

Dédicace

Avec un plus grand respect, je dédie ce modeste travail au plus grand trésor que je possède, à ceux qui m'ont appris à aimer la vie et à affronter ses problèmes avec courage et patience à toi ma chère mère et mon chère père.

A celui qui a su donner goût à ma vie, mon âme sœur mon mari Billel

A ma deuxième maman « Zahiya » et mon deuxième père

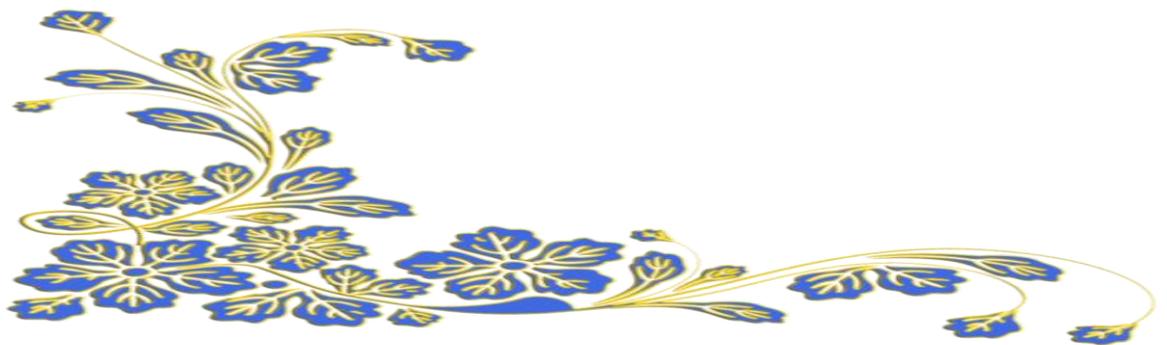
« Youcef »

A mes très chères sœurs : Hanane, Yasmine et mon chère frère Djamel eddine

A mes chères nièces : Manare, Rania et Wissel

A mes chères belles sœurs : Fouzia, Nabila, Zahra, Chahinez, Sarah et khadidja.

A toute ma famille et mes ami(e)s, a tous mes enseignants, a tous les Biologistes et les Agronomes.



Remerciement

Je remercie DIEU le tout puissant, qui ma donné la force et ma permis de mener à bien ce travail.

Je tiens particulièrement à remercier ma Promotrice, Mme AMARAN pour avoir accepté la charge d'être reportrice de ce mémoire, qui a guidé mes pas par ses précieuses compétences.

Je tiens à remercier et à exprimer mon respect au présidente du jury Mme GHANAI.R, qui m'a fait l'honneur de présider les jury de ce mémoire. J'exprime toute ma gratitude à Mme MOHAMED OUALI.D, qui a accepté d'examiner ce travail. Qu'ils puissent trouver ici le témoignage de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants qui font de leurs mieux afin de nous offrir de bonnes études et qui se sont montrés très compréhensifs à notre égard.

Je remercie également toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.



Liste des figures

Figure 1. Caractéristiques botaniques du Cèdre de l'Atlas	04
Figure 2. Localisation de <i>Cedrus atlantica</i> en Algérie	06
Figure 3. Les rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas	15
Figure 4. Les rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas après séchage	16
Figure 5. Dispositif de l'extraction des HE par hydrodistillation (Clevenger)	17
Figure 6. Principe de la méthode de diffusion par disque. (Aromatogramme)	23
Figure 7. Principe de la méthode de diffusion en phase vapeur. (Microatmosphère)	24
Figure 9. Activité antibactérienne de l'essence aromatique du <i>Cedrus atlantica</i> M par Aromatogramme.	30
Figure 10. Activité antifongique de l'essence aromatique du <i>Cedrus atlantica</i> M par Aromatogramme.	33
Figure 11. Activité antibactérienne de l'HE par Microatmosphère	35
Figure 12. Activité antifongique de l'HE par Microatmosphère	36
Figure 13 : Représentation graphique des deux tests antibactériens de l'HE de Cèdre de l'Atlas.	37
Figure 14 : Représentation graphique des deux tests antifongiques de l'HE de Cèdre de l'Atlas.	37

Liste des figures

Liste des tableaux

Tableau I. Caractères botaniques et biologique des quatre espèces du Cèdre	05
Tableau II. Répartition des Cédraies Algériennes selon le climat	08
Tableau III. Composition chimique des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas	12
Tableau IV. Les différentes souches bactériennes utilisées	16
Tableau V. Les diamètres d'inhibition et leurs degrés de sensibilités	23
Tableau VI. Paramètres physico-chimiques de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas.	26
Tableau VII. Diamètres des zones d'Inhibition de la croissance microbienne (en mm) de l'essence aromatique de <i>Cedrus atlantica</i> M. par la méthode de l'Aromatogramme	28
Tableau VIII. Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'essence aromatique de <i>Cedrus atlantica</i> M. par la méthode de l'Aromatogramme.	31
Tableau IX. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (en mm) de l'essence aromatique de <i>Cedrus atlantica</i> M. par Microatmosphère.	34
Tableau X. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique (en mm) de l'essence aromatique de <i>Cedrus atlantica</i> M. par Microatmosphère.	35

Liste des tableaux

Liste des abréviations et symboles

AFNOR : Association française de normalisation

ATCC: American Type Culture Collection

D²⁰ : densité relative à 20 °c.

DZI : Diamètre de Zone d’Inhibition

HE : huile essentielle

IA : indice d’acide.

IE : indice d’ester.

IR : indice de réfraction.

IS : indice de saponification.

KOH : hydroxyde de potassium.

N : normalité.

Gram + : Bactérie Gram positive

Gram - : Bactérie Gram négative

MH : Muller-Hinton

SAB : Sabouraud additionné de Chloramphénicol

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENT	
DEDICACE	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
RESUME	
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
1. Etude du Cèdre de l'Atlas	3
1.1. Description botanique	3
1.2. Noms vernaculaires	4
1.3. Taxonomie et caractères botaniques	4
1.3.1. Taxonomie	4
1.3.2. Caractères botaniques	5
1.4. Distribution géographique	6
1.4.1. Aire naturelle	6
1.4.2. Aire d'introduction	7
1.5. Ecologie	7
1.6. Importance du Cèdre	8
1.7. Huiles essentielles	9
1.7.1. Définition	9
1.7.2. Localisation et lieu de synthèse	9
1.7.3. Classification des huiles essentielles	10
1.7.4. Composition chimique des huiles essentielles	10
1.7.5. Rôle des huiles essentielles	11
1.8. Huile essentielle du Cèdre de l'Atlas	12
1.8.1. Définition	12

1.8.2. Utilisations de l'huile essentielle de cèdre de l'Atlas	12
1.8.3. Contre-indications et effets indésirables	14

Chapitre 2 : Matériel et Méthodes

1. Matériel	15
1.1. Matériel biologique	15
1.2. Matériel non biologique	16
2. Méthodes	16
2.1. Séchage et stockage	16
2.2. Extraction de l'HE de Cèdre de l'Atlas	17
2.3. Détermination du rendement en HE	17
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	18
2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE de Cèdre de l'Atlas	21
2.5.1. Aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé	21
2.6.2. Microatmosphère ou méthode en phase vapeur	24

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

1. Rendement en huiles essentielles	25
2. Caractéristiques physico-chimiques	25
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne « <i>in Vitro</i> » de l'HE de <i>Cedrus atlantica M.</i>	28
3.1. Par aromatogramme	28
3.2. Par microatmosphère	34
3.3. Comparaison entre les deux méthodes	36

CONCLUSION	39
------------	----

REFERENCES BIOLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

Résumé

La plante qui a fait l'objet de notre étude est le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Mentti). La valorisation de ses métabolites secondaires aromatiques offre de nouvelles perspectives dans l'industrie. Cette stratégie peut contribuer au développement durable de notre pays. L'extraction de l'HE des rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement moyen en huile essentielle est de 0.53%. En outre les caractéristiques physico-chimiques (densité relative, pouvoir rotatoire, indice de réfraction et indice d'acide, indice d'ester et l'indice de saponification) de l'HE ont été déterminées. L'activité antimicrobienne de l'HE extraite a été accomplie par deux méthodes Microatmosphère et Aromatogramme, sur des germes microbiens (05 souches bactériennes et 08 souches fongiques). L'HE a présenté une activité antibactérienne majeure sur les souches de *Bacillus cereus* (29mm) et *Staphylococcus aureus* (22mm), en revanche *Pseudomonas aerogenosa* à manifester un potentiel de résistante élevé contre l'HE testée. L'huile essentielle du Cèdre de l'Atlas Possède une efficacité moyennement marquée sur une gamme de champignons pathogènes, nous avons constaté qu'elle est fortement inhibitrice pour *Verticilium dahliae*, *Aspergillus braziliensens* et *Candida albicans* et modérément inhibitrice pour *Penicillium glabrum*, *Penicillium expansum*, légèrement inhibitrice pour *Aspergillus ochraceus*. Par contre *Fusarium graminearum* s'avère le champignon le plus résistant à l'action inhibitrice de notre l'huile extraite dont on a noté aucune zone d'inhibition.

Mots clés : *Cedrus atlantica* Mentti, Huile essentielle, activité antimicrobienne, Microatmosphère, Aromatogramme, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Verticilium dahliae*, *Candida albicans*.

Abstract

The plant which was the subject of our study is the Cedar (*Cedrus atlantica* Mentti). The value of its aromatic secondary metabolites offers new perspectives in the industry. The extraction of the essential oil twigs leaves part of Cedar was realised by steam distillation. The average yield of essential oil is 0.53%. Performance, physical and chemical characteristics to our oil were determined. The study of the antimicrobial activity of the essential oil was accomplished by two methods (Vapour diffusion and Disc diffusion), a broad spectrum of microbial germs (05 bacterial strains and 08 fungal strains). The essential oil presented a major antibacterial activity against *Bacillus cereus* (29mm) and *Staphylococcus aureus* (22mm), however *Pseudomonas aerogenosa* demonstrate a high resistance potential against the essential oil tested. The essential oil of Cedar has a moderate effective effect on a range of pathogenic fungi, we found that it is highly inhibitory to *Verticilium dalhae*, *Aspergillus braziliensens* and *Candida albicans*, moderately inhibitory to *Penicillium globrum*, *Penicillium expansum*, and slightly inhibitory to *Aspergillus ochraceus*, on the other hand *Fusarium graminearum* is the most resistant fungi to the inhibitory action of our extracted oil which there were no inhibition zone.

Keywords: *Cedrus atlantica* Mentti, essential oil, antimicrobial activity, Vapour diffusion, Disc diffusion, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Verticilium dahliae*, *Candida albicans*.

أملخص

النبنة التي كانت موضوع الدراسة هي الارز الاطلسي . تثمين عطرها الثانوي يفتح آفاق جديدة في صناعة الأدوية. بإمكان هذه الاستراتيجية المساهمة في التطور الدائم لبلدنا.

تم استخراج الزيت الاساسي من الاغصان المورقة لشجرة الارز بواسطة التقطير البخار ومتوسط العائد من الزيت الأساسي هو 0.53% بالإضافة الى انه قد تم تحديد الخصوصيات الفيزيائية و الكيميائية لزيت المستخرج.

دراسة فعالية الزيت الاساسي ضد الجراثيم تمت بطريقتين (Aromatogramme et Microatmosphère) على جراثيم ميكروبية (05 سلالات بكتيرية و 08 فطريات) . النتائج التقريبية للدراسة بينت وجود فعالية ودرجة حساسية متغيرة اتجاه السلالات المختبرة *Bacillus cereus* (29mm) هي السلالة الاكثر حساسية للنشاط الضد بكتيري للزيت الاساسي متبوعة *Staphylococcus aureus*(22mm) , بالمقابل لاحظنا شدة مقاومة كبيرة ل *Pseudomonas aerogenosa* اتجاه الزيت المستخرج.

يملك الزيت الاساسي لأرز الاطلسي فعالية متوسطة اتجاه مجموعة من الفطريات الضارة . حيث لاحظنا انه مثبط للغاية ل *Verticilium dahliae*, *Aspergillus braziliensens* و *Candida albicans* و معتدل التثبيط ل *Penicillium globrum*, *Penicillium expansum* , و قليل التثبيط ل *Aspergillus ochraceus* اما *Fusarium graminearum* فقد تبين انه الفطر الاشد مقاومة لنشاط الزيت الاساسي.

الكلمات المفتاحية: الزيت الأساسي الارز الاطلسي الفعالية ضد الجراثيم.

Staphylococcus aureus, *Bacillus cereus*, *Verticilium dahliae*, *Candida albican*,
Aromatogramme, Microatmosphère.

Conclusion

Les résultats obtenus lors de cette étude consolident une investigation scientifique importante à savoir, l'utilisation des plantes comme alternative naturelle aux produits de synthèse.

L'étude des propriétés physico-chimiques nous a permis de déterminer que l'huile essentielle du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M) est de qualité supérieure. De plus le rendement d'extraction de l'huile essentielle par hydro distillation est de 0,53% ce dernier semble être influencé par plusieurs facteurs responsable de la variabilité des rendements entre la même espèce.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE sur différents germes pathogènes, isolés ou provenant d'une collection de référence par deux méthodes (Microatmosphère et Aromatogramme) ont montré que notre huile étudiée est douée d'une activité inhibitrice sur les bactéries pathogènes et sur l'ensemble des champignons testés pour les différentes doses utilisées.

