

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret–  
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique  
Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière: Sciences biologiques  
Spécialité: Infectiologie

Présenté par:

BERROUBA Fatma  
LARBI Hadjira  
TOUATI Naoual

*Thème*

**Etude de quelques activités biologiques du cèdre de l'Atlas**  
**(*Cedrus atlantica* Manetti)**

Soutenu publiquement le 04-10-2020

**Jury**

**Président: Dr. NEGADI Mohamed**  
**Encadrant: Dr. DOUKANI Koula**  
**Co-encadrant: M<sup>elle</sup>. BOUHENNI Hasna**  
**Examineur : Dr. NEHILA Afaf**

**Grade**

**MCB**  
**Pr**  
**Doctorante**  
**MCB**

**Année universitaire 2019-2020**

## *Remerciements*

AU NOM D'ALLAH LE CLEMENT LE MISERICORDIEUX, PAIX ET SALAM SUR SON  
PROPHETE MOHAMMED

Nous tenons à remercier "Allah" le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce travail, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Notre chère encadrant, **Dr. DOUKANI K.** qu'elle trouve ici l'expression de notre vive reconnaissance pour avoir accepté de nous encadrer, et pour ses conseils qui ont amélioré la réalisation de ce mémoire. Ce travail n'aurait pas pu se faire sans son aide précieuse, sa patience, sa gentillesse, son professionnalisme et ses encouragements. C'est pourquoi nous lui exprimons notre grande gratitude pour l'aide précieuse qu'elle nous a apportées, pour ses remarques et ses conseils avisés, qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Notre chère co-encadrant, **M<sup>elle</sup>. BOUHENNI H.** qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance tant pour nous avoir accordé sa confiance, ses compétences, ses précieux conseils et sa disponibilité.

Nous remercions également les membres de jury ; **Dr. NEGADI M.** et **Dr. NEHILA A.** pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'acceptant de siéger à notre soutenance.

Nous tenons à remercier vivement **Dr. BOUMEZRAG A., Dr. SARMOUM M.** et **Mr. SEDDIKI N.** chargé de la bibliothèque et formateur de l'équitation de Parc National de Theniet El Had pour leur aide et leur disponibilité.

Nos chaleureux remerciements vont aux personnels du département, les ingénieurs des laboratoires de Biochimie, Technologie alimentaire, Microbiologie et les responsables de la bibliothèque pour leurs aides et leurs nombreux conseils valeureux.

## *Dédicace*

*Avec l'aide d'"ALLAH" le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je  
dédie :*

*A mes Parents, sans qui, je n'en serais pas là aujourd'hui. Merci pour tout leur  
amour et leur soutien depuis toujours.*

*A mes chers frères Mohamed, Ibrahim*

*A mes chères soeurs Torkia, Linda*

*A toute la famille LARBI et TAIBI*

*A mes copines Naoual, Fatma, Sabrina, Fatima*

*A Kamel pour son aide pour la réalisation de ce travail*

*Hadjira*

## *Dédicace*

*A mes chers parents,  
Qui m'ont tout donné sans rien en retour  
Qui ont toujours cru en moi  
Je vous aime énormément*

*A mes frères: Tayeb, Youcef, Mohamed*

*A mes sœurs: Saliha, Khayra  
A toute ma grande famille et voisins.*

*A mes amis: Mes amis d'enfance, Mes amis de la faculté*

*Merci d'avoir toujours partagé avec moi les moments de joie et de peine, Recevez à ce travail en témoignage de tous les bons moments qu'on a passés ensemble..*

*A tous ceux qui me sont chers.  
Je dédie ce modeste travail*

*Naoual*

## *Dédicace*

*Je tiens à dédier ce modeste travail d'abord:*

*À la mémoire de ma mère*

*Dieu a pitié d'elle et élargit son vaste paradis, si Dieu le veut*

*À mes Parents, ABED EL KADER et LALIA.*

*Merci pour tout leur amour et leur soutien depuis toujours. Ils ont su me donner toutes les chances pour réussir.*

*À mes sœurs SOUHILA et DJIHANE ISRAA*

*Et mes frères DJALEL et TAYEB*

*À ma cousine BAKHTA*

*À mes copines Naoual, Hadjira, Sabrina, Fatima*

*Fatma*

## Table des Matières

Liste des abréviations.....	<b>i</b>
Liste des tableaux.....	<b>ii</b>
Liste des figures.....	<b>iii</b>
Liste des annexes.....	<b>iv</b>
Introduction	

### Première partie: Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

I.1. Présentation de l'espèce.....	3
I.2. Systématique et taxonomie.....	4
I.2.1. Systématique du cèdre de l'Atlas.....	4
I.2.2. Noms vernaculaires.....	4
I.3. Description botanique.....	5
I.4. Historique.....	6
I.5. Aire de répartition géographique.....	6
I.5.1. Dans le monde.....	6
I.5.2. Dans l'Algérie.....	8
I.6. Caractéristiques climatiques.....	9
I.7. Composition phytochimique.....	9
I.8. Propriétés biologiques.....	10
I.8.1. Activité antibactérienne.....	10
I.8.2. Activité anti-inflammatoire.....	10
I.8.3. Activité antifongique.....	10
I.8.4. Activité antivirale.....	10

I.8.5. Activité antioxydante.....	11
I.9. Domaine d'application .....	11

## **Chapitre II : Activité antioxydante**

II.1. Introduction .....	12
II.2. Définition du stress oxydant .....	12
II.3. Radicaux libres.....	12
II.4. Antioxydants .....	13
II.4.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques) .....	13
II.4.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques) .....	13
II.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	15
II.5.1. Test de DPPH .....	15
II.5.2. Test d'ABTS* .....	15
II.5.3. Test de FRAP.....	16

## **Chapitre III : Activité antimicrobienne**

III.1. Définition .....	17
III.2. Agents antimicrobiens .....	17
III.3. Description des microorganismes étudiés.....	19
III.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne .....	20
III.4.1. Méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (Aromatogramme).....	20
III.4.2. Méthode des puits ou cylindre ou diffusion en milieu solide .....	20
III.4.3. Méthode par dilution .....	20

## Deuxième partie: Partie expérimentale

### Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Objectifs.....	22
I.2. Lieu et durée de travail .....	22
I.3. Matériel.....	22
I.3.1. Matériel végétal .....	22
I.3.2. Matériel biologique.....	24
I.3.3. Matériels du laboratoire .....	24
I.4. Méthodes .....	26
I.4.1. Protocole expérimental .....	26
I.4.2. Extraction des polyphénols totaux .....	27
I.4.2.1. Calcul de rendement .....	29
I.4.3. Dosage des polyphénols totaux.....	29
I.4.4. Dosage des flavonoïdes .....	30
I.4.5. Dosage des tanins.....	30
I.4.6. Screening phytochimique .....	31
I.4.7. Evaluation de l'activité antioxydante .....	33
I.4.8. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	34
I.4.8.1. Repiquage des souches bactériennes .....	35
I.4.8.2. Préparation de l'étalon .....	35
I.4.8.3. Préparation de l'inoculum .....	35
I.4.8.4. Méthode de diffusion des disques en milieu gélosé .....	35
I.5. Analyse statistique .....	36



## Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Extraction des composés phénoliques .....	37
II.2. Dosage des polyphénols totaux.....	38
II.3. Dosage des flavonoïdes .....	39
II.4. Dosage des tanins .....	41
II.4.1. Tanins condensés .....	41
II.4.2. Tanins hydrolysables .....	42
II.5. Screening phytochimique.....	43
II.6. Evaluation de l'activité antioxydante.....	44
II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	47
Conclusion .....	52
Références bibliographiques.....	54
Annexes.....	65

## Liste des abréviations

**ABTS** : Acide 2, 2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

**CMB** : Concentration minimale bactéricide

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DPPH** : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazylde

**DZI** : Diamètre de la zone d'inhibition

**EAG** : Equivalent d'acide gallique

***E. coli*** : *Esherichia coli*

**EAT** : Equivalent d'acide tannique

**EC** : Equivalent de catéchine

**EQ** : Equivalent de quercétine

**ERO** : Espèces réactives oxygénées

**FRAP** : Ferric reducing antioxidant potential (Potentiel antioxydant de réduction de fer)

**GN** : Gélose nutritif

**Gpx** : Glutation peroxydase

**GSH** : Glutation

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice de 50%

***P. aeruginosa*** : *Pseudomonas aeruginosa*

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

***S. epidermidis*** : *Staphylococcus epidermidis*

**SOD** : Superoxyde dismutase

**UFC** : Unité Formant Colonie

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°01:</b> Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne .....	18
<b>Tableau n°02:</b> Caractéristiques des souches bactériennes étudiées.....	19
<b>Tableau n°03:</b> Matériels du laboratoire .....	25
<b>Tableau n°04:</b> Rendement d'extraction des composés phénoliques de cèdre de l'Atlas.....	37
<b>Tableau n°05:</b> Teneur en polyphénols totaux dans les feuilles de cèdre de l'Atlas .....	38
<b>Tableau n°06:</b> Teneur en flavonoïdes dans les feuilles de cèdre de l'Atlas .....	40
<b>Tableau n°07:</b> Teneur en tanins condensés dans les feuilles de cèdre de l'Atlas .....	41
<b>Tableau n°08:</b> Teneur en tanins hydrolysables dans les feuilles de cèdre de l'Atlas .....	42
<b>Tableau n°09:</b> Screening phytochimique d'extrait méthanolique de cèdre de l'Atlas .....	43
<b>Tableau n°10:</b> Concentration inhibitrice à 50 % d'acide ascorbique et l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas .....	46
<b>Tableau n°11:</b> Effet d'extrait méthanolique des feuilles de cèdre d'Atlas sur les différentes souches bactériennes étudiées.....	48
<b>Tableau n°12:</b> Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé.....	49

## Liste des figures

<b>Figure n°01:</b> Vue de la cédraie de Talla Guillef sur le versant nord du Djurdjura.....	3
<b>Figure n°02:</b> Arbre de cèdre de l'Atlas .....	3
<b>Figure n°03:</b> Description botanique de cèdre de l'Atlas.....	5
<b>Figure n°04:</b> Aire de cèdre de l'Atlas au Maroc.....	6
<b>Figure n°05:</b> Volume sur pied (en m <sup>3</sup> ) de cèdre de l'Atlas en France.....	7
<b>Figure n°06:</b> Localisation de cèdre de l'Atlas en Algérie .....	8
<b>Figure n°07:</b> Cèdre de l'Atlas de Theniet El Had-Tissemsilt.....	23
<b>Figure n°08:</b> Localisation géographique de lieu de récolte des feuilles de cèdre de l'Atlas.....	23
<b>Figure n°09:</b> Protocole expérimental.....	26
<b>Figure n°10:</b> Etapes de la préparation des feuilles de cèdre de l'Atlas .....	27
<b>Figure n°11:</b> Méthodes d'extraction des polyphénols totaux .....	28
<b>Figure n°12:</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait utilisées.....	45

## Liste des annexes

<b>Annexe n°01:</b> Arbre de cèdre de l'Atlas (Décembre 2019, Theniet El Had- Tissemsilt).....	65
<b>Annexe n°02:</b> Différentes parties de l'arbre de cèdre de l'Atlas .....	66
<b>Annexe n°03:</b> Résultats de screening phytochimique des feuilles de cèdre de l'Atlas.....	67
<b>Annexe n°04 :</b> Résultats d'examen macroscopique, microscopique et identification biochimique des souches bactériennes testées.....	70
<b>Annexe n°05 :</b> Composition des milieux de culture .....	72
<b>Annexe n°06 :</b> Préparation de quelques réactifs .....	73

# **Introduction**

## Introduction

La médecine traditionnelle demeure le recours principal d'une grande majorité des populations pour résoudre leurs problèmes de santé. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 80% des individus dépendent de la médecine traditionnelle dans les soins primaires dans la vie quotidienne (OMS a, 2002).

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs contre de nombreuses maladies. L'utilisation thérapeutique des plantes fait partie intégrante des traditions de toutes les cultures. La valorisation médicinale de ces pratiques passe notamment par l'isolement et l'identification de nouvelles molécules (Alilou et al., 2014).

En Algérie comme dans les autres pays en voie de développement, les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité (Bendahou et al., 2007). La situation est plus préoccupante à cause de l'apparition des souches de micro-organismes antibiorésistants et l'émergence des infections non communes (OMS b, 2002) qui compromettent les traitements à l'aide des médicaments existants. Face à ces nombreux obstacles que présente l'utilisation des antibac-tériens disponibles, il est indispensable de rechercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action. Une des stratégies pour cette recherche consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle (Omolo et al., 2004).

Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) qui est une essence endémique des montagnes de l'Afrique du Nord (Moussaoui, 2014).

*Cedrus atlantica* ou cèdre de l'Atlas, n'est peut être pas la plus importante ou la plus nécessaire des réalités naturelles d'Afrique du Nord mais c'est certainement l'une des plus prestigieuses. Elle représente l'essence noble par excellence des pays constituant son aire naturelle : le Maroc et l'Algérie. Le simple fait d'avoir associé « Atlas » au nom de l'espèce traduit toute son importance (Demarteau et al., 2007).

Cette plante constituant un patrimoine local floristique très important présente plusieurs propriétés pharmacologiques très importantes comme anti-inflammatoire, antimicrobienne et antioxydante (Benouaklil et al., 2007; Aberchane et Fechtal 2004).

## Introduction

---

Plusieurs études portant sur les effets thérapeutiques des huiles essentielles de cèdre de l'Atlas, par contre peu de recherches sont menées sur l'évaluation des effets biologiques de leurs extraits (Fadel *et al.*, 2016; Naimi *et al.*, 2015).

Dans cet axe de recherche globale sur les plantes médicinales douées de propriétés thérapeutiques s'insère l'objectif de notre travail dont le but est l'évaluation de quelques activités biologiques des extraits des feuilles de cèdre de l'Atlas (autochtone de la région d'étude : Theniet el Had –Tissemsilt).

Notre étude expérimentale comporte:

- ✓ Etude phytochimique.
- ✓ Estimation de l'activité antioxydante par DPPH.
- ✓ Evaluation de l'effet antibactérien vis-à-vis quatre souches bactériennes pathogènes ; *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.



# **Première partie**

## **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

**Généralités sur le cèdre de l'Atlas**  
**(*Cedrus atlantica* Manetti)**

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

---

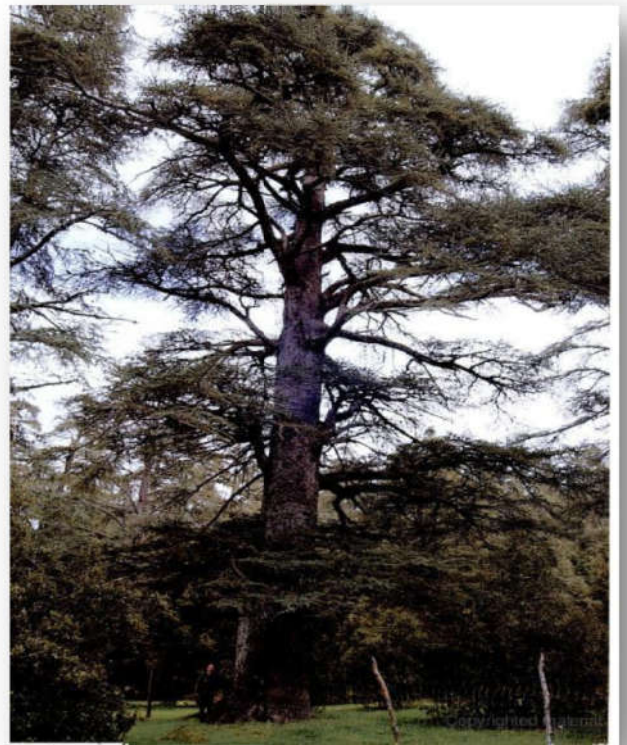
### I.1. Présentation de l'espèce

Le cèdre se rencontre dans de nombreux pays sur trois continents (l'Afrique, l'Asie et l'Europe), et est représenté par quatre espèces différentes dont trois sont réparties sur le pourtour méditerranéen (*Cedrus atlantica*, *Cedrus libanotica* et *Cedrus brevifolia*) et la quatrième (*Cedrus deodora*) originaire de l'Asie Mineure (**Barrouch et Keller, 1995**).

