse à déclaration obligatoire (MDO) qui survient lorsqu'il y a au moins deux cas groupés présentant des symptômes similaires causés par une contamination microbienne (généralement bactérienne) ou par une toxine.

En Algérie, la déclaration obligatoire des maladies, est régie par le règlement n°179/MS/CAB du 17/11/90, établissant une liste des maladies à déclaration obligatoire et modifications de notification et circulaire n° 1126/MS/DP/SDPG du 17/11/90 concernant système de surveillance des maladies transmissibles.

Chaque année, le ministère de la Santé enregistre 4 000 à 5 000 cas TIAC, en 2017, plus de 10 000 cas dont six décès. Ils sont définis par l'apparence au moins deux cas groupés similaires à symptomatologie, généralement gastro-intestinale (vomissements, douleurs abdominales, diarrhée - éventuellement sanglante, maux de tête, nausées) dont la cause peut être attribuée à la même origine des aliments ou de l'eau (Dris, 2020).

Les agents infectieux les plus souvent en cause sont les bactéries (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Camphylobacter*) et certains virus comme les rota virus (Amamra et al., 2020).

Salmonella sp, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* sont des agents impliqués dans les TIAC dans les pays du Maghreb (Aoued et al, 2010 ; Mouffok ,2011).

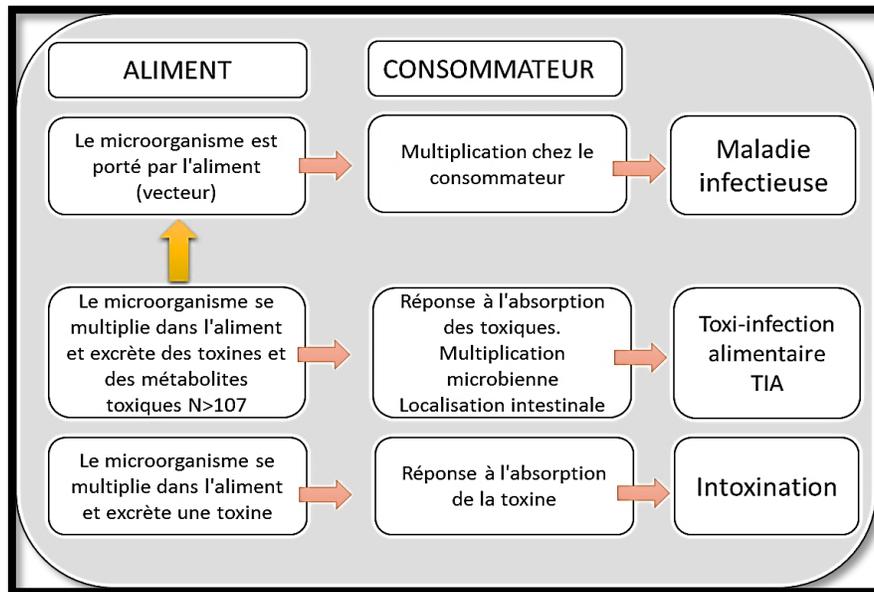


Figure n°13 : Principale interactions entre aliment, microorganisme, consommateur (Jean-Louis, 2007).

III.2- Agents causaux

Agent bactérienne			
Micro-organisme ou Toxine	Caractères Morphologiques	Symptômes	Aliments à risqué
<i>Salmonella Enterica</i>	Bacilles à gram négatif	Diarrhée, fièvre élevée, crampe abdominale, vomissements, maux de tête.	- viandes crues (volaille, porc) - des produits à base d'œufs (pâtisseries) - des produits laitiers et des produits préparés (salade de pomme de terre)
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Bactéries à gram positif	nausées, vomissement, douleurs abdominales, Crampes et Diarrhée.	- 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
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Un bacille à Gram négatif Ubiquitaire	une fièvre, une perte de l'audition, une violente douleur au niveau de l'oreille.	L'eau
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Diplo-coccobacilles, gram Négatif	bronchiolites contractées en ville chez l'enfant en bonne santé. trachéobronchites chez l'adulte immunodéprimé.	- L'eau douce, lait, viande et Volailles
<i>Proteus mirabilis</i>	Bacilles (en forme de bâtonnets) Gram négatif	Douleurs pelviennes, infections urinaires hautes avec fièvre, douleur lombaire.	- L'eau polluée
<i>Bacillus cereus</i>	Bacilles Gram positif	nausées et vomissements Diarrhées, crampes parfois, vomissement.	- Les régions où les aliments sont manipulés de façon inadéquate

Tableau n°01 : Les principaux germes responsables de T.I.A.C (Henni et Boughari, 2022 ; Amamra et al., 2020).

III.3. Les antibiotiques

Ce sont des produits chimiques élaborés par des micro-organismes; ces substances ont la capacité d'inhiber la croissance ou le développement d'autres micro-organismes (bactéries) dans lesquels elles pénètrent en perturbant le métabolisme ou en agissant spécifiquement sur sa phase basique, mais qui ne sont pas toxiques pour les autres personnes ou les cellules animales.

La gamme d'antibiotiques a d'abord été limitée aux substances d'origine biologique produites par des champignons, puis élargie et comprend actuellement d'autres produits ayant le même effet antibactérien, mais obtenus par synthèse (**Benzeggouta, 2005**).

Par différents mécanismes d'action, les antibiotiques peuvent agir sur : la synthèse des peptidoglycanes et donc sur la paroi cellulaire (β -lactamines, glycopeptides, fosfomycine), les membranes (polymyxines), la synthèse protéique (macrolides et aminoglycosides, acides carboliques, tétracyclines), l'acide nucléique synthèse (quinolones, rifamycines, nitroimidazoles) et métabolisme intermédiaire (sulfamides, triméthoprim) (**Demoré et al., 2012**). Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie (**figure n°14**).

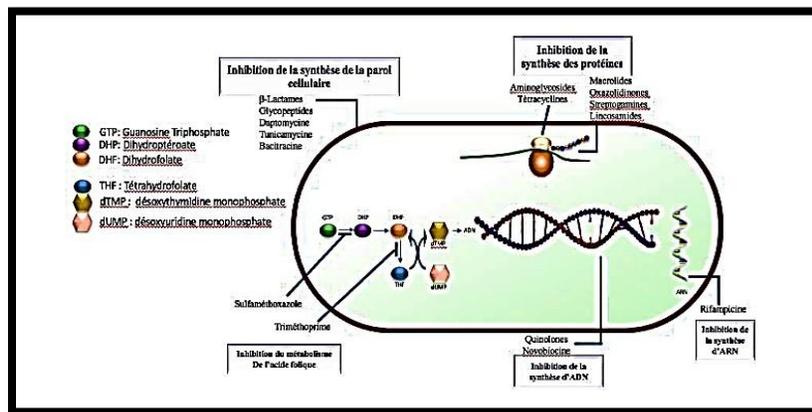


Figure n°14: Mode d'action des antibiotiques (**Singh et Barrett, 2006**).

Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN). Ainsi, ils interviennent dans les voies métaboliques de la synthèse de l'ADN, mais leurs principales cibles sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens (**Tableau n°02**)

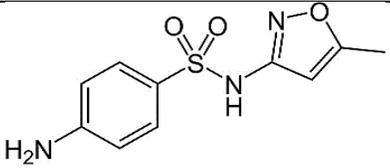
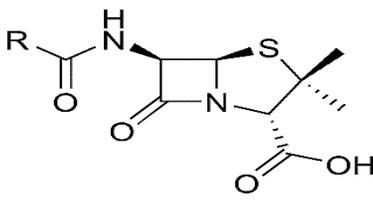
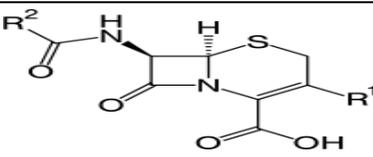
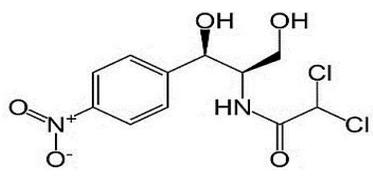
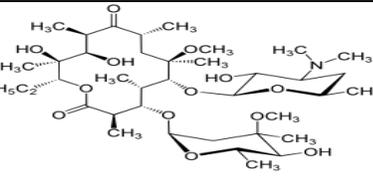
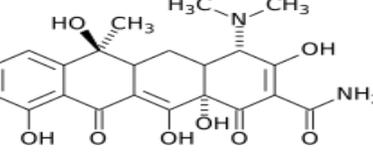
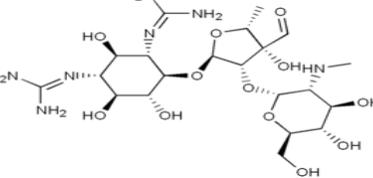
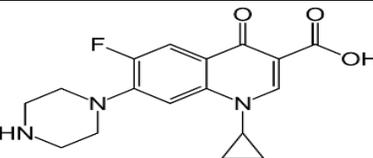
Classe	Origine	Mode d'action	Exemple	Structure chimique
Sulfamides	Synthétique	- Inhibent la synthèse de l'acide folique - Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole	
β-Lactames de 1ère génération	Penicillium notatum	-Inhibent la synthèse du peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline	
	Penicillium chrysogenum		Céphalosporine	
β-Lactames de 2ème génération	Cephalosporium			
Phénylpropanoïdes	Streptomyces venezuelae	-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	Streptomyces erythraeus		Erythromycine	
Tétracyclines	Streptomyces	-Bloquent la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome	Tétracycline	
Aminoglycosides	Streptomyces ou Micromonospora	-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	Syntétique	-Inhibent la gyrase bactérienne	Ciprofloxacine	

Tableau n°02 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).

III.4- Antibiorésistance

La résistance aux antimicrobiens, également appelée AMR (Anti Microbial Resistance), est un terme utilisé pour décrire le fait que certaines bactéries deviennent résistantes aux thérapies ciblées.

L'antibiorésistance est reconnue comme un problème de santé publique majeure dans le monde entier, affectant les pays développés et les pays sont revenus faible et intermédiaire. Comme la pandémie de Covid-19, le phénomène de résistance aux antibiotiques bouscule des sociétés entières et leurs institutions, mais à la différence qu'il fonctionne au moins discrètement, aggravant le pronostic de nombreuses maladies. Son apparence et ses résultats sont si divisés qu'il est difficile d'évaluer et d'arrêter (Claire, 2022).

La (figure n° 15) montre les mécanismes pouvant être mis en place pour contourner l'effet d'un antibiotique. Les bactéries peuvent (1) inactivation enzymatique de l'antibiotique(2) modification de la cible de l'antibiotique, (3) efflux actif de l'antibiotique, (4) perméabilité réduite, (5) protection de la cible de l'antibiotique, (6) piégeage de l'antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012).

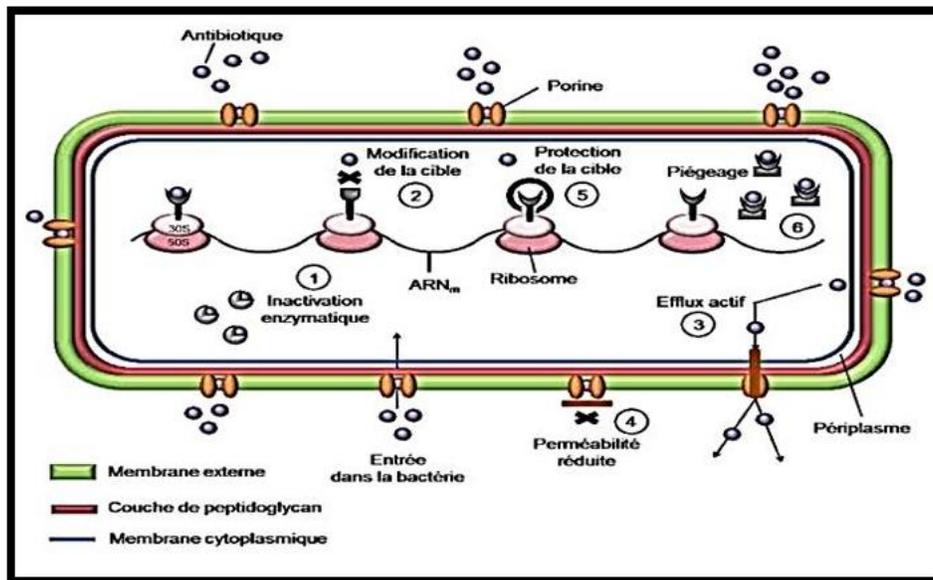


Figure n° 15 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques dans une bactérie gram négative (Muylaert, Mainil, 2012).

- Effet antimicrobien des huiles essentielles

Des recherches récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs composants présentent un grand potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux.

La diversité moléculaire des métabolites impliqués leur confère non seulement des rôles et des propriétés biologiques très différents, mais offre également des utilisations moins nocives du fait de l'absence d'effets secondaires (**Dris, 2020**).

Pour la même raison, il est important de noter qu'aucune résistance spécifique aux huiles essentielles n'a été décrite et que certaines d'entre elles sont des alternatives ou des compléments efficaces aux antibiotiques sans présenter les mêmes effets secondaires (**Rosato et al., 2010**).

L'activité antimicrobienne a consisté à estimer l'inhibition de la croissance des germes soumis à l'action de l'HE de *C. sempervirens L* (**Amara et Boughérara, 2017**).

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

Du fait de la variabilité de la quantité et de la répartition des constituants des huiles essentielles, leur activité antibactérienne ne peut être attribuée à un mécanisme mais à multiples sites d'action au niveau cellulaire (**Henni et Boughari, 2022**).

D'après la (**figure n°16**), l'action des huiles essentielles peuvent être résumés en deux grandes catégories :

Dommages membranaire : En traversant la paroi bactérienne et la membrane plasmique, les composés aromatiques des huiles essentielles imprègnent la membrane et perturbent son fonctionnement. Cela peut éventuellement conduire à une lyse bactérienne. Il peut également réduire la fluidité membranaire, ce qui affecte le bon fonctionnement des bactéries.

Dommages cytoplasmiques : Les COV des HE peuvent provoquer une coagulation cytoplasmique et endommager les protéines et les lipides qu'ils contiennent (**Danielle, 2022**).