L'essence de *Cedrus atlantica* M peut être considérée comme un antibactérien car elle présente une bonne action inhibitrice sur plusieurs souches bactérienne, elle est inhibitrice pour les Gram positif et modérément inhibitrice pur les Gram négatif. Cette essence pourra être utilisé comme un antifongique puissant car elle présente un large spectre d'action sur les levures et les moisissures telles que *Candida albicans*, *Verticilium dahliae* et *Aspergillus braziliensens* avec des zones d'inhibitions importantes. Il est important donc de poursuivre les travaux concernant cette plante pour une éventuelle formulation médicamenteuse à base de Cèdre de l'Atlas.

A la lumière des résultats obtenus, le travail ouvre la voie à d'autre perspective, il serait nécessaire également :

- ✓ De Faire une étude analytique détaillée à l'aide de techniques plus performantes comme la CG-MS (chromatographie gazeuse couplé à la spectrophotométrie de masse) et MNR (résonnance magnétique nucléaire)

pour identifier et quantifier les composés actifs de la plante étudiée et leurs effets thérapeutiques

- ✓ D'étudier le mode d'action des huiles essentielles pour maximiser leur exploitation et leur utilisation dans les domaines : pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, insecticides, industriels...etc.
- ✓ De caractériser le potentiel des souches microbiennes responsables de différentes maladies et d'évaluer d'autres activités biologiques de l'HE du Cèdre d'Atlas.

Introduction

De tout temps, le règne végétal a offert à l'Homme des ressources essentielles à son alimentation, son hygiène et sa santé. Depuis les temps les plus anciens, les parfums de ces mêmes végétaux sont associés à des rites mystiques, esthétiques et thérapeutiques (**Bruneton J, 1999**).

Les effets antimicrobiens de différentes espèces de plantes aromatiques et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit de manière empirique pour l'assainissement de l'air (encensoir) ou pour augmenter la durée de vie des aliments (bouquet garni). Les propriétés antimicrobiennes sont essentiellement dues à la fraction d'huiles essentielles contenues dans ces plantes (**Billerbeck et al., 2002**).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnus (**Amarti et al., 2010**). En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (**Billerbeck et al., 2002**).

Le développement des résistances bactériennes aux antibiotiques devient depuis quelques années un problème sanitaire international, faisant enregistrer de graves conséquences de santé. Toutefois, les chercheurs s'intéressent de plus en plus aux bactéries multirésistantes dans le but de diminuer la pression de sélection exercée par l'utilisation importante et parfois inadaptée des antibiotiques, et surtout d'améliorer l'antibiothérapie (**Lecomte, 1998**).

La région méditerranéenne, d'une manière générale et l'Algérie en particulier, avec son climat doux et ensoleillé, est dotée d'une biodiversité végétale riche avec une avalanche des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes peut constituer une source économique pour ce pays. A cet effet et dans le cadre de valorisation des plantes aromatiques et médicinales Algériennes, nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile essentielle du Cèdre de l'Atlas qui est une Espèce endémique de l'Afrique du Nord, est protégée par la loi (décret n°93/285 du 23 novembre 1993 fixant la liste des

espèces végétales non cultivées protégées en Algérie).

Des études récentes sur le Cèdre de l'Atlas, effectuées au Maroc, ont validé les usages traditionnels de cette plante, n'a pas encore retenu l'attention des médecins phytothérapeutes du monde. Pourtant, ses propriétés cicatrisantes sont prouvées par **BARDEAU., (2009).**

Toutefois très peu de recherches se sont intéressés aux activités biologiques des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas, tel que l'activité antibactérienne et l'activité antifongique (**Aberchane et al., 2003 ; Satrani et al., 2005**), l'activité antiviral (**Loizzo et al., 2008**) et l'activité antispasmodique (**Saab et al., 2005**).

Dans ce contexte, et en raison de l'application en médecine traditionnelle, nous nous sommes intéressés à l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle des rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas obtenue par hydrodistillation sur quelques germes pathogènes, en utilisant deux méthodes (Aromatogramme et Microatmosphère).

Ce travail sera donc repartit en trois parties, initié par une recherche bibliographique ou nous apportons une monographie sur le Cèdre de l'Atlas et des généralités sur les huiles essentielles.

La partie pratique présente les méthodes et les techniques instrumentales d'analyses utilisées pour la réalisation de ce travail.

Enfin la dernière partie discute les résultats obtenus dans cette étude.

1. Etude du Cèdre de l'Atlas

Le Cèdre, mot originaire du latin *Cedrus*, issu lui-même du grec *Kedron*, terme qui indique à la fois les Cèdres et les autres arbres au bois précieux et balsamique. C'est un arbre résineux des forêts montagnards d'Afrique du nord et du Moyen Orient. A l'instar des autres espèces forestières, le Cèdre représente une grande richesse. Cet arbre au port majestueux et très esthétique, a toujours été d'une grande utilité pour l'Homme, c'est l'une des espèces économiquement et écologiquement les plus importantes des montagnes de l'Afrique du Nord (Algérie et Maroc) (**Tarrier et Delacre, 2006**)

1.1. Description botanique

Le Cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti), est un arbre endémique de longévité paraît fabuleuse dépassant 700 ans. On lui attribue 1000 ans et plus (**Chebouki, 1994 ; Arnaud, 1994**). C'est un arbre de haute taille, dépassant souvent 50 mètres et en moyenne 40 mètres dans les peuplements (**Boudy, 1952 ; Toht, 1990**). Le port de l'arbre est pyramidal avec un fut droit, cime régulière et pointue à flèche courbée quand il est jeune ou d'âge moyen, il prend une forme tabulaire en vieillissant (**Boudy, 1952**). Le système racinaire est développé, mais rarement pivotant assurant la stabilité de l'arbre (**Boudy, 1952**). Les feuilles en aiguilles persistantes 3 à 4 ans, aiguës et assez rigides de 15 à 20 mm de long, leur couleur allant du vert clair foncé ou glauque jusqu'au bleu. Sur rameaux longs sont isolées et soudées à l'écorce ; sur rameaux courts sont par rosettes (**Boudy, 1952 ; Toht, 1990**).

Le Cèdre est une espèce monoïque. Il fleurit en automne ; les fleurs males sont des chatons cylindrique dressé et jaune verdâtres. Les fleurs femelles sont des chatons ovoïdes (cônes) dressés et vert bleuâtre (**Jacmon, 1987**). La maturité des cônes dure 2 ans après la floraison, de couleur brune violacée, ils ont 5 à 8 cm de dimension, atteignent au plus 10 cm (**Figure 1**) (**Quezel et Santa, 1962**). La graine est triangulaire, grosse, 10 à 15 mm, marron roux se termine par une large aile, très résineuse enveloppée dans une pellicule résineuse protectrice.



Figure 1. Caractéristiques botaniques du Cèdre de l’Atlas

1.2. Noms vernaculaires

Le Cèdre de l’Atlas est connu par les noms vernaculaires suivants (**Boudarene, 1991**). En arabe : الارز, en berbère : Begnoun, Ithguel et Meddad, en français : Cèdre de l’Atlas et en anglais : Cedar.

1.3. Taxonomie et caractères botaniques

1.3.1. Taxonomie

Du point de vue taxonomique, botanique et dendrologique, plusieurs auteurs ont décrit le Cèdre (**Holmbe, 1931 ; Maire, 1952 ; Quezel et Santa, 1962 ; Derridj, 1990**). Le Cèdre de l’Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) répond à la systématique suivante : il appartient à

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Vectrices
Ordre	Coniferales
Famille	Pinacées
Sous-famille	Abiétées
Genre	<i>Cedrus</i>
Espèce	<i>Cedrus atlantica</i> Manetti

Bien que sa valeur taxonomique exacte soit controversée, certains auteurs comme (Holmbe 1931, Maire 1952 et Davis 1952 cités par Quezel, 1980) ont intégré ce taxon dans une seule espèce : *Cedrus libanotica* Link. Cependant, la plupart des auteurs (Arbez et al., 1978 ; Quezel, 1980 ; Bariteau et Ferrandes, 1992) le classe en 4 espèces montagnardes dont trois méditerranéennes : Cèdre de l'Atlas ou *Cedrus atlantica* Manetti (Maroc et Algérie) ; Cèdre du Liban ou *Cedrus libani* A.Rich (Liban, Syrie et Turquie) ; Cèdre de Chypre ou *Cedrus brevifolia* Henry (Chypre) et une espèce himalayenne Cèdre de l'Himalaya ou *Cedrus deodara* G.Don (Inde et Afghanistan). (Panestsos et al., 1992 ; Toht, 2005)

1.3.2. Caractères botaniques

Ces quatre espèces se distinguent par différents caractères botaniques qui sont représentés dans le (Tableau I).

Tableau I. Caractères botaniques et biologiques des quatre espèces du Cèdre.

Espèces	<i>C.atlantica</i>	<i>C.libani</i>	<i>C.brevifolia</i>	<i>C.deodara</i>
Taille des aiguilles (cm)	1 à 2.5	1 à 3.5	0.5 à 1.5	2 à 6
Longueur des cônes (cm)	5 à 8	8 à 12	5 à 10	7 à 13
-diamètre (cm)	3 à 5	3 à 6	3 à 6	5 à 9
Longueur des graines (cm)	0.8 à 1.3	1.0 à 1.4	0.8 à 1.4	1.0 à 1.5
-envergure (cm)	2.5 à 3.5	3.5 à 4.0	3.0 à 4.0	3.5 à 4.5
Epoque de pollinisation	mi- septembre	mi- septembre	début septembre	début septembre
Durée de maturité	2 ans	2 ans	2 ans	2 ans

(Farjon, 1990 et Toht, 2005)

D'après ces données, il apparaît une assez forte variabilité de ces caractères notamment les dimensions des aiguilles, cônes et graines qui pourraient influencer le pouvoir photosynthétique d'où l'impact sur la croissance et la qualité des semences à travers la grandeur des cônes.

1.4. Distribution géographique

1.4.1. Aire naturelle

Le Cèdre de l'Atlas est localisé sur les montagnes du Maghreb ; le Maroc détient à lui seul la plus grande surface, répartie sur deux blocs d'intégrale importance, le premier dans le moyen Atlas et le grand Atlas oriental (116 000 ha), le second dans le Rif occidental et central avec une superficie d'environ 160 000 ha (M'hirit, 1982 ; Yahi, 2007).

En Algérie, les massifs Cédraies sont dispersés et beaucoup plus réduits qu'au Maroc. Le Cèdre occupe une surface d'environ 30 000 ha répartie sur deux ensembles naturels, d'écologie sensiblement différente : le premier est localisé sur les montagnes littorales bien arrosées (Babors, massif de Djurdjura, l'Atlas Blidéen et Ouarsenis). Ce sont les Cédraies humides. Le second ensemble est le plus important de point de vue superficie, il occupe les montagnes méridionales continentales de l'Atlas saharien. Ce sont les Cédraies sèches. Il est représenté à l'Est par les cédraies des Aurès et de Belezma, qui couvrent 17 000 ha environ, réparties entre les massifs de Chélia, S'gag, Aidel, Ouled yacoub et du Belezma, à l'ouest les massifs de Maadid, Boutaleb et Guthiane (Hodna). Ces derniers sont réparties en cantons isolés couvrant environ 8000 ha (Nedjahi, 1988).

La carte que Roche, (2006) a utilisée donne une bonne idée sur la localisation de ces îlots (Figure 2).

1. Massif de l'Aurès,
2. Monts de Belezma,
3. Monts du Hodna,
4. Djbel Babor,
5. Massif du Djurdjura,
6. Monts de Blida,
7. Massif de l'Ouarsenis.

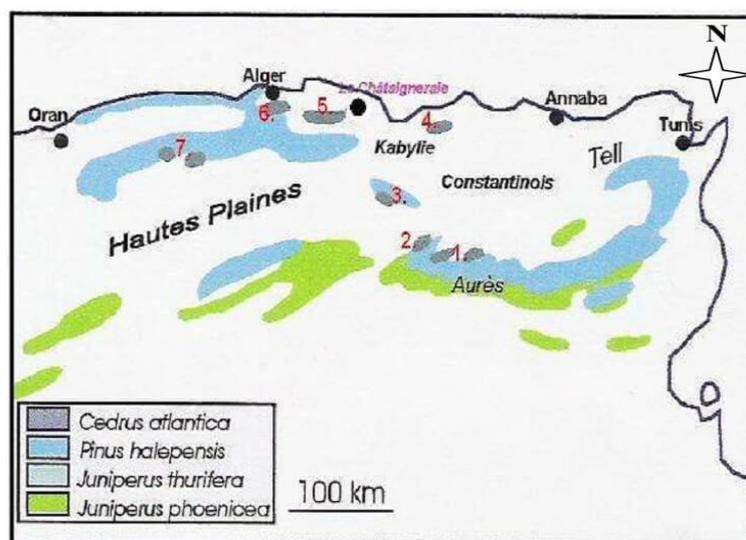


Figure 2. Localisation de *Cedrus atlantica* en Algérie (Roch, 2006).