Le cèdre et plus particulièrement le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) (**Fig.1 et 2**), a été introduit depuis longtemps dans quelques pays circumméditerranéens, d'abord comme espèce ornementale, et ensuite comme espèce de reboisement (**Mhirit, 1999**).



**Figure n°01** : Vue de la cédraie de Talla Guillef sur le versant nord du Djurdjura (**Rabehi et al., 2014**)



**Figure n°02** : Arbre de cèdre de l'Atlas (**Retnani, 2006**)

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

---

### I.2. Systématique et taxonomie

#### I.2.1. Systématique du cèdre de l'Atlas

Le cèdre de l'Atlas *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl) répond à la systématique du **Dobignard et Chatelain (2010)** comme suit:

**Règne:** *Plantae*

**Embranchement :** Spermaphytes

**Sous-embranchement :** Gymnospermes

**Classe :** Vectrice

**Ordre :** Coniférales

**Famille :** Pinacées

**Sous – famille :** Abiétées

**Genre :** *Cedrus*

**Espèce:** *Cedrus atlantica* Manetti

#### I.2.2. Noms vernaculaires

Selon **Moussaoui (2014)**, les différents noms vernaculaires du cèdre de l'Atlas sont:

**Latin:** *Cedrus atlantica*

**Anglais:** Cedar

**Arabe:** أرز الأطلس

**Berbère:** Idil

**Italien:** Cedro

**Espagnol:** Cedro

**Allemand:** Zeder

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

### I.3. Description botanique

Le cèdre de l'Atlas est classé parmi les plantes à graines et plus précisément les plantes à ovules nus. Il peut être de grande taille, jusqu'à dépasser les 40 m de hauteur. Dans de bonnes conditions, il est capable de vivre plusieurs siècles (Demarteau et al., 2007).

La description botanique des différentes parties de l'arbre de cèdre de l'Atlas est présentée dans la figure suivante:



**Le port :** c'est un arbre de haute taille, dépassant souvent 50 m, et en moyenne 40 m. Le port de l'arbre est pyramidal (Boudy, 1950 ; Toth, 1980)



**L'écorce :** quand il est jeune l'écorce est lisse et brune, avec l'âge les écailles deviennent grises foncées, crevasses et sinueuses (Toth, 1980)



**Les rameaux** jeunes sont densément pubescents, ceux du premier ordre sont redressés (Quezel, 1998; Debazac, 1964)



**Les feuilles** ou aiguilles sont persistantes, réunies en bouquets de 20 à 30 sur des rameaux très courts. Leur apex est longuement corné. Leur longueur varie de 1 à 2 cm (Boudy, 1952)



**Les cônes** mûrs sont ovoïdes cylindriques, dressés, déprimés au sommet, de couleur brunâtre, longs de 5-8 cm et composés d'écailles ligneuses et étroitement imbriquées (Riou-Nivert, 2007)



**Les graines** du cèdre de l'Atlas sont huileuses, subtriangulaires, cunéiformes à la base de 10 - 14 mm, tendres, très résineuses et à aile large. En raison de leur poids, leur dissémination par le vent est difficile. Le poids de 1000 graines varie 60-100 g (Debazac, 1964)

Figure n° 03: Description botanique de cèdre de l'Atlas

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

### I.4. Historique

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) est une espèce originaire d'Afrique du Nord, il forme des peuplements étendus sur les chaînes de montagne du Maroc (Rif, moyen et haut Atlas) et d'Algérie (Djurjura, Theniet el Haad, Massif des Babors) à des altitudes variant de 1300 à 2700 m (Ferrara et al., 2013).

A l'origine, l'espèce fut introduite en Europe en tant que plante ornementale, typique des parcs et jardins. Par la suite, à partir de 1842, elle a été employée en reboisement, surtout en France, en Espagne et en Italie (Ferrara et al., 2013).

### I.5. Répartition géographique

#### I.5.1. Dans le monde

##### ➤ Maroc

C'est le pays qui détient la plus grande surface occupée par le cèdre de l'Atlas (Fig. 4) (Toth, 1980). L'ensemble des cédraies couvre une aire de plus de 130000 ha. La majorité se trouve dans le Moyen Atlas ; le reste se rencontre plus au nord dans le Rif et plus au sud dans le Haut Atlas (Demarteau et al., 2007).

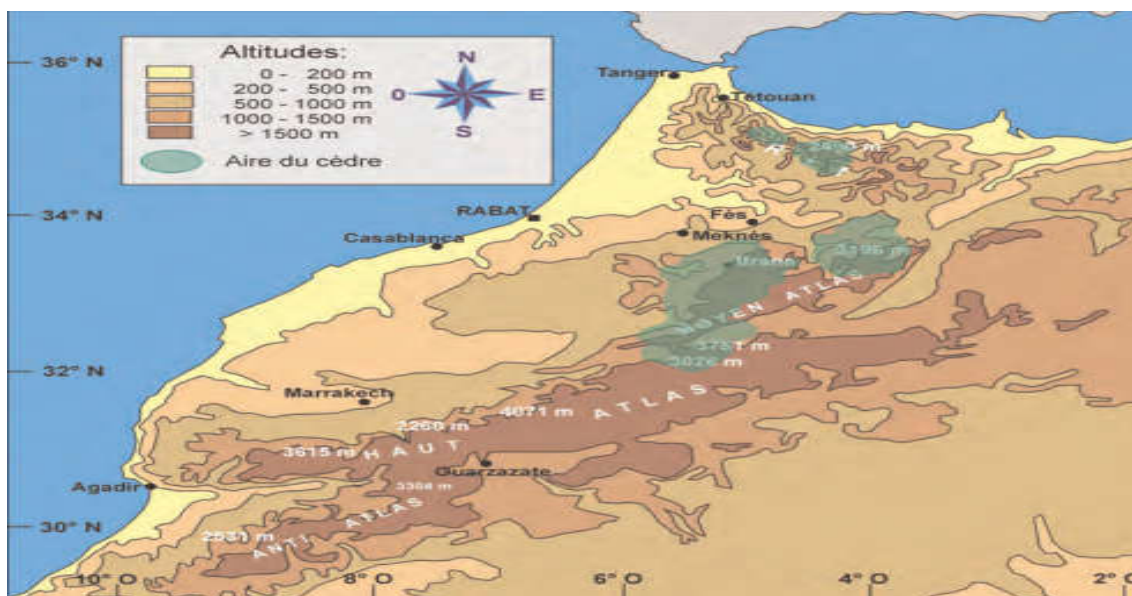


Figure n° 04: Aire de cèdre de l'Atlas au Maroc (Demarteau et al., 2007).

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

### ➤ France

Le cèdre de l'Atlas couvre environ 20000 ha de forêts (Fig.5) (Demarteau et al., 2007).



**Figure n° 05:** Volume sur pied (en m<sup>3</sup>) de cèdre de l'Atlas en France (Demarteau et al., 2007).

### ➤ Italie

Le cèdre de l'Atlas est également utilisé dans ce pays comme espèce de reboisement. Son introduction remonte au 10<sup>ème</sup> siècle, période où il fut planté en Toscane. Depuis, les cèdres peuplent sur près de 1000 ha en plusieurs régions du sud et du centre de l'Italie: la Sicile, la Calabre, la Sardaigne, la Molise et les Abruzzes (Demarteau et al., 2007).

### ➤ Divers

**Lasram (1994)**, indique que le cèdre de l'Atlas a été introduit en Russie comme espèce de reboisement, sans donner plus de précisions sur son implantation.

**Toth (2005)**, parle de l'introduction du cèdre au Portugal en 1935, mais il n'indique pas si ces peuplements ont perduré.

**M'hirit (1994)**, signale son introduction dans quelques états des Etats Unis, Pennsylvanie, New York et Côte pacifique.

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

### I.5.2. Dans l'Algérie

Le cèdre de l'Atlas est aussi endémique de certaines montagnes de l'Algérie. Il se rencontre au Nord-centre et à l'Est, sous forme de cédraies morcelées en plusieurs îlots (**Fig. 6**) discontinus de surface inégale distingue 3 blocs de cédraies en Algérie : Cédraies de l'Ouarsenis au centre, de Djurdjura et des Babors et cédraies des Aurès (**Mhirit, 1994**).

- Les cédraies de l'Atlas tellien sont individualisées en quatre îlots : le massif du Djurdjura (200 ha), des Babors (1300 ha), de l'Ouarsenis (1000 ha) et du mont Blidien (1000 ha) sur grès calcaire, schistes et maro-calcaire (**Mhirit, 1999**).
- Les cédraies de l'Atlas saharien, les plus importantes de la cédraie Algérienne, constituent d'importants peuplements dans les Monts des Aurès et du Belezma (17000 ha) ainsi que dans les Monts du Hodna (8000 ha) sur dolomies et calcaires dolomitiques du Jurassique supérieur et sur calcaire du Crétacé inférieur (**Mhirit, 1999**).



Figure n° 06 : Localisation de cèdre de l'Atlas en Algérie (**Zemirli, 2006**)



## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

---

### I.6. Caractéristiques climatiques

Le cèdre de l'Atlas s'étend, en ambiance bioclimatique subhumide et humide, de l'étage méditerranéen supérieur froid dans le Moyen-Atlas, le Rif et les Aurès à l'étage oroméditerranéen extrêmement froid dans le Haut-Atlas, mais son optimum bioclimatique correspond à l'étage montagnard-méditerranéen entre 1600 m et 2000 m (M'herit, 1999).

Cet arbre rustique semble indifférent à la nature lithologique du sol et à ses propriétés chimiques. Il peuple des substrats et des sols variés tels que des basaltes, des dolérites, des marnes, des dolomies, des calcaires, des schistes ou encore des grès (Demarteau et al., 2007).

### I.7. Composition phytochimique

Plusieurs études ont montré que l'espèce *Cedrus atlantica* renferme les composés suivants : cétones simples, terpenoïdes, stéroïdes, plus précisément le sitostérol qui a été identifié dans les oléorésines des cônes de cèdre de l'Atlas ainsi les caroténoïdes tels que:  $\alpha$ - carotène, adonixanthin. Les feuilles et les rameaux sont riches en vitamine C et en flavonoïdes. Les bourgeons sont riches en  $\alpha$ - pinène. L'essence est riche en phénol (Rhafouri et al., 2014).

Les constituants chimiques des différentes parties de cèdre de l'Atlas sont regroupés ci-dessous selon Agrawal et Rastogi (1984) :

- **Cétones simples:** En 1902, et pour la première fois la cétone et la cadinene ont été isolées par Grimal.
- **Terpenoïdes :** Norin et Winell en 1971 ont reporté que l'extrait d'éther des cônes de *C. atlantica* est composé de cinq acides résiniques différents qui sont : l'abiétique, le neoabiétique, le dehydroabiétique, le levoperaique et l'acide palustrique.
- **Flavonoïdes :** le bois, l'écorce et les feuilles de cèdre de l'Atlas contiennent le taxifolin et ses 3'-O-glucosides.
- **Autres :** les stéroïdes, plus précisément le sitostérol qui a été identifié dans les oléorésines des cônes de cèdre de l'Atlas, aussi la cire de cèdre de l'Atlas qui contient les hydrocarbure C<sub>34</sub> et les pentaconsoles.

### I.8. Propriétés biologiques

L'extrait du cèdre de l'Atlas possède des activités antimicrobiennes et anti-inflammatoires (Barrero et al., 2005).

#### I.8.1. Activité antibactérienne

Selon Zeng et al. (2012), l'extrait aqueux des feuilles de cèdre a montré une activité antibactérienne significative contre les micro-organismes d'origine alimentaire testés *in vitro*, y compris *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*. L'acide shikimique a été isolé et identifié comme le principal composé antibactérien de cette espèce végétale.

Aussi l'huile essentielle des feuilles pourrait être un moyen supplémentaire de lutter contre les infections nosocomiales causées par *Enterococcus faecalis* qui résiste à de nombreux agents antimicrobiens couramment utilisés (Benouaklil et al., 2017).

#### I.8.2. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles de cèdre sont prescrites contre la dermatite et l'inflammation de la peau (Rhafouri et al., 2014).

Le  $\beta$ -himachalène, le constituant principal de l'huile de cèdre, présente une activité anti-inflammatoire (El Haib, 2011).

#### I.8.3. Activité antifongique

La distillation fractionnée du bois de cèdre a donné un taux élevé en alcools terpéniques, qui lui confère une grande activité antifongique contre les champignons *Trametes pini* ; *Penicillium parasiticus* et *Aspergillus niger* (Satrani et al., 2006).

#### I.8.4. Activité antivirale

Ces dérivés d'abiétane ne présentent pas d'activité cytotoxique pertinente, bien qu'il ait été démontré que des dérivés étroitement apparentés possèdent des effets inhibiteurs modérés ou puissants sur l'activation antigénique précoce du virus Epstein-Barr, induite par le promoteur tumoral, le 12-O-tétradécanoyl-phorbol -13-acétate (Barrero et al., 2005).

## Chapitre I Généralités sur le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti)

---

### I.8.5. Activité antioxydante

D'après **Naimi et al. (2015)** et **Fadel et al. (2016)**, le cèdre de l'Atlas présente des propriétés antioxydantes intéressantes, exprimées par leur capacité à piéger les radicaux libres.

### I.9. Domaine d'application

Les huiles essentielles de cèdre sont utiles en parfumerie et en cosmétique, grâce à l'himachalène qu'elles contiennent. Il s'est également révélé utile dans le traitement de la chute des cheveux dans une combinaison d'huiles d'aromathérapie (**Barrero et al., 2005**).

Chez les Egyptiens anciens, l'essence de cèdre et sa résine entraient dans les préparations servant à embaumer les momies (**Moussaoui, 2014**).

# **Chapitre II**

## **Activité antioxydante**

### II.1. Introduction

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre **(Favier, 2003)**.

### II.2. Définition du stress oxydant

Le stress oxydatif correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives oxygénées (ERO) et les défenses anti-oxydantes de l'organisme, en faveur des premières **(Haleng et al., 2007)**.

Ce déséquilibre provient soit d'une production exagérée d'agents oxydants, soit d'une altération des mécanismes de défense. Quand l'un ou l'autre de ces mécanismes est présent, le stress oxydant est initié **(Morena et al., 2002)**.

### II.3. Radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules portant un électron non apparié (électrons célibataires). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d'autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d'autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C'est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique **(Dacosta, 2003)**.

La production excessive des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides et des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique **(Favier, 2003)**.

### II.4. Antioxydants

Le terme d'antioxydant désigne « toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat ». Classiquement, on répertorie les antioxydants selon leur origine, les antioxydants endogènes de type enzymatique sont plutôt impliqués dans la neutralisation des ERO alors que les antioxydants non enzymatiques et ceux d'origine exogène sont des donneurs de protons ou d'électrons (**Durand et al., 2013**).

#### II.4.1. Antioxydants endogènes (enzymatiques)

Le système endogène est constitué d'enzymes ou d'agents réducteurs (superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase) dont l'action est de neutraliser les ERO par leur transformation en molécules stables et non réactives (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**).

##### a. Superoxyde dismutase (SOD)

Accélère la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène, il existe plusieurs isoenzymes de SOD ; SOD ferreux (Fe-SOD), SOD à cuivre (Cu-SOD) et SOD à manganèse (Mn-SOD) (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

##### b. Catalase

Présente en particulier dans les hématies et les peroxysomes hépatiques. Elle agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

##### c. Glutathion peroxydase (GPx)

La glutathion peroxydase joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène, de l'hydro-peroxyde résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (**Piquet et Hebuterne, 2007**).