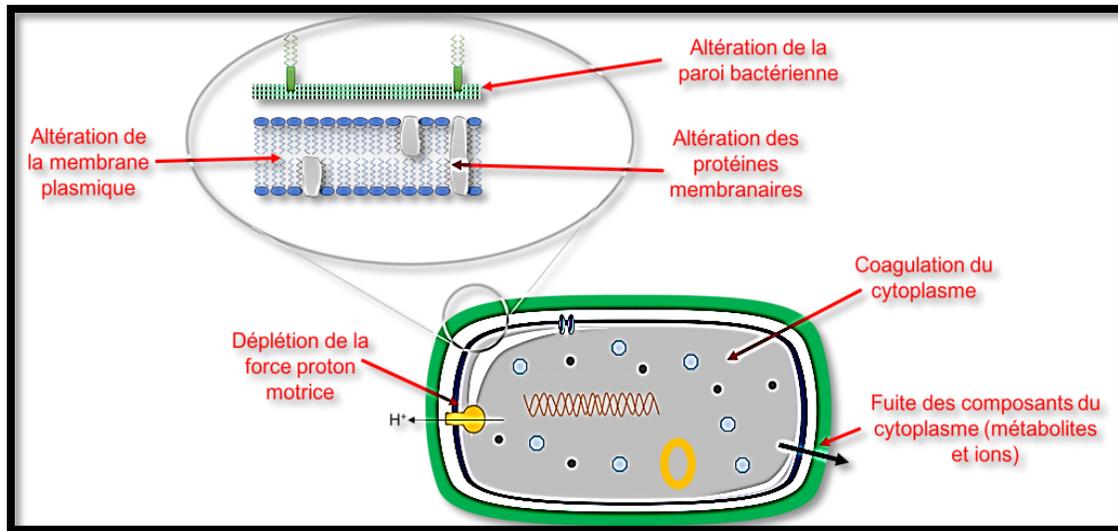
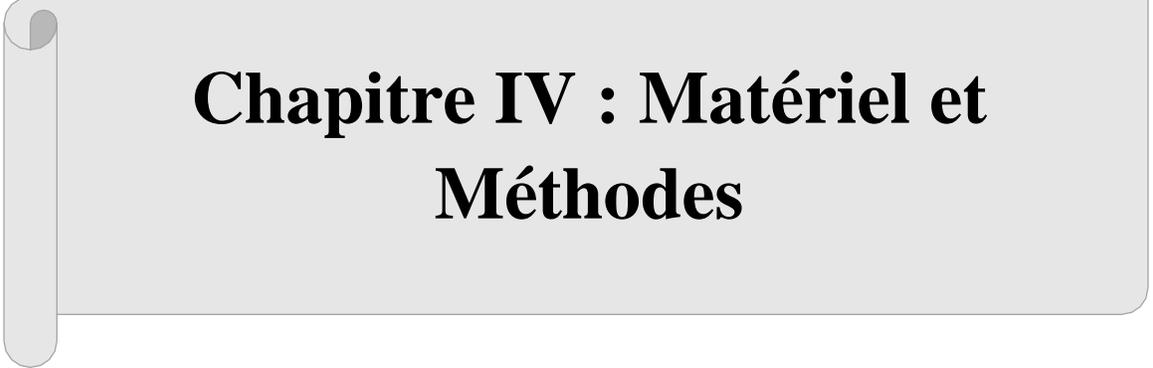


Figure n°16 : Mode d'action des HE sur les bactéries



Etude Expérimentale



Chapitre IV : Matériel et Méthodes

Notre travail basée sur l'extraction des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* 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 situé au nord-ouest de l'Algérie dans la wilaya de Tissemsilt à quelques kilomètres de la ville éponyme de Théniet El Had au cœur de L'Atlas tellien.

Le parc s'étend sur une superficie de 3425 ha dont 2968 ha sont recouvert de végétation. Il représente un ensemble de sites naturels très intéressant par la richesse de sa faune et de sa flore, son réseau hydrographique et sa géomorphologie.

Le Parc National Theniet El Had (PNTEH) est un massif forestier occupant les deux versants du Djebel El Meddad (Montagne des cèdres).

Il est situé à 02 km au sud-ouest de la ville de Theniet El Had. Il est partie prenante de l'Ouarsenis. Ensemble, ils constituent la chaîne sud de l'atlas tellien.

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

IV.1.1- Caractéristiques climatiques

Le PNTEH a un climat subhumide ou des hivers humides à froids, selon l'altitude et la pente. son climat Elle se caractérise par une grande variation tout au long de l'année, avec une augmentation de moyenne à 792 mm (**Loukkas, 2006**).

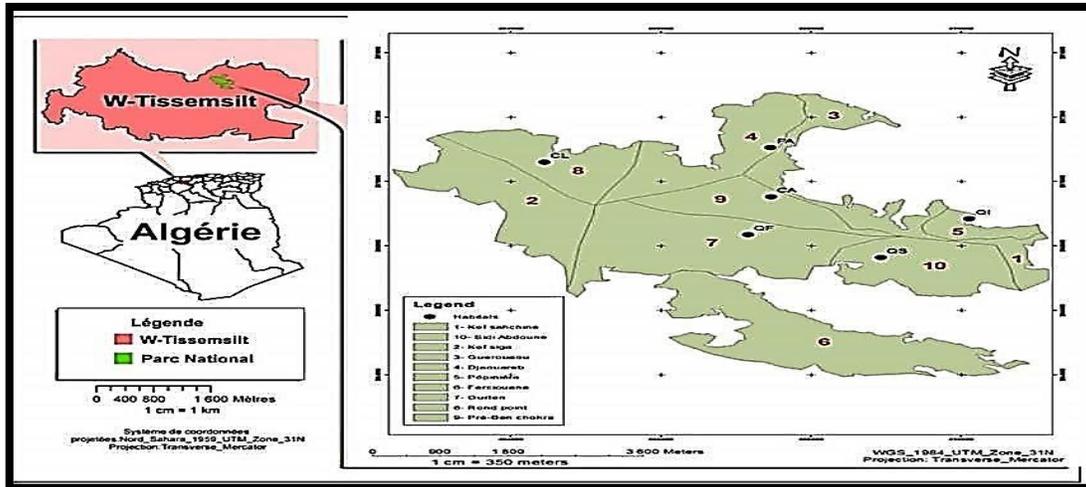


Figure n° 17 : Carte de situation du parc national de Theniet El Had

Le parc national de Theniet El Had est divisé en dix cantons, dont la grande partie de superficie se trouve au niveau du versant Sud.