1.4.2. Aire d'introduction

Les caractéristiques écologiques (forte adaptation, résistance à la sécheresse...) et la grande valeur technologique du bois du Cèdre (impérissable) ont poussé plusieurs chercheurs à tenter son introduction dans leurs pays respectifs. D'après **Ducrey, (1994)**, son succès en France laisse à penser qu'il peut s'acclimater et prospère dans des conditions autres que celles de son aire d'origine. En Italie, il a été introduit d'abord comme arbre d'ornement avant d'être utilisé en reboisement. La première plantation a été exécutée à Badia Prataglia (Arizo) en 1864 (**Michele et al., 2001**). Dès la fin du XIX siècle, le Cèdre de l'Atlas fut introduit dans divers pays européens (URSS, Bulgarie, Hongrie, Espagne...). Il a été signalé dans quelque états américains (Pennsylvanie, New York et côte ouest du pacifique) où sa remarquable adaptation justifie son extension (**Toth, 2005**).

1.5. Ecologie

En Algérie. Le Cèdre occupe partout les sommets des montagnes (**Derridj, 1990**), il s'installe sur les versants Nord, d'une façon générale, à 1400 m bien qu'il peut descendre encore plus bas à la faveur des conditions microclimatiques particulières (**Emberger, 1938 ; Abdessemed, 1982**). Sur les versants sud, il existe un décalage de 200 m en moyenne pour le Chélia mais peut atteindre 400 à 500 m comme au Belezma. Les limites inférieures se situent donc sur les versants méridionaux vers 1600 m. La limite supérieure est de 2200 m pour les deux versants bien que des individus isolés arrivent jusque 2300 m (**Abdessemed, 1982**).

En Algérie les Cédraies reçoivent une tranche pluviométrique variant de 500 mm à 1400 mm environ (**Toth, 1980 ; Halimi, 1980**). Selon **Benabid (1994)**, cette dernière est largement dépassée, elle atteint 2000 mm au Maroc. Dans les Cédraies sèches (Aurés, Belezma et Hodna). **Houerou, (1975)** donne 600 mm de précipitations comme limites inférieures. Cependant, la répartition des pluies est irrégulière, la saison la plus sèche est l'été. En effet, **Quezel, (1976)** a souligné que les forêts de Cèdre du pourtour méditerranéen subissent une sécheresse estivale de 1 à 3 mois.

Le Cèdre croit sous des températures moyennes annuelles comprises entre 4 et 8 °C (**Boudy, 1950 ; Pujos, 1966 ; Toth, 1980 ; Derridj, 1990**). En ce qui concerne les températures moyennes des minima du mois le plus froid, les Cédraies peuvent tolérer des valeurs comprises entre « -1 » et « -8 » °C (**Benabid, 1994 ; Quezel, 1980**). Par ailleurs le **Houerou (1975)** donne les valeurs suivantes pour les Cédraies de l'Aurés, Belezma et Hodna

« -2 °C » caractérise la limite inférieure et « -5 °C » pour la limite supérieure. Le Cèdre résiste à « -25 °C » en atmosphère sèche (**Gausse, 1967**), il vit dans ses pays d'origine avec des extrêmes absolus de « -25 °C » et « +35 °C » (**Putod, 1979**).

En Algérie **Medour, (1994)** souligne que les Cédraies septentrionales (Atlas Blidéen, Djurdjura et le massif de Babors) sont soumises à un bioclimat humide, variante fraîche voire perhumide. Tandis que la majorité des Cédraies méridionales (Aurès, Belezma et Hodna) sont soumises aux bioclimats subhumide froid et très froid (**Tableau II**) (**Abdessemed, 1984 ; M'hirit, 1982**).

Tableau II. Répartition des Cédraies Algériennes selon le climat (**ABDESSEMED, 1981**).

Type de cédraie	Région	Superficie (ha)
Cédraies Sèches	Aurès	12022
	Théniet el had	1000
	Hodna	8000
Cédraies Humides	Babors	1300
	Djurdjura	1200
	Atlas Blideen	1000

1.6. Importance du Cèdre

Le Cèdre est apprécié pour ses nombreux avantages sociaux économiques et écologiques. En effet la qualité du bois du Cèdre est supérieure à celle de tous les pins dans la méditerranée, elle lui assure toutes sorte d'utilisation, fabrication de chalets de montagne, menuiserie et charpente poteaux (**M'hirit, 2006**). Le Cèdre est aussi prisé pour l'extraction du cade utilisé le plus souvent en pharmacutique et en parfumerie. Il peut même fournir de la térébenthine (**Becker et al., 1983**).

La Cédraie joue un rôle considérable à l'échelle nationale et méditerranéenne car il maintient l'équilibre biologique par l'amélioration des conditions écologiques favorables à la pérennité de l'espèce, recueillement d'une population désireuses de se relaxer, se reposer et s'oxygéner dans un cadre de vie agréable (Ecotourisme) (**Toth, 1990 a**).

1.7. Huiles essentielles

1.7.1. Définition

Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétal pour alchimiste. Dans la réalité, une huile essentielle est l'ensemble de tout cela, car il s'agit d'un produit parfumé et volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifique. Le terme « volatil » s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement. C'est pourquoi il est nécessaire de les conserver correctement afin qu'elles gardent intacts leurs principes actifs (**Moro Buronzo, 2008**).

En général, les principes aromatiques des plantes sont des gouttes minuscules qui se forment dans les chloroplastes des feuilles, c'est-à-dire les organites dans lesquels s'effectue la photosynthèse. Elles se combinent par la suite avec du glucose et sont transportées dans toutes les parties de la plante. Une huile essentielle est donc une sécrétion naturelle qui s'effectue dans une partie du végétal : la feuille, l'écorce ou la fleur (**Cheyrier et Sami-Manchado, 2006**).

1.7.2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par un grand nombre d'espèces qu'elles regroupent en particulier dans les familles : Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apeaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae et Piperaceae (**Mohammedi, 2006**).

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

1.7.3. Classification des huiles essentielles

Selon la fonction du constituant prédominant, **Le Laurant, (1994)**, classe les HE en trois catégories : HE hydrocarbonées riches en terpènes (Pin, Citron : 90% en limonène), HE oxygénés riches en alcools et esters, (roses : 50% en géraniol, Thym : $\geq 30\%$ en Thymol, Coriandre : 70 à 80% en linalol) et HE sulfurées (Conifères).

1.7.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les propriétés des HE proviennent de leur composition chimique, les composés qui les constituent, peuvent être classés en deux groupes distincts, ayant chacun des caractéristiques spécifiques.

➤ Les terpènes et leurs dérivés : les terpénoïdes

Selon **Lucchi et al., (2004)**, Ce sont des hydrocarbures cycliques ou acycliques, qui constituent un vaste groupe de métabolites secondaires de structures diverses, importantes dans de nombreuses interactions biotiques. Ce sont des polymères formés par la réunion d'unités isoprènes à 5 carbones (C_5H_8), d'où le nom d'isoprenoïdes sous lequel les terpénoïdes sont parfois désignés. Les mêmes auteurs déclarent, que l'isoprène est donc le constituant de base de la polymérisation. Selon le nombre d'unités, on distingue : Les hémiterpènes : une seule unité isoprène C_5H_8 , les monoterpènes : deux unités en C_{10} , les sesquiterpènes : trois unités en C_{15} : $C_{15}H_{24}$, les diterpènes : quatre unités en C_{20} (deux unités en C_{10}) $C_{20}H_{32}$, les triterpènes : six unités en C_{30} (trois unités en C_{10}) $C_{30}H_{48}$ et les tetraterpènes : huit unités en C_{40} (quatre unités en C_{10}) : $C_{40}H_{56}$.

Les monoterpènes et les sesquiterpènes représentent les terpènes proprement dit, ce sont les principaux composants des HE, les plus volatils à cause de leur masse moléculaire, qui n'est pas trop élevée (**Bellakhdar, 1997**).

➤ Les composés aromatiques

Ce sont des dérivés du phénylpropane en C_6 C_3 , l'un des constituants des HE, mais beaucoup moins fréquent que les terpènes, se sont souvent des allyles et propénylphénols et parfois des aldéhydes.

Les terpénoïdes et les composés aromatiques, donnent aux HE des propriétés nouvelles, en plus de celles spécifiques à chaque constituant pris séparément (**Lucchi et al., 2004**).

➤ Les composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode de préparation, les HE peuvent renfermer divers composés aliphatiques : alcools (Menthol et Géraniol), (Citronellal, géranial), ester (Acétates de menthyle et Acétates de citronellyle), cétones (Camphre et Menthone), éthers (Cinéole et Eucalyptol) et phénols comme, Thymol et Carvacrol (**Bruneton, 1997**).

1.7.5. Rôle des huiles essentielles

Elles ont des fonctions multiples dans la nature. En effet, expérimentalement, il a été établi qu'elles interviennent dans les interactions «végétaux-animaux» où elles constituent un moyen de communication appelé langage chimique (**Bruneton, 1997**). En raison de leur structure chimique unique, les huiles essentielles ont la capacité de pénétrer les parois cellulaires et de transporter l'oxygène, les nutriments et d'autres composés biochimiques vitaux, jusqu'à l'intérieur de chaque cellule. Elles contiennent de puissants composés biochimiques qui donnent aux plantes la capacité de croître et de réparer les dommages à leur structure.

Perombelon et al., (1989) ajoutent que les huiles essentielles d'agrumes protègent les fruits contre les proliférations et les attaques d'insectes. Les huiles essentielles sont utiles et efficaces, dans de nombreux aspects de la vie quotidienne, elles ont des fonctions très variées depuis très longtemps. Les huiles essentielles ont une toxicité aigüe, une action répulsive, une inhibition de l'alimentation et un effet nocif sur le système de reproduction des insectes.

Les métabolites issus des plantes sont récemment utilisés, comme de nouveaux pesticides synthétiques comme la toxaphene (insecticide et herbicide) (**Bruneton, 1993**).

Les constituants volatils des monoterpènes qui sont alcool, linalool, aldéhydes, Acide carboxylique, d- limonène, b-myrcene et α - terpinéol, ont une action toxique sur la mouche domestique, la blatte et le charançon du riz (**Prates, 1998**).

La fonction des huiles essentielles demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable, qu'elles ont un rôle dans le domaine des interactions végétales (comme agents inhibiteurs de germination) et aussi dans les interactions végétal-animal : protection contre les prédateurs ; comme les insectes et les champignons et l'attraction des pollinisateurs (**Bruneton, 1993 ; Bakkali, 2008**).

1.8. Huile essentielle du Cèdre de l'Atlas

1.8.1 Principaux constituants de l'huile essentielle de cèdre de l'Atlas

Le Cèdre de l'Atlas est une espèce aromatique susceptible de fournir des huiles essentielles. Ces huiles sont utilisées dans différents domaines pour leurs propriétés thérapeutiques et organoleptiques (El Haib, 2011).

Le **Tableau III**, englobe la composition chimique des huiles essentielles du bois, des aiguilles et des cônes du Cèdre de l'Atlas, selon les travaux de (Aberchane et al., (2003) ; Derwiche et al., 2010).

Tableau III. Composition chimique des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas.

Type de l'huile essentielle Composées	Bois du Cèdre de l'Atlas du Maroc (ABERCHANE et al., 2003)	Aiguilles du Cèdre de l'Atlas du Maroc (DERWICH et al., 2010)	Cônes du Cèdre de l'Atlas du Maroc (DERWICH et al., 2010)
α -himachéline	10.87	4.15	-
Longifolène	0.35	-	0.15
Tetradécane	0.70	-	-
Abietatrienne	-	-	1.00
δ -himachilène	6.89	7.62	-
γ -cadinène	1.95	3.02	-
β -himachéline	33.81	9.89	-
β -vitivène	0.85	-	-
oxydo- β -himachéline	0.23	-	-
Déodarone	7.7	-	-
E- δ -atlantone	11.24	-	-
Z- α -atlantone	5.9	-	-
E- α -atlantone	1.93	6.67	-
Transpinocarvéol	-	0.11	-
α -terpinène	-	1.02	0.55
δ -curcumène	1.31	-	-
iso-caryophilène	-	3.14	0.22

α -pinene	-	14.85	6.66
β -pinène	-	1.35	-
Cymène	-	1.05	-
Himachalol	7.11	0.10	-
Myrcene	-	0.15	13
1-epicubenol	2.70	-	-
Cadalene	1.21	-	-
Isocédranol	2.75	-	-
Cedrol	0.57	-	-
β -calacoréne	0.34	-	-
Germacrene	-	3.52	-
Terpinolene	-	0.38	3.10
Camphène	-	0.23	2.15

1.8.2. Utilisations de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas

Les huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas sont des fongicides efficaces, non phytotoxiques. Car elles contrôlent la détérioration fongique de certaines épices pendant leur stockage. Elles font partie également de la composition chimique de certains lotions et shampoings traitants le cuir chevelu (**Bardeau, 2009**).

Les qualités particulières des huiles essentielles du Cèdre de l'Atlas en aromathérapie peuvent se résumer en : lymphotoniques (décongestionnant lymphatique), drainantes puissantes, lipolytiques puissantes (élimination des graisses), régénératrices artérielles et cicatrisantes (**SARROUY, 2013**).

L'huile essentielle du Cèdre est un bon antiseptique urinaire et pulmonaire, employée pour soigner les gonorrhées, urétrites chroniques, vaginites et mérites. Elle donne de bons résultats dans le traitement des bronchites chroniques et de la bronchorrhée.

L'huile de Cèdre est utilisée par les producteurs de savon de toilette et détergents. (**SCHAFFNER, 1993**).