#### II.4.2. Antioxydants exogènes (non enzymatiques)

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres » qui sont des composés pour la plupart apportés par l'alimentation et dont le rôle essentiel est de

neutraliser les effets toxiques des EOR, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. Les principaux antioxydants non-enzymatiques retrouvés dans l'alimentation on retrouve certaines vitamines : la vitamine E ( $\alpha$ - tocophérol), la vitamine C (ascorbate), les caroténoïdes (vitamine A et  $\beta$ -carotène, les flavonoïdes...) (**Koehler-Ramonatxo, 2006**).

### a. Vitamine E

Connue aussi sous le nom d' $\alpha$ -tocophérol, est un antioxydant puissant, piégeant les radicaux libres. Le groupe hydroxyle de cette molécule peut donner un proton pour saturer, et donc "détoxifier", l'électron célibataire d'un radical libre. Quand le radical avec lequel cette vitamine réagit initialement est issu de l'attaque radicalaire des lipides, la vitamine E joue alors le rôle de "terminateur" ou "briseur" de la propagation des réactions en chaîne caractérisant la peroxydation lipidique des membranes biologiques. Ce potentiel antioxydant de la vitamine E explique son rôle protecteur vis-à-vis des membranes biologiques (**Descamps et al., 2006**).

### b. Vitamine C

Vitamine C ou acide ascorbique a en fait un large spectre d'activité anti-oxydante réduisant différentes espèces oxydantes incluant notamment l'anion superoxyde ou le radical hydroxyle. L'acide ascorbique peut d'autre part régénérer la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) à partir du radical  $\alpha$ -tocophéryle. Cette réaction participe au recyclage de la vitamine E sous sa forme réduite, c'est-à-dire sous la forme lui permettant d'exercer son activité anti-oxydante anti-radicalaire vis-à-vis notamment de la peroxydation lipidique (**Descamps et al., 2006**).

### c. Caroténoïdes

Les caroténoïdes principalement ingérés incluent l' $\alpha$ - et le  $\beta$ -carotène, la  $\beta$ -cryptoxanthine, la lutéine et le lycopène. La longue structure polyénique des caroténoïdes leur permet d'absorber la lumière UV. Ils peuvent réduire ou piéger les espèces réactives de l'oxygène et interférer avec des réactions radicalaires. Ils peuvent ainsi bloquer ou limiter la peroxydation lipidique (**Descamps et al., 2006**).

### d. Polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans la santé humaine en raison de leurs activités pharmacologiques diverses. En outre, ils peuvent prévenir la modification

oxydative par neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène ou décomposition des peroxydes par l'intermédiaire de leurs activités anti-oxydantes (**Ladoh et al., 2014**).

### e. Flavonoïdes

Les flavonoïdes désignent un groupe chimiquement assez varié de composés polyphénoliques largement retrouvés dans le règne végétal, si bien qu'ils font partie de notre régime alimentaire. Les flavonoïdes alimentaires ont des propriétés antioxydantes importantes et variées. Notamment, ils peuvent neutraliser divers radicaux libres, chélater les métaux et inhiber la peroxydation lipidique (**Descamps et al., 2006**).

### f. Tanins

Composés phénoliques de haut poids moléculaire utilisés dans l'industrie du cuir, également responsables de l'astringence de certains aliments. Les tanins sont des inhibiteurs de la peroxydation des lipides, en piégeant les radicaux libres et en inhibant la formation d'ions super oxyde par l'inhibition de la xanthine oxydase (**Haslam, 1989**).

## II.5. Méthodes d'évaluation de l'activité anti-oxydante

Plusieurs méthodes ont été développées pour tester l'activité anti-oxydante d'un extrait de plante, parmi ces méthodes, on cite:

### II.5.1. Test de DPPH

Le DPPH (2,2- diphenyl -1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable qui est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radicaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH• de couleur violette se réduit en DPPH-H de couleur jaune pâle. Cette décoloration représente donc la capacité de l'échantillon de piéger ce radical (**Rolland, 2004; Molyneux, 2004**).

### II.5.2. Test d'ABTS<sup>\*+</sup>

La méthode de radical ABTS<sup>\*+</sup> (Acide 2, 2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est l'un des tests les plus utilisés, il est caractérisé par un spectre UV avec des maximums



d'absorbance 734 nm, il est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique  $ABTS^*$  de coloration bleue verte en le transformant en  $ABTS^+$  incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (Re et *al.*, 1999).

### II.5.3. Test de FRAP

La méthode de réduction de fer est facile et reproductible. Elle est étudiée pour déterminer la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique ( $Fe_3^+$ ) du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux ( $Fe_2^+$ ). Cette réduction se traduit par une coloration bleue mesurée à 593 nm (Thaipong et *al.*, 2006).

# **Chapitre III**

## **Activité antimicrobienne**

### III.1. Définition

Les microbes sont des êtres vivants appartenant au règne végétal (bactéries ou champignons), ou au règne animal (protozoaires). Ils ne sont visibles qu'au microscope (**Le Guyon, 1960**). Le terme antimicrobien désigne les différents agents qui tuent (effet bactéricide) ou inhibent (effet bactériostatique) la croissance des microorganismes (**Prescott *et al.*, 2003**).

#### a. Bactérie

La bactérie est un être unicellulaire autonome. La cellule bactérienne présente une organisation procaryote et diffère de façon marquée des cellules eucaryotes des animaux et des plantes (**Singlenton, 2004**).

#### b. Champignons

Les champignons sont des eucaryotes et se distinguent ainsi fondamentalement des procaryotes, leur paroi est différenciée comme celles des végétaux, mais constituée de chitine et de glycogène propres aux animaux. Ils possèdent des mitochondries comme les cellules animales et ne font pas de photosynthèse. Ils représentent donc un règne à part entre les mondes animal et végétal (**Develoux et Bretagne, 2005**).

### III.2. Agents antimicrobiens

On désigne par agent antimicrobien: tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des microorganismes (**Perry *et al.*, 2002**).

#### a. Antibiotique

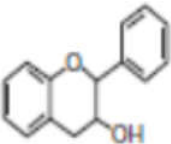
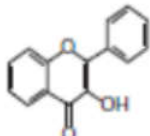
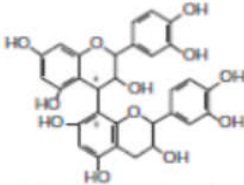
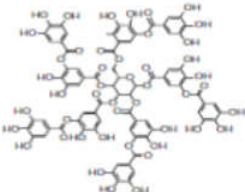
C'est une substance antibactérienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des microorganismes (champignons microscopiques et bactéries) ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres microorganismes (**Yala *et al.*, 2001**).

#### b. Composés phénoliques

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses (**Cowan, 1999**). Parmi les polyphénols les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention du à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres

polyphénols (Tab.1), et à leur capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne (Daglia, 2011).

**Tableau n°01:** Principaux composés phénoliques ayant une activité antimicrobienne  
(Daglia, 2011)

Composés phénoliques et leurs structures	Microorganismes sensibles	Exemples
 Flavane-3-ol	Bactéries	<i>V.cholerae</i> , <i>S.mutans</i> , <i>C.jejuni</i> , <i>C.perfringes</i> , <i>E.coli</i> , <i>B.Cereus</i> , <i>H.pylori</i> , <i>S.aureus</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>Anaestlundii</i> , <i>P.oralis</i> , <i>P.gingivalis</i> , <i>P.melaninogenica</i> , <i>F.nucleatum</i> , <i>C.pneumonia</i>
 Flavonole	Virus  Champignons	Adénovirus, Entérovirus, Flu virus.  <i>Candida albicans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> .
 Tannins condensés	Bactéries  Virus	<i>S.mutans</i> , <i>E.coli</i> , <i>S.aureus</i> .  Virus de l'influenza A, type - herpes simplex virus (HSV).
 Tannins hydrolysables	Bactéries  Virus  Champignons	Différentes souches de: <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Helicobacter</i> , <i>E.coli</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Listeria</i> .  Le virus Epstein-Barr, les virus Herpes HSV-1 et HSV-2.  <i>Candida parapsilosis</i> .

## III.3. Description des microorganismes étudiés

Les caractéristiques des souches bactériennes utilisées dans notre travail sont présentées dans le tableau suivant :

**Tableau n°02:** Caractéristiques des souches bactériennes étudiées

Microorganisme	Caractéristiques
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> est bacille à Gram négatif. <i>E. coli</i> est l'une des espèces bactériennes les plus souvent rencontrées en pathologie humaine. Les bactéries appartenant à l'espèce <i>E. coli</i> constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches de <i>E. coli</i> sont virulentes, capables de déclencher spécifiquement chez l'homme ou chez certaines espèce animales des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néo-natales ( <b>Patrick et al., 1988</b> ).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> est bacille à Gram négatif, mobile par une ciliature polaire rarement immobile non sporulé, bactérie très répandue dans la nature, caractérisée par sa résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques ( <b>Avril et al., 1992</b> ). Elle est responsable de 10 % de l'ensemble des infections nosocomiales, occupant le 1 <sup>er</sup> rang pour les infections pulmonaires basses ( <b>Richard et Kiredjian, 1995</b> ).
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> est un cocci Gram positif anaérobie facultatif, il est non mobile et catalase et coagulase positive ( <b>Le Loir et al., 2003</b> ). Le staphylocoque doré ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) est l'espèce la plus pathogène du genre <i>Staphylococcus</i> , aussi bien en ville qu'en milieu hospitalier. Il possède un pouvoir invasif par une forte capacité à se multiplier et à se disséminer dans l'organisme et une capacité d'élaboration de toxines induisant des propriétés toxiques et antigéniques chez l'hôte ( <b>Nejjah et al., 2006</b> ).
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> est une cocci Gram positif anaérobie, se trouve de façon constante sur la peau ou les muqueuses des orifices naturels. Il peut être responsable d'infections de prothèses vasculaires ou articulaires, de valves cardiaques. Il est également impliqué dans la survenue de péritonites consécutives à des dialyses péritonéales, d'endocardites subaiguës chez les drogués, d'endophtalmies et d'infections diverses particulièrement chez les immunodéprimés ( <b>Avril et al., 1992</b> ). <i>Staphylococcus epidermidis</i> est le membre le plus fréquemment isolé du groupe des staphylocoques à coagulase négative ( <b>Vuong et Otto, 2002</b> ).

### III.4. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

#### III.4.1. Méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (Aromatogramme)

Le principe de cette méthode consiste à utiliser des disques en papier buvrad imprégnés d'une concentration fixe d'antibiotique, ces disques sont déposés à la surface d'une gélose inoculée par une suspension bactérienne contenant une quantité fixe de bactérie (inoculum). Après une incubation à 37°C pendant 18 – 24 h, il s'établit un gradient de concentration entre la culture bactérienne et la diffusion du disque et qui s'exprime par un diamètre d'inhibition de la culture. La mesure de ce diamètre permet de classer la bactérie après comparaison des diamètres à une table de lecture dans trois catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante. Un contrôle de qualité est nécessaire (souche de référence =souche témoin). Ce contrôle permet de valider l'antibiogramme notamment la qualité du milieu et celle des disques utilisés (**Bouguessa et al., 2010**).

#### III.4.2. Méthodes des puits ou cylindre ou diffusion en milieu solide

Avec un emporte-pièce des puits sont creusés dans la gélose de Mueller-Hinton coulée dans des boîtes de Pétri et ensemencée par un germe - test. Les diamètres d'inhibitions sont ensuite mesurés autour des puits après une pré-incubation de 45 min à température ambiante et une incubation à l'étuve à 37° C pendant 18 h (**Biyiti et al., 2004**).

#### III.4.3. Méthode par dilution

Elle consiste à incorporer l'antibiotique à des séries de milieux de culture liquides ou solides et à déterminer dans des conditions expérimentales rigoureusement définies, la plus petite concentration capable d'inhiber la croissance du germe considéré ou concentration minimale inhibitrice « C.M.I » (**Senouci et Abdelouahid, 2010**).

##### a. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

C'est la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe une culture visible à l'œil. Elle définit la bactériostase. Le principe du test consiste à mettre un inoculum bactérien fixe dans une série de dilution de l'antibiotique. Elle se pratique en milieu liquide ou solide (**Bouguessa et al., 2010**).

### **b. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)**

C'est la plus faible concentration de l'antibiotique bactéricide c'est-à-dire lyse les bactéries (moins de 0.01% de survivants). Elle définit la bactéricide. Le principe du test est consiste à dénombrer le nombre de bactéries survivants à partir de dilution de l'antibiotique correspondante à la CMI (**Bouguessa et al., 2010**).

# **Deuxième partie**

## **Partie expérimentale**



# **Chapitre I**

## **Matériel et méthodes**

## I.1. Objectifs

L'intérêt de ce travail consiste à l'extraction des composés phénoliques à partir d'une plante médicinale ; cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) dont le but est de valoriser et d'évaluer leurs activités biologiques.

Dans ce contexte, notre étude s'est axée autour des objectifs suivants :

1. Valorisation de cèdre de l'Atlas dans la région de Theniet El Had-Tissemsilt.
2. Extraction des composés phénoliques par plusieurs méthodes (macération, décoction et sonication).
3. Détermination du profil phytochimique par des analyses quantitatives (teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes, tanins condensés et hydrolysables) et qualitatives (screening phytochimique).
4. Evaluation de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles de cèdre de l'Atlas.
5. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de cette plante.

## I.2. Lieu et durée de travail

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires de Biochimie, Technologie Alimentaire et Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun-Tiaret, pendant une période allant de 25 Février jusqu'au 12 Mars ; et de 18 Juin jusqu'au 25 Juin 2020.

## I.3. Matériel

### I.3.1. Matériel végétal

L'espèce végétale étudiée est le cèdre de l'Atlas (**Fig.7**), les différents essais ont été effectués sur les feuilles qui ont été récoltées en décembre 2019 au niveau du Parc National de Theniet El Had, Tissemsilt - canton de pépinière (**Fig. 8**). L'identification de cette espèce a été confirmée par Dr. Sarmoum Mohamed, botaniste au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun-Tiaret.