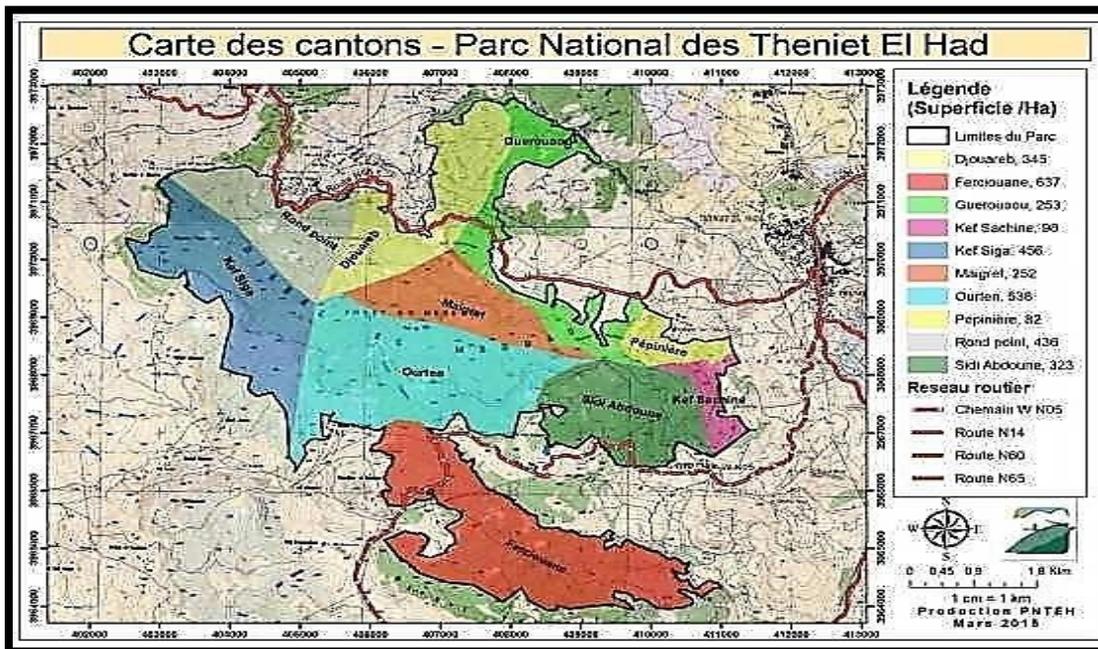


Figure n° 18 : Carte des cantons - Parc national de Theniet El Had (Belkaid, 2018).

IV.2- Matériel végétal

IV.2.1- Récolte :

Les feuilles et rameaux de *Cupressus sempervirens* ont été récoltés dans la région de Theniet El Had (tissemsilt) durant la période matinale vers 9:00 heures au mois de mars le 12/2023. Durant la récolte et par une analyse visuelle à l'œil nu, deux critères de sélection du matériel végétal ont été pris en considération qui sont la densité et la couleur des feuillage .

Les échantillons récoltés ont été nettoyés et sont mis dans des sachets en plastique pour être utilisé par la suite au laboratoire.



Figure n° 19 : Des rameaux feuillés du *Cupressus sempervirens* dans la région de Theniet El Had (originale 2023)

IV.3- Extraction des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* :

IV.3.1- Extraction par hydrodistillation

Extraire les huiles essentielles des feuilles et rameaux de *Cupressus sempervirens*.L a été extraites à l'aide d'un hydrodistillateur de Type Clevenger (**Figure n°20**). Pour cela, 150 g de matière végétale fraîche est mis en contact avec 750 ml de l'eau distillée (**Annexe n° 01**) dans un

ballon (1L). 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 ballons en verre opaque (**Gardeli et al., 2008**).



Figure n°20 : Dispositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (Clevenger) (originale 2023)

IV.3.2- Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;
M' : Masse d'huile essentielle en gramme ;
M : Masse de la plante en gramme.

V.4- Procédés d'étude microbiologique

IV.4.1- Souches microbiennes testées

Dans notre étude, nous avons testé des souches bactériennes pour leur sensibilité. Il s'agit de six souches bactériennes dont quatre à Gram négatif et deux à Gram positif (**Tableau n°03**).

Toutes les souches testées sont connues pour leur pathogénicité et leur altération des aliments.

Souche	Code	Gram	Source
1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif	Institut Pasteur d'Alger
2. <i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606	Négatif	
3. <i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	Négatif	
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Positif	
5. <i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579	Positif	
6. <i>Salmonella enterica</i>	ATCC 35664	Négatif	

Tableau n° 03 : Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien

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 de jeunes cultures pures de 18 à 24 H en milieu de Gélose nutritive. Nous prenons quelques colonies bien isolées identiques des souches cibles avec un écouvillon stérile, puis diluées dans des tubes avec 5 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % (**Annexe n° 01**) et la suspension est bien homogénéisée par la suite.



Figure n°21 : Préparation de la suspension bactérienne (originale 2023)

La suspension bactérienne a été standardisée à 0.5 McF (McFarland), 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).



Figure n°22 : Lecture de la densité optique des suspensions bactériennes sur un spectrophotomètre (originale 2023)

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

(Antibiogramme)

Selon le Comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (AFNOR) (Jehl et al., 2015), la méthode de diffusion sur plaque de gélose est la méthode la plus simple et la plus fiable de démontrer la sensibilité bactérienne aux antibiotiques les plus couramment prescrits.

Dans des conditions stériles (à proximité d'un bec Bunsen (Annexe n° 01)), un volume de suspension bactérienne standard a été ensemencé avec des écouvillons stériles sur des cultures de gélose (Mueller Hinton) dans lequel on fait des stries serrées sans oublier les virages bord de la boîte de Pétri.



Figure n°23 : Prélèvement de la suspension microbienne puis ensemencement sur milieu gélose Mueller-Hinton (originale 2023)

S'assurer que la surface de la gélose est complètement sèche et utilisez des pinces de manière stérilisant, placer des disques d'antibiotiques (**Annexe n°1**) sur la surface gélose Mueller-Hinton (**Figure n°24**).



Figure n°24 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé (originale 2023)

Les disques sont clairement identifiés par un sigle, composé de 1 à 3 lettres, (**Tableau n°04**)

Sigle	Antibiotique	Charge du disque en µg
CT	Colistine	10
TE	Ticarcilline	30
NA	Acide nalidixique	30
AMC	Amoxicilline	30
C	Chloramphénicol	30
SXT	Triméthoprim – sulfaméthoxazole	25
CIP	Ciprofloxacine1	5

Tableau n° 04 : Les antibiotiques utilisés pour L'antibiogramme

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 des cercles uniformes dans lesquels aucune croissance n'a été observée.

Pour chaque souche microbienne, la sensibilité ou la résistance à un ATB 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'aromatogramme est une méthode par diffusion sur gélose permet de étudier la sensibilité micro-organismes pour les huiles essentielles et mesurer leur pouvoir antibactérien fiable et reproductible (**Derbré et al.,2013**).

Nous avons Utilisé la méthode de diffusion sur milieu gélose "Aromatogramme" our évaluer l'activité bactérienne des HEs.

Donc, nous avonsensemencé une suspension bactérienne standardisée en l'étalant uniformément sur la gélose Muller Hinton(MH). Disques en papier stérilisés de 6 millimètres de diamètre (Whatman TM) (**Annexe n°1**).

Faire tremper dans 10 µl d'HE et étaler sur la surface de la gélose (un disque par boîte) (**Figure n°25**).