Elle est aussi utilisée à la place de la pyrèthrine contre les insectes domestiques et cela en raison de ses propriétés insecticides et de son caractère non toxique pour les

mammifères. (Salle, 1991). En outre le β -himachalène, constituant principal de l'huile de Cèdre, présente une activité anti-inflammatoire (Lenfeld, 1986).

1.8.3. Contre-indications et effets indésirables

Les substances volatiles sont en proportion beaucoup plus grande dans l'huile essentielle par rapport à la plante et représente un concerté de principe actifs. L'huile essentielle est donc douée d'une activité pharmacologique beaucoup plus grande que la plante fraîche ou l'organe desséché utilisé en pharmacie. En outre du fait de cette activité, l'huile essentielle peut être toxique (Chabal, 1995). En effet, des substances cétonique peuvent provoquer des troubles psychique et sensoriels et certains monoterpènes sont toxiques à fortes doses : camphre, menthol, cinéole et anéthol (Mansouri, 2008).

Nos essais expérimentaux se sont étalés sur une durée de 4 mois (de Mars à Juin 2017) au niveau :

- du laboratoire de contrôle de qualité du département Agro- Alimentaire Université Blida 1 pour l'extraction de l'huile essentielle (HE).
- du laboratoire d'hygiène de Blida et de Médéa pour les tests microbiologiques

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

L'étude à été effectuée sur les rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) (**Figure 3**). L'échantillon a été récolté en Mars 2017 au Parc National de Chréa. Ce dernier s'étend sur les flancs Nord et Sud de l'Atlas Blideen, d'orientation Sud-Ouest et Nord-Est, entre les latitudes Nord $36^{\circ}19/36^{\circ}30'$ et longitudes Est $2^{\circ}38^{\circ}/3^{\circ}02'$ et couvre une superficie de 26587 hectares (**Loukkas, 2009**).



Figure 3. Rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas (**Galley et al., 2000**)

1.2. Micro-organismes

Afin de déterminer le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle, nous avons utilisé des souches microbiennes qui ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pouvoir invasif et toxique pour l'Homme (annexe N°3). Les tests ont été réalisés sur 13 souches microbiennes. Ces souches ont été soit fournies par le laboratoire d'hygiène, soit isolé (**Tableau IV**).

Tableau IV : Les différentes souches microbiennes utilisées.

	Souches	Type	Référence/ Isolé
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérie à Gram positive	ATTC25923
2	<i>Bacillus cereus</i>	Bactérie à Gram positive	ATTC10876
3	<i>Escherichia coli</i>	Bactérie à Gram négative	ATTC25922
4	<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	Bactérie à Gram négative	ATTC27853
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bactérie à Gram négative	Pus
6	<i>Candida albicans</i>	Levure	ATTC24433
7	<i>Aspergillus niger</i>	Champignon	Alimentaire
8	<i>Aspergillus brasiliaca</i>	Champignon	ATTC16404
9	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Champignon	Alimentaire
10	<i>Fusarium graminearum</i>	Champignon	Champignon du blé
11	<i>Verticillium dalhae</i>	Champignon	Alimentaire
12	<i>Penicillium globrum</i>	Champignon	Alimentaire
13	<i>Penicillium expansum</i>	Champignon	Alimentaire

ATCC: American Type Culture Collection.

2. Méthodes

2.1. Séchage et stockage

Après la récolte, l'échantillon a été nettoyé et étalé sur du papier blanc, pour un séchage à l'air libre dans un endroit sec à l'abri de la lumière, pour éviter la photo-oxydation des substances. Il est étendu, sans superposition et retourné de temps en temps afin d'éviter le développement de moisissures à une température ambiante, pendant 21 jours (**Figure 4**). L'échantillon ainsi séché a été mis dans des sachets en papier jusqu'à utilisation.



Figure 4. Rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas après séchage (**Originale, 2017**).

2.2. Extraction de l'HE

Pour extraire l'HE de la plante, nous avons opté pour l'hydrodistillation. C'est une méthode préconisée par la Pharmacopée Européenne. L'hydrodistillation des rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas a été réalisée à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (**Figure 5**).

La procédure d'extraction, se résume à porté à ébullition une quantité d'environ 150 g à 200 g de matériel végétal séché, pendant 3 h avec 1000 ml d'eau distillée dans un ballon de 2 litre.

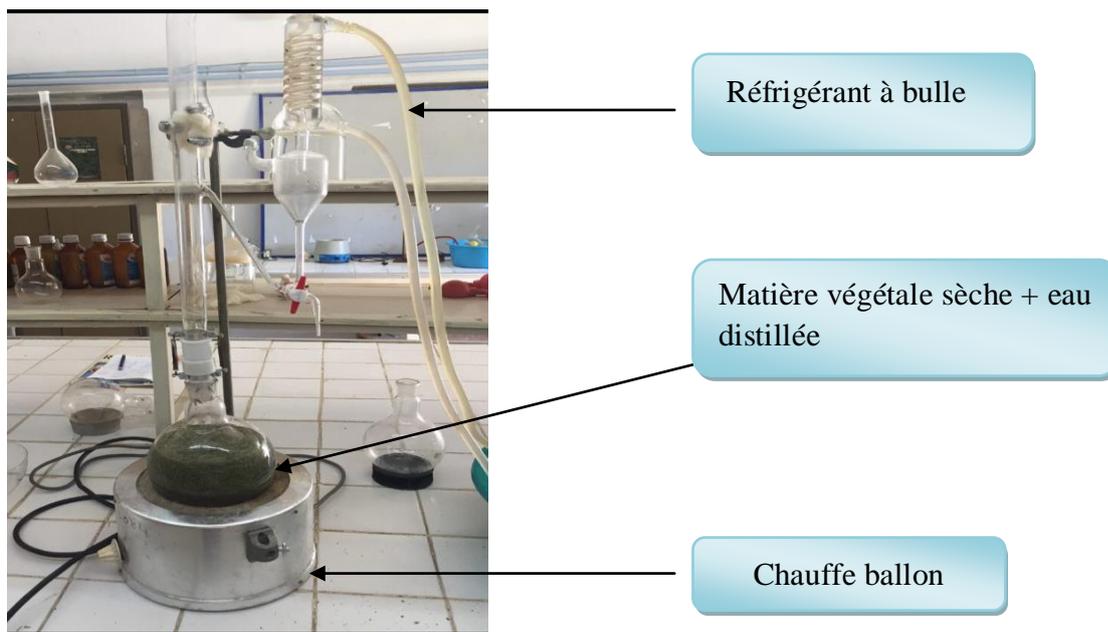


Figure 5. Dispositif de l'extraction de l'HE par Hydrodistillation (Clevenger) (**Originale, 2017**).

2.3. Détermination du rendement en HE

Le rendement en HE est déterminé par le rapport entre la masse d'HE extraite et la matière végétale traitée (**AFNOR, 2000**). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est calculé selon la formule suivante :

$$R = (V/M) \times 100$$

R : rendement en HE (%).

V : volume obtenue d'HE (ml).

M : poids de la matière sèche (g).

2.4. Caractéristiques physico-chimiques

Les normes définissent deux types d'indices : les indices physiques (densité relative, pouvoir rotatoire, indice de réfraction) et les indices chimiques (indice d'acide, indice d'ester et l'indice de saponification).

➤ Densité relative à 20°C

Selon la norme **AFNOR (2001)**, la densité relative d'une huile est le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. Elle est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un pycnomètre.

Mode opératoire

Après nettoyage et séchage du pycnomètre, il a été pesé et rempli d'eau distillée. Le pycnomètre a été retiré, essuyé extérieurement et pesé. La même procédure a été suivie pour l'huile.

La densité relative se détermine selon la formule suivante :

$$D_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

M_0 : masse du pycnomètre vide.

M_1 : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée.

M_2 : masse du pycnomètre rempli d'huile.

➤ Pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire est la propriété que représentent certaines substances de dévier la lumière polarisée. L'angle de rotation optique d'un liquide est l'angle de rotation (α) exprimé en (°C) du plan de polarisation à la longueur d'onde de la raie D du sodium (avec $\lambda = 589,3\text{mm}$) mesurée à 20°C sous une épaisseur de 01 décimètre (**Pharmacopée européenne, 2001**).

Mode opératoire

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un polarimètre, on place l'échantillon dans un tube en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée. Placé le tube dans le polarimètre et lire l'angle de rotation dextrogyre (+) ou lévogyre (-) de l'échantillon sur l'échelle de l'appareil.

Le pouvoir rotatoire est calculé selon la formule suivante :

$$\alpha^{20}_{d=100} = 100(A/L)$$

A : rotation en degré (°).

L : longueur de la cellule en décimètre.

➤ **Indice de réfraction**

Selon la norme de la **Pharmacopée Européenne (2008)**, l'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

Mode opératoire

Étalonner le réfractomètre avec l'eau distillée. Puis Placer 2 à 3 gouttes de l'huile essentielle testée sur l'appareil. Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation. Lire la valeur de l'indice de réfraction sur le cercle graduée.

➤ **Indice d'acide**

L'indice d'acide I_a est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres dans un gramme d'HE.

Mode opératoire

Nous introduisons 0.5g d'HE dans un ballon. Puis nous ajoutons 25 ml d'éthanol et 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur. Ensuite nous neutralisons la solution avec l'hydroxyde de potassium contenue dans la burette. (**Pharmacopée européenne ,2001**).

L'indice d'acide est calculé par la relation suivante :

$$I_a = M \times V \times C / m$$

M : est la masse molaire, exprimée en gramme par mol, de l'hydroxyde de potassium.

V : est le volume en millilitres de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisé.

C : est la concentration exacte, en moles par litre de la solution titrée de KOH Utilisée.

m : est la masse en grammes de l'HE.

➤ **Indice d'ester**

L'indice d'ester IE est le nombre de milligrammes d'hydroxydes de potassium nécessaire à la neutralisation des esters contenue dans 1 gramme d'huile essentielle.

Mode opératoire

Dans un ballon nous introduisons 0,5 grammes d'HE, puis nous ajoutons à l'aide d'une burette 25 ml de la solution de KOH. Nous adaptons un tube en verre ou un réfrigérant et nous plaçons le ballon dans le bain d'eau bouillante. Puis nous le laissons pendant une durée de 30 minutes. Après refroidissement, nous démontons le tube et nous ajoutons 20 ml d'eau distillée puis 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur colorée. Nous titrons l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique. **(Pharmacopée européenne 2001)**

L'indice d'ester est calculé par la relation suivante :

$$IE=28.05*(V_0-V)-I_A$$

V_0 : le volume en millilitre de d'acide chlorhydrique dans le test blanc.

V : le volume en millilitre d' d'acide chlorhydrique pour l'échantillon.

I_A : la valeur d'indice d'acide, déterminée.

➤ **Indice de saponification**

L'indice de saponification I_s est la masse d'hydroxyde de potassium KOH, exprimée en mg, nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de matière grasse.

Mode opératoire

Dans une fiole de 250 ml de verre borosilicaté et d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai. Ajoutez 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0,5N et quelque bille de verres. Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 minutes. Ajoutez 1ml de solution phénolphtaléine titrez immédiatement par l'acide chloroformique 0,5N, (V_1 ml d'acide chlorhydrique 0,5N). Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions (V_2 ml d'acide chlorhydrique 0,5N). **(Pharmacopée européenne 2001).**

L'indice de saponification est calculé par la relation suivante :

$$I_s = 28.05 * (V_1 - V_2) / P$$

V_1 : volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour l'essai à blanc.

V_2 : volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour la détermination de l'indice

P : la masse en gramme de la prise d'essai.

2.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE de Cèdre d'Atlas

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'HE, nous avons adopté deux méthodes : Aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé et Microatmosphère ou méthode en phase vapeur.

2.5.1. Aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé

C'est une technique microbiologique qui permet d'étudier comme un antibiogramme la sensibilité des germes des différentes huiles essentielles, c'est-à-dire, leur pouvoir antibactérien et antifongique (Salle, 1991).

➤ Principe

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri (**Figure 6**), après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (**Benjeleli et al., 1986**).

➤ Mode opératoire

En vue d'obtenir des cultures jeunes, les souches conservées ont été repiquées par la méthode des stries dans le gélose nutritive (Annexe 2) pour les bactéries sauf *S.pneumoniae* nous utilisons la Gélose au sang frais ; Gélose glucosée à l'oxytétracycline pour les champignons et les levures, puis incubées, (24 h à 37°C pour les Bactéries, 48h à 25°C pour les levures et 3 à 5 jours à 25°C pour les champignons) afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

• Préparation des disques

Des disques absorbants de 09 mm de diamètres, sont déposés dans des tubes à essai, puis

stérilisés à l'étuve pendant 20 minutes à 120°C.

- **Coulage des boîtes de Pétri**

Après la fonte de gélose par autoclave à 120°C pendant 15 à 20 min, nous avons coulé aseptiquement une couche de 04 mm d'épaisseur dans des boîtes de Pétri en plastique stérile et rondes, de 90 mm de diamètre, ces dernières doivent être séchées durant 30 minutes à une température ambiante, au laboratoire, avant leur emploi.

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Détacher l'anse dans 5 ml d'eau physiologique stérile 0.9%, pour avoir une solution de 0.5 Mac Farland. Bien homogénéiser la suspension (agitation manuelle). L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

- **Ensemencement**

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne, l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, puis le frotter sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Cette opération a été répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois.