Figure n°07 : Cèdre de l'Atlas de Theniet el Had- Tissemsilt

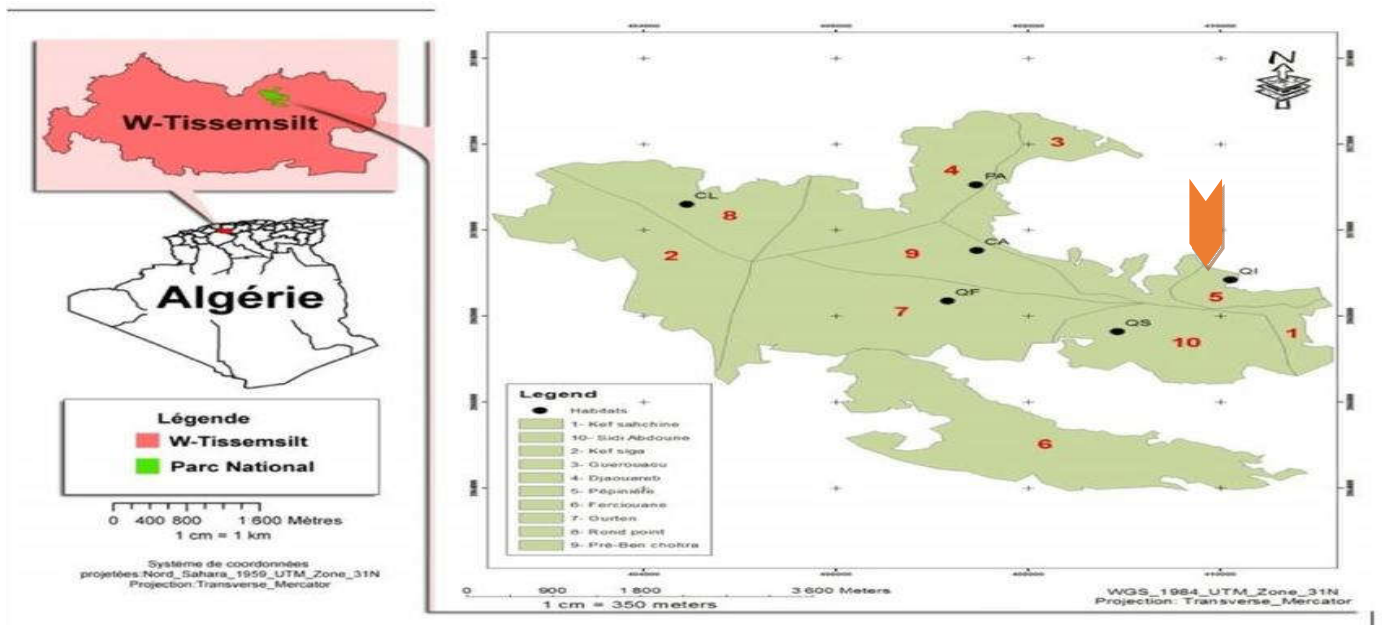


Figure n°08 : Localisation géographique de lieu de récolte des feuilles de cèdre de l'Atlas (DPNTH, 2016)

## I.3.2. Matériel biologique

L'activité antibactérienne des extraits des feuilles de cèdre de l'Atlas a été évaluée sur quatre souches bactériennes pathogènes. Il s'agit de deux bactéries à Gram (-): *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et deux bactéries à Gram (+): *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Ces souches sont des isolats cliniques fournies gracieusement par le laboratoire de microbiologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires-Tiaret. Elles ont été fraîchement identifiées macroscopiquement (observation : *E.coli* sur milieu Mac-Conkey, *S.aureus* et *S. epidermidis* sur milieu Chapman et *P.aeruginosa* sur gélose nutritive (GN)), microscopiquement (coloration de Gram), et biochimiquement par galerie Api 20 E et Api staph. Ces bactéries ont été repiquées et incubées à 37°C pendant 18h afin de les utiliser (Annexe n°04).

## I.3.3. Matériels du laboratoire

Les appareillages, les verreries, les produits chimiques et les réactifs utilisés dans la présente étude sont présentés dans le tableau n°03:

**Tableau n°03:** Matériels du laboratoire

Appareillages et autres	Verreries et autres	Produits et réactifs
-Agitateur (FICHEUR BRAND)	-Barreaux magnétiques	- Acétone (80%)
-Autoclave (SUN)	-Béchers	- Acide acétique glacial
- Bain Marie (MEMMERT)	-Bec bunsen	- Acide ascorbique (10%)
- Broyeur électrique	- Boîtes de Pétri	- Acide chlorhydrique (HCl) (2%)
- Etuve (MEMMERT)	- Cuves	- Acide gallique
- Incubateur (MEMMERT)	- Disques de papier Whatman n°01	- Acide sulfurique (70%)
- Plaque chauffante (STUART)	-Entonnoirs	- Acide tannique
- Rotavapor (HEIDOLPH)	-Eprouvette	- Alcool chlorhydrique
- Sonicateur (BANDELIN)	- Etiquettes	- Alcool isoamylique
- Spectrophotomètre (HITACHI U-5100)	-Fioles jaugée	- Anhydride acétique
	-Flacons en verre	- Carbonate du sodium (20%)
	-Micropipettes	- Chlorure d'aluminium (2%)
	-Papier aluminium	- Chlorure de baryum
	- Papiers whatman n°01	- Chlorure ferrique (1%)
	- Pince métallique	- DPPH (0.1 mM)
	- Pipettes Pasteur	- Ethanol (80%)
	- Portoirs de tubes	- Hydroxyde de sodium (1%)
	- Récipients en verre	- Méthanol (80%)
	-Spatules	- Ninhydrin (10%)
	-Tamis (250µm)	- Quercétine
	-Tubes à essai	- Réactif de Fehling (10%)
	-Verre de montre	- Réactif de Folin-Ciocalteu (10%)
		- Réactif de Wanger
		- Vanilline
		- Milieu Chapman
		- Milieu Mueller Hinton
		- Gélose nutritive
		-Milieu MacConkey

## I.4. Méthodes

### I.4.1. Protocole expérimental

Les étapes suivies dans notre étude expérimentale sont résumées dans la figure suivante:

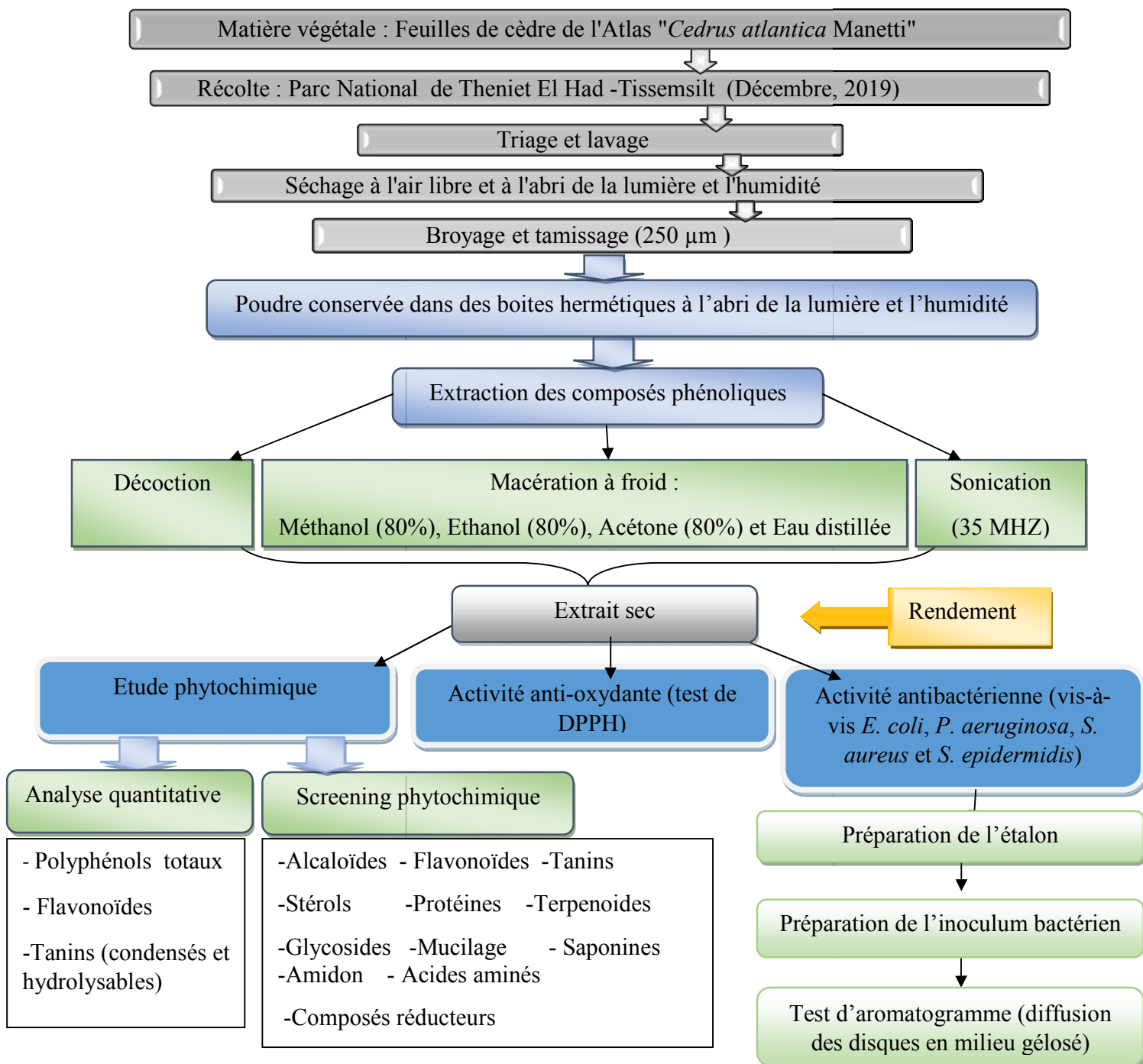


Figure n°09: Protocole expérimental

## I.4.2. Extraction des polyphénols totaux

Les feuilles de cèdre de l'Atlas ont été nettoyées et lavées avec de l'eau courante afin de se débarrasser de toute poussière, matières étrangères et autres impuretés ensuite égouttées, puis mises à sécher à l'air libre et à l'abri de la lumière. Après le séchage, elles sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique (domestique).

La poudre obtenue est soumise au tamisage à l'aide d'un tamis de 250  $\mu\text{m}$  pour avoir une poudre homogène prête à l'extraction, puis conservée dans des flacons en verre à l'abri de la lumière pour éviter la photo-oxydation des substances actives présentes dans la poudre jusqu'à l'utilisation (**Fig. 10**).



**Figure n°10:** Etapes de la préparation des feuilles de cèdre de l'Atlas

L'extraction des feuilles a été effectuée par trois méthodes différentes: décoction, sonication et macération à froid (**Fig. 11**).



a. Décoction



b. Sonication



c. Macération

**Figure n°11** : Méthodes d'extraction des polyphénols totaux

## a. Décoction

- 10 g de la poudre végétale a été extraite avec 200 ml d'eau distillée à 100 °C pendant 30 min.
- Refroidissement de mélange à une température ambiante.
- Filtration sur papier filtre Whatman n°1.
- Récupération de l'extrait par séchage dans l'étuve (40 °C) (**Wong et al., 2006**).

## b. Sonication

- Une solution de 10 g de la poudre et 100 ml d'eau distillée est mise dans un sonicateur à 35 MHz pendant 25 min.
- Filtration et récupération de l'extrait par séchage dans l'étuve (40 °C) (**Dahmoune et al., 2014**).

## c. Macération à froid

L'extraction a été effectuée avec des solutions aqueuses, d'éthanol, de méthanol et d'acétone.

- Macération de 10 g de poudre végétale dans 100 ml de solvant (Eau distillée, Méthanol 80%, Ethanol 80% et Acétone 80% pendant 24 h.
- Filtration du solvant par papier filtre Whatman n°01.
- Evaporation au rotavapeur pendant 20 min.
- Récupération de l'extrait après séchage dans l'étuve (40°C) (**Tamás et al., 2019**).



## I.4.2.1. Calcul de rendement

Le rendement de l'extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse de matériel végétal traité. Ce rendement est calculé par l'équation suivante (**Barouda et Kherfi, 2015**) :

$$R(\%) = (Me/Mv) \times 100$$

R(%) : Rendement en pourcentage.

Me : Masse de l'extrait après évaporation de solvant (g).

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (g).

## I.4.3. Dosage des polyphénols totaux

### a. Principe

Le réactif Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). L'oxydation en milieu alcalin de ce réactif par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduit à la formation d'un mélange d'oxyde bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). L'intensité de la coloration produite qui a une absorbance maximale à 765 nm, est proportionnelle à la quantité des polyphénols présente dans l'extrait analysé (**Georgé et al., 2005**).

### b. Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux des feuilles de cèdre de l'Atlas a été déterminée selon la méthode de Folin-ciocalteu décrite par **Wong et al. (2006)**.

- Un volume de 0.5 ml de chaque extrait est introduit dans 2.5 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée, La solution obtenue mélangée et est incubée pendant 4 min à l'obscurité.

- Ajout de 1 ml de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$  (75g /l dans l'eau distillée).

- Agitation vigoureuse et incubation pendant 15 min à température ambiante dans l'obscurité. L'absorbance est lue à 765 nm par spectrophotomètre.

La teneur en polyphénols totaux dans l'extrait méthanolique a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage, établie avec différentes concentrations d'acide gallique, comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g d'extrait).

### I.4.4. Dosage des flavonoïdes

#### a. Principe

La teneur en flavonoïdes totale a été déterminée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) utilisant la quercétine comme composé de référence. La méthode est basée sur la formation du complexe flavonoïde-aluminium (Fadel et al., 2016).

#### b. Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique a été déterminée selon la méthode du trichlorure d'aluminium décrite par Djeridane et al. (2006).

- Dans un tube à essai, 1.5 ml de chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  (2% dans le méthanol) est ajouté à 1.5 ml d'extrait méthanolique de notre échantillon. Après une agitation vigoureuse et incubation à température ambiante pendant 10 min à l'abri de la lumière, l'absorbance a été lue à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage linéaire obtenue avec différentes concentrations de la quercétine utilisée comme standard. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

### I.4.5. Dosage des tanins

#### a. Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique pour produire un complexe coloré mesuré à

500 nm (**Ba et al., 2010**). Celui des tanins hydrolysables est basé sur une réaction avec le chlorure ferrique (**Mole et Waterman, 1987**).

### **b. Mode opératoire**

#### ➤ **Tanins condensés**

La teneur des tanins condensés a été déterminée par la méthode de **Makkar (2003)**. 1 ml d'extrait méthanolique est mélangé avec 2 ml du réactif de la vanilline (1 g de vanilline dissout dans 70 % d'acide sulfurique), après incubation pendant 20 min, l'absorbance a été mesurée à 500 nm.

La quantité des tanins condensés a été quantifiée à partir d'une courbe d'étalonnage de catéchine et exprimé en mg d'équivalent de catéchine par g d'extrait (mg EC/ g d'extrait).

#### ➤ **Tanins hydrolysables**

1 ml de l'extrait méthanolique a été ajouté à 3.5 ml de la solution de chlorure ferrique (0.162 g de FeCl<sub>3</sub> dissous dans 100 ml d'eau distillée). L'absorbance a été lue à 660 nm après 15 sec.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide tannique par g d'extrait (mg EAT/ g d'extrait) à partir de la courbe d'étalonnage (**Mole et Waterman, 1987**).

### **I.4.6. Screening phytochimique**

Nous avons effectué un screening phytochimique par la mise en place d'un ensemble de réactions de caractérisation de différents composés chimiques :

#### **a. Alcaloïdes**

Le test se fait par évaporation à sec du 10 ml d'extrait méthanolique, le résidu obtenu est repris dans 1.5 ml d'acide chlorhydrique (2%) sous agitation au bain Marie à 40°C. Après refroidissement et filtration, le tube est traité par l'ajout de quelques gouttes du réactif Wagner. La formation d'un précipité marron indique la présence des alcaloïdes (**Ghanem et Olama, 2014**).

## **b. Acides aminés**

Le test est réalisé en mélangeant 1 ml d'extrait avec 10 % du Ninhydrin. La présence des acides aminés est révélée par l'apparition d'une coloration violette (**Ashika et al., 2018**).

## **c. Amidon**

L'amidon a été testé par la réaction entre 1 ml d'extrait et 1 ml du réactif d'amidon à 1%. L'apparition d'une coloration bleue violé indique la présence d'amidon (**Dharimangam et Nazni, 2013**).

## **d. Flavonoïdes**

1 ml d'extrait a été traité avec quelques gouttes de HCl (2%) et NaOH (1%), L'apparition de la couleur verte jaunâtre indique la présence des flavonoïdes (**Fadel et al., 2016**).

## **e. Glycosides cardiaques**

5 ml d'extrait a été ajouté à 2 ml d'acide acétique glacial et quelques gouttes de solution de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) et 1 ml d'acide chlorhydrique (HCl). La formation d'un anneau brun à l'interface confirme la présence de glycosides cardiaques (**Ghanem et Olama, 2014**).

## **f. Saponines**

10 ml de l'extrait à tester a été agité vigoureusement pendant quelques secondes, ensuite le tube a été laissé en repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante indique la présence de saponines (**Ghanem et Olama, 2014**).

## **g. Stéroïls et polyterpènes**

5 ml de l'extrait a été évaporée, le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml de l'acide sulfurique concentré. L'apparition d'un anneau pourpre ou violet virant au bleu puis au vert indique la présence de stéroïdes (**Ghanem et Olama, 2014**).