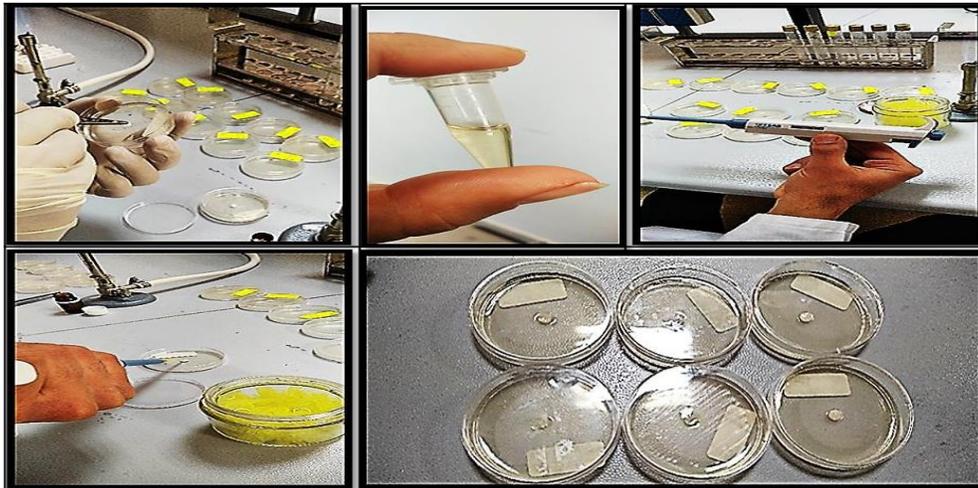
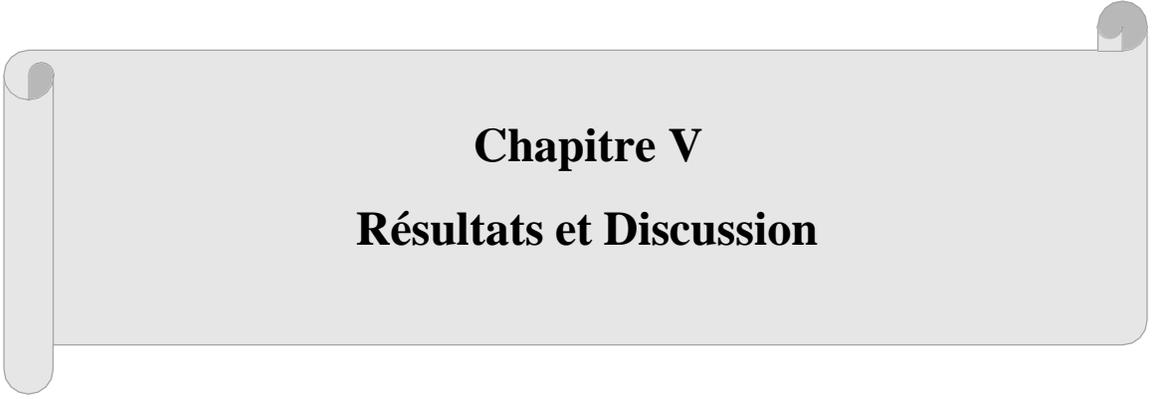


Figure n°25 : Dépôt des disques contenant l'huile essentielle de *Cupressus sempervirens* à la surface des boîtes ensemencées (originale 2023)

Les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à 37°C pendant 24heures. Après ce délai, les résultats sont lus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse. La sensibilité à l'huile est classée, selon le diamètre des halos 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 (+++)

Tableau n° 05: Degrés de sensibilités de la croissance microbienne et Leurs diamètres des zones d'inhibition (**ponce et al., 2003**)



Chapitre V
Résultats et Discussion

V.1- Extraction des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens*

V.1.1- Rendement en huile essentielle (R)

Les rendements en huiles essentielles affichent des valeurs de l'ordre de 0, 11 % (**Tableau n°06**) :

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

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	1.08	0.12	0.11
02	900	4500	1.02	0.11	
03	900	4500	1.08	0.12	

Tableau n°06: Rendement massique des huiles essentielles extraites.

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que le rendement en huiles essentielle des rameaux feuillés de la plante étudiée semble inférieure à celui mentionné par **Amara et Boughérara, (2017)** sur *Cupressus sempervirens L* de la région de Bougara (Blida) (0.32 %) Ainsi que ceux ramené par **Ben Arbia et Nebhi, 2020** pour le *Cupressus sempervirens* de la forêt d'Errich et Hammame Fraksa, El Hachimia à la wilaya de Bouira (0.31 %).

Les différences observées dans les rendements en huiles essentielles sont liées à plusieurs facteurs. Facteurs biotiques et abiotiques telles que l'origine, le moment et l'âge de la récolte, conditions de la plante, humidité du matériel végétal, techniques d'extraction, etc (**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°26**).



- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| 1 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 : <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| 3 : <i>Proteus mirabilis</i> | 4 : <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 5 : <i>Bacillus cereus</i> | 6 : <i>Salmonella enterica</i> |

Figure n°26: Les résultats de l'antibiogramme (originale 2023)

Nous avons trouvé une grande variation de diamètre des zones d'inhibition (entre 0et 42,65mm) qui sont résumés dans le **tableau 07** :

Antibiotiques	Souches																							
	<i>Aeruginosa</i>		<i>Pseudomonas.</i>		<i>Baumannii</i>		<i>Acinetobacter</i>		<i>mirabilis</i>		<i>Protens</i>		<i>Aureus</i>		<i>Staphylococcus</i>		<i>Cereus</i>		<i>Bacillus</i>		<i>Enterica</i>		<i>Salmonella</i>	
	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT	D (mm)	INT		
Colistine	8,20	-	8,10	-	14,90	++	11	+	0	-	9,75	-												
Ticarcilline	35	+++	37	+++	9,50	-	30	+++	35,10	+++	26	+++												
Acide nalidixique	22,10	+++	30,75	+++	0	-	30,20	+++	35	+++	23,40	+++												
Amoxicilline	20	+++	20,50	+++	10,50	+	38	+++	18,80	++	8,30	-												
Chloramphénicol	31,10	+++	36	+++	29	+++	35,75	+++	32,35	+++	31,10	+++												
Triméthoprime - sulfaméthoxazole	12	+	15	++	0	-	42,70	+++	18,75	++	21,85	+++												
Ciprofloxacine	32,40	+++	34	+++	20,70	+++	42,65	+++	32,10	+++	33,65	+++												

<ul style="list-style-type: none"> • mm<10 Non sensible (-) Résistance • mm 10 à 14 Sensible (+) • mm15 à 19 Très sensible (++) • mm>20 Extrêmement sensible (+++) <p>(Ponce et al. 2003 ; Moreira et al. 2005)</p>	<p>INT : interprétation D (mm) : diamètre des zones</p>
---	---

Tableau n° 08 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre la de zone d'inhibition (mm)

Certaines souches bactériennes se sont avérées extrêmement sensibles à certains antibiotiques, tels que :

- Chloramphénicol (31,10mm), Ciprofloxacine (32,40mm) et Ticarcilline (35mm) contre *Pseudomonas aeruginosa* et également contre *Acinetobacter baumannii* (de 36 à 37mm).
- Ciprofloxacine et Triméthoprime – Sulfaméthoxazole contre *Staphylococcus aureus* (42,65 et 42,70mm) respectivement.
- Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Acide nalidixique et Ticarcilline contre *Bacillus cereus* (de 32 à 35mm) et aussi contre *Salmonella enterica* (de 23 à 33mm).

D'un autre côté, Certaines bactéries ont montré une résistance aux antibiotiques :

- *Pseudomonas aeruginosa* contre Colistine (8,20mm), *Acinetobacter baumannii* contre Colistine (8,10mm), *Proteus mirabilis* contre Ticarcilline (9,5mm), *Salmonella enterica* contre Colistine (9,75mm).