- **Imprégnation des disques**

Des disques de 9 mm de diamètre sont imbibés d'une quantité d'HE (40 et 60 µl/disque). A l'aide d'une pince stérile déposer et presser le disque chargé par l'huile essentielle sur la surface gélosée dans la boîte de Pétri que nous déposons à la surface d'un milieu gélosé (Muller-Hinton (MH) pour les bactéries ou la gélose Sabouraud additionné de Chloramphénicol (SAB) pour les champignons), une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé.

- **Incubation**

L'incubation des souches dans l'étuve est à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 heures pour les levures et 25°C pendant 4 jours pour les champignons.

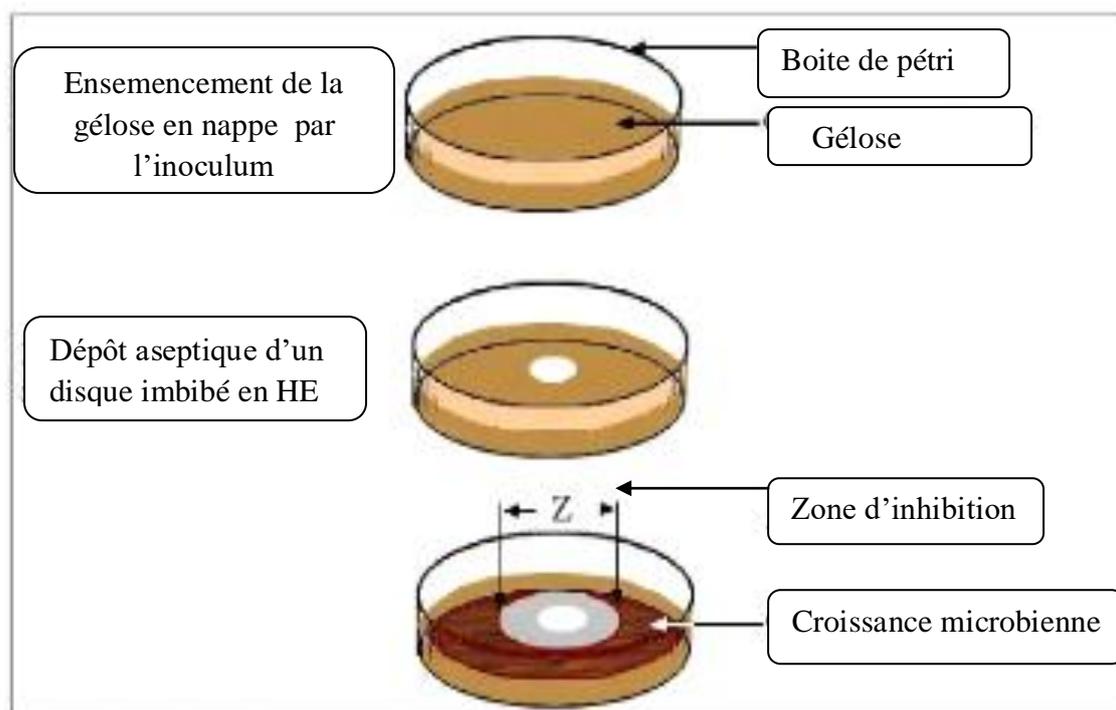


Figure 6. Principe de la méthode de diffusion par disque. (Aromatogramme)
(Zaika, 1988)

- **Lecture des résultats**

Elle se fait par la mesure précise du Diamètre de la Zone d'Inhibition (diamètre de disque inclus), à l'aide d'un pied à coulisse qui permet de classer l'activité antimicrobienne des HEs dans l'une des catégories (Tableau V). (Ponce et al ., 2003).

Tableau V. Diamètres des Zones d'Inhibition de la croissance microbienne et leurs degrés de sensibilités.

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

(Ponce et al ., 2003)

2.5.2. Microatmosphère ou méthode en phase vapeur

Nous avons utilisés cette méthode dans le but d'exploiter les propriétés antimicrobiennes de la phase volatile de l'HE (**Figure 7**). La différence entre cette technique et les Aromatogrammes réside principalement dans la position du disque imprégné.

Cette technique permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des HEs à l'intérieur d'une boîte Pétri. Le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve à des températures adéquates (37°C pendant 24 heures pour les bactéries, et à 25°C pendant 48 heures pour les levures et 25°C pendant 4 jours pour les champignons). Il se produit une évaporation des substances qui, en contact avec les microorganismesensemencés sur la gélose, vont inhiber leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette à tendance circulaire.

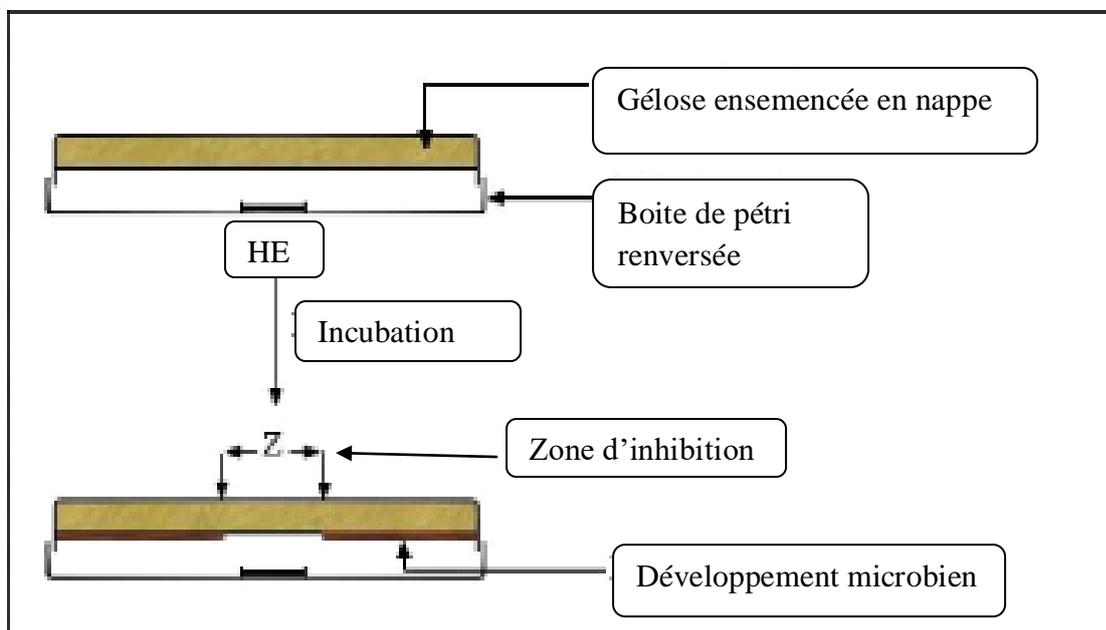


Figure 7 : Principe de la méthode de diffusion en phase vapeur. (Microatmosphère)
(Zaika, 1988).

1. Rendement en huiles essentielles

L'huile essentielle extraite des rameaux feuillés du Cèdre de l'Atlas a fourni un rendement de 0.53%. Ce dernier est très inférieur à ceux obtenus dans les travaux menés par **Boudarene et al., (2004)** sur les aiguilles du Cèdre de l'Atlas d'Algérie dans la région des Aurès et du Djurdjura qui ont mentionné des taux très élevés de l'ordre de 1,2% et 1,7% respectivement, ainsi que ceux ramenés par **Derwich et al., (2010)** pour le Cèdre de l'Atlas du Maroc, qui a donné un rendement de 1.82%.

La différence des rendements observés peut être expliquée par divers facteurs tels que la provenance, la période de récolte, l'âge de la plante, l'humidité du matériel végétal, la technique d'extraction, et aussi les facteurs environnementaux. (**Zhao et al., 2012**).

2. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats des propriétés physico-chimiques à savoir: la densité relative, le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide et l'indice d'ester, sont regroupés dans le **tableau VI**.

Tableau VI. Paramètres physico-chimiques de l'huile essentielle de Cèdre de l'Atlas.

Analyses physicochimiques	HE extraite	Norme (AFNOR, 2002)
Densité à 20°C	0.9289	0.92 – 0.95
Indice de réfraction à 20°C	1.512	1.500-1.520
Pouvoir rotatoire	+0.60°	+57° +82°
Indice d'acide	0.30	-
Indice d'ester	7.0125	-
Indice de saponification	6,678	-

D'après les résultats représentés dans le **tableau VI**, les indices physico-chimiques semblent être comparables avec les normes (**AFNOR, 2002**).

- **Densité à 20°C**

La densité relative à 20 C°, de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* M (≈ 0.93), reste inférieur à celle de l'eau (=1). Ceci explique sa non miscibilité aux solutions aqueuses.

- **Indice de réfraction**

L'indice de réfraction de l'huile essentielle de Cèdre à 20°C est de 1,512, ce qui est conforme aux normes (AFNOR, 2002). Ce qui montre sa richesse en composants qui dévie la lumière polarisée.

L'indice de réfraction représente un critère de pureté de l'huile. Il dépend de la composition chimique des huiles et de la température (Kaloustian et al., 2013). Généralement, l'indice de réfraction des huiles essentielles est élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20°C = 1,3356. L'indice de réfraction est inversement lié au degré de réfraction d'instauration de l'HE (Gacem et al., 1995), plus l'indice de réfraction est faible plus l'HE est de qualité.

- **Pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire de l'huile de Cèdre trouvé est de l'ordre de 0.60°. Ce paramètre physique nous donne un bon renseignement en ce qui concerne les composés, qui sont responsable de la déviation du plan de polarisation (composés chimiques ayant une asymétrie dans leurs compositions chimiques).

- **Indice d'acide**

Notre l'HE révèle un IA de 0.30 la valeur de cet indice, reste certes dans les normes. L'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres. Il permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage. (Salle, 1991)

En réalité, une huile essentielle fraîche contient très peu d'acides libres un IA inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres). (Kanko et al., 2004).

- **L'indice d'ester**

Notre HE révèle un indice d'ester (IE) de 7.0125. Cette valeur est importante. En effet plus l'indice d'ester est élevé, mieux est la qualité d'une HE (et proportionnellement, moins la qualité d'une l'huile est bonne, et moins elle contraindra d'ester). (Salle, 1991)

- **Indice de saponification**

Dans notre étude, l'IS est de l'ordre de 6,678 ce qui implique que l'HE de Cèdre contient une faible quantité des acides gras à faible poids moléculaire.

L'indice de saponification renseigne sur la longueur des chaînes d'acides gras, il décroît avec l'augmentation de la longueur de ces chaînes. C'est un indice qui est très utile dans l'industrie des savons. Une huile qui se caractérise par un indice de saponification important, est une huile très commode pour servir dans la fabrication des savons. (Hillali, 2005).

3. Evaluation de l'activité antimicrobienne « in Vitro » de l'HE de *Cedrus atlantica* M.

3.1. Par Aromatogramme.

Les résultats de ce test antimicrobien sont rapportés dans les **Tableaux VIII et IX**. A noter que le diamètre du disque (9 mm) a été inclus dans le calcul du Diamètre de la Zone d'Inhibition (DZI).

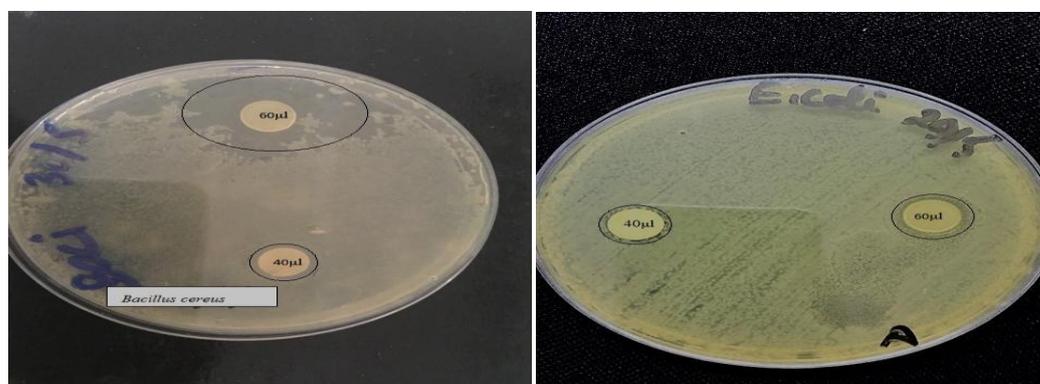
Tableau VII. Diamètres des zones d'Inhibition de la croissance microbienne (en mm) de l'essence aromatique de *Cedrus atlantica* M. par la méthode de l'Aromatogramme.

Souches bactériennes	Volume Huile Essentielle (µL / disque)		
	40µl	60µl	Sensibilité
<u>Gram -</u>			
<i>Escherichia coli</i>	14	18	++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	16	++
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	11	+
<u>Gram +</u>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	22	+++
<i>Bacillus cereus</i>	14	29	+++

(-) : aucune zone d'inhibition.

A la lecture des résultats obtenus lors de ce screening antibactérien par Aromatogramme, il apparaît clairement que l'HE de Cèdre de l'Atlas présente une activité inhibitrice sur les souches bactériennes. En effet, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* ont montré une forte sensibilité vis-à-vis de l'HE à la dose 60 µl, avec des DZI respectifs de 16, 18, 22 et 29 mm (**Figure 9**). Egalement, ces mêmes souches se sont avérées sensibles à la dose de 40 µL avec DZI entre 11 et 14mm.