## **h. Tanins**

1 ml de l'extrait a été ajouté à 0.5 ml d'une solution de chlorure ferrique  $\text{FeCl}_3$  à 1%. L'apparition d'une coloration vert brunâtre ou bleu noirâtre confirme la présence des tanins (**Ghanem et Olama, 2014**).

## i. Terpénoïdes

5 ml d'extrait a été mis avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'une couche brune rougeâtre à la jonction des deux confirme la présence de terpénoïdes (**Ghanem et Olama, 2014**).

## j. Protéines

Quelques gouttes du réactif Folin-Ciocalteu ont été ajoutées à 1 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration verte confirme la présence des protéines (**Ashika et al., 2018**).

## k. Anthocyanines

La recherche des anthocyanines se fait par le dosage du 1 ml d'extrait avec 1 ml d'alcool chlorhydrique et 1 ml d'alcool iso-amylque. Le mélange a été chauffé au bain Marie (40°C) pendant 15 min. l'apparition d'une couleur marron indique la présence d'anthocyanines (**El-Houad et al., 2018**).

## l. Composés réducteurs

1 ml d'extrait méthanolique a été mélangé avec 2 ml de la liqueur de Fehling. L'ensemble a été incubé pendant 8 min dans un bain Marie (40°C). La formation d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**El-Houad et al., 2018**).

## m. Mucilages

1 ml d'extrait a été ajouté à 5 ml d'éthanol absolu. La formation d'un précipité floconneux indique la présence des mucilages (**El-Houad et al., 2018**).

### I.4.7. Evaluation de l'activité antioxydante

#### a. Principe

Le principe de cette méthode est basé sur la mesure du piégeage des radicaux libres de DPPH (1,1-Diphényle-2-picrylhydrazylde, de couleur violette). En présence de molécules dites antioxydants, le DPPH est transformé en sa forme réduite (diphényle picryl-hydrazine : de couleur jaune), ce qui conduit à une diminution de l'absorbance (**Mansouri et al., 2005**).

## b. Mode opératoire

La mise en évidence de l'activité anti-oxydante *in vitro* d'extrait méthanolique de notre plante étudiée est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH décrite par **Annie et al. (2006)**.

1.5 ml de la solution d'extrait méthanolique à différentes concentrations sont ajoutés à 1.5 ml de solution DPPH (0.1mM). Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm.

- L'acide ascorbique est utilisé comme standard (contrôle positif).

- Le pourcentage de réduction du radical DPPH est donné par l'équation suivante (**Naimi et al., 2015**) :

$$\text{I\% d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle négatif} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle négatif}] \times 100$$

L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage (%).

**Abs Contrôle négatif** : Absorbance de contrôle (DPPH).

**Abs test** : Absorbance de l'extrait.

### Calcul des IC<sub>50</sub>

L'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice de 50 %) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC<sub>50</sub> sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés (**Molyneux, 2004**).

### I.4.8. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne d'extrait méthanolique vis-à-vis des souches bactériennes pathogènes a été réalisée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé.

## I.4.8.1. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 h afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées obtenues servent à la préparation de l'inoculum (**Moroh et al., 2008**).

## I.4.8.2. Préparation de l'étalon

L'étalon Mc Farland, se prépare en versant 0.5 ml d'une solution de BaCl<sub>2</sub> déshydraté à 1%, dans une éprouvette de 100 ml, et complétée à 100 ml avec du H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 1% (**Senouci et Abdelouahid, 2010**). Le précipité de sulfate de baryum en suspension correspond approximativement à  $1.5 \times 10^8$  CFU / ml (**Ghanem et Olma, 2014**).

## I.4.8.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir d'une culture jeune de 18 h en milieu liquide. 4 à 5 colonies ont été émulsionnées dans 5 ml de l'eau physiologique pour obtenir une suspension trouble. La turbidité correspondante à l'œil nu se fait en comparant la suspension bactérienne avec la solution Mc Farland 0.5 (**Ghanem et Olma, 2014**).

## I.4.8.4. Méthode de diffusion des disques en milieu gélosé

### a. Principe

Le principe de cette technique est le même que celui du test d'antibiogramme, dont les disques sont chargés des extraits et déposés à la surface des milieux de cultures solidesensemencés par des espèces bactériennes bien déterminées (**Celiktas et al., 2007**).

### b. Mode opératoire

Des boîtes de Pétri ont été préparées avec 10 ml de gélose Mueller Hinton stérile, 100 µl de chaque suspension bactérienne a été étalée sur la gélose. Des disques de papier Whatman n°1 (6 mm de diamètre) stériles ont été imbibés avec 100 µl de différentes concentrations d'extrait (100, 200, 300, 400 et 500 µg/ml). Puis ces disques ont été déposés à la surface de la géloseensemencée. Toutes les boîtes inoculées ont été incubées pendant 24 h à 37° C. Des disques de contrôle positif (la Gentamycine et l'Ampicilline) sont utilisés pour les bactéries Gram (-) et Gram (+), respectivement. Ainsi que le Méthanol (80%) comme contrôle négatif. L'activité

antibactérienne a été évaluée par mesure du diamètre de la zone d'inhibition (DZI) (Sharif-Rad et *al.*, 2016).

### I.5. Analyse statistique

Tous les tests ont été effectués en triple. Les moyennes et les écarts types sont calculés avec Excel de Microsoft Office 2013. Les différences ont été considérées comme étant significatives à  $p < 0,05$  à l'aide de test ANOVA.



# **Chapitre II**

## **Résultats et discussion**

### II.1. Extraction des composés phénoliques

Le tableau suivant résume les résultats de rendement d'extraction des différentes méthodes exprimés en pourcentage (%).

**Tableau n°04:** Rendement d'extraction des composés phénoliques des feuilles de cèdre de l'Atlas

Méthode d'extraction	Type de solvant	Rendement d'extraction (%)
Macération	Ethanol (80%)	17
	Méthanol (80%)	15
	Acétone (80%)	17
	Eau distillée	17
Sonication	Eau distillée	22
Décoction	Eau distillée	27

Les rendements d'extraction obtenus dans notre étude varient entre 15% et 27%. Le rendement le plus élevé correspond à la décoction suivie par la sonication et la macération avec le méthanol 80% avec un pourcentage de 27% et 15% respectivement.

L'étude menée par **Fadel et al. (2016)** sur la partie aérienne de cèdre de l'Atlas en utilisant la méthode de macération avec l'éthanol 70 % a donné un taux de rendement inférieur à celui de la présente étude (9.8 %).

Cette différence des résultats pourrait être due à la différence de solubilité des composants chimiques de la plante dans l'eau et les solvants organiques, et leurs polarités. Aussi à la méthode d'extraction et à la température utilisée (**Lee et al., 2003**). Egalement on peut attribuer cette variation à l'origine géographique de la plante, les facteurs climatiques et la partie de la plante étudiée (**Smith et al., 2005**).

### II.2. Dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique.

Le tableau suivant résume les résultats de teneur en polyphénols totaux obtenus par différentes méthodes d'extraction.

**Tableau n° 05:** Teneur en polyphénols totaux dans les feuilles de cèdre de l'Atlas

Méthode d'extraction	Type d'extrait	Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)
Macération	Méthanolique (80 %)	55.55 ±2.25
	Ethanolique (80 %)	28.39 ±3.05
	Acétonique (80 %)	46.44 ±6.44
	Aqueux	53.01 ±0.31
Décoction	Aqueux	22.82 ±2.52
Sonication	Aqueux	30.58 ±1.06

Selon le tableau n°05, la meilleure teneur en polyphénols de cèdre de l'Atlas a été obtenue par la macération avec le méthanol (80%) avec une teneur de 55.55 ±2.25 mg EAG/g d'extrait suivie par l'eau distillée, l'acétone (80%), la sonication, la macération avec l'éthanol (80%), et la décoction avec des valeurs de 53.01 ±0.31, 46.44 ±6.44, 30.58 ±1.06, 28.39 ±3.05, 22.82 ±2.52 mg EAG/g d'extrait respectivement. Statistiquement, il ya pas une différence significative entre les différents extraits ( $p= 2.03 > 0.05$ ).

Nos résultats ont marqué une teneur en polyphénols totaux similaire à celle trouvée par **Tamàs et al. (2019)** sur les cônes de cèdre de l'Atlas dans l'extrait acétonique (80%), avec une concentration de 44.62 ±0.16 mg EAG/g d'extrait. Par contre, **Jain et al. (2015)** ont trouvé des

résultats extrêmement inférieurs pour l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique (70% ) du bois de *Cedrus deodara* (0.023mg EAG/g d'extrait) et (0.017mg EAG/g d'extrait) respectivement.

Le taux d'extraction des composés phénoliques est influencé par la taille des particules de l'échantillon (**Naczk et Shahidi, 2004**).

Les solutions méthanoliques sont généralement les meilleures pour l'extraction de polyphénols de faible poids moléculaire; tandis que les solutions acétoniques sont idéales pour dissoudre ceux de poids moléculaire plus élevé (**Dai et Mumper, 2010**).

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal, ils sont caractérisés par la présence des plusieurs groupements phénoliques associés en structure plus moins complexe, ces composés sont les produits de métabolisme secondaire des plantes, leur intérêt s'est accru au cours de la dernière décennie en raison de leurs activité structurelle et protectrice chez les plantes , mais également de leur gout, de leur couleur et de leur activité antioxydante contre les espèces d'oxygène réactives qui causent le stress oxydatif et par conséquent les dommages aux tissus et aux biomolécules. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour prévention et traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, et neuro-dégénératives (**Lillian et al., 2012**).

Les composés phénoliques sont généralement solubles dans les solvants organiques polaires et peu solubles dans les solvants organiques apolaires. Cette variation de la quantité en polyphénols peut s'expliquer par les facteurs climatiques, les conditions de séchage ou de stockage, par la méthode d'extraction et ses conditions (temps, température) et le type de solvant d'extraction (**Hamia et al., 2014; Macheix et al., 2005**).

**Bouزيد et al. (2011)** ont montré que les polyphénols totaux présentent de nombreuses actions bénéfiques telles que des activités antioxydantes et antibactériennes.

### II.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. Le tableau n°06 représente les résultats du dosage des flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas.

Tableau n°06: Teneur en flavonoïdes dans les feuilles de cèdre de l'Atlas

Type d'extraction	Type du solvant	Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ /g d'extrait)
Macération	Méthanolique (80%)	30.32 ± 1.75

La teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique des feuilles est  $30.32 \pm 1.75$  mg EQ/g d'extrait, ce résultat est supérieur à celui de **Fadel et al. (2016)** et **Jain et al. (2015)** qui est égale à  $16.86 \pm 5.318$  mg EQ/ g et  $19.49 \pm 1.46$  mg EQ/g d'extrait respectivement.

Cette variation est largement influencée par les facteurs génétiques, les conditions environnementales, le degré de maturation, et leurs conditions de stockage (**Anton, 2003**).

Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes présentant un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques (**Wirdel, 2003**) et contenant deux cycles aromatiques liés par un pont de trois atomes de carbone ( $C_6-C_3-C_6$ ). Il existe plusieurs classes de flavonoïdes dont les principales sont les flavones, flavanols, les flavane-3-ols et les anthocyanidines (**Basli et al., 2012**).

Les flavonoïdes sont les pigments colorés des fleurs. Par exemple, les couleurs oranges, rouges et bleues des légumes, fruits, fleurs et tissus de stockage des plantes sont dues à des anthocyanes hydrosolubles (qui sont des flavonoïdes jaunes réduits). De ce fait, elles sont impliquées dans les interactions plantes-microorganismes. Elles agissent dans les système de défense des cellules végétales en réponse à certains stress tels que les radiations UV. Ce sont également des inhibiteurs d'enzymes. De plus elles sont impliquées dans la photosensibilisation et les transferts d'énergie (**Di Carlo et al., 1999**).

Le mécanisme de toxicité des flavonoïdes vis-à-vis des micro-organismes se fait soit par privation des ions métalliques tels que le fer, soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires des micro organismes (les adhésines) ou encore les enzymes. Par conséquent, les flavonoïdes connues pour leur pouvoir antioxydant puissant pourraient avoir potentiellement un effet dans la chélation de

fer et empêcher ainsi la pénétration intracellulaire du cofacteur  $\text{Ca}^{2+}$  à la cellule bactérienne, ce qui provoque l'inhibition de leur activité (**Basli et al., 2012**).

#### II.4. Dosage des tanins

Les tanins sont les principaux responsables phyto-constituants pour l'activité anti-oxydante des plantes (**Jain et al., 2015**). Ils sont solubles dans l'eau, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000. En outre, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines. Les tanins sont classés en deux catégories: les tanins hydrolysables ou gallo-tanins, et les tanins condensés ou catéchines (**Bruneton, 2009**).

##### II.4.1. Tanins condensés

Afin de déterminer la teneur en tanins d'extrait des feuilles de cèdre de l'Atlas, la méthode de la vanilline en milieu acide est utilisée. Le tableau suivant représente les résultats du dosage des tanins condensés dans l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas.

**Tableau n° 07:** Teneur en tanins condensés dans les feuilles de cèdre de l'Atlas

Typed'extraction	Type du solvant	Teneur en tanins condensés (mg EC/ g d'extrait)
Macération	Méthanolique (80%)	30.23 ± 8.01

La teneur en tanins condensés de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas est de 30.23±8.01 mg EC/g d'extrait (**Tab.7**), cette teneur est inférieure à celle trouvée par **Jain et al. (2015)** (11.72±0.04 mg EC/g d'extrait).

L'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires (**Mahmoudi, 2013**).

Plusieurs études comparatives réalisées sur le taux des tanins dans les différents organes de la même espèce ont montré qu'il y a des différences significatives en point de vue qualitatif et quantitatif concernant la distribution des composés phénoliques dans la plante. Ces études ont aussi prouvé que le génotype de la plante et les conditions environnementales ont des

effets considérables sur le taux des différents métabolites secondaires, en particulier les tanins (Sowmya *et al.*, 2015).

D'après Altemimi *et al.* (2017), les tanins sont des polyphénols qui ont la propriété commune d'être astringents en précipitant certaines protéines de la salive. La communauté scientifique leur confère également des propriétés médicinales après leur ingestion par l'homme. Toutes ces propriétés dépendraient de leur structure et surtout de leur degré de polymérisation.

En plus, la présence des tanins au niveau des feuilles et des tiges jeunes participe dans la protection de la plante contre l'invasion des pathogènes et les insectes (Robil *et Tolentino*, 2015)

### II.4.2. Tanins hydrolysables

La détermination de teneur en tanins hydrolysables est réalisée en fonction d'un courbe d'étalonnage d'acide tannique. Le tableau suivant présente la teneur en tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas.

**Tableau n°08:** Teneur en tanins hydrolysables dans les feuilles de cèdre de l'Atlas

Typed'extraction	Type du solvant	Teneur en tanins hydrolysables (mg EAT/ g d'extrait)
Macération	Méthanolique (80%)	0.84 ± 0.97

D'après ce tableau, la teneur en tanins hydrolysables de l'extrait méthanolique des feuilles est de 0.84± 0.97 mg EAT/g d'extrait qui est inférieure à celle trouvée par Jain *et al.* (2015) (1.72±0.04 mg EC/g d'extrait).

Les tanins hydrolysables sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol, le sucre est généralement le D-glucose et l'acide phénol soit l'acide gallique dans le cas des gallo-tanins, soit l'acide ellagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagi-tanins (Cowan, 1999).

Les tanins (surtout gallique) sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux. Par voie interne, les tanins exercent une activité anti diarrhéique. Ses propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques sont clairement

démonstrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et de dermatites. Les tanins possèdent une forte activité antioxydante, se sont des très bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical super oxyde (**Badiaga, 2011**).