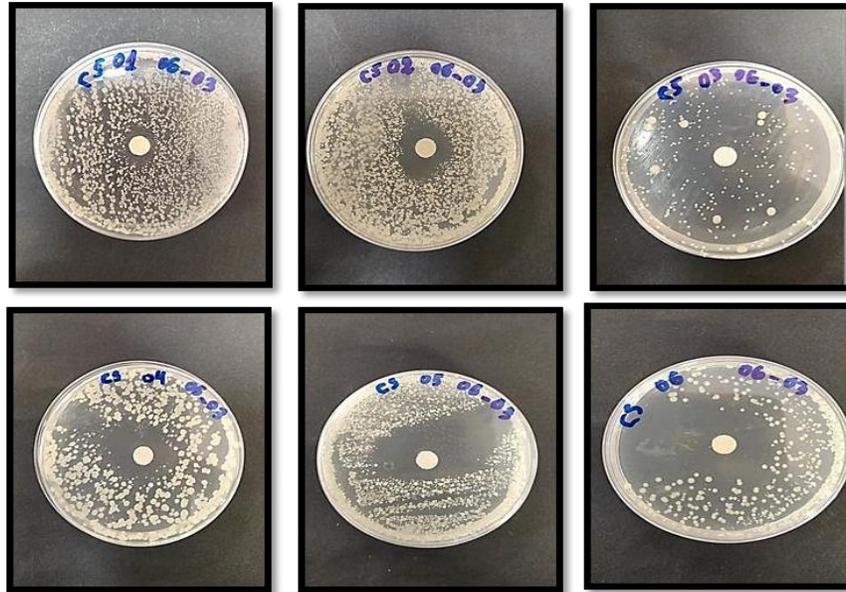
De plus, les antibiotiques qui se sont avérées inactives contre les bactéries sont les suivantes :

- Acide nalidixique et Triméthoprime – Sulfaméthoxazole vis-à-vis *Proteus mirabilis*.
- Colistine contre *Bacillus cereus*.

V.2.2- l'aromatogramme

Un aromatoigramme est une méthode *in vitro* de mesure de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Par conséquent, ce test est équivalent à un test antibiotique avec des huiles essentielles substituées aux antibiotiques.

Les résultats présentés dans (**Figure n°27**) sont obtenus et l'activité antibactérienne des huiles essentielles peut être évaluée.



- | | |
|----------------------------------|------------------------------------|
| 1: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 : <i>Acinetobacter baumannii</i> |
| 3: <i>Proteus mirabilis</i> | 4 : <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 5: <i>Bacillus cereus</i> | 6: <i>Salmonella enterica</i> |

Figure n°27: Effet d'HE de *Cupressus sempervirens* (originale 2023)

Démontrer l'effet antibactérien de l'huile essentielle pure de *Cupressus sempervirens* inhibition de la croissance des souches cibles.

N°	Souches	Diamètre (mm)
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 mm
2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	14,6 mm
3	<i>Proteus mirabilis</i>	0 mm
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	17,5 mm
5	<i>Bacillus cereus</i>	18,3 mm
6	<i>Salmonella enterica</i>	20,65 mm

Tableau n°09: Mesure du diamètre de la zone d'inhibition

D'après les résultats présentés dans (**Tableau n°09**), Le diamètre de la zone d'inhibition dépend de la sensibilité de la souche employée.

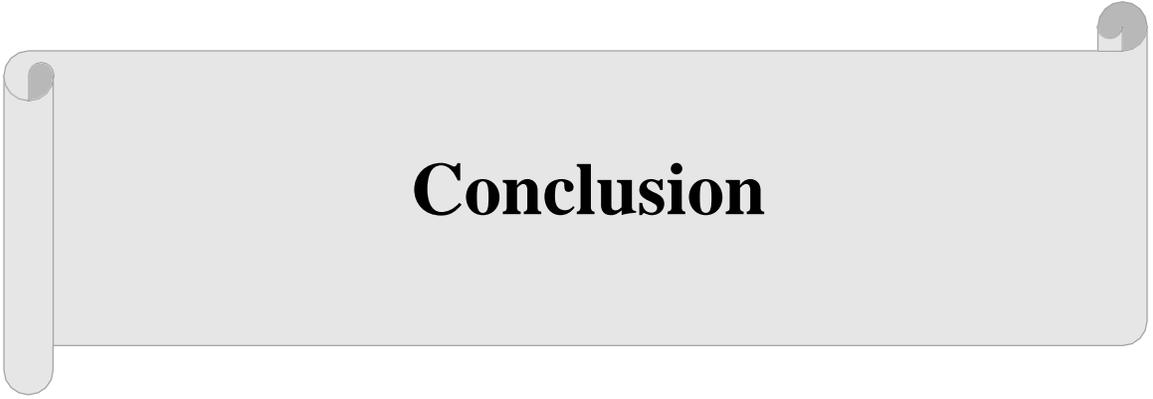
Salmonella enterica est la seule souche extrêmement sensible aux huiles essentielles (20,65 mm) suivi par *Bacillus cereus* qu'est très sensibles avec une zone d'inhibition de (18,3 mm) Concernant les bactéries les moins sensibles aux HE sont *Staphylococcus aureus* (17,5) et *Acinetobacter baumannii* (14,6 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (10 mm).

Par contre, *Proteus mirabilis* présente une résistance à l'huile essentielle de *Cyprès*. (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).

Selon Dorman et Deans (2002), la susceptibilité des bactéries envers les huiles essentielles ainsi que le type de leur Gram, ne semble avoir qu'une petite influence sur l'inhibition de la croissance microbienne

Selon Mazari et al., (2010), l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE du *Cupressus sempervirens L.* isolée d'Algérie contre 4 souches bactériennes référencées dont 3 Gram-positives (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*) et 2 Gram-négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ont démontré que cette HE inhibe la croissance de ces bactéries avec un diamètre de 10,3mm pour *Staphylococcus aureus*, 9mm pour *Bacillus cereus*.

En ce qui concerne les bactéries Gram négatif, elles présentent également une sensibilité moyenne vis-à-vis de cette HE car elles ont respectivement des diamètres d'inhibition de 9,6 mm et 6,8mm. L'étude réalisée par Selim et al., (2014) sur l'activité antimicrobienne et antibiofilm des extraits méthanoliques et de l'HE du *cyprès méditerranéen (Cupressus sempervirens L)* a démontré que l'HE du *cyprès vert* possède une faible activité antimicrobienne (*in vitro*).



Conclusion

Le *Cyprès* est considéré comme l'une des plantes les plus appréciées en raison de ses différentes propriétés (propriétés médicinales, pharmacologiques et cosmétiques). La connaissance et l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques représentent un véritable patrimoine humain. Ils étaient utilisés quotidiennement pour se parfumer, cuisine et se soigner. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée durant ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent.

L'extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* de Thniet el Had (Tissemsilt) a donné un rendement de l'ordre de 0.11 %. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du *Cupressus sempervirens* 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 *Salmonella enterica* est la souche la plus sensible avec une zone d'inhibition de 20.65mm. Par comparaison aux huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* ; les antibiotiques n'étaient pas tous actifs contre les souches testées, certains étaient même inactifs tels que la Colistine contre *Bacillus cereus*.