Seul *Pseudomonas aerogenosa*, s'est avéré résistant à cette huile à 40 µL et légèrement sensible à la dose de 60 µL .



Bacillus cereus

Escherichia coli

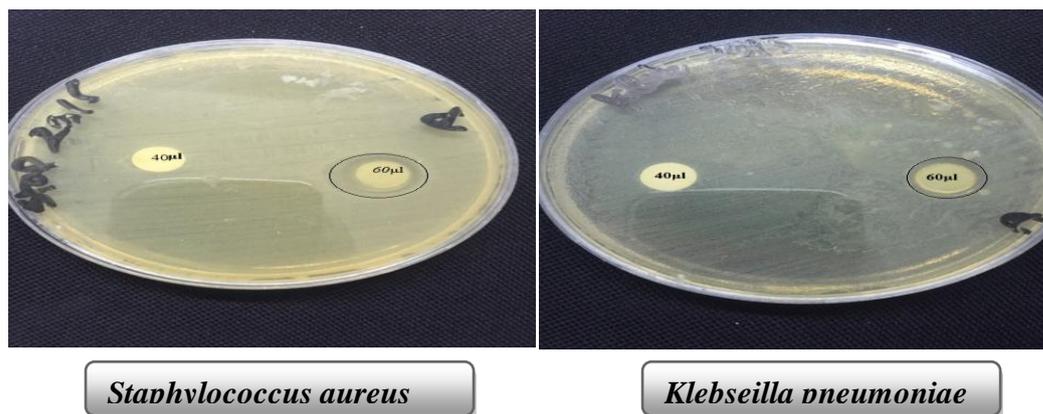


Figure 9. Activité antibactérienne de l'essence aromatique du *Cedrus atlantica* M par Aromatogramme. (Originale, 2017).

Il faut noter que très peu de recherches ont évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles du Cèdre, nos résultats corroborent avec les travaux de (Aberchane et al., 2003 ; Satrani et al., 2005) qui ont trouvé une faible activité antibactérienne contre les bactéries à Gram négatif et une activité modéré vis-à-vis des Gram positif.

Cependant, ils sont en accord avec ceux de Deriwech et al., (2010), qui ont étudié le pouvoir antibactérien de l'HE des aiguilles du Cèdre récoltées, dans la région de Ticket, Maroc et ont mentionné un effet comparable sur les mêmes souches testées.

De même, nous avons constaté que la variation de l'activité antibactérienne de l'HE testée est en fonction de la bactérie cible. Nous avons également remarqué qu'il existe une certaine différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-. Ceci est en totale adéquation avec les travaux de Tepe et al. (2005), Dorman et Deans (2008), qui confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antibactériennes des l'HEs que les Gram-. Effectivement, Imelouane, (2009) a mentionné que ceci peut être expliqué par les différences structurales de la paroi bactérienne entre les deux groupes bactériens. Ainsi, la présence d'une membrane externe hydrophile chez les bactéries à Gram négatif bloque probablement la pénétration des composants hydrophobes des huiles essentielles dans la membrane des cellules cibles (la paroi des bactérie à Gram négatif est très riche en lipides car elle contient une double couche lipidiques), par contre la paroi des bactéries à Gram positif contient moins de phospholipides (partie hydrophile) et elle est riche en

peptidoglycane (partie protéique) ce qui facilite la pénétration d'huile essentielle dans la cellule bactérienne de ce groupe.

Elgayyar et al., (2001) et **Delaquis et al., (2002)** donnent un autre avis et notent qu'il est très difficile de faire de telle généralisation, parce que chaque huile essentielle est unique dans sa composition et chaque bactéries diffère considérablement en structure et en fonctionnalité y compris en pouvoir pathogène.

Cette différence dans l'effet antibactérien de notre huile est du à plusieurs facteurs, comme l'origine géographique, le polymorphisme chimique, les organes utilisés ...etc.

En ce qui concerne les souches fongiques, les résultats des mesures des halos d'inhibitions nous ont permis de classer les champignons suivant leur degré de sensibilité à l'HE (**tableau VIII**).

Tableau VIII. Diamètre des zones d'inhibition (en mm) de l'essence aromatique de *Cedrus atlantica* M. par la méthode de l'Aromatogramme.

Les souches Fongiques	Volume Huile Essentielle (µL / disque)		
	40 µL	60 µL	Sensibilité
<i>Candida albicans</i>	18	26	+++
<i>Aspergillus braziliensis</i>	12	32	+++
<i>Aspergillus niger</i>	-	11	+
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	11	+
<i>Fusarium graminearum</i>	-	-	-
<i>Verticilium dalhae</i>	22	42	+++
<i>Penicillium globrum</i>	-	22	+++
<i>Penicillium expansum</i>	-	18	++

D'après le tableau ci-dessus, nous constatons que les souches fongiques les plus sensibles à l'action inhibitrice de l'essence aromatique *in vitro* sont : *Verticillium dalhae* avec un DZI de 42mm, suivi par *Aspergillus braziliensis* (32 mm), *Candida albicans* (26 mm), *Penicillium globrum* (22 mm) et *Penicillium expansum* (18 mm), *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* avec un DZI de 11 mm et ce pour la dose de 60 μ L (Figure 10).

Toute fois, à la dose 40 μ L, seules les souches *Aspergillus braziliensis*, *Candida albicans* et *Verticillium dalhae* ont montré une sensibilité vis-à-vis de l'HE, avec des DZI respectifs de 12, 18 et 22mm.

Fusarium graminearum semble posséder un potentiel de résistance élevé contre l'action antifongique de notre l'HE.

é rapporté dans la littérature (Djeddi et al., 2007), une souche fongique est considérée comme étant extrêmement sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égale à 20 mm.

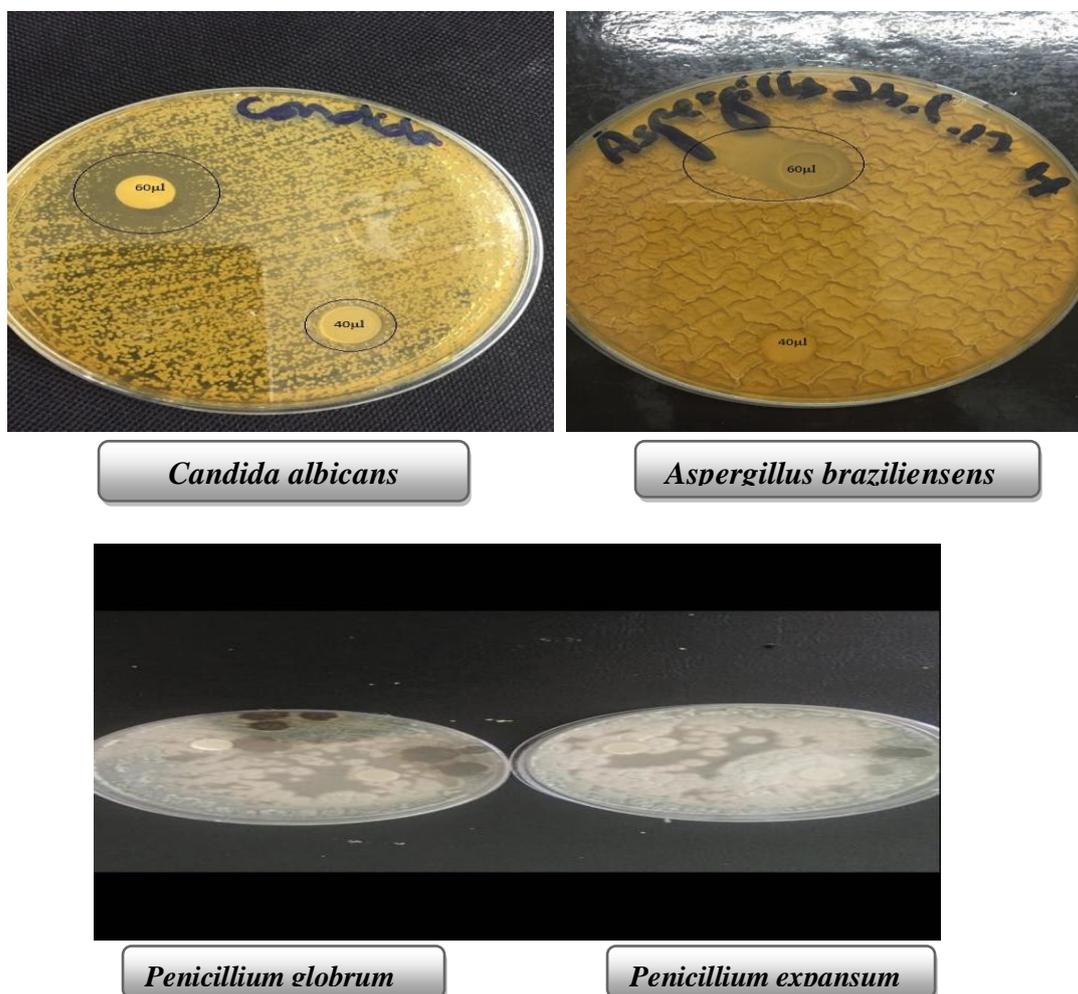




Figure 10. Activité antifongique de l'essence aromatique du *Cedrus atlantica* M par Aromatogramme. (Originale, 2017)

Nos résultats obtenus ne concordent pas avec ceux de **Shin (2003)** et **Ghafouri et al. (2014)**, qui ont étudié l'activité antifongique de l'HE extraite des bois et des grains du Cèdre *A.niger* et *P.expansum* et *P.digitatum* et *A.flavus* et qui ont noté une forte résistance des souches vis-à-vis de l'HE. Ceci est principalement due à leur composition chimique riches en hydrocarbures terpéniques et pauvre en terpènes phénoliques (**Ghafouri et al ., 2014**).

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques du Cèdre. Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al., 2000**). La lyse des cellules de levure a été montrée par la libération de substances absorbant à 260 nm (**Chami et al., 2005**). En outre le mode d'action fongicide des HE a été abordé par quelques études qui sont arrivées à la conclusion que ce mécanisme se manifeste par une altération de la membrane plasmique de la cellule fongique (**Cox et al., 2001**).

3.2. Par Microatmosphère.

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'HE, sont rapportés dans les **tableaux IX** et **X**.

Tableau IX. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (en mm) de l'essence aromatique de *Cedrus atlantica* M. par Microatmosphère.

Les souches Bactériennes	Volume Huile Essentielle (µL / disque)		
	40 µL	60 µL	Sensibilité
<u>Gram –</u>			
<i>Escherichia coli</i>	-	16	++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	14	+
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	-	-
<u>Gram +</u>			
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	20	+++
<i>Bacillus cereus</i>	14	26	+++

D'après les résultats, l'HE du Cèdre à dose de 60 µL a montré une activité antibactérienne importante contre *K. pneumoniae* (14 mm), *E.coli* (16mm), *Staphylococcus aureus* (20 mm) et *Bacillus cereus* (26 mm). Cependant, à la dose de 40 µL, seuls *S. aureus* et *B. cereus* se sont avérés sensibles avec DZI de 11 et 14mm respectivement (**Figure 11**).

Pseudomonas aerogenosa est la seule souche ayant manifesté une forte résistance à l'HE pour les deux doses.



Figure 11. Effet antibactérien de l'HE par Microatmosphère.(**Original, 2017**)

Tableau X. Diamètres des zones d'inhibition de la croissance fongique (en mm) de l'essence aromatique de *Cedrus atlantica* M. par Microatmosphère.

Les souches Fongiques	Volume Huile Essentielle (µL / disque)		
	40µl	60 µL	Sensibilité
<i>Candida albicans</i>	12	22	+++
<i>Aspergillus braziliensens</i>	-	20	+++
<i>Aspergillus niger</i>	-	11	+
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	-	-
<i>Fusarium graminearum</i>	-	-	-
<i>Verticilium dalhae</i>	14	24	+++
<i>Penicillium globrum</i>	-	14	+
<i>Penicillium expansum</i>	-	12	+

D'après les résultats de tableau X, les souches les plus sensibles, pour la dose 60 µL sont *Verticilium dalhae* (24mm), *Candida albicans* (22mm), *Aspergillus braziliensens* (20mm), *Penicillium globrum* (14mm), *Penicillium expansum* (12mm) et *Aspergillus niger* (11mm).

Par contre à la dose de 40 μ L, toutes les souches ont montré une résistance à l'exception de *Verticilium dalhae* (14mm), *Candida albicans* (12mm). De même, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium graminearum* se sont avérés très résistants à l'huile quelque soit la dose (**Figure13**).

La méthode de Microatmosphère n'a pas été concluante pour la plupart des souches testées, ceci est probablement dû aux conductions expérimentales défavorables (degré de température) ce qui favorise l'évaporation des huiles.