### II.5. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait des feuilles de notre plante nous ont permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires par des réactions qualitatives de caractérisation (précipitation, coloration par des réactifs spécifiques). Les résultats sont résumés dans le tableau suivant:

**Tableau n°09:** Screening phytochimique dl'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas

Tests	Résultats
Flavonoïdes	+
Acides aminés	-
Protéines	+++
Amidon	-
Anthocyanines	-
Terpénoïdes	++
Tanins	+
Alcaloïdes	-
Saponines	+
Composés réducteurs	-
Stérols	-
Mucilage	-
Glycosides cardiaques	-

(+++): Présence confirmée, (++) : Présence modérée, (+): Présence en tant que traces, (-) : Absence (**Madi, 2018**)

D'après les résultats montrés dans le tableau n°09, on a constaté la présence des protéines, tèrpanoïdes, flavonoïdes, saponines et tanins dans l'extrait des feuilles de cèdre de l'Atlas.



Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Fadel et al. (2016)** qui confirment que l'extrait du cèdre de l'Atlas est riche en saponines, alcaloïdes, flavonoïdes et tanins.

Ainsi que les études réalisés par **Naimi et al. (2015)**; **Ghanem et Olama (2014)** sur le cèdre du Liban (*Cedrus libanotica*), ont affirmé la présence des glycosides, flavonoïdes, tèrpanoïdes, saponines et tanins.

De point de vue chimique, les saponines sont des substances abondamment répandues dans le règne végétal, se sont des glucides dont les aglycones (saponines) sont soit de structure stéroïdien, soit de structures tri terpénique (**Bruylant et al., 1962**).

Les flavonoïdes possèdent des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et jouent un rôle positif dans le traitement des maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives (**Hensal, 2008**).

D'une manière générale, la variation des composés phytochimiques dans les extraits est due à la variation de leur solubilité dans les différents solvants (**Sasi-Kumar et al., 2014**).

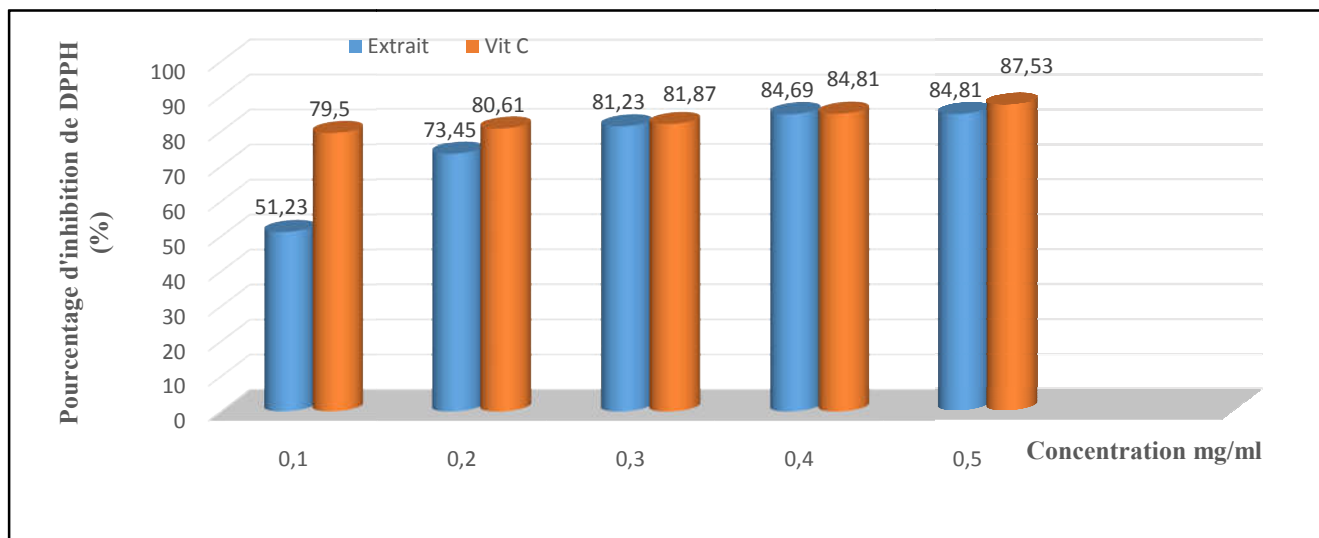
Ces métabolites secondaires représentent une grande source potentielle d'agents thérapeutiques (**Thomas, 2009**).

### II.6. Evaluation de l'activité antioxydante

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme étant sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, on a utilisé la méthode de DPPH (**Molyneux, 2004**).

La figure n°12 représente les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique et l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas.

L'analyse statistique montre que la différence entre les résultats obtenus est hautement significative ( $p= 0.001 < 0.05$ ).



**Figure n°12 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'extrait utilisées

D'après la figure n°12, on remarque que l'activité antiradicalaire d'extrait méthanolique augmente avec l'augmentation des concentrations, et que le pourcentage d'inhibition augmente progressivement, avec un taux d'inhibition maximal de  $84.81 \pm 0.08\%$  pour l'extrait méthanolique et  $87.53 \pm 0.18\%$  pour le standard, ces résultats se rapprochent au résultat trouvé par **Naimi et al. (2015)** qui est d'ordre de  $86.86 \pm 1.08\%$ .

On peut conclure que l'extrait méthanolique de cèdre de l'Atlas pourrait mieux inhiber les radicaux d'oxygène, par conséquent, cette plante est une bonne source d'antioxydants. Ces derniers réduisent les effets nocifs produits par le stress oxydatif induit par les radicaux libres (**Descamps et al., 2006**).

Le tableau n°10 représente les concentrations inhibitrices à 50 % ( $IC_{50}$ ) du standard et de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas.

**Tableau n°10:** Concentration inhibitrice à 50 % d'acide ascorbique et l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas

Extrait	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
Acide ascorbique (standard)	0.062
Extrait méthanolique (feuilles)	0.096

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique de feuilles de cèdre de l'Atlas présente une activité très importante avec IC<sub>50</sub> de 0.096 mg/ml, qui est supérieure au résultat trouvé par **Fadel et al. (2016)** (0.089 mg/ml), par contre les résultats trouvés par **Naimi et al. (2015)** sur l'extrait éthanolique de la partie aérienne de cèdre de l'Atlas, sont largement supérieurs avec une IC<sub>50</sub> de 0.4 mg/ml.

La valeur de l'IC<sub>50</sub> est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante (%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'antioxydant requise pour neutraliser 50 % de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antiradicalaire d'un composé est appréciable (**Michel, 2011**).

Le mécanisme de réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant. Certains composés réagissent très rapidement avec le DPPH, en réduisant un nombre des molécules de DPPH égal au nombre des groupes hydroxyles (**Bondet et al., 1997**).

Bien que plusieurs méthodes de dosage d'activité antioxydante soient disponibles, la méthode de piégeage des radicaux libres (DPPH) reste plus stable et facile à manipuler. De plus, sa stabilité implique qu'un antioxydant réagira avec d'autres entités radicalaires bien connues, qui sont plus instables, et donc plus réactives (**Frum et al., 2007**).

Selon **Gil et al. (2000)**, les conditions de séchage et de conservation des échantillons seraient à l'origine de cette variabilité de l'activité antioxydante, en effet, que l'activité antioxydante dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons.

Les composés phénoliques sont des constituants très importants de la plantes à cause de leur capacité de piégeage des radicaux libres et de leur forte inhibition de la peroxydation lipidique (**Pokorny et al., 2001**).

Généralement, un bon inhibiteur est un agent ayant une activité antioxydante qui varie proportionnellement avec sa concentration. Dans le cas où l'inhibition diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait phénolique, l'inhibiteur joue le rôle d'un pro-oxydant (Lesgards, 2000).

La relation entre la teneur en polyphénols totaux d'extrait de cèdre de l'Atlas et son activité anti-oxydante est remarquable indiquant que cette capacité anti-oxydante est probablement due à la contribution des composés phénoliques. Ces résultats sont conformes aux résultats de certains groupes de recherche, qui ont rapporté une telle corrélation positive entre le contenu phénolique total et l'activité anti-oxydante (Wong et al., 2006 ; Tawaha et al., 2007 ; Turkmen et al., 2007 ; Wojdylo et al., 2007 ; Djeridane et al., 2006). Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité anti-oxydante est un aspect intéressant, mais il faut prendre en considération que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait (Tawaha et al., 2007).

### II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas a été évaluée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé. Cette activité a été testée sur quatre souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*).

Le pouvoir antibactérien de cet extrait est évalué par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite selon Ponce et al. (2003):





























- 0 à 8 mm: bactérie résistante.
- 9 à 14 mm: bactérie sensible ou intermédiaire.
- 15 à 19 mm: bactérie très sensible.
- 20 mm ou +: bactérie extrêmement sensible.

Les résultats de l'activité inhibitrice de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas sont illustrés dans le tableau n°11 et le tableau n°12:

## Chapitre II

## Résultats et Discussion

**Tableau n°11:** Effet d'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas sur les différentes souches bactériennes étudiées

<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>		
				100	Concentration d'extrait méthanolique (µg/ml)
				200	
				300	
				400	
				500	
				Contrôle +	
				Contrôle -	

**Tableau n°12:** Diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé

Souches Bactériennes	DZI (mm)					Contrôle	
	Concentrations d'extrait méthanolique (µg/ml)					Contrôle positif	Contrôle négatif
	100	200	300	400	500		
<i>S. aureus</i>	10.66±0.47	10.66±0.47	11.66±0.47	12.66±0.47	12.66±0.47	7	11
<i>S. epidermidis</i>	10.33±0.47	11.33±0.47	12±0.81	12.33±0.94	12.33±0.47	10	7
<i>E. coli</i>	8.66±0.47	9.66±0.47	10.33±0.47	10.66±0.47	10.66±0.47	15	9
<i>P. aeruginosa</i>	7.33±0.47	7.66±0.47	8.33±0.47	9.33±0.47	9.66±0.47	20	7

**Contrôle (+):** Antibiotique (Gentamycine pour les bactéries Gram (-); Ampicilline pour les bactéries Gram (+)).

**Contrôle (-) :** Méthanol.

D'après les résultats présentés dans le tableau n°12, on constate que l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas à différentes concentrations inhibent la croissance des quatre souches bactériennes pathogènes testées (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Cet extrait exerce une activité antibactérienne à dose dépendante qui augmente en fonction de la concentration de l'extrait.

La plus forte activité inhibitrice est observée chez *S. aureus* avec un DZI de 12.66±0.47 mm à une concentration de 400 µg/ml et 500 µg/ml, suivie de *S. epidermidis* et *E. coli* avec DZI de 12.33±0.47 mm et 10.66±0.47 mm respectivement, la plus faible activité est observée chez *P.*

*aeruginosa* avec un DZI de  $9.33 \pm 0.47$  mm. Ces résultats d'évaluation d'activité antibactérienne des quatre souches par la méthode de diffusion sur disques de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas sont hautement significatifs ( $P = 0.006 < 0.05$ ).

D'après l'échelle de **Ponce et al. (2003)**, nos résultats sont répartis comme suit: les deux souches bactériennes à Gram positif sont sensibles (*S.aureus* et *S.epidermidis*) avec un DZI entre 8-14 mm. Concernant les deux souches bactériennes à Gram négatif, *E.coli* est sensible avec DZI entre 8-14 mm, par contre *P. aeruginosa* est résistante à des concentrations de 100 µg/ml et 200 µg/ml (moins de 8 mm) et sensible à des concentrations élevées (300, 400 et 500 µg/ml).

Les résultats obtenus par **Ghanem et Olama (2014)** en testant l'extrait méthanolique des tiges de cèdre du Liban (*Cedrus libanotica*) montrent que *E. coli* était extrêmement sensible avec DZI de 20 mm.

**Zeng et al. (2012)** ont observé que l'extrait aqueux des feuilles de *Cedrus deodara* à une concentration de 50 mg/ml inhibe la croissance d'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec des DZI de  $18.7 \pm 1.3$  mm et  $26.5 \pm 1.5$  mm respectivement,

Les travaux de **Farhat et al. (2015)**, ont confirmé l'effet antibactérien des extraits méthanoliques des feuilles du *Cedrus deodara* à une concentration de 100 µg /ml, contre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E.coli* et *P. aeruginosa* avec des DZI de  $17.0 \pm 1.0$  mm,  $16.0 \pm 1.0$  mm,  $12.0 \pm 2.0$  mm et  $13.0 \pm 0.0$  mm respectivement; ces valeurs coïncident avec nos résultats.

**Cowan (1999)** a rapporté que les différentes classes de polyphénols essentiellement les tanins et les flavonoïdes peuvent augmenter la toxicité des extraits envers les microorganismes. Cette toxicité est en fonction du site et du nombre de groupements hydroxyls présents sur le composé phénolique. En outre, il est évident de noter que l'augmentation de l'hydroxylation conduit à une augmentation de la toxicité.

**Faucher et Avril (2002)** remarquent qu'indépendamment de la nature de l'extrait ou de sa concentration, les bactéries à Gram - possèdent une forte résistance. Cette résistance n'est pas surprenante, elle est en relation avec la nature de leurs membranes externes (imperméable à la plupart des agents biocides).

A partir de nos résultats, on peut déduire que l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas montre une activité antibactérienne plus importante chez les bactéries à Gram positifs que les Gram négatifs.

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* peut s'expliquer probablement par la nature des parois des bactéries Gram (+) qui est dépourvue de membrane externe et qui semble être sensible aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels (**Balentine et al. 2006**).

Des propriétés antibactériennes intéressantes d'extrait étudié ont été constatées sur la majorité des germes testés. Cette activité peut contribuer à la lutte contre les maladies infectieuses provoquées par ces bactéries et offrira éventuellement la possibilité d'utilisation de cet extrait en industrie pharmaceutique ou agroalimentaire.

Cette étude consiste à évaluer l'efficacité antibactérienne de l'extrait obtenu de cèdre de l'Atlas jugé par la médecine traditionnelle avoir un grand effet anti-infectieux. Ceci afin de rationaliser son usage pour l'appliquer comme remède alternatif aux antibiotiques face à l'émergence de multi résistance bactérienne et à l'échec de l'antibiothérapie.



# Conclusion

### Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source importante des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Cet intérêt vient du fait qu'elle représentent une source inépuisable de substances bioactives.

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle. Parmi elles, on cite le cèdre de l'Atlas.

Ce travail nous a permis d'effectuer une analyse phytochimique, d'évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des feuilles du cèdre de l'Atlas de la région de Theniet El Had (Tissemsilt).

L'extraction des composés phénoliques des feuilles de cèdre de l'Atlas par différentes méthodes a donné de meilleurs rendements avec la décoction (27%) et la sonication (22%).

En effet, l'analyse phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas a montré qu'il contient des teneurs importantes en métabolites bioactifs: polyphénols totaux ( $55.55 \pm 2.25$  mg EAG/g d'extrait), flavonoïdes ( $30.32 \pm 1.75$  mg EQ/g d'extrait), tanins condensés ( $30.23 \pm 8.01$  mg EC/g d'extrait) et hydrolysables ( $0.84 \pm 0.97$  mg EAT/g d'extrait).

D'autre part, à l'issue du screening phytochimique nos résultats affirment que les feuilles étudiées sont caractérisées par la présence des flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, protéines et saponines.

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas par la méthode de DPPH a montré qu'il pourrait mieux inhiber les radicaux d'oxygène avec un pourcentage de  $84.81 \pm 0.08$  %.

Le pouvoir antiradicalaire de l'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas est exprimé par  $IC_{50}$  égale à 0.062 mg /ml d'extrait autrement dit, l'extrait méthanolique de ces feuilles est un puissant antioxydant.