Le plus grand diamètre d'inhibition a été enregistré par l'Imipénème (42.7 mm) contre *Staphylococcus aureus*. Cette étude nous a permis de faire une comparaison intéressante entre l'activité inhibitrice de la croissance des bactéries par des antibiotiques standards et l'effet antimicrobien de nos huiles essentielles.

Les résultats obtenus ont montré une efficacité très remarquable, mais certaines souches sélectionnées présentent une résistance a certains antibiotiques standards.

L'ensemble des résultats obtenus lors de notre recherche représentent une étape préliminaire dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives, Il serait intéressant de soutenir ce travail par :

- L'analyse biochimique des substances constituant les huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* ;
- Extraction des huiles essentielles d'autres parties de l'espèce de *Cupressus sempervirens*;

- Tester d'autres méthodes d'extraction et leurs influences sur le rendement en huiles essentielles;
- Évaluation de l'activité antioxydante, anti inflammatoire et antivirale ;
- L'étude des mécanismes d'action des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens*.



Références Bibliographiques

Abdelli W, 2018, « Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* ». Thèse de Doctorat, Université de Mostaganem (Algérie), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Aissaoui A, Benchahra A, Harkett R, Krimi A, 2022, Etude de l'activité antibactérienne du Cyprès, Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master, Université de 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences de la Nature Et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers p66.

Ait Abdelouhab N, 2008, Microbiologie Alimentaire. 3^{ème} édition. PP 147. Anne-Marie REVO; L'hygiène alimentaire Compte-rendu bibliographique Tutrice en 2015-2016 p24.

Aliane L, Amazouz A, 2016, Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha x piperita* L. et *Cupressus sempervirens* L. Mémoire de fin d'études Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomique.

Amamra S, Meissa C, Taleb A, Z, 2020, Toxi-infection Alimentaire (TIA) dans la région d'El-Oued, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, Université Echahid Hamma Lakhdar d'EL-OUED, Faculté des Science de la nature et de la vie.

Amara N, Boughérara Y, 2017, Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du *Cyprès Vert* (*Cupressus Sempervirens* L).

Aoued L., Benlarabi S. and Soulaymani-Bencheikh R., 2010, Maladies d'origine alimentaire Définitions, Terminologie, Classifications. Toxicol. Maroc. 6, 1-16.

Belgharbi H ,2020, Etude de l'effet inhibiteur de corrosion de l'huile essentielle de *Cyprès* : Extraction, caractérisation et application, Mémoire du Projet de fin d'étude, Université 8 Mai 1945 Guelma, Faculté des Sciences et de la Technologie p84.

Ben Arbia S et Nebhi N, 2020, L'effet antifongique des huiles essentielles du *Cyprès* (*Cupressus sempervirens* L) et du *Genévrier* (*Juniperusphoenicea* L) sur *Fusarium*, Mémoire de fin d'études, Université de Bouira.

Benzeggouta N, 2005, Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme Aliments. Thèse de magister en pharmaco chimie, Université Mentouri de Constantine, p14-18.

Bouamer A, Bellaghit M. et Mollay Amara, 2004, Etude comparative entre l'huile essentielle de la *menthe verte* et la *menthe poivrée* de la région de Ouargla ; Mémoire du Projet de fin d'étude Université.Ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.

Bouanane N, Boussehel N, 2005, contribution agroécologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (*menthe piperata L*) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation de ses huiles essentielles en thérapie, Ouargla 2005- p22-23 ; 28.

Boulouaret W, Boufroua R, 2020, Etude chimique et biologique des huiles essentielles et des métabolites secondaires de deux plantes médicinales : *Myrtus communis L.* et *Mentha pulegium L.* Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel, Faculté des Science Exactes et Informatique.

Bruneton J, 1999, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ém} Édition. Médicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan, [S.l.], Paris, 199- 673p.

Caillet S,Lacroix M,2007, Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS - Institut Armand - Frappier, Université de Laval (Québec).

Cheraief, H. Ben Jannet, M. Hammami, Gannoun, S., 2006, "Composition chimique de l'huile essentielle des cônes du *Cupressus sempervirens. L.* " Poussant en Tunisie, Journal de la société Algérienne de chimie, p 91-98.

Dahah H, 2019, Étude de l'effet antifongique des extraits de *Cupressus sempervirens* et *Lepidium sativum* sur *Colletotrichum* sp. Agent de l'anthracnose de la tomate, *Lycopersicum esculentum Mill*, Mémoire de fin d'études Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Dalia F, Benkhemissa M, 2020, L'aromathérapie : exploration du potentiel anti-infectieux des huiles essentielles. Pharmacie centrale CHUC, Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Médecine, Université Constantine. Laboratoire de Microbiologie médicale CHUC laboratoire de microbiologie Faculté de Médecine, Université Constantine.

Danielle S, 2022, Le mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries, Laboratoire Dumani.

Degryse A.C, Delpla I and Voinier M.A, 2008, Risques et bénéfices possibles des Huiles essentielles. Atelier santé environnement-IGS-EHESP, 87p.

Demoré B., Grare M., Duval R.E, 2012, Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. In : Pharmacie clinique et thérapeutique (coordonné par J Calop., S Limat., C Fernandez et G Aulagner), pp 801-844. 4ème édition, Elsevier Masson, Paris.

Derbré, S, Licznar-Fajardo, P, Sfeir, J, 2013, Intérêt des huiles essentielles dans les angines à *Streptococcus pyogenes*. Actualités Pharmaceutiques, 52(530), 46–50).

Deschepper, R, 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, p :11.

Dorman H.J.D., Deans S.G, 2000, Antimicrobial agent from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88 (2): 308-316

Dris I, 2020, Caractérisation chimique des huiles essentielles de Pistaci *lentiscus L.* Evaluation du pouvoir antimicrobien et antioxydant, Thèse présentée pour l'obtention de Doctorat, Université Ahmed Ben Yahia El wancharissi-Tissemsilt, Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Farjon A, 2010, a Handbook of the World's Conifers. Vol. 1, leiden-Boston: Brill.

Fekih N, 2014, propriétés chimiques et biologiques des huiles Essentielles de trois espèces du genre pinus Poussant en Algérie, thèse de doctorat, Université Tlemcen, faculté des sciences, p : 6-57.

Figueredo G, 2007, Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse pour le diplôme de docteur d'université (chimie organique). Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II).

Gharbi Z, 2005, *Cupressus sempervirens L.* in «A guide to medicinal plants in north Algeria». IUCN, International Union for Conservation of Nature: 93-94.

Goetz P. and Ghedira K, 2012, Phytothérapie anti -infectieuse. Paris: Springer Science & Business Media).

Hamada DJ, 2016, Etude Structure Activité des Principes Actifs de la Plante Anvillea.

Hedjal M, 2014, Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Diplôme de doctorat, faculté des sciences biologique et de la science agronomique, Université Mouloud Mammeri de Tizi ouzou, 103p.

Henni K, Boughari D, 2022, Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master, Université Ahmed Ben Yahia El wancharissi-Tissemsilt, Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

Hireche B, Ferhat H, 2019, Etude de l'effet inhibiteur des huiles essentielles de *Cyprès* (*Cupressus Sempervirens. L*) sur la corrosion de l'acier X70 (sans et avec soudure). Mémoire de master. Université Mohamed Khider de Biskra, faculté des sciences exactes et des sciences de la nature.