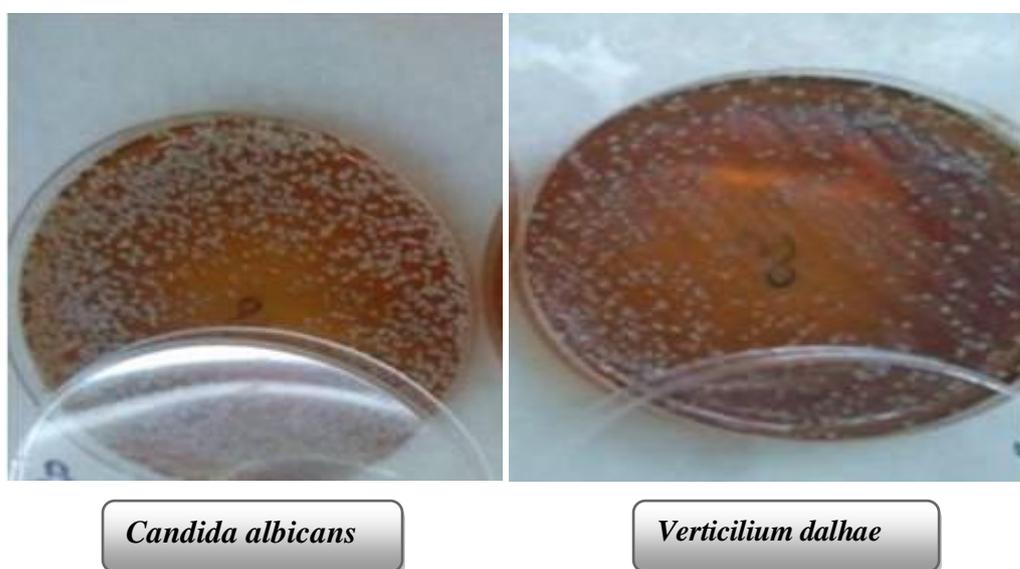


Figure 12 : Résultats de l'activité antifongique de l'HE par Microatmosphère.

(Originale, 2017)

3.3. Comparaison entre les deux méthodes

Les figures 13 et 14, illustrent les résultats de l'effet antimicrobien testé par les deux méthodes, l'Aromatogramme et la Microatmosphère.

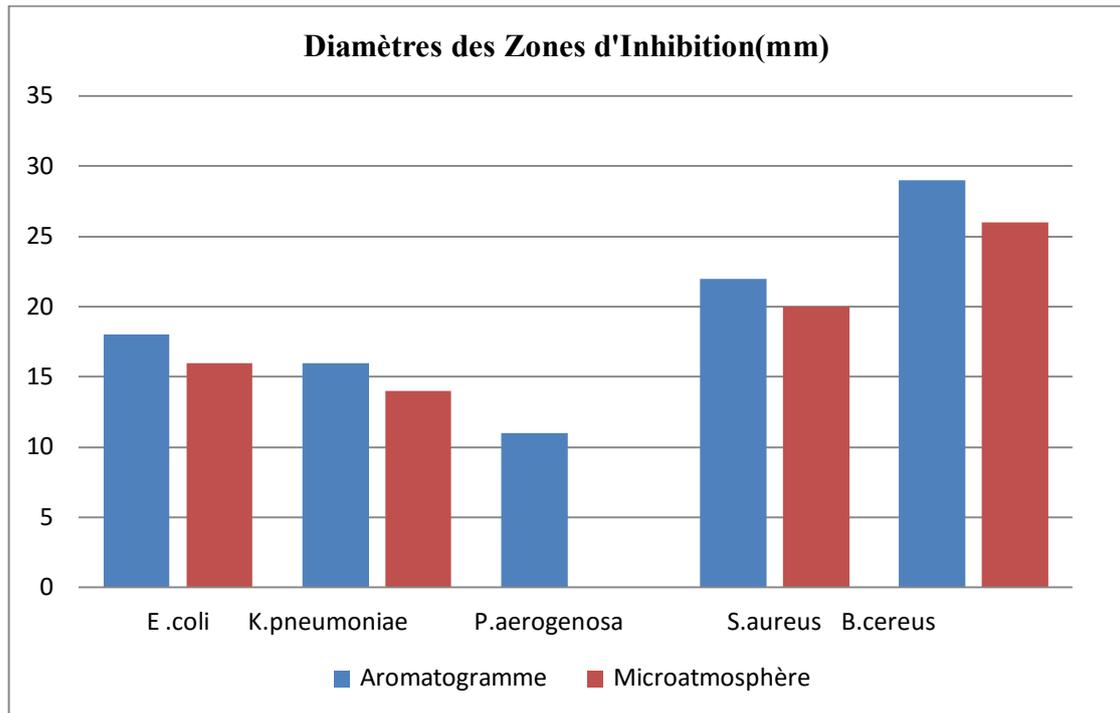


Figure 13 : Représentation graphique des deux tests antibactériens de l'HE de Cèdre de l'Atlas.

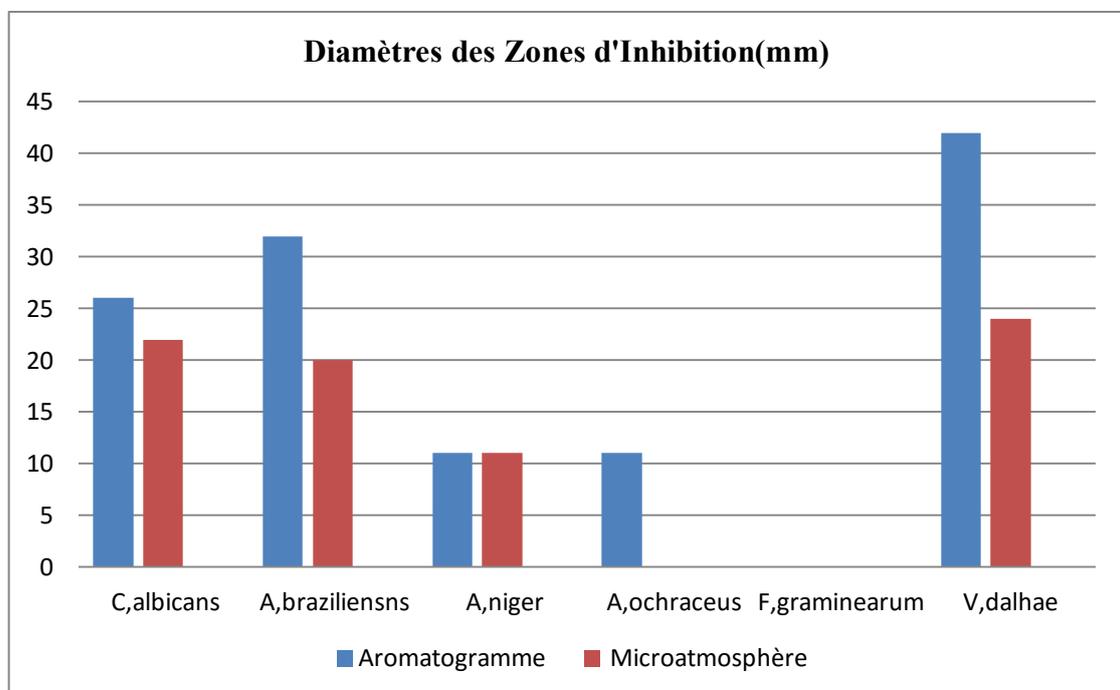


Figure 14 : Représentation graphique des deux tests antifongiques de l'HE de Cèdre de l'Atlas.

Indépendamment des souches microbiennes, il semblerait que la méthode de l'aromatogramme est plus efficace en comparaison avec celle de la microatmosphère. Donc, l'effet inhibiteur de l'HE, pourrait être dû à la fraction non volatile.

En outre, Plusieurs paramètres peuvent être à l'origine de la présence ou l'absence de l'activité antimicrobienne, la taille de l'inoculum : un inoculum trop dense peut conduire à des résultats faussement négatifs. Un inoculum trop faible peut conduire à des résultats faussement positifs. Cependant, la comparaison de l'efficacité des HEs à travers les différentes publications reste difficile à réaliser, et cette difficulté réside au niveau des différents paramètres externes incontrôlables. Donc l'activité antimicrobienne d'une HE peut changer par sa composition chimique, par les génotypes, par les méthodes employées...etc.

Les résultats obtenus par chacune de ces deux méthodes peuvent être différents selon le choix et les conditions physiologiques des microorganismes. La période de l'exposition du microorganisme à l'HE, aux doses d'HE utilisées, le choix de l'émulsifiant pour solubiliser les HEs ceux-ci autant de facteurs pouvant expliquer parfois des résultats contradictoires des différentes études

En somme, d'après nos résultats sur l'activité antimicrobienne de l'HE testée, il ressort que l'activité biologique des HEs ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dorman et Deans, 2000**). En effet, il est admis que l'activité antimicrobienne des HEs se classe dans l'ordre décroissant selon la nature de leurs composés majoritaires : phénols > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters (**Dorman et Deans, 2000**). Ainsi, les effets antimicrobiens des HEs ont été expliqués principalement par la présence des terpènes, les hydroxyles des groupements phénoliques qui sont capables de se lier aux sites actifs des enzymes cibles par des liaisons d'hydrogène. Les alcools terpéniques sont connus par leur fort pouvoir antibactérien, dû à leur solubilité dans l'eau, ce qui leur confère une haute habileté à pénétrer la paroi des cellules bactériennes (**Balletti et al., 2004**).

Références bibliographiques

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

ABERCHANE, M., SATRAN, I B., FECHTAL M., CHAOUCH A. (2003) « effet de l'infection du bois de *cedrus atlantica* M. par *trametes pini* et *ungulina officinalis* sur la composition chimique », *Acta Bot Gallica*, vol2, p223-229

AFNOR (2002). Recueil de normes. Les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR. Paris, 440 p – recueil de normes. Les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles (H à Y). AFNO. Paris, 661-663.

AMARTI F., SATRANI B., GHANMI M., FARAH A., AAFI A., AARAB L., EL AJJOURI M., CHAOUCH A. (2010). Composition chimique et activité bantimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*14(1), 141-148.

AFSSAPSf S. (2008) «Recommandation relatives aux critères de qualité des huiles essentielles».

ARBEZ M., FERRANDES P. et UYAR N. (1978). Contribution à l'étude de la variabilité géographique des cèdres. *Ann. Sci. For.* 35(4): 265–284

BAKKALI .F, AVERBECK.S, AVERBECK. D., IDAOMAR.M. (2008). Biological effects of essential oils, *Food and chemical, toxicology*, 46, 446, 475.

BARDEAU F., «Huiles essentielles», Edition, LANOR, Paris, (2009), 315P.

BARITEAU M. (2003). Les ressources génétiques forestières dans le bassin méditerranéen. *Forêt méditerranéenne*. t. XXIV, n°2.

BARITEAU M., VAUTHIER D., POMMERY J., REI F. et ROYER J. (2007). Les meilleures provenances de cèdres pour le reboisement en France méditerranéenne. *Forêt -Entreprise*, n° 174. Pp : 21-26.

BELLAKHDAR J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed).Paris, 764p.

BENJILALI B., TANTAOUI-ELARAKI A., ISMAÏL-ALAOUI M. ET AYADI A. (1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptique des huiles essentielles par contact direct en milieux gélosé. Plantes médicinale et phytothérapie. . mémoire de Magister en pharmacie. Université de Constantine 167p.

BENJILALI, B., (2005) « le matériel végétale et l'extraction », département des sciences alimentaire et nutritionnelle, Maroc.

BENABID A, (1994). Biogéographie phytosociologie et phytodynamique des cédraies de l'atlas *Cedrus atlantica* (Manetti). Silva Méditerranæ Actes du séminaire International sur le cèdre de l'Atlas. Ifran (Maroc). 7-11 juin 1993. Pp : 62-69.

BILLERBECK V-G., ROQUES C., VANIERE P., MARQUIER P. (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles ; hygiènes volume x - n°3, 248-250.

BOUDARENE L., BAALIOUAMER A., MEKLATIB.Y. SCHARFFC., (2004), «Composition of the seed oils from *Cedrus atlantica Manetti*» .Journal of essential oil essential n°16. Alegria .63P.

BOUDY P. (1950). «Economie forestière Nord Africaine : Monographie et traitements des essences Forestières », FascII, Éd. Larose, T 2(II), Paris, 638 p.

BOUDY P. (1952). « Guide du forestier en Afrique du Nord ». Éd. La Maison Rustique ,505 p.

BOUDARENE L. (1991). «Analyse d'huile essentielle d'aiguilles de cèdre de l'atlas poussant en Algérie », Thèse de Magister, Algérie (U.S.T.H.B).

BURONZ M.A.(2008).«Grand guide des huiles essentielles ».Hachette pratique.France.256P.

BRUNETON J. (1999) «Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». Éditions Tec &Doc,Paris, éditions médicales internationales, paris, , pp: 483560.

ELGAYYARV M., DRAUGON F., GOLDEN D et MOUNT J. (2001). Antibacterial activity of essential oils from plants against selected pathogenic

and saprophytic microorganisms .J. Food protects 64:1019-1024.

Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88(1), 170-175.

COX S.D., Mann C.M. & Markham J.L. (2001). Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Applied Microbiology 91: pp. 492-497.

CLAVE, D. (2013), FICHE TECHNIQUE : *Staphylococcus aureus*, Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie, (online) [http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Staphylococcus%20aureus%20\(Edition%202013\).pdf](http://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques/Staphylococcus%20aureus%20(Edition%202013).pdf)

CHBOUKI N. (1994). Une synthèse dendroclimatique de Cèdre de l'Atlas. Ann. Rech. For. Maroc. T (27) : 33-59.

CHEYNIER.V, SAMI-MANCHADO.P, 2006, Structures phénoliques et goût, Les polyphénols en Agroalimentaire,Lavoisier, 398P.