Les résultats d'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles du cèdre de l'Atlas évaluée contre quatre souches bactériennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé révèlent que l'extrait méthanolique possède une activité

## Conclusion

---

antibactérienne considérable, dont les bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*) sont les plus sensibles à l'extrait de cèdre de l'Atlas en comparaison aux bactéries Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) avec des DZI de  $12.66 \pm 0.47$  mm et  $12.33 \pm 0.47$  mm,  $10.66 \pm 0.47$  mm et  $9.33 \pm 0.47$  mm respectivement.

En perspective, ces résultats ne constituent qu'une partie préliminaire dans le domaine de la recherche des antioxydants et antibactériens naturels. Il serait intéressant d'étayer ce travail par:

- Comparer l'activité antioxydante et antibactérienne des différentes parties de l'arbre de cèdre de l'Atlas et d'autres régions en Algérie.
- Evaluer l'activité antioxydante des extraits de cette plante par différentes méthodes.
- Déterminer l'effet antibactérien des extraits vis-à-vis d'autres souches bactériennes pathogènes.
- Étudier d'autres activités biologiques des feuilles de cèdre de l'Atlas (antifongique, antivirale et anti inflammatoire).
- Identifier et purifier les composés phénoliques présents dans les extraits de différentes parties de l'arbre (bois, écorces, cônes et grains).
- Étudier des activités biologiques *in vivo* sur un modèle animal.
- Comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets par des études complémentaires.
- Vu le statut de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) concernant la conservation de cèdre de l'Atlas qui est en danger, nous rappelons à une approche de conservation (insitu ou exsitu) du cèdre afin de profiter de ces meilleurs composés phytochimiques.

# **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

1. **Aberchane, M., Fechtal, M. (2004).** Analysis of Moroccan Atlas cedarwood oil (*Cedrus atlantica* Manetti). Journal of Essential Oil Research, 16: 542-547.
2. **Agrawal, P. K., Rastogi, R. P. (1984).** Chemistry of the true cedars. Biochemical Systematics and Ecology, 12(2):133-144.
3. **Alilou, H., Bencharki, B., Hassani, L.M.I., Barka, N. (2014).** Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'*Asteriscus graveolens subsp. Odorus*. Afrique Science, 10(3) : 316 - 328.
4. **Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G. (2017).** Phytochemicals: Extraction, isolation and identification of bioactive compounds from plant extracts. Journal Plants, 6(42): 1-23.
5. **Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R., Issac, S. R. O. (2006).** *In vitro* antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloïde berberine. Indian Biology and Pharmacology Bulletin, 29(9): 1906-1910.
6. **Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques. Ed. Lavoisier. Paris. 692p.
7. **Ashika, B. D., Chitralli, L. R., Naresh, S., Sunil, K. S., Akki, S., Balasubramanian, S. (2018).** Phytochemical studies on the methanolic extract of *Coriondrum sativum* leaves. An *in vitro* approach. CJBPS, 5(8): 494-500.
8. **Avril, J. L., Dabernat, H., Denisi, F., Monteil, H. (1992).** Bactériologie clinique. Ed. Des Préparations Grandes Ecoles Médecine. Paris, 511 p.
9. **Ba, K., Tine, E., Destain, J., Cisse, N., Thonart, P. (2010).** Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. Biotechnologie Agronomie Société et Environnement, 9 (1) : 131-139.
10. **Balentine, C. W., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., Duong, D. Q., Pohlman, F. W. (2006).** The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science, 73: 413-421.
11. **Barouda, D., Kherfi, N. (2015).** Etude de l'impact de traitement thermique sur l'activité antioxydante des épices constitutives de Ras el-hanout. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université d'Ouargla. 63 p.

## Références bibliographiques

---

12. Barrero, A. F., Quilez del Moral, J. F., Herrador, M. M., Arteaga, J. F., Akssira, M., Benharref, A., Dakir, M. (2005). Abietane diterpenes from the cones of *Cedrus atlantica*. *Phytochemistry*, 66: 105–111.
13. Barrouch, L., Keller, R. (1995). Etude de quelques aspects technologiques du bois de cèdre (*Cedrus atlantica* Manetti). *Forêt Méditerranéenne*, 14 (1) : 28-31.
14. Basli, A., Chibane, M., Madani, K., Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum*. *Phytothérapie*, 10: 2–9.
15. Badiaga, M., (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifoliasmith* une plante médicinale Africaine récoltée au Mali .Thèse de Doctorat en chimie organique. Université de Bamako, 110 p.
16. Bendahou, M., Muselli, A., Grignon-Dubois, M. (2007). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *Food Chem*, 106(1): 132-9.
17. Benouaklil, F., Hamaidi-Chergui, F., Hamaidi, M. S., Saidi, F. (2017). Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica* essential oils. *Agrobiologia*, 7(1): 355-362.
18. Biyiti, I. F., Meko'o, D. L., Tamze, V., Amvam zollo, P. H. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales Camerounaises. *Pharmacologie et Médecine Traditionnelle Africaine*, 13 : 11-20.
19. Bondet, V., Berset, C., Chimie, L. D. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH • free radical method. *LWT- Food Science and Technology*, 30:609–615.
20. Boudy, P. (1950). Economie forestière Nord- Africaine : Monographie et traitement des essences forestières .Tome 2. Fasci 2. Ed. La Rose. Paris, 638p.
21. Boudy, P. (1952). Guide forestier en Afrique du nord. Ed. La maison Rustique. Paris, 288 p.
22. Bouguessa, N., Seghier, M., Belouni, B., Benslimani, R. (2010). Manuel de microbiologie à l'usage des étudiants en 3<sup>ème</sup> année Médecine. Ed. OPU. Alger, 280 p.

## Références bibliographiques

---

23. Bouzid, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'Aubepine monogyne*. Lebanese Science Journal, 12 (1) : 59-69.
24. Bruneton, J. (2009). Acides phénols. Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier. Paris, 198-260 pp.
25. Bruylant, A., Junger, J. C., Verhlst, J. (1962). Chimie générale, organique. Ed. Librairie Universitaire, Louvain, 276p.
26. Celiktas, O. Y., Kocabas, E. E. H., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chemistry, 100: 553-559.
27. Cowan, M. (1999). Plant Products as antimicrobial agents. Clinical Microbio. Reviews. 12 (4) : 564-582.
28. Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta, Paris, 317 p.
29. Daglia, M. (2011). Polyphenols as antimicrobial agents. Current Opinion in Biotechnology, 23: 1-8.
30. Dahmoune, F. Moussia, K. Reminia, H. Cherbalc, A. Madania, K. (2014). *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. Industrial Corps Products, 61 : 31-40.
31. Dai, J., Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15 : 7313–7352.
32. Debazace, F. (1964). Manuel des conifères. Ed. Nationale des Eaux et Forêts. Nancy, 79-82 pp.
33. Demarteau, M., Francois, L., Cheddadi, R., Roche, E. (2007). Réponses de *Cedrus atlantica* aux changements climatiques passés et futurs. Geo Eco Trop, 31: 105 -146.
34. Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R., Vamecq, J. (2006). Modulation pharmacologique du stress oxydatif. La lettre du Pharmacologue, 20 (4) :107-118.
35. Develoux, M., Bretagne, S. (2005). Candidoses et levures diverses. EMC-Maladies Infectieuses (2): 119–139.

## Références bibliographiques

---

- 36. Dharmalingam, R., Nazni, P. (2013).** Phytochemical evaluation of *Coriandum sativum* L.flowers. International Journal of Food and Nutritional Sciences, 2(4): 34-39.
- 37. Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F. (1999).** Flavonoids: Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. Life Sciences, 65(4): 337-353.
- 38. Direction du Parc National deTheniet El Had (DPNTH). (2016).** Département des ressources naturelles. Présentation sur le Parc National deTheniet El Had, 14p.
- 39. Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, 97(4): 654-660.
- 40. Dobignard, A., Chatelain, C. (2010).** Index synonymique de la flore d'Afrique du nord. Volume 1: *Pteidophyta, Gymnospermae, Monocotyledonae*. Ed. Des Conservatoires et Jardins Botaniques. Genève, 455 p.
- 41. Durand, D., Damon, M., Gobert, M. (2013).** Le stress oxydant chez les animaux de rente : Principes généraux. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 48(5) : 218-224.
- 42. El Haib, A. (2011).** Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de Doctorat en chimie organique et catalyse. Université Toulouse III - Paul Sabatier, 158 p.
- 43. El-Houad, H., Bonfellows, M., Berrani, A., Tazougart, H., Bengueddour, R. (2018).** Phytochemical screening of a medicinal plante: *Mentha spicata* L. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences, 9: 226-223.
- 44. Fadel, H., Benayache, F., Benayache, S. (2016).** Antioxidant properties of four Algerian medicinal and aromatic plants *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L. and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl). Scholars Research Library Der Pharmacia Lettre, 8 (3):72-79.
- 45. Farhat, Y., Tahira, R., Muhammad, B., Shaukat, A., Saiqa, A. (2015).** *Cedrus deodara* (Deodar) and *Zanthoxylum armatum* (Timur) evaluated as antimicrobial and antioxidant agents. Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacology, (2): 1-8.
- 46. Faucher, J.L., Avril, J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. Tome 1, Ed. Ellipses. Paris, 214p.



## Références bibliographiques

---

47. **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'Actualité Chimique*, 108-117.
48. **Ferrara, S., La Mela Veca, D. S., Maetzke, F. G. (2013).** Les reboisements en cèdre de l'Atlas en Sicile. *Forêt Méditerranéenne*, 34(1) : 13- 24.
49. **Frum, Y., Viljoen, M., Van Heerden, F. R. (2007).** Verbascoside and luteolin-5-O- $\beta$ -d-glucoside isolated from *Halleria lucida* L. exhibit antagonistic anti-oxidant properties in vitro. *South African Journal of Botany*, 73:583–587.
50. **Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, M. J. (2005).** Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:1370-1373.
51. **Ghanem, S., Olama, Z. (2014).** Antimicrobial potential of Lebanese cedar extract against human pathogens and food spoilage microorganisms. *European Journal of Botany, Plant Science and Phytology*, 1(1): 13-26.
52. **Gil, M.I., Thomas-Barberan, F.A., Hees-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (2000).** Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4581-4589.
53. **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., Chapelle, J. P. (2007).** Le stress oxydant. *Med Liege*, 62 (10): 628-638.
54. **Hamia, C., Guergab, A., Rennane, N.E., Birache, M., Haddad, M., Saidi, M., Yousfi, M. (2014).** Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du *Rhanterium adpressium*. *Annales des Sciences et Technologie*, 6(1): 33-39.
55. **Haslam, E. (1989).** Plant polyphenols: Vegetables tannins revisited. Ed. Cambridge University Press, Cambridge, 10-13 pp.
56. **Jain, S., Jain, A., Jain, S., Malviyaa, N., Jain, V., Dharmendar Kumare, D. (2015).** Estimation of total phenolic, tannins, and flavonoid contents and antioxidant activity of *Cedrus deodara* heart wood extracts. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, (14): 10-14.
57. **Hensel, W. (2008).** 350 Plantes médicinales. Ed. Delachaux et Niestlé. Paris. 256p.

## Références bibliographiques

---

58. Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et supplémentation antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20 : 165–177.
59. Ladoh, Y. C. F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Ynyang, J. Wansi, J.D. (2014). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *phragmanthera capitata (loranthaceae)* récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*, 8:7636– 7643.
60. Lasram, M. (1994). Le Cèdre de l'Atlas. Actes du séminaire international sur le cèdre de l'Atlas. Ifrane (Maroc). *Annales de la Recherche Forestière au Maroc*, 27: 25-26.
61. Lee, K.W., Kim, Y. J., Lee, H.J., Lee, C.Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food Chemistry*, 51 : 7292-7295.
62. Le Guyon, R. (1960). Précis de bactériologie. Ed. Place de l'Odéon, Paris, 12 pp.
63. Le Loir, Y., Baron, F., Gautier, M. (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet.Mol.Res.* 2 (1) :7- 28.
64. Lesgards, J.F. (2000). Contribution à l'étude du statut antioxydante de l'homme: Aspect chimiques et biochimiques. Thèse de Doctorat en chimie organique.Université d'Aix-Marseille, Marseille, France. 170 p.
65. Lillian, B., Duenas, M., Dias, M.I., Sousa, M.J., Buelga, S.C., Ferreira, I.C. (2012). Phenolic profiles of *in vitro* and *in vivo* grown *Coriandrum sativum L.* *Food Chemistry*, 132: 841- 848.
66. Macheix, J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Lausanne, 145 p.
67. Madi, A. (2018). Caractérisation phytochimique et evaluation des activités biologiques de *Cleome Arabia*. Thèse de Doctorat en biochimie végétale. Université des frères Mentouri. Constantine 1,157 p.
68. Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties dela fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature et Technologie*, 35-40.

## Références bibliographiques

---

69. **Makkar, H.P.S. (2003).** Quantification of tannins in tree shrub foliage. A laboratory manual. Ed. Working Document, FAO/IAEA of Nuclear Techniques in food and agriculture. Vienna, 24 pp.
70. **Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. and Kefalas P. (2005).** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry, 89: 411–420.
71. **Mhirit, O. (1994).** Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti). Présentation générale et état des connaissances à travers le réseau Silva Mediterranea « Le cèdre ». Ann. Rech.For.Maroc, 27 : 3-21.
72. **Mhirit, O. (1999).** Le cèdre de l'Atlas à travers le réseau Silva méditerranéen «cèdre». Bilan et perspectives. Forêt Méditerranéenne, 10(3) : 92-99.
73. **Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de Doctorat en Chimie Analytique-Phytochimie. France, 286 p.
74. **Mole, S., Waterman, P.G. (1987).** A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies .I. Techniques for chemically defining tannins. Oecologia, 72:137-147.
75. **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 26(2): 211-219.
76. **Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J.P. Canaud, B. (2002).** Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. Néphrologie, 23(5) : 201-208.
77. **Moroh, J.L., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y.G., Guede-Guina, F.(2008).** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) *milne redheat* (*rubiaceae*) sur la croissance *in-vitro* des souches d'*Escherichia coli*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, (77) 44 – 61.
78. **Moussaoui, M. (2014).** Plantes médicinales du méditerranée et d'orient. Ed Sabil. France, 42-44 pp.
79. **Naczki, M., Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of chromatography A, 1054: 95-111.

## Références bibliographiques

---

80. Naimi, F., Boust, D., Balouiri, M., Meskaoui, A. (2015). Antioxidant and free radical-scavenging properties of seeds flavonoids extract of *Cedrus atlantica* Manetti, *Linum usitatissimum* L. and *Ocimum basilicum* L. species. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 5 (8): 95-99.
81. Nejja, F., Ouhssine, M., Srhiri, A., El yachioui, M., Hajjaji, N. (2006). Activité inhibitrice de la n-hexadécylbétaine sur *Staphylococcus aureus*. Bulletin de la Société Pharmacie en Bordeaux, 6 (145) : 85-90.
82. Omolo, O. M., Okinyo, D., Ndiege, O. I. (2004). Repellency of essential oil of some Kenya plants against *Anopheles gambiae*. Phytochemistry, 65: 797-802.
83. Organisation Mondiale de la Santé (OMS a). (2002). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2002-2005. Genève, 78p.
84. Organisation Mondiale de la Santé (OMS b). (2002). Rapport sur la santé dans le monde. Réduire les risques et promouvoir une vie saine. Genève, p 48.
85. Patrick, B., Jean, L., Michel, S. (1988). Bactériologie : Les bactéries des infections Humaines. 1<sup>ère</sup> Ed. Médecine –Sciences Flammarion. Paris. 100-274 pp.
86. Perry, J., Staley, J., Lory, S. (2002). Microbiologie. Cours et question de révision. Ed. Dunod, Toulouse, 768p.
87. Piquet, M.A., Hébuterne, X. (2007). Nutrition en pathologie digestive. Ed. Lavoisier, France ,16-20 pp.
88. Pokorny, J., Yanixhlieva, N., Gordon, M. H. (2001). Antioxidants in food: practical applications. Ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. New York- USA, 108-109 pp.
89. Ponce, A.G., Fritz, R., Del-Valle, C., Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Journal de la Société Algérienne de Chimie, 21(1): 25-33.
90. Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A (2003). La chimiothérapie antimicrobienne. Microbiologie. Ed. Tec et Doc. Bruxelles. 806-811 pp.
91. Quezel, P. (1998). Cèdres et cédraies du pourtour méditerranéen signification bioclimatique et phytogéographique. Forêt Méditerranéenne, 19 (3) : 243-255.
92. Rabhi, K., Tafer, M., Messaoudene, M. (2014). Évolution des proportions d'aubier et de duramen du cèdre de l'Atlas, *Cedrus atlantica* Manetti, en Algérie. Bois et Forêts des Tropiques, 322 (4) : 77-87.