Jean-louis cuq, 2007, microbiologie alimentaire, Science et technologies des industries alimentaire 4^{ème} année, université Montpellier 2. Ministre de Commerce (Avril 2016). Les intoxications alimentaires en Algérie.

Jehl F, Lina G, Bonnet R, Bru JP, Caron F, Cattoir V, Chardon H, Courvalin P, Dubreuil L Jarlier V, Lambert T, Lefort A, Merens A, Nicolas-Chanoine MH, Plesiat P, Poly MC, Soussy CJ, Varon E, Weber P. 2015. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandation de 2015). The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST, 117.

Langumier M , Sabot R, R. Obame-Ndong, Jeannin M, Sablé S , Refait Ph , 2009, Formation of Fe(III)-containing mackinawite from hydroxysulphate green rust by sulphate reducing bacteria.

Lucchesi M.E, 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 de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.

Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C. et Fernandez X, 2010, Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea L.* and *Cupressus sempervirens L.* Journal of Medicinal Plants Research., 10(4): 959-964.

Mouffok F, 2011, Situation en matière de TIA en Algérie de 2010 à 2011. 2^{ème} congrès Maghrébin sur les TIA, Tunis le 14-15 décembre, 2011.

Muylaert A, Mainil JG, 2012, Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité », Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège, 20 Boulevard de Colonster, bâtiment 43a, 4000 Liège.

Nichane M, 2015, Contribution à l'étude du dépérissement du *cyprès vert* (*Cupressus sempervirens L.*) dans les monts de Tararas occidentaux (wilaya de Tlemcen). Thèse de doctorat, université de Tlemcen, Algérie.

Ouassou KR, Youlou S, Kanko C, Guessennd KN, Boti JB, Ahibo C, Casanova J, 2008, Etude chimique et activité anti diarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. European Journal of Scientific Research, 1: 94-103.

Pharmacopée Européenne 6° Ed,2008, version Française (inclus 6.0-6.2).

Piochon M, 2008, Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire du Projet de fin d'étude. Université du Quebec à Chicoutimi. Canada, 200p.

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. radiata Asteraceae, thèse de doctorat, université d'Ouargla, p : 8-31.

Rahmani Z, 2022, Contribution à l'étude phytochimique, Electrochimique et biologique des extraits de *Cupressus sempervirens(L)*. Thèse présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de doctorat Université Kasdi Merbah-Ouargla Faculté des Mathématiques et des Sciences de la matière, 152p.

Rawat, P., Khan, M.F., Kumar, M., Tamarkar, A.K., Srivastava, A.K., Arya, K.R., and Maurya, R., 2010, Constituents from fruits of *Cupressus sempervirens*. *Fitoterapia*, 81(3): p. 162-166).

Rhayour K, 2002, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. p: 170.

Riom C, 2010, *Le Cupressus sempervirens* et approche du concept du pollinier sentielle Nantais. Thèse de doctorat, université de Nantes, France.

Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A, Vitali M E et Vitali C, 2010, In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 3289-3295.

Samate A, 2002, Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso: valorisation, thèse de doctorat, université d'Ouagadougou, p : 4-59.

Selim S.A, Adam M.E, Albalawi A.R. et Hassan S.M, 2014, Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens*). *BMC Complementary and Alternative Medicine.*, 14(179): 1-8.

Shirner M, 2004, Huiles essentielles. Description et utilisation de plus de 200 huile essentielles et huiles végétales. 1 réédition, Gy Trédaniel Editeur, Paris.

Singh SB, Barrett JF, 2006, Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*, 71(7), 1006-1015. Stahl-Biskup E, Saez F. 2002. Thyme: The Genus *Thymus*. *Medicinal and Aromatic Plants Industrial Profiles*, 352.

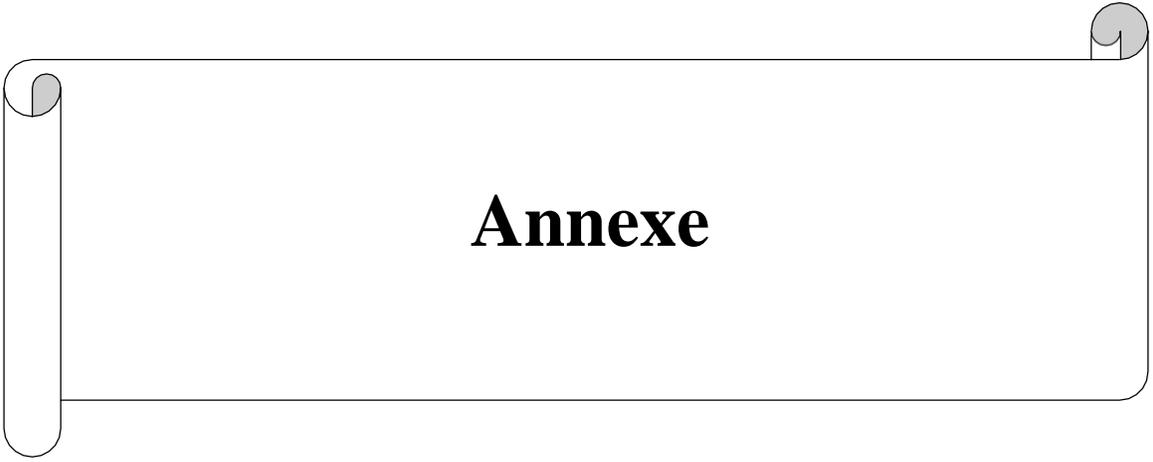
Sousa D.P, 2012, Medicinal Essential Oils: Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspects. Nova Science Publishers 1ère éd. 236p.

Tapondjou A.L., Alder C., Fontem D.A., Bouda H. et Reichmuth C, 2005, Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Mostschulsky and *Tribolium confusum* du val. *Journal of Stored Products Research.*, 1(41): 91-102.

Valdivieso-Ugarte M, Gomez-Llorente C, Plaza-Díaz J, 2019, Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. *Nutrients*, 11(11), 2786.

Zhao D., Xu W., Yanga G., Husainib A, Wua W, 2012, Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq and *Mentha spicata* L. from China, *Industrial Crops and Products* 42, 251-260.

Zhiri A., 2006, Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra News Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix, 12, 8p.



Annexe

Annexe n° 01: Matériel utilisé dans laboratoire**Matériels**

- Ecouvillon
- Bec benzen
- Bécher
- Boite de pétri
- Papier Whatman et disque d'antibiotique
- Etiquettes
- Papier aluminium
- Pince
- Pipette et micropipette
- Pissette
- Portoir
- Seringues
- Les tubes à essai
- Pied à coulisse

Réactifs

- Eau distillé
- Eau physiologique stérile
- Le sulfate de sodium anhydre (Na₂S₀₄)

Appareillage

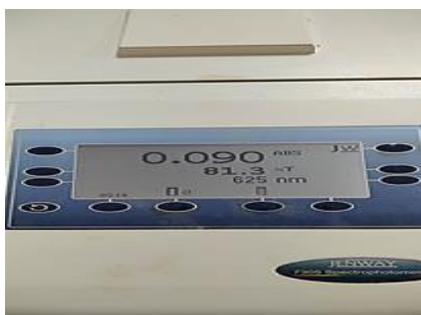
Etuve



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