DERRIDJ A. (1990). Etude des populations de *Cedrus atlantica Manetti* en Algérie. Thèse. Doc. Ecologie. Univ. Paul Sabatier. Toulouse.288p.

DERWICH, E., BENZAINÉ Z., BOUKIR A. (2010). «Chemical composition and In vitro antibacteria activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*», Int.J.Agric.Biol., 13 :385p.

DORMAN, J.A, et DZANS S.G., (2008), Antimicrobial agents from plant, antibacterial activity of plant volatile oils, Journal of Applied Microbiology. Ed: Elsevier Masson, p308-316-1162

DJEDDI S.; BOUCHENAH N., SEATTAR I., SKALTSA H.D., (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Alegria, chemistry of natural compounds; Vol. 43; N°4.

ELGAYYARV M., DRAUGON F., GOLDEN D et MOUNT J., (2001) Antibacterial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms .J. Food protects 64:1019-1024.

El HAIB A. (2011). «Valorisation de terpènes naturels issus de plante marocaine par transformation catalytique », thèse de doctorat d'université de Toulouse-Paul Sabatier, France, pp158

EMBERGER, L. (1960) « les végétaux vasculaire : traité de botanique », édition Masson & Cie, paris, France.

FERRANDES P. (1986). Cèdres. Revue forestière française, vol. XXXVIII, spécial "Amélioration génétique des arbres forestiers". Pp. 139-141.

HADJI O., (1991). Contribution à l'étude de la régénération naturelle du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M) en forêt domaniale de Belezma W (Batna). Mem. Ing. Agr. I.N.A. El-Harrach. Alger. 81p

HALIMI A., (1980). L'Atlas Blidéen – climat & étages végétaux. Office des publications universitaires – Alger. Edition n° 648-2/80

GAUSSEN H, (1967). Les gymnospermes actuelles et fossiles. Faculté des sciences de Toulouse, Fasc. 7, 477p.

Ghafouri R. ; Strani B, Zair T., Ghanmi M., Aafi A, El Omari M. et Bntayeb A, (2014). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica*. Mediterranean journal of chemistry, 3(5), 1027-1036.

IMELOUANE B., ELBACHIRI A., ANKIT M., BENZEID H., KHEDID K., (2009). « Physico-Chemical Compositions and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Eastern

KANKO C, SAWALIHO BE, KONE S, KOUKOUA G, AND N'GUESSAN YT. (2004). « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippium multiflorum*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus* ». Comptes rendus Chimie 7 1039–1042.

Lardy, J., Haberkorne, V., Kinesither, (2007), «L'aromathérapie et les huiles essentielles» Rev, 61, 14-7.

LECOMTE F., (1998). Infection urinaire, Revue de praticien-médecine général. Tome 12, 416p, pp 38-42.

LEPOIVRE.P,(2003), Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des

pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte , les presses agronomiques de Gembloux de Boek , Ed 1, Bruxelles, 427P.

LOIZZO, M.R., SAAB A.M., TUNDIS, R. (2008). « Phytochemical analysis and in vitro antiviral activities of the essential oils of seven Lebanon species », Chem. Biodivers n°5, , pp461-472.

LOIZZO, M.R., SAAB, A.M., MENICHINI, F. (2007). « Composition and α -amylase inhibitory effect of essential oil from Cedrus libani », fitoterapia n°78, pp 323-326.

LOUKASS A. (2009). Atlas des parcs nationaux Algériens. Direction générale des forêts. Parc nationale théniet EL HAD.98p.

LUCCHSI-M.E.(2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23, 52.

LUCCHSI.M.E., CHEMATF. And SMADJAL.J. (2004). Flavour and Fragrance Journal Flavour Fragr .J. 19: 134-138

MEDDOUR G. (1994). La cédraie de l'Atlas Blideen (Algérie) valeur bioclimatique, syntaxonomique et dynamique. Ann. Rech. For. Maroc, T (27). Pp : 105-127.

MATINETI P. (2013). « Mon guide des huiles essentielles », Edition .Fernand Lonore.France, ,256P.

MOHAMMEDI.Z, 2006, Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Mémoire-Magistère, Université Abou Bakr Blaid-Tlemcen.

M'HIRIT O., BENZYAN M., et BLEROT P, (1994). « Le cèdre de l'Atlas :Mémoire du Temps », Éd. Mardaga, ,245p.

NADJAH M. (1988). « La croissance et la productivité du cèdre de l'Atlas à Chréa, Ann.Rech,Forest » ,Algérie, Vol 12, ,23-58 :Pp .

PANDA H. (2009). «Aromatic Plants Cultivation, Processing And Uses»,Ed ,National Institute Of Industrial Research, Delhi,,478P.

Pharmacopée européenne. (2001) 4^{ème} édition, Strasbourg ; P 20-60.

Pharmacopée européenne.(2008) 8^{ème} édition, Strasbourg;.P :1456 -14576

PELLECUER, J. JACOB M., de SIMEON B., DUSART G, .ATTISSO M. (1980). « Tomei,Plant ». Méd. Phytothér, P : 14, 83.

PANESTOS K. P., CHRISTOU A. et SCALTSOYIANNES A. (1992). First analysis on allozyme variation in cedar species (*Cedrus* sp.). *Silva Genet.* 41 (6). Pp : 339-342.

PERONBELON.MCM.,LUMB.VM.,ZUTRA.,HYMANL.J.etBURNETTM.(1989)).Factors affecting potato blackleg development.In:Tjamos ,EC, Beckman ,CH ,eds Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on the interaction of Genetic and Environmental Factorsin the development of Vascular Wilt Diseases of Plants'1988 , Cape Sounion, Greece.Berlin:Springer-Verlag,421-431.

PONCE G. (2003), mining the essential oils of the anthemideae *African journal of biotechnology*, 3 (12), 706 – 720.

POIRET, D., (2010).« pour tout savoir sur les plantes qui soignent », phytothérapie, , France.

PRATE S. (1998) -Matières premières usuelles du règne végétal.Masson & Cie.Tome 2. Paris.

PUJOS A., (1966). Les milieux de la cédraie marocaine. Etude d'une classification des cédraies du Moyen Atlas et du Rif en fonction du sol et du climat de la régénération actuelle dans les peuplements. *Ann. Rech. For. Maroc.* 8: Rabat 283p

QUEZEL, P., SANTA, S., (1962). « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales », édition du centre national de la recherche scientifique, tome1, p1019, France

ROCHE E. (2006). « Palynologie de la région méditerranéenne », Université de Liège,Note décours, inédit.

SAAB, A.M., HARB, F.Y., KOENIG, W.A., (2005) « essential oil components in heart wood of *Cedrus libani* and *Cedrus atlantica* from lebanon », *Minerva Biotec n°17*, pp159-161.

SALLE J L. (1991). « Le totum en phytothérapie : Approche de phytothérapie ».Edition Frison-Roche, paris .p 12-35.

SALLE E. (2004) ., «les huiles essentielles : Synthèse d'aromathérapie »Edition 2éme, Edition Frison –Roche, paris, 220 P :31-51

SATRANI, B., ABERCHANE, M., FARAH, A., CHAOUCH, A., TALBI, M., (2006). « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraite par hydro-distillation du bois de *cedrus atlantica manetti* », Acta Botanica Gallica, (2006), p153.

SHIM, B. C., & LEE, M. S. (2007). Effects of aromatherapy acupressure on hemiplegic shoulder pain and motor power in stroke patients : a pilot study. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 13(2), 247-252.

TEPE, B., DAFERERA, D., SOKMEN, A., SOKMEN, M., & POLISSIOU, M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry, 90(3), 333-340

TOTH J., (2005). « Le cèdre de France », Etude approfondie de l'espèce, Paris, L'Harmattan. Biologie, Ecologie, Agronomie, .,207 p.

TOTH J, « Le cèdre : utilisation et qualité technologique », La forêt prévue n° 194, pp : 57-60.intérêt paysage : cédraies touristiques la prévue n° 195(1990), pp : 50 -57.

TYAGI, A. K., & Malik, A. (2010). Liquid and vapour-phase antifungal activities of selected essential oils against *Candida albicans* : microscopic observations and chemical characterization of *Cymbopogon citratus*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 10(1), 65. 67

ZAIKA, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination1. Journal of Food Safety, 9(2), 97-118.

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.

Annexe 1 : « Matériel de laboratoire utilisé »

• Petit matériel et consommable

- Anse de platine.
- Bec bunzen.
- Bécher.
- Boîtes de Pétri stériles à usage unique.
- Burette graduée.
- Disques en papier absorbants.
- Ecouvillons stériles à usage unique.
- Entonnoir.
- ErlenMeyer.
- Etiquettes.
- Fiole conique.
- Fiole Jaugée.
- Papier Aluminium.
- Pince.
- Pipettes graduées.
- Pissette.
- Portoir pour tubes.
- Seringues stériles en plastique à usage unique.
- Tubes à essai en verre à vis et à fond plat.

• Réactifs

- Alcool.
- Eau distillé.
- Eau physiologique à 0.9%.
- Ethanol
- Formol
- HCl
- Hydroxyde de potassium
- Méthanol

Annexes

- **Appareillage :**

- Agitateur Vortex.
- Autoclave (Stérilisation à chaleur humide 120°C).
- Bain Marie.
- Balance analytique.
- Balance de précision.
- Etuve.
- Polarimètre.
- Réfractomètre.
- Spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu).
- Titrimètre.



Bain-marie



Balance de précision

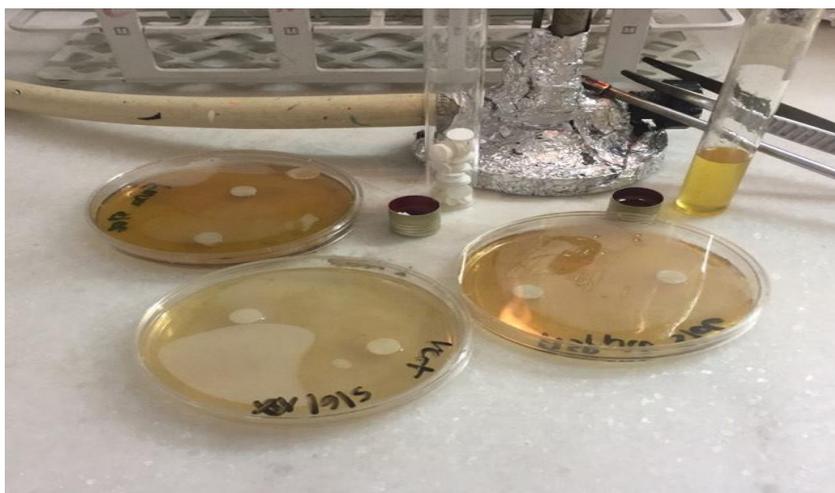


Densitomètre



Etuve

Annexes



Aromatogramme

Annexe 2 : « Milieux de culture utilisés »

❖ La composition des principaux milieux de cultures utilisés :

*Gélose nutritive :

Extrait de viande de bœuf.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Peptone.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Gélose.....	15g

pH=7.3

*Mueller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf.....	300g
Hydrolysat de caséine	17.5g
Amidon.....	1.5g
Gélose	10g

pH =7.4

*Gélose Sabouraud :

Peptone	Glucose
.....	20g Agar
.....	15g Eau distillée
.....	1000ml

pH=6.3

Annexes

Annexe 3

Tableau : Caractéristiques des souches microbiennes utilisées.

Espèce microbienne	Caractéristiques	Maladies provoqué	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Bacille, mobile, Gram négatif, pathogène.	négatif, pathogène. Diarrhée, infection urinaire, méningite, septicémie	(Burits et Bucar, 2000)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci, immobile, Gram positif, disposé en amas ou en grappe de raisin.	Infections cutanées suppurées, toxiinfection alimentaire.	(Clave, 2013)
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	bacilles fins à Gram négatif, non capsulés, mobiles	Responsable de bronchopneumopathies et les affections respiratoires infections cutanées dans les ulcères	(Clave, 2011)
<i>Bacillus subtilis</i>	Batonnet droit à bout arrondis, Gram positif	Infection oculaires succédants à des traumatismes accidentals ou chirurgicaux. Responsable de quelque cas de toxi-infections alimentaires	(Joffin et Leyral, 2006)
<i>Kleibseila pneumonae</i>	Baciile Gram négatif	Agent pathogène responsable d'infection variée : respiratoire, infection opportuniste chez les malade shospitalisés	(Joffin et Leyral, 2006)

Annexes

<i>Genre Aspergillus</i>	Aspect conidiospore terminé par une tête renflée	Infection fongique et parasitaire entraîne une baisse importante de la faculté germinative des semences.	(Reboux et al., 2010)
<i>Conidida albicans</i>	champignon diploïde et encapsulé, polymorphes	candidose, une infection fongique	(Hazen et Howell, 2007)
<i>Fusarium graminearum</i>	présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées	espèces phytopathogènes, saprophyte susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes, provoquant des maladies appelées Fusariose	(Hazen et Howell, 2007)
<i>Verticilium dahliae</i>	Aspect conidiospore	Responsable de la verticilliose sur plusieurs légumes en particulier la tomate.	(Reboux et al., 2010)
<i>Genre Penicillium</i>	présence de conidiophores dressés, plus ou moins ramifiés, terminés des phialides.	des contaminants fréquents de nombreux substrats, notamment des aliments. Certains d'entre eux produisent des métabolites toxiques pour les mammifères.	(Reboux et al., 2010)