## Références bibliographiques

---

93. **Re, R., Pelliègrini, N., Posteggente, A. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26 (9-10): 1231-1237.
94. **Retnani, A. (2006).** Le cèdre de l'Atlas mémoire de temps. Ed. Mardaga. Belgique, 240 p.
95. **Rhafouri, R., Strani, B., Zair, T., Ghanmi, M., Aafi, A., El Omari, M., Bentayeb, A. (2014).** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière seeds essential oil. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(5) : 1034-1043.
96. **Richard, C., Kiredjian, M. (1995).** Méthodes de laboratoire pour l'identification des bacilles à gram négatif aérobies stricts: *Pseudomonas, Alcaligenes, Flavobacterium, Acinetobacter, Brucella, Bordetella*. Ed. Institut Pasteur .Paris. 42-43pp.
97. **Riou-Nivert, P. (2007):** Fiche extraite de la flore forestière Française T III région méditerranéenne. Forêt- Entreprise, 174 : 14-16.
98. **Robil, M.L.J., Tolentino, V.S. (2015).** Histological localization of tannins at different developmental stages of vegetative and reproductive organs in *Medinilla magnifica* (*Melastomataceae*). *Flora*, 217:82-89.
99. **Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *Burgundy Botanical Extracts*, 11 (6) :419-424.
100. **Saidi, I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des *fabaceae* : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : Extraction des substances bioactives. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université Djillali Liabès Sidi Bel Abbès. Algérie, 152 p.
101. **Sasi Kumar, R., Balasubramani, P., Krishnaveni, T. (2014).** Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of *Coriandrum sativum* L. roots (Coriander). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(6): 74-78.
102. **Satrani, B., Aberchane, M., Farah, A., Chaouch, A., Talbi, M. (2006).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti. *Acta Bot. Gallica*, 153 (1) : 97-104.
103. **Senouci, B.M., Abdelouahid, D.E. (2010).** Méthodes et techniques en Bactériologie, Ed.OPU.Alger ,131 p.

## Références bibliographiques

---

104. Sharifi-Rad, M., Tayeboon, G.S., Miri, A., Setzer, W.N., Fallah, F., Kuhestani, K., Tahanzadeh, N., Sharifi-Rad, J. (2016). Mutagenic, antimutagenic, antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities of *Scandix pecten-veneris* L. Cell. Mol. Biol. 62 (6): 8-16.
105. Singleton, P. (2005). Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie. Ed. Dunod, Paris, 542 p.
106. Smith, R. I., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Googman, J. I., Marnett, L. J., Portoghese, P. S., Waddell, W. J., Wagner, B. M. (2005). A procedure for the safety evaluation of natural complexes used as ingredients in food: essential oils. Food Chem. Toxicol. 43: 345-363.
107. Sowmya, S., Perumal, P.C., Amosooriya, P., Vidya, B., Pratibha, P., Malarvizhi, D., Gopalakrishna, V.K. (2015). Comparative preliminary phytochemical analysis various different parts (Stem, leaf and fruit) of *Cayratia trifolia* L. Indo American Journal of Pharmaceutical Research, 5(1): 218-223.
108. Tamás, H., Eszter, V., Levente, A. (2019). Antioxidant properties assessment of the cones of conifers through the combined evaluation of multiple antioxidant assays. Industrial Crops Products, 30(40): 1-7.
109. Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chem. 104: 1372-1378.
110. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. Journal of Food Composition and Analysis, 19: 669-675.
111. Thomas, O.P., (2009). Métabolisme secondaire et biosynthèse. Mémoire de Master 2 VEM. Univesité Nice Sophia Antipolis. 67p.
112. Toth, J. (1980). Le cèdre dans quelques pays du pourtour mediterraneen et dans deux autres pays à grande importance forestière. Fôret Méditerraneeenne, 8(1) : 23-30.
113. Toth, J. (2005). Le cèdre de France. Etude approfondie de l'espèce. Ed. L'Harmattan. Biologie, Ecologie, Agronomie. Paris, 207 p.

## Références bibliographiques

---

114. Turkmen, N., Velioglu, Y. S, Sari, F., Polat, G. (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.
115. Voung, C., Otto, M. (2002). *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and Infection*, 4: 481–489.
116. Waridel, P. (2003). Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogeton pectinatus* L., *P. lucens* L. (*Potamogetonaceae*). Thèse de Doctorat en chimie organique, Université de Lausanne, 124 p.
117. Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*, 105: 940-949.
118. Wong, C. C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food chemistry*, 97: 705-711.
119. Yala, D., Merad, A.S., D. Mohamedi, D., Ouar korich, M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 8(91) : 5-12.
120. Zemirli, M. (2006). Contribution à l'étude écodendrométrique du *Cedrus atlantica* Manetti (cèdre de l'Atlas) déperis dans le Parc National de Theniet el Had (Tissemsilt) Algérie Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Ecologie Végétale et Environnement, Université Ibn Khaldoun-Tiaret, 160 p.
121. Zeng, W.C., He, Q., Sun, Q., Zhong, K., Gao, H. (2012). Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara*. *International Journal of Food Microbiology*, 153: 78–84.

# **Annexes**



## Annexes

---

**Annexe n°01:** Arbre de cèdre de l'Atlas (Décembre 2019, Theniet Al Had-Tissemsilt)



## Annexes

---

### Annexe n°02: Différentes parties de l'arbre de cèdre de l'Atlas



**a. Cônes**



**b. Feuilles**







**c. Ecorce**








**d. Port**

## Annexes





### Annexe n°03: Résultats de screening phytochimique des feuilles de cèdre de l'Atlas

Test	Observation
<b>Tanins</b>	
<b>Terpanoïdes</b>	
<b>Anthocyanines</b>	
<b>Saponines</b>	

## Annexes

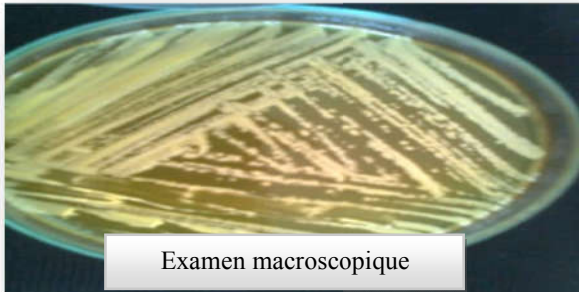
<p><b>Amidon</b></p>			
<p><b>Acide amines</b></p>			
<p><b>Mucilages</b></p>			
<p><b>Composés réducteurs</b></p>			
<p><b>Protéines</b></p>			

## Annexes

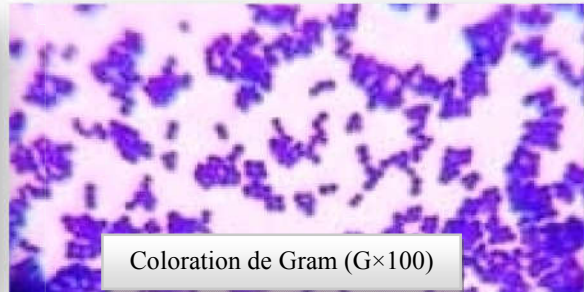
<p><b>Stérols</b></p>			
<p><b>Glycosides cardiaques</b></p>			
<p><b>Alcaloïdes</b></p>			
<p><b>Flavonoïdes</b></p>			

## Annexes

**Annexe n°04 : Résultats d'examen macroscopique, microscopique et identification biochimique des souches bactériennes testées**



Examen macroscopique



Coloration de Gram (G×100)

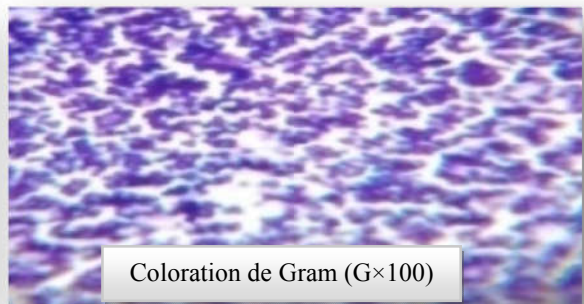


Identification biochimique (Galerie Api staph)

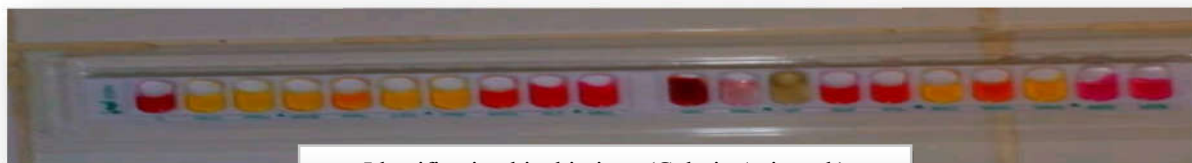
### *a. Staphylococcus aureus*



Examen macroscopique



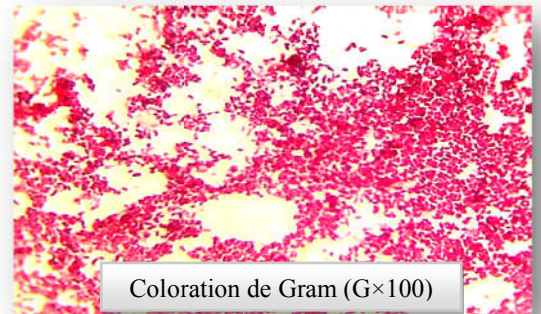
Coloration de Gram (G×100)



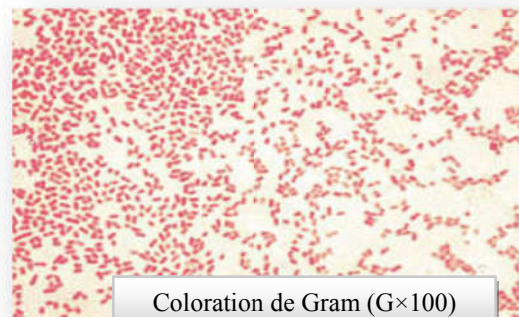
Identification biochimique (Galerie Api staph)

### *b. Staphylococcus epidermidis*

## Annexes



### *c. Esherichia coli*



### *d. Pseudomonas aeruginosa*

## Annexes

---

### Annexe n°05: Composition des milieux de culture

#### ➤ Milieu Chapman (Senouci et Abdelouahid, 2010)

Peptone.....	11 g
Extrait de viande.....	1 g
Chlorure de sodium.....	75 g
Mannitol.....	10 g
Agar.....	15 g
Rouge de phenol.....	0.025g

#### ➤ Gélose nutritive (GN) (Saidi, 2019)

Extrait de viande.....	1 g
Extrait de levure.....	2 g
Peptone trypsique.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Agar agar.....	5 g

#### ➤ Mueller Hinton (Senouci et Abdelouahid, 2010)

Infusion de viande de boeuf.....	300 g
Hydrolysate de caséine.....	17.5 g
Amidon.....	1.5 g
Gélose .....	17 g

#### ➤ Milieu Mac Conkey (Senouci et Abdelouahid, 2010)

Peptone de caséine .....	17 g
Peptone de viande.....	3 g
Lactose .....	10 g
Mélange de sels biliaires.....	1.5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Rouge neuter.....	0.03 g
Cristal violet.....	0.001 g
Agar agar.....	13.5 g



## Annexes

---

### Annexe n°06: Préparation de quelques réactifs

#### **Réactif de Wagner (Saidi, 2019)**

Dissoudre 1.27 g d'iode avec 2 g d'iodure de potassium dans 5 ml de l'eau distillée et compléter le volume à 100 ml avec l'eau distillée.

#### **Réactif de l'amidon (Dharimangam et Nazni, 2013)**

Mélanger 1 g d'amidon avec 100 ml d'eau distillée.

## Résumé

Le cèdre de l'Atlas est une plante médicinale de la famille des Pinacées et endémique de l'Algérie. Il contient une variété de composés phénoliques aux quels sont attribuées diverses activités biologiques. La présente recherche vise à étudier le profil phytochimique d'extrait méthanolique des feuilles de cèdre de l'Atlas du parc National de Theniet El Had –Tissemsilt et évaluer ses propriétés antioxydante et antibactérienne. L'extrait méthanolique des feuilles de cette plante contient des teneurs considérables en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés et hydrolysables). Les résultats du screening phytochimique montre la présence de flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, saponines et protéines. L'activité antioxydante de notre extrait mesurée par la méthode de DPPH est puissante en donnant un pourcentage d'inhibition de  $84.81 \pm 0.08$  % et une  $IC_{50}$  de 0.062 mg/ml. Son activité antibactérienne évaluée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé a donné une bonne activité vis à vis *Staphylococcus aureus* avec un DZI de  $12.66 \pm 0.47$  mm.

**Mots clés :** Cèdre de l'Atlas, phytochimiques, activité antioxydante, activité antibactérienne

## Summary

Atlas cedar is a medicinal plant from the *Pinaceae* family and endemic of Algeria. It contains a variety of phenolic compounds to which various biological activities are attributed. The present study aims to study the phytochemical profile of methanolic extract from the leaves of Atlas cedar of the National Park of Theniet El Had –Tissemsilt and to evaluate its antioxidant and antibacterial properties.. The methanolic extract of this plant contains a considerable levels of phenolic compounds (total polyphenols, flavonoids and condensed and hydrolysable tannins). The results of the phytochemical screening showed the presence of flavonoids, tannins, terpanoids, saponins and proteins. The antioxidant activity of our extract measured by DPPH method is potent with an inhibition percentage of  $84.81 \pm 0.08\%$  and an  $IC_{50}$  of 0.062 mg / ml. Its antibacterial activity evaluated by agar disc diffusion method gave a good effect on *Staphylococcus aureus* with DZI of  $12.66 \pm 0.47$  mm.

**Key words:** Atlas cedar, phytochemicals, antioxidant activity, antibacterial activity

## ملخص

أرز الأطلس هو نبات طبي من عائلة الصنوبريات و المستوطن في الجزائر. يحتوي هذا النبات على مجموعة متنوعة من المركبات الفينولية والتي تنسب إليها مختلف الفعاليات البايولوجية. إن الهدف من هذا البحث هو دراسة المحتوى الكيميوي للمستخلص الميثانولي لأوراق أرز الأطلس المتحصل عليها من الحديقة الوطنية لثنية الحد - تيسمسيلت وتقييم خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا. يحتوي المستخلص الميثانولي لهذا النبات على كميات معتبرة من المركبات الفينولية (متعدد الفينول الكلي، فلافونويدات وتانينات مكثفة و قابلة للتحلل المائي). تشير نتائج الفحص الكيميائي النباتي لوجود مركبات الفلافونويد، التانينات، التربينويدات، الصابونين والبروتينات. يعتبر النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصنا قوي حيث أعطى نسبة تثبيط بلغت  $84.81 \pm 0.08$  % وقيمة تركيز مثبط بنسبة 50% مقدرة ب 0.062 مغم / مل. أعطى النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص النباتي باستخدام طريقة إنتشار الأقراص في وسط الأكار فعالية جيدة على المكورات العنقودية الذهبية حيث كان قطر منطقة تثبيط  $12.66 \pm 0.47$  مم.

**الكلمات الدالة:** أرز الأطلس، مركبات كيميوياتية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا