



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Et Sciences de la Terre et de l'Univers



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Laboratoire des Produits Naturels "LAPRONA"

MEMOIRE

Présenté par

BENKEDDI Aya et BOUNKHALA Marwa

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Sciences Alimentaire

Option : Biologie de la nutrition

Thème

**Étude du pouvoir antimicrobien des extraits de la
plante *Tetraclinis articulata***

Soutenu publiquement, le **29 / 06 / 2025**, devant le jury composé de :

Président	Mme BOUALI Wafaa	MCA	Université Tlemcen
Encadrant	Mme ZERHOUNI Khadidja	MCB	Université Tlemcen
Examineur	Mme ZENATI Fatima	MCB	Université Tlemcen

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Nous remercions tout avant ''Allah ''le tout puissant qui nous a procuré du courage, volonté, santé et la de patience pour mener ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer toutes nos gratitudee et nos plus vifs remerciements à notre encadrante **Mme ZERHOUNI Khadidja**, maitre de conférences classe B au département de Biologie à l'Université de Tlemcen d'avoir accepté de nous diriger pour réaliser ce mémoire, merci infiniment pour vos conseils et votre gentillesse.

Nos remerciements s'adressent aussi à **Mme BOUALI Wafaa**, maitre de conférences classe A au département de Biologie à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté de présider le jury et **Mme ZENATI Fatima** maitre de conférences classe B au département de Biologie à l'Université de Tlemcen, qui nous a fait L'honneur de bien vouloir examiner ce travail.

Enfin, on remercie toute l'équipe pédagogique de L'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen et tous les intervenants professionnels qui ont assuré notre formation le long de ces années et alimenté nos réflexions et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin par leur soutien pour la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail.

A mes très chers parents qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et qui ont sacrifié tous leurs efforts afin que je puisse atteindre ce jour dont je ne pourrais jamais les remercier assez.

A mes petites sœurs Ibtihel et Anfel je suis très chanceuse d'avoir des sœurs comme vous.

À mes oncles, mes tantes, mes cousins et cousines, à toute la famille « BENKEDDI » et « MEBARKI » et ma copine Amina, merci pour votre amour, encouragements et son soutien moral.

Sans oublier ma chère binôme et amie « MARWA », pour son entente, sympathie, sa patience, je suis extrêmement honorée de ton amitié, et je vous adresse mes sincères remerciements.

Aya.

Dédicace

Je dédie ce mémoire.

À la plus merveilleuse de toutes les femmes au monde, celle qui m'a transmis sa générosité, celle qui m'a appris à pardonner, à aimer et à donner le meilleur à moi ; MAMAN que j'aime. Qu'Allah te garde en santé et te comble de ses bienfaits.

À mon cher père, pour son appui constant, sa sagesse et ses encouragements. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi tout au long de ce parcours.

À ma sœur Nouara, pour sa douceur, son amour fraternel et sa présence rassurante. Merci de toujours croire en moi.

*À mes frères, **Habib et Abdelhakim**, pour leur soutien moral, leur affection et leurs mots réconfortants qui m'ont toujours donné la force d'avancer*

À mon binôme Aya, pour ton engagement, ta rigueur et ton esprit de collaboration tout au long de ce travail commun, merci infiniment.

À mes ami(e)s les plus proches, pour les moments partagés, l'entraide, la bonne humeur et le soutien tout au long de ces années d'études et surtout ma copine « Meriem » Merci pour votre précieuse amitié.

Marwa .

ملخص

نظراً للزيادة المثيرة للقلق في مقاومة المضادات الحيوية، فإن تحديد بدائل علاجية جديدة أصبح الآن قضية ذات أولوية في مجال الصحة العامة. وفي هذا السياق، تظهر الزيوت العطرية (HE) كعوامل واعدة مضادة للميكروبات، مع إمكانية كبيرة لتجاوز آليات المقاومة التي طورتها مسببات الأمراض. أدى الزيت العطري المستخرج من أوراق نبات *Tetraclinis articulata* عن طريق التقطير المائي الذي تم حصاده في منطقة سبدو (تلمسان , الجزائر) إلى إنتاجية قدرها 0.22%.

تتميز نتائج تقييم النشاط المضاد للميكروبات، التي تم الحصول عليها باستخدام طرق انتشار القرص وتخفيف السوائل، بنشاط مضاد للبكتيريا معتدل، وحساسية أكثر وضوحاً للبكتيريا إيجابية الجرام، ولا سيما *Bacillus cereus* (30 مم)، و *Bacillus subtilis* (15 مم) و *Staphylococcus aureus* (15 مم). من ناحية أخرى، لوحظ انخفاض أو حتى غياب النشاط المضاد للميكروبات فيما يتعلق ببعض البكتيريا سالبة الجرام، مثل *Pseudomonas aeruginosa*. أظهرت قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط (CMI) تبايناً واسعاً في القيم (يصل إلى 0.25 % مقارنة بمناطق التثبيط (30 مم). بالإضافة إلى نشاط مضاد للفطريات ملحوظ ضد (29 ملم) *Aspergillus fumigatus* و(22) *Candida albicans* ملم.

وتدعم هذه النتائج إمكانات الزيوت العطرية لـ *T. articulata* كبديل طبيعي فعال ضد الكائنات الحية الدقيقة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، *Tetraclinis articulata*، القوة المضادة للميكروبات، CMI، النباتات الطبية

Résumé

Compte tenu de la progression inquiétante des résistances aux antibiotiques, l'identification de nouvelles alternatives thérapeutiques représente aujourd'hui un enjeu prioritaire dans la santé publique. Dans ce cadre, les huiles essentielles (HE) émergent comme des agents antimicrobiens prometteurs, présentant un potentiel notable pour contourner les mécanismes de résistance développés par les agents pathogènes.

L'huile essentielle extraite des feuilles de la plante *Tetraclinis articulata* par hydrodistillation récoltée dans la région Sebdou (Tlemcen, Algérie) a abouti à un rendement de 0,22 %.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne, obtenus à l'aide des méthodes de diffusion sur disque et de dilution en milieu liquide, sont doués d'une activité antibactérienne modérée, une sensibilité plus marquée des bactéries à Gram positif, notamment *Bacillus cereus* (30 mm), *Bacillus subtilis* (15 mm) et *Staphylococcus aureus* (15 mm). En revanche, une faible voire une absence d'activité antimicrobienne a été observée à l'égard de certaines bactéries à Gram négatif, telles que *Pseudomonas aeruginosa*. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont présenté une large variabilité de valeurs (jusqu'à 0.25 %) en comparaison avec les zones d'inhibition (30mm). Ainsi qu'une activité antifongique notable contre *Aspergillus fumigatus* (29 mm) et *Candida albicans* (22 mm).

Ces résultats soutiennent le potentiel des huiles essentielles de *T. articulata* comme alternative naturelle efficace contre les micro-organismes.

Mots clés : Huiles essentielles, *Tetraclinis articulata*, le pouvoir antimicrobienne, CMI, plantes médicinales

Abstract

Given the worrying increase in antibiotic resistance, the identification of new therapeutic alternatives is now a priority issue in public health. In this context, essential oils (EO) emerge as promising antimicrobial agents, with significant potential to bypass the resistance mechanisms developed by pathogens.

The essential oil extracted from the leaves of the *Tetraclinis articulata* plant by hydrodistillation harvested in the Sebdou (Tlemcen, Algeria) region resulted in a yield of 0.22%.

The results of the evaluation of antimicrobial activity, obtained using disc diffusion and liquid dilution methods, are endowed with moderate antibacterial activity, a more marked sensitivity of Gram-positive bacteria, notably *Bacillus cereus* (30 mm), *Bacillus subtilis* (15 mm) and *Staphylococcus aureus* (10 mm). On the other hand, a low or even absence of antimicrobial activity was observed with regard to certain Gram-negative bacteria, such as *Pseudomonas aeruginosa*. The values of minimum inhibitory concentration (MIC) showed a wide variability in values (up to 0.25 %) compared with the inhibition zones (30 mm). As well as notable antifungal activity against *Aspergillus fumigatus* (29 mm) and *Candida albicans* (22 mm).

These results support the potential of *T. articulata* essential oils as an effective natural alternative against microorganisms.

Keywords : Essential oils, *Tetraclinis articulata*, antimicrobial power, MIC, medicinal plants

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction	1

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : généralité sur la plante

I. Généralité sur <i>Tetraclinis articulata</i>	5
I.1. Description botanique	5
I.2. Noms vernaculaires de <i>Tetraclinis articulata</i>	7
I.3. Systématique de <i>Tetraclinis articulata</i>	7
I.4. Répartition géographique	8
I.5. Domaines d'utilisation.....	9
I.6. Toxicité potentielle de <i>Tetraclinis articulata</i>	10
II. Les huiles essentielles.....	10
II.1. La définition des huiles essentielles	10
II.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	11
II.2.1. Propriétés physiques des huiles essentielles	11
II.2.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	11
II.2.3. Composition chimique des huiles essentielles de <i>T. articulata</i>	12
II.3. Les activités biologiques des huiles essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i>	13
II.3.1. Activité antimicrobienne	13
II.3.2. Activité antifongique	14
II.3.3. Activité anti-inflammatoire	14
II.3.4. Activité antioxydante.....	14
II.4. Techniques d'extraction des huiles essentielles	15
II.4.1. Les méthodes conventionnelles	15
II.4.2. Les méthodes innovantes.....	17

Chapitre 2 : L'activité antimicrobienne

I. Mécanisme d'action antimicrobien des huiles essentielles.....	19
I.1. Mode d'action antibactérien	19
I.1.1. Sites d'action des huiles essentielles.....	19
I.1.2. Mécanismes d'action de certains composants des huiles essentielles	20
I.2. Mode d'action antifongique	20
II. Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne	20
II.1. Méthode de diffusion sur disque	21
II.2. Méthode de dilution.....	21
II.2.1. Dilution en bouillon.....	22
II.2.2. Dilution en gélose	23

Matériel et méthode

I. Matériel végétal	25
II. Extraction par hydrodistillation	26
III. Etude de l'activité antimicrobienne.....	28
III.1. Les souches étudiées	28
III.2. Les milieux de culture utilisés.....	28
III.3. Préparation de l'inoculum	29

III.4. Méthode de diffusion des disques sur milieu solide	29
III.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »	30
III.6. Détermination de la concentration Minimale Inhibitrice CMI par microdilution en milieu liquide.....	32

Résultats et discussion

I. Extractions et calcul des rendements	35
II. Etude de l'activité antimicrobienne	36
II.1. Etude de l'activité antibactérienne.....	36
II.2. Etude de l'activité antifongique.....	41
Conclusion.....	43
Les références bibliographiques	45

Liste des abréviations

°C : degré Celsius.

ADN : acide désoxyribonucléique (ADN).

ARN : acide ribonucléique (ARN).

BHA : Butylated hydroxyanisole, un antioxydant synthétique.

BHIB : Brain Heart Infusion Broth – milieu nutritif riche pour la culture bactérienne (gélose/liquide).

BHT : Butylated hydroxytoluene, un autre antioxydant synthétique.

C₁₀, C₁₅ : chaînes carbonées de 10 ou 15 atomes de carbone.

CE₅₀ : concentration produisant 50 % de l'effet maximal.

CI₅₀ : concentration induisant 50 % d'inhibition.

CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CO₂ : dioxyde de carbone.

DL₅₀ : Dose létale 50%

E. coli : Escherichia coli.

EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique – chélateur des ions métalliques (ex. Fe²⁺, Ca²⁺).

FeCl₂ : chlorure de fer (II), utilisé pour la chélation des ions ferreux.

GHz : gigahertz, unité de fréquence = 10⁹ hertz.

HE : huile essentielle.

MHz : mégahertz, unité de fréquence = 10⁶ hertz.

mL : millilitre.

Mm : millimètre.

MTT : test métabolique MTT (réduction de MTT par les mitochondries).

NDGA : nordihydroguaiaretic acid, un antioxydant naturel.

nm : nanomètre.

PDA : Potato Dextrose Agar – milieu de culture à base de pomme de terre et de dextrose, notamment pour champignons.

S. aureus : Staphylococcus aureus.

T. articulata : *Tetraclinis articulata*.

Test DPPH : test utilisant le radical stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl pour mesurer l'activité antioxydante.

UFC : Unité Formant Colonie.

µL : microlitre

Liste des figures

Figure 1 : <i>Tetraclinis articulata</i>	5
Figure 2 : Les feuilles de <i>Tetraclinis articulata</i>	6
Figure 3 : Fleure femelle de <i>T. articulata</i>	6
Figure 4 : Cône male à maturité de <i>T. articulata</i>	6
Figure 5 : L'arbre de <i>T. articulata</i>	6
Figure 6 : Cône femelle à maturité de <i>T. articulata</i>	7
Figure 7 : Distribution géographique de <i>T. articulata</i>	9
Figure 8 : Extraction par distillation a la vapeur	15
Figure 9 : Extraction par hydrodistillation	15
Figure 10 : Extraction par au moyen de solvants	16
Figure 11 : Extraction au CO ₂ supercritique	18
Figure 12 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	19
Figure 13 : Méthode de la diffusion en disque.....	21
Figure 14 : Détermination de la CMI par macrodilution	22
Figure 15 : Détermination de la CMI par microdilution	23
Figure 16 : <i>Tetraclinis articulata</i> (Photo réelle)	25
Figure 17 : Carte de localisation de la station de récolte	26
Figure 18 : Appareil d'extraction des huiles par hydrodistillation.....	27
Figure 19 : L'obtention de l'huile essentielle et d'hydrolat (Photo réelle)	27
Figure 20 : Protocole d'aromatogramme	30
Figure 21 : Préparation des dilutions des huiles essentielles	31
Figure 22 : Préparation de la microplaque	32
Figure 23 : HE de <i>T. articulata</i> récupère (Photo réelle)	35
Figure 24 : L'activité antibactérienne vis-à-vis : A. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> B. <i>Bacillus subtilis</i> C. <i>Bacillus cereus</i>	37
Figure 25 : Plaque CMI d'huile essentielle de <i>T. articulata</i> teste.....	39
Figure 26 : Plaque CMI de l'antibiotique gentamicine	39
Figure 27 : L'activité antifongique vis-à-vis : A. <i>Candida albicans</i> 1 B. <i>Candida albicans</i> 2 C. <i>Candida albicans</i> 3 D. <i>Aspergillus fumigatus</i>	41

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de <i>Tetraclinis articulata</i>	7
Tableau 2 : Souches bactériennes et fongiques utilisées dans l'activité antimicrobienne .	28
Tableau 3 : Milieux de culture utilisés	29
Tableau 4 : Rendement d'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata</i>	35
Tableau 5 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibitions* (D)	36
Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus.....	37
Tableau 7 : Concentration minimal inhibitrice	40
Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus.....	41



Introduction

Introduction

Les infections d'origine alimentaire et les infections toxiques sont une préoccupation majeure de santé publique, principalement causées par la consommation d'aliments contaminés par des micro-organismes nuisibles tels que les espèces de *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ou même *Candida albicans*. Le pilier du traitement conventionnel pour ces affections est l'utilisation d'antibiotiques. Cependant, leur surutilisation et leur utilisation inappropriée ont encouragé l'émergence de résistances microbiennes préoccupantes, rendant certains traitements inefficaces (Achmit *et al.*, 2020 ; El Hachlafi *et al.*, 2023).

En réponse à cette menace croissante, la communauté scientifique se concentre sur la valorisation des ressources naturelles, en particulier les plantes médicinales connues pour leur abondance de molécules bioactives. Parmi celles-ci, les huiles essentielles (HE) attirent l'attention en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques. Leur efficacité est principalement liée à la présence de monoterpènes comme l' α -pinène, le limonène, le camphre et l'acétate de bornyle, dont l'activité synergique a été démontrée dans plusieurs études (Djouahri *et al.*, 2016 ; Tekaïa-Karoui *et al.*, 2024).

À cet sujet, l'étude des huiles essentielles s'inscrit pleinement dans une approche intégrée de la nutrition et de la santé. En tant que futurs nutritionnistes, il devient crucial d'étudier les effets des substances naturelles dérivées des plantes non seulement dans la lutte contre les agents pathogènes, mais aussi dans la prévention des maladies chroniques (diabète, infections intestinales et troubles digestifs inflammatoires) et dans l'amélioration de la sécurité et de la qualité des aliments. Les plantes médicinales riches en antioxydants peuvent également aider à réduire le stress oxydatif, qui est un facteur clé dans les troubles métaboliques et la dégénérescence cellulaire (Khan, A. *et al.* 2024).

L'objectif de cette recherche est d'évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetraclinis articulata*, une plante endémique du Maghreb utilisée depuis longtemps pour ses propriétés antiseptiques, cicatrisantes et digestives. Le matériel végétal a été récolté local dans la région de Sebdou (Tlemcen), et l'hydrodistillation a été utilisée pour obtenir les extraits.

Une analyse approfondie de la plante *Tetraclinis articulata* constitue le cœur de la première partie de cette recherche, organisée en deux chapitres accompagnés d'une synthèse bibliographique.

- Le premier chapitre est consacré à la description botanique, à la répartition géographique de l'espèce, ainsi qu'à ses principaux domaines d'application

Introduction

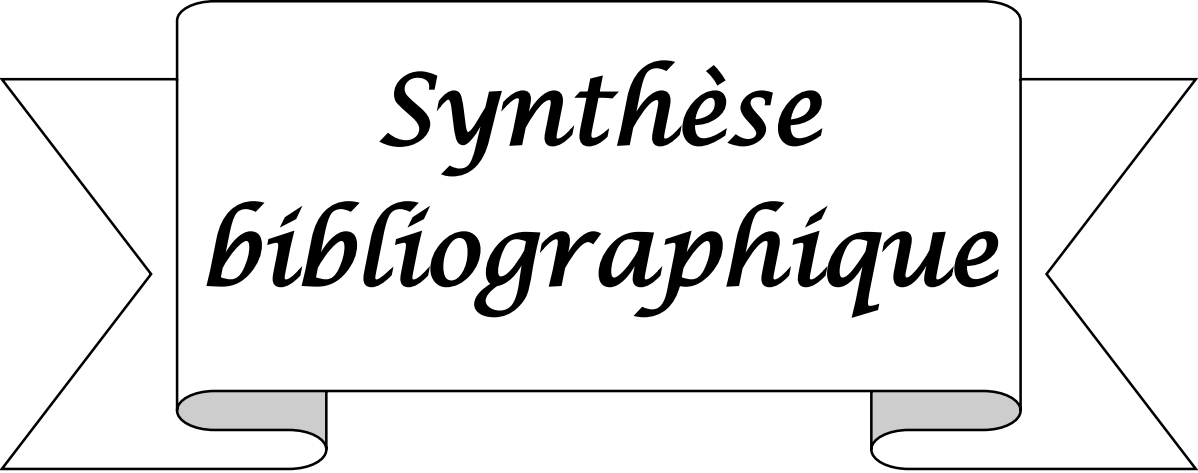
traditionnels et thérapeutiques. Il présente également les techniques d'extraction des huiles essentielles, avec un aperçu général de leur composition dans le cas spécifique de *T. articulata*.

- Le deuxième chapitre aborde les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Il décrit les techniques expérimentales utilisées, telles que la diffusion sur gélose et la microdilution pour la détermination de la CMI, tout en explorant les mécanismes d'action impliqués dans l'activité antibactérienne et antifongique des composés volatils.

L'étude expérimentale occupe toute la deuxième partie de ce mémoire. Il tourne autour d'un certain nombre d'étapes méthodologiques qui permettent d'évaluer les propriétés antimicrobiennes et antifongiques des huiles essentielles extraites de *Tetraclinis articulata*. Cette section comprend :

- Une description du matériel végétal utilisé, y compris la zone de récolte (Sebdou, Tlemcen), les conditions de séchage et de conservation.
- L'explication du processus d'hydrodistillation pour extraire les huiles essentielles et le rendement calculé.
- L'identification des souches microbiologiques testées (champignons pathogènes, bactéries Gram-positives et Gram-négatives).
- La mise en œuvre de tests pour évaluer l'activité antimicrobienne, en particulier la méthode de diffusion sur gélatine pour mesurer les zones d'inhibition et la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par microdilution.

Enfin, la comparaison et l'interprétation des résultats obtenus aux données de la littérature scientifique.



*Synthèse
bibliographique*

Chapitre 1 : généralité sur la plante.

I Généralité sur *Tetraclinis articulata*

I.1 Description botanique

Tetraclinis articulata., appartient à la famille des *Cupressaceae* et constitue la seule espèce du genre *Tetraclinis* (Bourkhiss, 2017) (Figure 1). Ce conifère résineux à feuillage persistant se développe généralement sous forme d'un arbre de taille moyenne (Figure 2), atteignant entre 6 et 15 mètres de hauteur, voire jusqu'à 18,6 mètres dans des conditions optimales (Flora Marocana, 2022). Le tronc est droit, parfois ramifié à la base, et couvert d'une écorce grisâtre à brun-gris, marquée de fissures longitudinales profondes.

Le feuillage est composé de feuilles très réduites, transformées en écailles opposées, disposées en verticilles de quatre : deux aplaties et deux plus étroites. Les rameaux sont fins, articulés, et organisés en plans réguliers, ce qui confère à la plante un port évoquant un candélabre (Bourkhiss, 2017).

La reproduction est monoïque, avec présence de cônes mâles et femelles sur le même arbre (Figure 4 et 3). Les cônes mâles, mesurant 10 à 15 mm, se caractérisent par des écailles polyniques pentagonales. Les cônes femelles, également globuleux et de taille similaire, deviennent verts à maturité et contiennent généralement 2 à 3 graines ailées. La pollinisation est assurée par le vent (anémophile), et les cônes mettent environ huit mois à parvenir à maturité après la fécondation (Bourkhiss, 2017 ; Xycol, 2023) (Figure 6).



Figure 1: *Tetraclinis articulata* (Köhler, 1897)



Figure 2: Les feuilles de *T. articulata* (Peppino, 2020)



Figure 3 : Fleure femelle de *T. articulata* (Peppino, 2020)



Figure 4: Cône male à maturité de *T. articulata* (Peppino, 2020)



Figure 5:L'arbre de *T. articulata* (Peppino, 2020)



Figure 6: Cône femelle à maturité de *T. articulata* (Peppino, 2020)

I.2 Noms vernaculaires de *Tetraclinis articulata*

- **Nom scientifique** : *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.
- **Noms communs** : Thuya de Barbarie, Cyprès de l'Atlas, Arar, Sandaraque, Sandarac tree.
- **Noms en arabe** : Arar, Ahrar, Berbouch, Shajarat el hayat, Megloub, Abhel, Azouka.
- **Synonymes** : *Callitris articulata*, *Callitris quadrivalvis*.

I.3 Systématique de *Tetraclinis articulata*

Le tableau suivant (Tableau 1) présente la classification de la plante de *Tetraclinis articulata*

Tableau 1 : Classification de *Tetraclinis articulata* (Quézel et Santa, 1962)

Règne	Végétale
Embranchement	Spermaphytes
Sous- Embranchement	Gymnospermes
Classe	Conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Tetraclinis</i>
Espèce	<i>Articulata</i>
Nom binomial	<i>Tetraclinisarticulata</i>

I.4 Répartition géographique

Tetraclinis articulata est une espèce endémique du bassin méditerranéen occidental (**Figure 7**), dont la répartition naturelle est largement fragmentée. Elle est principalement présente au Maghreb, en particulier en Algérie, l'espèce se rencontre dans plusieurs régions bien définies. Dans les monts de Tlemcen, *Tetraclinis articulata* forme des groupements forestiers spécifiques, souvent en association avec le chêne vert (*Quercus rotundifolia*) (**Benabdellah et al., 2010**). Sur le littoral oranais, entre Ghazaouet et Mostaganem, des formations floristiques à thuya ont été signalées, caractérisées par une composition végétale particulière (**Hadjadj, 1991**). Enfin, dans la région de Beni Affane (Tiaret), une étude phytoécologique a mis en évidence une flore originale accompagnant le thuya, dominée par des espèces comme *Pistacia lentiscus*, *Globularia alypum*, et *Rosmarinus tournefortii* (**Azzaoui et al., 2017**). Notamment au Maroc, où elle couvre de vastes superficies dans les montagnes de l'Atlas, les monts du Rif, ainsi que dans plusieurs zones semi-arides du centre et du sud du pays (**Bourkhiss, 2017**), et en Tunisie, l'espèce est également présente, bien que de manière plus localisée. En dehors de l'Afrique du Nord, de petites populations relictuelles subsistent dans le sud-est de l'Espagne, notamment dans la région de Cartagena (Murcie), ainsi que sur l'île de Malte, où elles sont considérées comme menacées ou vulnérables (**Flora Maroccana, 2022**).

Cette répartition géographique est fortement influencée par des conditions climatiques méditerranéennes à semi-arides. *Tetraclinis articulata* se développe préférentiellement sur des sols calcaires, peu profonds et pierreux, et pousse généralement entre 200 et 1500 mètres d'altitude. Sa distribution disjointe est en grande partie le résultat d'une exploitation ancienne de son bois, combinée à une régression progressive de son habitat naturel (**European Forest GeneticResources Programme, 2023**).

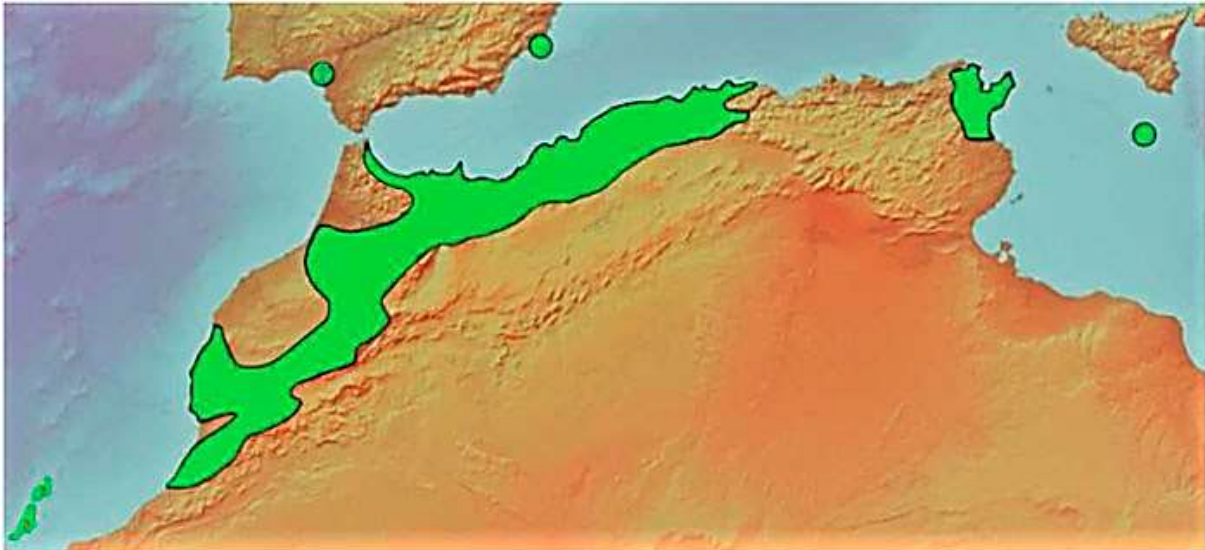


Figure 7 : Distribution géographique de *T. articulata* (Selma et al., 2017)

I.5 Domaines d'utilisation

- **Médicinal**

Appelé "arbre de vie" au XVIIe siècle, le thuya est reconnu pour ses vertus thérapeutiques. Ses feuilles et sa résine balsamique sont utilisées en médecine traditionnelle et en phytothérapie pour leurs effets sudorifiques, diurétiques et antirhumatismaux. Elles sont également employées dans le traitement des maladies respiratoires, digestives, du diabète, de l'hypotension et des fièvres infantiles (**Bouakkaz et Salem, 2020**).

- **Écologique**

Le thuya joue un rôle clé dans la protection de l'environnement grâce à son système racinaire dense et profond, qui contribue à la stabilisation des sols et à la lutte contre l'érosion, notamment dans les zones sensibles comme les bassins versants. Il est également capable de se régénérer après les incendies et peut croître sur des sols pauvres (**Bouakkaz et Salem, 2020**).

- **Économique**

Très prisé dans l'artisanat, notamment au Maghreb, le thuya constitue une ressource importante pour les populations locales. Ses forêts fournissent bois (d'œuvre, de feu, de service), loupes, gomme sandaraque, tanin, goudron végétal et miel, tout en offrant des pâturages pour le bétail. Il joue ainsi un rôle économique et social essentiel (**Bouakkaz et Salem, 2020**).

I.6 Toxicité potentielle de *Tetraclinis articulata*

La toxicité éventuelle de *T. articulata* a été examinée par le biais de diverses méthodes expérimentales, dans le but d'apprécier sa sûreté d'utilisation en contexte thérapeutique. Globalement, les données existantes indiquent que cette plante a un profil toxicologique positif.

Les analyses expérimentales indiquent que les extraits de *T. articulata* présentent une toxicité aiguë faible. Par exemple, une recherche effectuée sur le rat n'a révélé aucun indice clinique de toxicité ou de mortalité, avec une dose létale 50% (DL₅₀) supérieure à 2 g/kg de masse corporelle, témoignant d'une toxicité négligeable à court terme (**Kumar, 2022**). Donc, de nombreuses références scientifiques recommandent des normes de dosage précis. La quantité maximale autorisée de thuyone par voie orale est généralement établie à 0,1 mg/kg/jour, tandis que son utilisation cutanée nécessite une dilution égale à 90 % dans une huile végétale (**Tisserand et Young, 2014**).

L'évaluation de la génotoxicité est aussi rassurante. Une recherche récente a démontré que les extraits dérivés des feuilles de *T. articulata*, qu'ils soient présentés en huile essentielle ou sous forme d'extraits par solvants, ne provoquent pas de mutations génétiques sur des modèles in vitro, indiquant l'absence d'un effet mutagène (**Benoutman et al., 2024**).

Dans une perspective d'ethnopharmacologie, *T. articulata* a été employée depuis des temps anciens en médecine traditionnelle dans les pays du Maghreb, sans qu'aucun effet secondaire n'ait été signalé. Cette utilisation étendue, notamment à travers les extraits, poudres ou fumigations, indique une tolérance générale satisfaisante (**Khatib et al., 2022**).

Malgré ces résultats encourageants, certains auteurs soulignent l'importance de poursuivre les recherches, notamment sur les effets chroniques, cumulés ou à long terme, ainsi que sur les interactions possibles avec d'autres substances (**Saber et al., 2022**). Des études complémentaires restent donc nécessaires pour valider définitivement la sécurité pharmacologique de cette espèce.

II Les huiles essentielles

II.1 La définition des huiles essentielles

Une huile essentielle se définit comme un produit extrait d'un matériau végétal primaire, soit par distillation à la vapeur, soit par expression mécanique, notamment pour les zestes d'agrumes. Cette définition exclut toutefois les substances similaires obtenues par d'autres méthodes d'extraction (**Wafaa, 2024**).

II.2 Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

II.2.1 Propriétés physiques des huiles essentielles

Selon **Couic-Marinier (2018)** les huiles essentielles possèdent plusieurs propriétés physiques notables :

- **Solubilité** : Elles ne se dissolvent pas dans l'eau. Il est donc nécessaire d'utiliser un excipient pour leur mise en suspension dans un bain (par exemple, un savon moussant) ou dans une tisane (par exemple, du miel).
- **Affinité avec les graisses et solvants organiques** : Les huiles essentielles ont une affinité particulière avec les graisses de toute nature, ainsi qu'avec l'alcool de titre élevé et la majorité des solvants organiques.
- **Couleur** : La couleur des gouttes d'huile essentielle au sortir de leur flacon en verre teinté varie du bleu marine au rouge brunâtre, en passant par le vert et le jaune pâle (la plus courante).

II.2.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables, composés principalement de deux groupes de composés d'origine biogénétique :

1) Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures volatils issus de la condensation d'unités isopréniques. Ils se divisent en deux classes principales :

- **Monoterpènes (C₁₀)** : Composants les plus simples de la série terpénique, les monoterpènes résultent du couplage tête-à-queue de deux unités isopréniques (**Padua et al., 1999**). Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques, et constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle (**Bruneton, 1999**).
- **Sesquiterpènes (C₁₅)** : Dérivés d'hydrocarbures en C₁₅H₂₂, les sesquiterpènes sont la classe la plus diversifiée des terpènes. Ils se divisent en plusieurs catégories structurales : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, cétones, aldéhydes, acides et lactones dans la nature (**Haib, 2011**).

2) Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Parmi eux, on trouve l'acide

cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (huile essentielle de cannelle), l'eugénol (huile essentielle de girofle), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (huile essentielle de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrole (huile essentielle de saffras). Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont pour la plupart entraînaibles par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines huiles essentielles (par exemple, huile essentielle de céleri) (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

II.2.3 Composition chimique des huiles essentielles de *T. articulata*

De nombreuses études ont été menées sur la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata*, portant généralement sur l'huile extraite soit d'un seul organe, soit de différentes parties de la plante, telles que les feuilles, les rameaux, les cônes, les branches, les graines, les racines, le bois ou encore la sciure.

- 1) **Feuilles** : Les huiles essentielles des feuilles de *Tetraclinis articulata* sont riches en monoterpènes, notamment le bornyl acétate (41,80 %), l' α -pinène (17,91 %) et le camphre (15,97 %). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour des échantillons collectés dans d'autres régions du Maroc, où le bornyl acétate représente jusqu'à 41,80 % de l'huile essentielle (Bourkhiss *et al.*, 2007), (Benali Toumi *et al.*, 2011) et (El jemli *et al.*, 2016).
- 2) **Cônes** : Les huiles essentielles des cônes de *Tetraclinis articulata* contiennent principalement de l' α -pinène et du limonène (Chikhounne *et al.*, 2013).
- 3) **Rameaux** : Les huiles essentielles extraites des rameaux de *Tetraclinis articulata* présentent une composition chimique variable selon la région de récolte. En Tunisie, les principaux constituants identifiés sont le camphène, le Z- β -ocimène et le nonanol (Tékaya-Karoui *et al.*, 2007). À Malte, l'analyse chromatographique a révélé la présence dominante de l' α -pinène, de l'acétate de bornyle, du camphre et du limonène (Buhagiar *et al.*, 2000). Au Maroc, plus précisément dans la région de Khemisset, les composés majoritaires sont l' α -pinène, le limonène et le widdrol (Bourkhiss *et al.*, 2007).
- 4) **Graines** : Les graines de *T.articulata* contiennent principalement de l' α -pinène et du limonène (Buhagiar *et al.*, 2000).
- 5) **Racines** : Les racines de *T.articulata* sont caractérisées par une forte teneur en camphène (Tékaya-Karoui *et al.*, 2007).

II.3 Les activités biologiques des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata*

II.3.1 Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles (HE) extraites de différentes parties de *Tetraclinis articulata* (cônes, tiges et feuilles) ont démontré une efficacité variable contre des souches bactériennes pathogènes. Celles provenant des cônes et des tiges se sont révélées plus actives que celles issues des feuilles, en particulier contre *Acinetobacter baumannii* et *Escherichia coli*, tandis que toutes les HE testées ont montré une activité contre *Staphylococcus aureus* (Achmit *et al.*, 2020).

Concernant l'inhibition des biofilms, un résultat général a été observé : plus la concentration en HE augmentait, plus l'inhibition était marquée. Les huiles des cônes ont permis une inhibition du biofilm allant jusqu'à 60 % à 8 µL/mL, notamment contre *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* et *S. aureus*. Les tiges ont montré une efficacité constante, avec des pourcentages allant jusqu'à 81,59 % contre *S. aureus* (Ayed *et al.*, 2024). En revanche, l'HE des feuilles s'est montrée inefficace à faible concentration contre certaines souches, mais très active contre *S. aureus* à 8 µL/mL avec une inhibition de 70 % (Chikhouné *et al.*, 2013).

Les tests métaboliques (MTT) ont révélé une action significative des HE des cônes et des tiges sur le métabolisme des cellules sessiles. Les cônes ont atteint 95,10 % d'inhibition métabolique contre *S. aureus* et les tiges 90,35 %, tandis que les feuilles ont montré une activité plus modeste (Ayed *et al.*, 2024) ces résultats sont conformes aux conclusions de Rabib *et al* (2020) qui ont rapporté que les HE extraits des feuilles de *T. articulata*, originaire du Maroc, ont démontré une activité antibactérienne significative contre les isolats cliniques de *S. aureus*.

L'efficacité antimicrobienne de *T. articulata* est attribuée à la richesse de ses HE en monoterpènes tels que l' α -pinène, le limonène, l'acétate de bornyle et le camphre. Ces composés agissent en perturbant la membrane cellulaire, ce qui entrave la formation de biofilms (Abi-Ayad *et al.*, 2013). L' α -pinène s'est distingué comme le principal agent anti-biofilm, avec une inhibition allant jusqu'à 66 % selon la souche. Le limonène, bien que peu actif sur la formation de biofilms, a montré un effet inhibiteur métabolique modéré sur certaines bactéries.

Enfin, l'efficacité supérieure des HE par rapport aux composés isolés (α -pinène, limonène, acétate de bornyle) suggère des effets synergiques entre les molécules présentes dans l'huile essentielle entière, particulièrement dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* (Achmit *et al.*, 2020).

II.3.2 Activité antifongique

Selon **Tékaya-Karoui et al. (2011)**, les fractions d'huiles essentielles extraites des branches terminales ligneuses et des racines de *Thuya* originaire de Tunisie ont été évaluées pour leur activité antifongique. La fraction issue des branches terminales, particulièrement riche en nonan-1-ol (75,2 %), a montré la plus forte activité contre *Alternaria solani*, avec une zone d'inhibition de 29,8 mm. En comparaison, la fraction provenant des racines, contenant 16,6 % d'acétate de bornyle, a également été active contre le même champignon, avec une zone d'inhibition de 26,0 mm.

II.3.3 Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles a été évaluée à l'aide de deux tests enzymatiques :

- Le test d'inhibition de la lipooxygénase : utilisant l'acide linoléique comme substrat, a permis de mesurer la capacité des huiles à bloquer cette enzyme impliquée dans les processus inflammatoires. Le mélange réactionnel contenait du tampon phosphate, des huiles à différentes concentrations, de l'acide linoléique, et la solution enzymatique. L'activité enzymatique a été suivie par spectrophotométrie à 234 nm pendant 2 minutes, et le pourcentage d'inhibition a été calculé en comparant les absorbances avec et sans huiles essentielles. Le NDGA a servi de référence.
- Le test d'inhibition de la xanthine oxydase : une autre enzyme pro-inflammatoire, a suivi un protocole similaire, avec la xanthine comme substrat. Après l'ajout de la solution enzymatique, l'activité a été mesurée à 295 nm. L'allopurinol a été utilisé comme inhibiteur de référence. Dans les deux cas, les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition enzymatique (**Djouahri et al., 2016**).

II.3.4 Activité antioxydante

Selon l'étude de **Djouahri et al. (2016)** l'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée à travers plusieurs tests complémentaires. Le test DPPH a permis de mesurer leur capacité à neutraliser les radicaux libres. Les huiles, dissoutes dans du méthanol, ont été mélangées à une solution de DPPH, puis l'absorbance a été mesurée à 517 nm après 30 minutes d'incubation. Le pourcentage d'inhibition a été calculé et comparé aux antioxydants standards BHA et BHT. Le pouvoir réducteur a été évalué en mesurant la capacité des huiles à transformer le ferricyanure en ferrocyanure, ce qui augmente l'absorbance à 700 nm. Une concentration efficace CE_{50} (concentration qui produit 50 % de l'effet maximal) a été déterminée à partir de cette mesure. Le test au β -carotène a, quant à lui, mesuré la capacité des huiles à empêcher

l'oxydation d'une émulsion contenant du β -carotène, en observant la dégradation du pigment à 470 nm après 2 heures à 50 °C. Le pourcentage d'inhibition de l'oxydation a été calculé, et la CI_{50} (concentration qui entraîne une inhibition de 50 %) déterminée. Enfin, la capacité de chélation des ions ferreux ($FeCl_2$) a été mesurée en mélangeant les huiles à une solution de $FeCl_2$, suivie de l'ajout de ferrozine. L'absorbance à 562 nm a permis d'évaluer la formation du complexe chélaté, et l'activité a été exprimée en CI_{50} , la concentration nécessaire pour chélater 50 % des ions fer. Chaque test a été réalisé en triple pour assurer la fiabilité des résultats, et les composés de référence utilisés (BHA, BHT, EDTA) ont permis une comparaison standardisée de l'efficacité antioxydante.

II.4 Techniques d'extraction des huiles essentielles

II.4.1 Les méthodes conventionnelles

1) Hydrodistillation (ou distillation à la vapeur)

Il s'agit de la méthode la plus ancienne et la plus répandue. Elle consiste à chauffer la plante dans de l'eau (hydrodistillation) (**Figure 8**) ou à faire circuler de la vapeur à travers le matériau végétal (distillation à la vapeur) (**Figure 9**) afin d'en extraire les composés volatils. Ces vapeurs sont ensuite condensées pour permettre la récupération de l'huile essentielle. Cette technique est particulièrement efficace pour les parties végétales dures, telles que les bois, les graines ou les racines (**Boutekedjiret et al., 2003**).

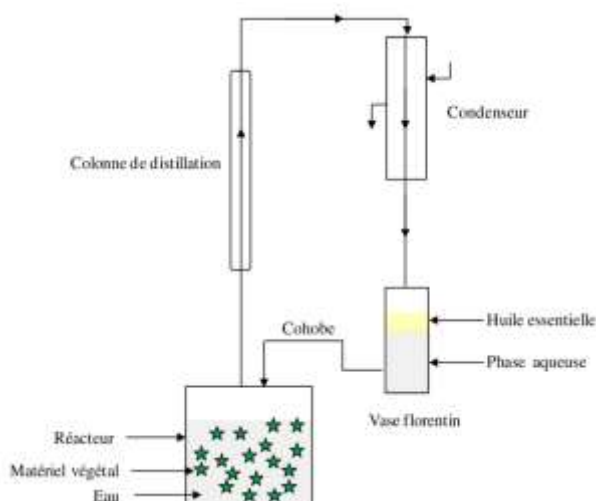


Figure 8 : Extraction par hydrodistillation (Farhat.A, 2010)

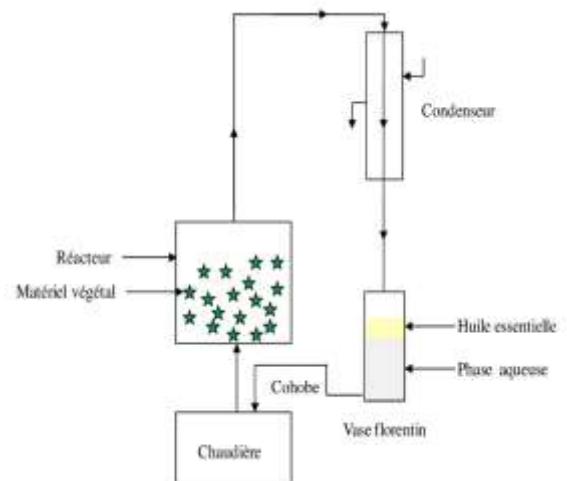


Figure 9 : Extraction par Distillation à la vapeur (Farhat.A, 2010)

2) Extraction au moyen de solvants

Ce procédé consiste à extraire les composés aromatiques du matériel végétal à l'aide d'un solvant volatil, qui est ensuite éliminé par distillation sous pression réduite (**Figure 10**). L'évaporation du solvant laisse un extrait odorant de texture pâteuse, appelé « concrète », dont les substances aromatiques sont ensuite séparées à l'éthanol pour obtenir des « absolues ». Bien que cette méthode permette d'obtenir des extraits très concentrés, elle demeure coûteuse en raison du prix élevé des équipements et de la forte consommation de solvants (**Boussaid, 2017**).

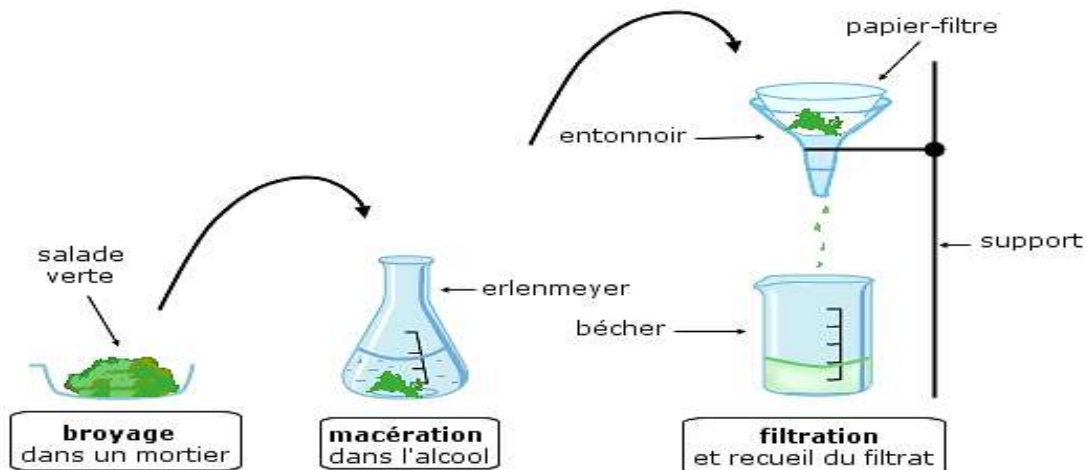


Figure 10 : Extraction au moyen de solvants (Kernou, 2014).

3) Le pressage à froid

Également appelé expression, constitue une alternative à l'hydrodistillation ou à la distillation à la vapeur pour l'extraction des huiles essentielles. Cette méthode est principalement utilisée pour les agrumes, dont les glandes à essence se trouvent à la surface de l'écorce. Elle n'implique aucune source de chaleur, ce qui permet de préserver l'odeur naturelle de l'huile. Le procédé repose sur des techniques mécaniques, telles que la compression ou la perforation, pour faire éclater les poches contenant l'huile. Le mélange obtenu, sous forme d'émulsion aqueuse, est ensuite clarifié par centrifugation (**Ferhat *et al.*, 2007 ; Marouf et Tremblin, 2009**).

II.4.2 Les méthodes innovantes

1) Extraction assistée par ultrasons

Les méthodes traditionnelles d'extraction peuvent présenter des rendements limités. L'hydrodistillation assistée par ultrasons offre une solution efficace pour améliorer la performance de l'extraction des huiles essentielles, tout en réduisant significativement le temps de traitement. Les ultrasons exercent des effets mécaniques qui affaiblissent les parois cellulaires des végétaux, facilitant ainsi la libération des composés internes et optimisant le transfert de matière. Ces mécanismes expliquent les bénéfices apportés par les ultrasons dans les procédés d'extraction (**Boussaid, 2017**).

2) Extraction assistée par les micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques non ionisantes, dont les fréquences varient de 300 MHz à 300 GHz (longueurs d'onde de 1 mm à 1 m). L'utilisation des micro-ondes pour l'extraction des huiles essentielles a débuté en 1989 avec la méthode de **Craveiro et al.** fondée sur le principe de l'entraînement à la vapeur, mais utilisant de l'air comprimé à la place de la vapeur. En 1994, la société Archimex a introduit l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide pulsé, éliminant l'usage d'eau. Par la suite, en **2004, Chemat et al.** ont développé et breveté une méthode d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes, réalisable à pression atmosphérique. En 2008, ces chercheurs ont proposé une nouvelle technique, l'hydrodistillation assistée par micro-ondes et gravité, combinant extraction écologique et récupération des composés par simple écoulement gravitationnel (**Fernandez et Chemat, 2012**). Cette méthode présente de nombreux avantages : elle est écologique, économe en énergie et en temps, reproductible et facile à mettre en œuvre. Cependant, le produit obtenu n'est pas une huile essentielle au sens strict, mais un extrait naturel.

3) Extraction au CO₂ supercritique

Ce procédé innovant repose sur l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, une condition où la température et la pression placent le solvant dans un état intermédiaire entre le liquide et le gaz, lui conférant des propriétés physico-chimiques particulières. Le dioxyde de carbone (CO₂) est couramment utilisé en raison de la facilité avec laquelle on peut atteindre les conditions de température et de pression nécessaires (**Leszczynska, 2007**). Dans ce procédé, le CO₂ est d'abord liquéfié par refroidissement, puis soumis à la pression d'extraction souhaitée.

Il est ensuite introduit dans un extracteur contenant le matériau végétal. Le fluide supercritique, une fois chargé des composés extraits, passe à l'état gazeux et est dirigé vers un séparateur, où les extraits sont récupérés sous forme de concentrés solubles (Chemat, 2009) (Figure 11).

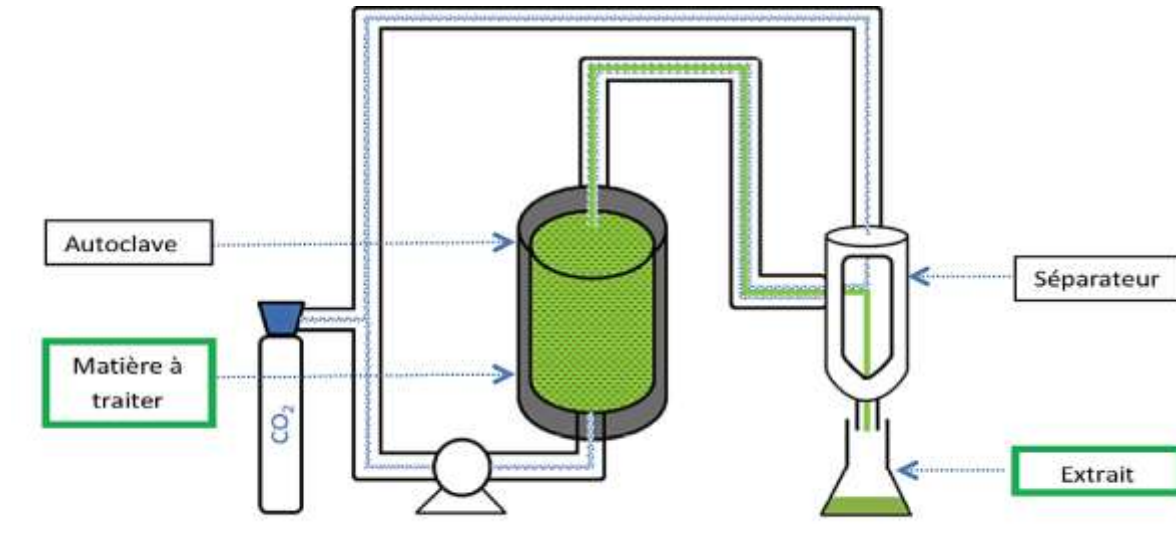


Figure 11 : Extraction au CO₂ supercritique

Chapitre 2 : l'activité antimicrobienne

I Mécanisme d'action antimicrobien des huiles essentielles

I.1 Mode d'action antibactérien

L'utilisation de produits actifs d'origine végétale a suscité un intérêt accru en raison non seulement de la résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques classiques, mais également de leur composition naturel et biologique. Généralement la présence de composés actifs dans les huiles essentielles tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes, l'alcool, les hydrocarbures et les phénols est connue par son rôle d'exercer ces propriétés antibactériennes (Goetz et Ghedira, 2012).

I.1.1 Sites d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries est complexe et encore mal connu. En raison de la diversité de leurs composants, leur effet antimicrobien résulte probablement de plusieurs mécanismes agissant sur différentes cibles cellulaires. Leur activité repose notamment sur la nature hydrophobe de leurs composés actifs, qui perturbent la membrane bactérienne, affectant le transport ionique, la production d'énergie, et pouvant inhiber la synthèse de l'ADN et l'ARN par la suite la synthèse des protéines et des polysaccharides (Figure 12) (Boussaid, 2017).

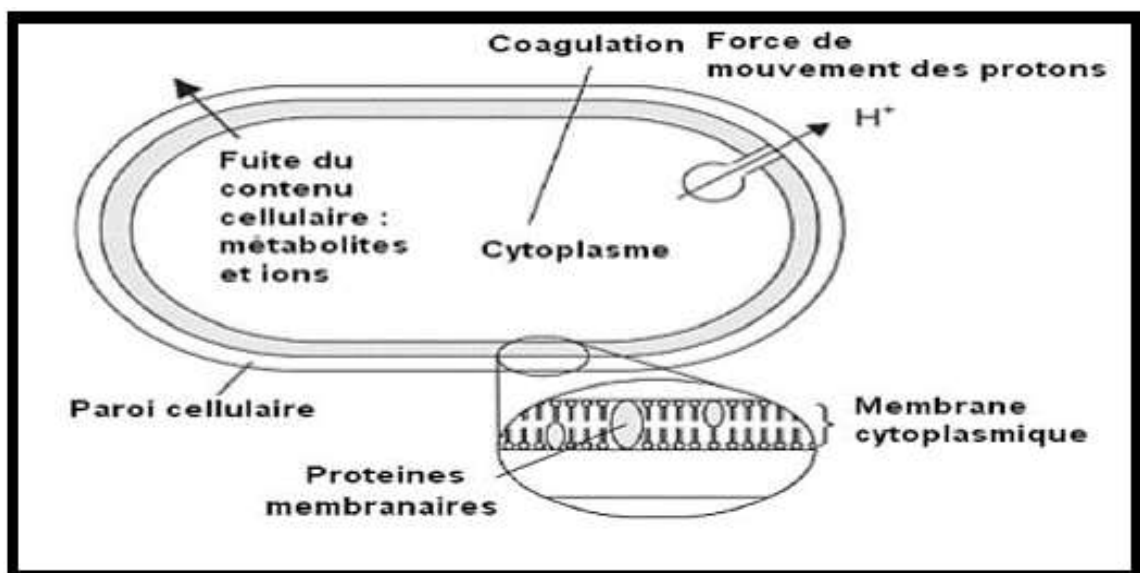


Figure 12 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Goetz et Ghedira, 2012)

I.1.2 Mécanismes d'action de certains composants des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est liée à leur composition chimique, notamment aux groupements fonctionnels des composés majoritaires. Certains composants clés, comme le carvacrol et le thymol, altèrent les membranes des bactéries à Gram négatif, perturbant leur structure et provoquant des fuites intracellulaires (Walsh *et al.*, 2003).

D'autres composés, tels que les alcools et aldéhydes, agissent respectivement en dénaturant les protéines ou en interférant avec des biomolécules essentielles, affectant ainsi le fonctionnement global de la cellule bactérienne (Goetz et Ghedira, 2012).

I.2 Mode d'action antifongique

Les huiles essentielles exercent une action antifongique en perturbant plusieurs fonctions vitales des champignons. Elles peuvent interférer avec la respiration cellulaire des levures et champignons filamenteux (Inouye *et al.*, 1998 ;Cox *et al.*, 2000) et inhiber certaines enzymes impliquées dans la production d'énergie ou la synthèse des structures cellulaires (Burt, 2004).

Des observations microscopiques ont révélé des altérations importantes dans les cellules de *Candida*, telles qu'une désorganisation interne, une augmentation des vésicules et des anomalies dans la division cellulaire (Nakamura *et al.*, 2004).

Chez les champignons filamenteux, les huiles essentielles provoquent des changements morphologiques visibles, affectent la formation des hyphes et ciblent principalement la paroi ainsi que les membranes cellulaires et nucléaires (Bourrel *et al.*, 1995). Cela se traduit notamment par une diminution de la sporulation et de la production d'aflatoxines (Rasooli et Owlia, 2005).

II Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne

Actuellement, l'activité antimicrobienne d'une substance peut être évaluée *in vitro* à l'aide de nombreuses méthodes classiques, utilisant des milieux solides ou liquides. Dans le cadre de notre étude, trois techniques ont été choisies pour tester l'effet antimicrobien des extraits végétaux :

- La méthode de diffusion sur gélose,
- La méthode de dilution en milieu liquide.
- La méthode de dilution en milieu solide.

L'efficacité d'un agent antimicrobien vis-à-vis d'un microorganisme est généralement exprimée par deux paramètres clés :

- **La concentration minimale inhibitrice (CMI)** : qui correspond à la plus faible concentration empêchant la croissance du microorganisme.
- **La concentration minimale bactéricide (CMB)** : qui représente la concentration minimale capable de tuer le microorganisme (El Kalamouni, 2010).

II.1 Méthode de diffusion sur disque

Cette méthode repose sur l'utilisation de disques de papier (type Wattman) imprégnés des substances à tester. Ces disques sont déposés sur la surface d'un milieu géloséensemencé de manière homogène avec la souche microbienne ciblée (Guérin-Faubleé et Carret, 1999).

Au cours de l'incubation, le composé diffuse dans la gélose. Lorsque sa concentration devient insuffisante pour inhiber la croissance bactérienne, une zone d'inhibition se forme autour du disque (El Kalamouni, 2010). L'activité antimicrobienne est alors évaluée en mesurant le diamètre de cette zone, exprimé en millimètres ou centimètres (Bouزيد, 2011).

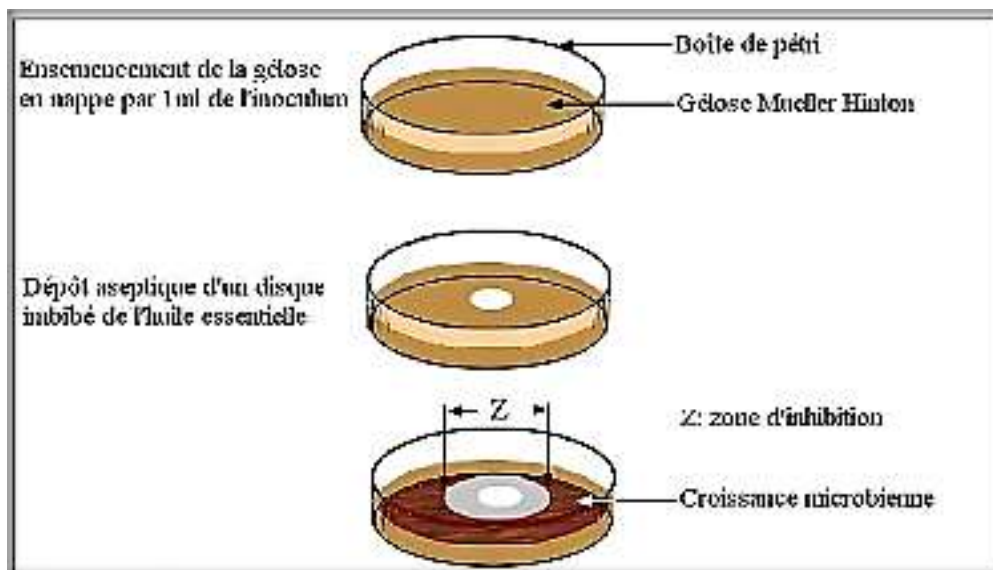


Figure 13 : Méthode de la diffusion en disque.

II.2 Méthode de dilution

Les méthodes de dilution, en milieu liquide (bouillon) ou solide (gélose), visent à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la souche testée. Toutefois, cette valeur n'est pas toujours parfaitement précise : la CMI réelle se situe entre la concentration la plus faible empêchant toute croissance et la concentration immédiatement inférieure (El Kalamouni, 2010)

II.2.1 Dilution en bouillon

Cette technique consiste à exposer une suspension bactérienne à différentes concentrations d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. Elle peut être réalisée selon deux approches :

- En tubes à essai (macrodilution) (**Figure 14**)
- Ou en microplaques de titration (microdilution) utilisant de faibles volumes (**Figure 15**) (**El Kalamouni, 2010**).

Après incubation, la CMI est identifiée comme la plus faible concentration d'antimicrobien pour laquelle aucune croissance visible n'est observée dans le tube ou la cupule correspondante (**Joffin et Leyral, 2006**)

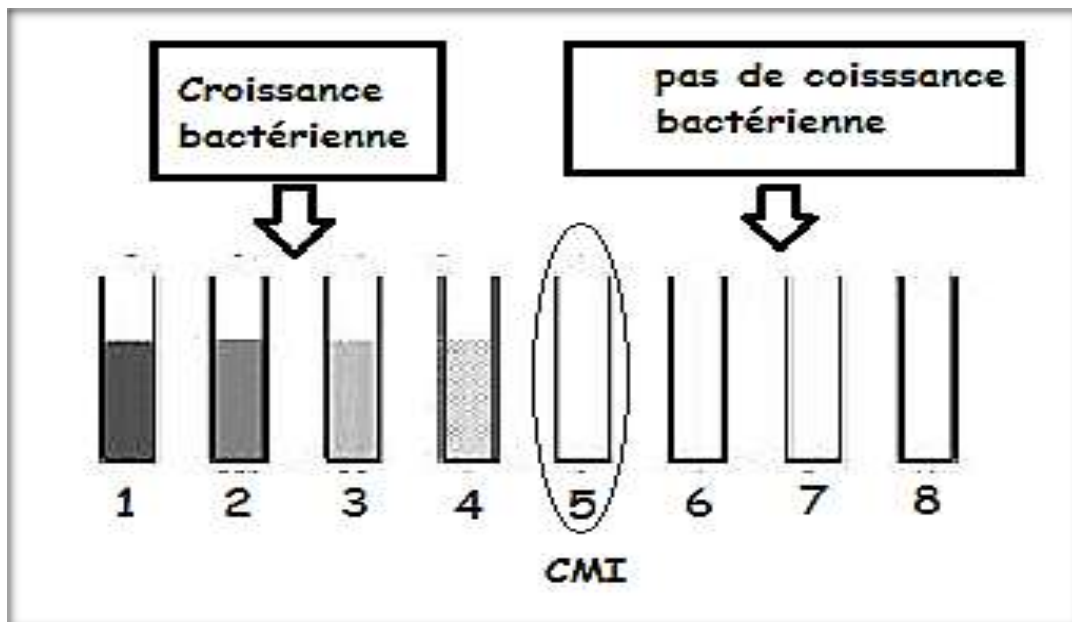


Figure 14 : Détermination de la CMI par macrodilution

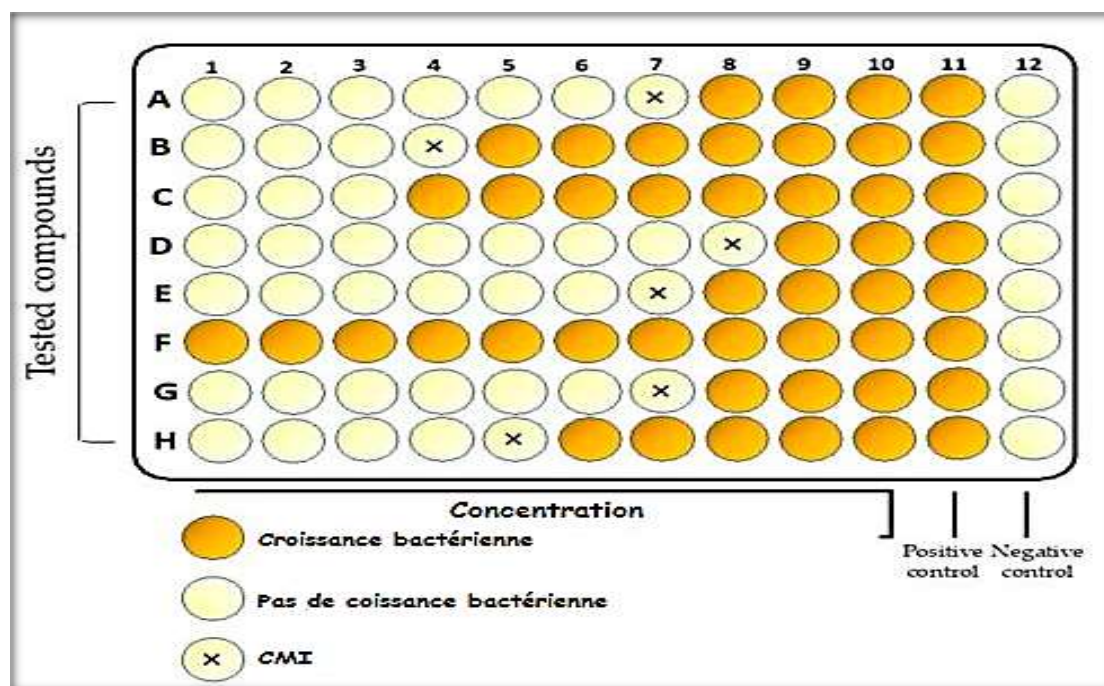


Figure 15 : Détermination de la CMI par microdilution

II.2.2 Dilution en gélose

Cette méthode consiste à incorporer l'agent antimicrobien à une concentration déterminé dans le milieu gélosé, ensuite les suspensions microbiennes à examiner sont ensemencés en utilisant des écouvillons à la surface de la gélose de la boîte de pétri (El kalamouni, 2010).

La lecture de la CMI de chaque souche après incubation est révélée par l'inhibition de la croissance de microorganismes sur le milieu (Joffin et Leyral, 2006).



*Matériel et
méthodes*

Matériel et méthodes

I Matériel végétal

La plante étudiée a été récoltée en mars 2025 dans la région de Sebdou, située à environ 27 kilomètres au sud de Tlemcen, dans le nord-ouest de l'Algérie. Cette localité se trouve à une altitude de 920 mètres, avec des coordonnées géographiques précises : latitude 34° 38' 22" N et longitude 1° 19' 37" W.

La station d'étude est caractérisée par un climat méditerranéen, avec des étés chauds et secs et des hivers doux et pluvieux. Cette zone est propice à la croissance de diverses espèces végétales adaptées à ces conditions climatiques.



Figure 16 : *Tetraclinis articulata* (photo réelle)



Figure 17 : Carte de localisation de la station de récolte.

L'identification de la plante a été réalisée par les botanistes du Laboratoire d'*Écologie et de Gestion des Écosystèmes Naturels*, au sein du Département de Biologie, Écologie et Environnement de l'Université de Tlemcen. Après la récolte, le matériel végétal a été séché à l'air libre pendant une période de quinze jours, permettant ainsi la conservation des propriétés organoleptiques et chimiques de la plante. Suite à cette phase de séchage, le matériel a été soumis à un processus d'extraction d'huile essentielle.

Ce protocole méthodologique assure une préparation adéquate de l'échantillon végétal, essentielle pour les analyses ultérieures visant à évaluer ses propriétés antimicrobiennes.

II Extraction par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. La matière végétale, préalablement pesée, est placée dans un ballon contenant un litre d'eau distillée, puis chauffée à l'aide d'un chauffe-ballon, durant une période de 2 heures et 30 minutes. La vapeur d'eau entraînant les composés volatils est dirigée vers un condenseur, où elle est refroidie et liquéfiée. Le distillat obtenu est recueilli dans une burette, permettant la séparation des huiles essentielles de l'hydrolat en raison de leur différence de densité. Le rendement en huile essentielle est déterminé en rapportant la masse d'huile obtenue à celle de la matière végétale sèche utilisée (**Carré, 1953**). Afin de préserver leur qualité, les huiles essentielles ont été stockées à une température de 4 ± 1 °C, à l'abri de la lumière.



Figure 18 : appareil d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de type Clevenger (photo original).



Figure 19 : l'obtention de l'huile essentielle et d'hydrolat (photo réelle)

➤ Calcul du rendement

Le rendement d'HE et le rapport du poids entre le poids d'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = [PA/PB] \times 100$$

R : Rendement de l'huile en %.

PA : Poids de l'huile en g.

PB : Poids de la plante en g.

III Etude de l'activité antimicrobienne

III.1 Les souches étudiées

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne des deux plantes, notre choix a porté sur les souches représentées dans le **Tableau 2**. Ce sont des germes à pouvoir pathogène important qui causent différentes infections à savoir des infections nosocomiales, alimentaires.... etc.

Tableau 2 : Souches bactériennes et fongiques utilisées dans l'activité antimicrobienne.

Souches utilisées		
Bactéries	A Gram positif	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	A Gram négatif	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
		<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
Champignons	Levures	<i>Candida albicans</i> IP444
		<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
		<i>Candida albicans</i> ATCC 26790
	Moisissures	<i>Aspergillus fumigatus</i> MNHN 566
		<i>Fusarium oxysporum</i> MNHN 963917

III.2 Les milieux de culture utilisés

Pour la revivification et la culture des souches, nous avons utilisé les milieux représentés dans le **Tableau 3**. Le Mueller Hinton solide et celui liquide ont été utilisés pour effectuer les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Tableau 3 : Milieux de culture utilisés.

Souches	Milieux de culture
Bactéries	Gélose nutritive, Bouillon nutritif
Levures	Bouillon nutritif, Sabouraud en gélose
Champignons	Potato Dextrose Agar (PDA)

III.3 Préparation de l'inoculum

1) Pour les bactéries et *Candida albicans*

Chaque culture doit être ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour les bactéries et sur Sabouraud pour *Candida albicans* pour obtenir des colonies isolées. Après une incubation à 37°C pour les bactéries et à 35°C pour *Candida albicans*, pendant 24h, quatre à cinq colonies bien isolées sont transférées avec une anse dans un tube de bouillon nutritif (ou eau physiologique 0,9 %). Incuber le bouillon à 37°C (35°C pour *C. albicans*) jusqu'à ce qu'il devienne trouble. Ajuster la turbidité à la bonne densité au standard McFarland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui correspond à une densité optique entre 0,08 à 0,1 lue à 625nm pour les bactéries (équivalent à 10^8 UFC/ml) (EUCAST, 2003) et entre 0,12 à 0,15 lue à 530 nm pour *Candida albicans* (équivalent à 10^6 UFC/ml) (NCCLS, 2001).

2) Pour les champignons filamenteux

En ce qui concerne les champignons filamenteux, l'inoculum a été préparé par un ensemencement sur la gélose PDA pendant 4 jours à 25°C afin d'avoir une sporulation adéquate. La suspension sporale est préparée dans de l'eau physiologique et la concentration a été ajustée à 10^6 spores /ml ce qui correspond à une transmittance de 0.68 à 0.82% lue à 530 nm (Pfaller *et al.*, 1998).

III.4 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

La turbidité des souches doit être ajusté à 10^8 UFC/ml pour les bactéries, 10^6 UFC/ml pour *Candida albicans* et 10^6 spores /ml pour les champignons filamenteux. Pour la réalisation de cette méthode, nous suivons le protocole suivant :

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne précédemment préparée ;
- Essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube ;
- Fritter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois en faisant

Matériel et méthodes

pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

- Laisser les boîtes de Pétri pendant 2h à 4°C ;
- Appliquer les disques imbibés par 5µl de l'extrait (500µg/disque) sur la gélose Mueller-Hinton, en pressant chaque disque à l'aide de pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé (CLSI, 2010).

Les boîtes sont incubées 24h à 37 °C (35°C pour *C. albicans*) et 48h à 25 °C pour les champignons filamenteux. L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide au tour de disque dont le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et exprimé soit en centimètre soit en millimètre (Joffin et Leyral, 2006).

III.5 Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

La méthode de microdilution en utilisant des microplaques de 96 puits a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Aouni *et al.*, 2013).

1) Préparation de la suspension bactérienne

L'inoculum est préparé à partir de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml dilué au 1/100 (9900µL de bouillon BHIB stérile avec 100µL de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml) pour avoir une concentration $\approx 10^6$ UFC/ml.

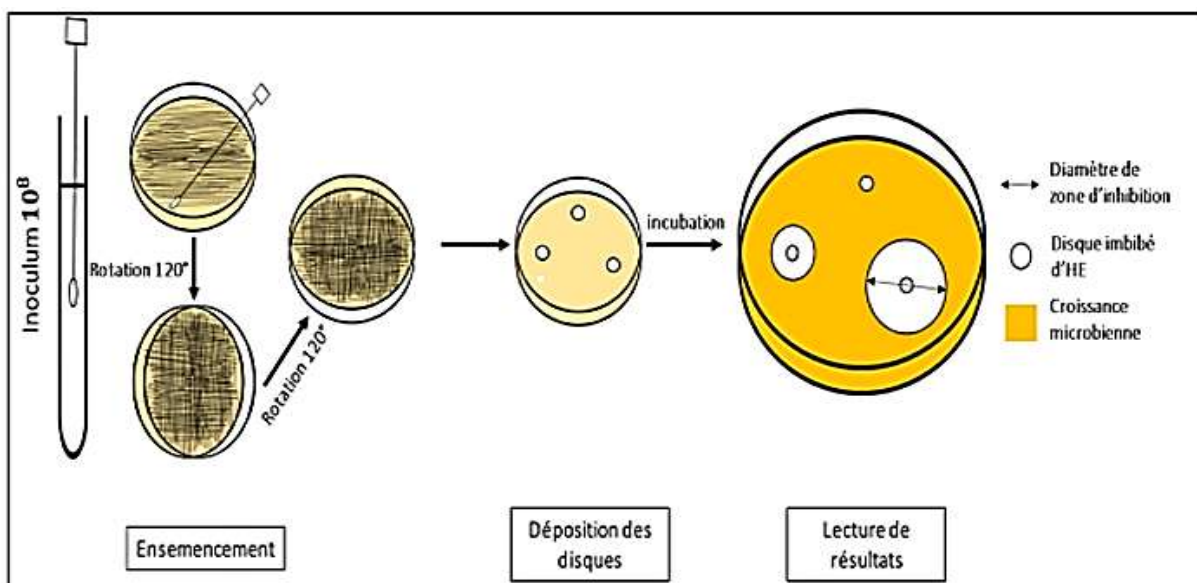


Figure 20 : Protocole d'aromatogramme.

2) Protocol

Chaque huile essentielle a été diluée dix fois à partir de la solution mère (400 μL d'HE avec 10 μL de tween 80 et 590 μL de BHIB) par des dilutions $\frac{1}{2}$ successives. Une solution de dilution a été préparée (mélange de 9900 μL de bouillon BHIB et 100 μL de tween 80 à 1%). Un volume de 500 μL de solution de dilution a été ajouté dans des tubes d'hémolyse stériles pour le but d'obtenir des concentrations comprises entre 40 % et 0.08% et une concentration de tween 80 à 1% constant (**Figure 21**).

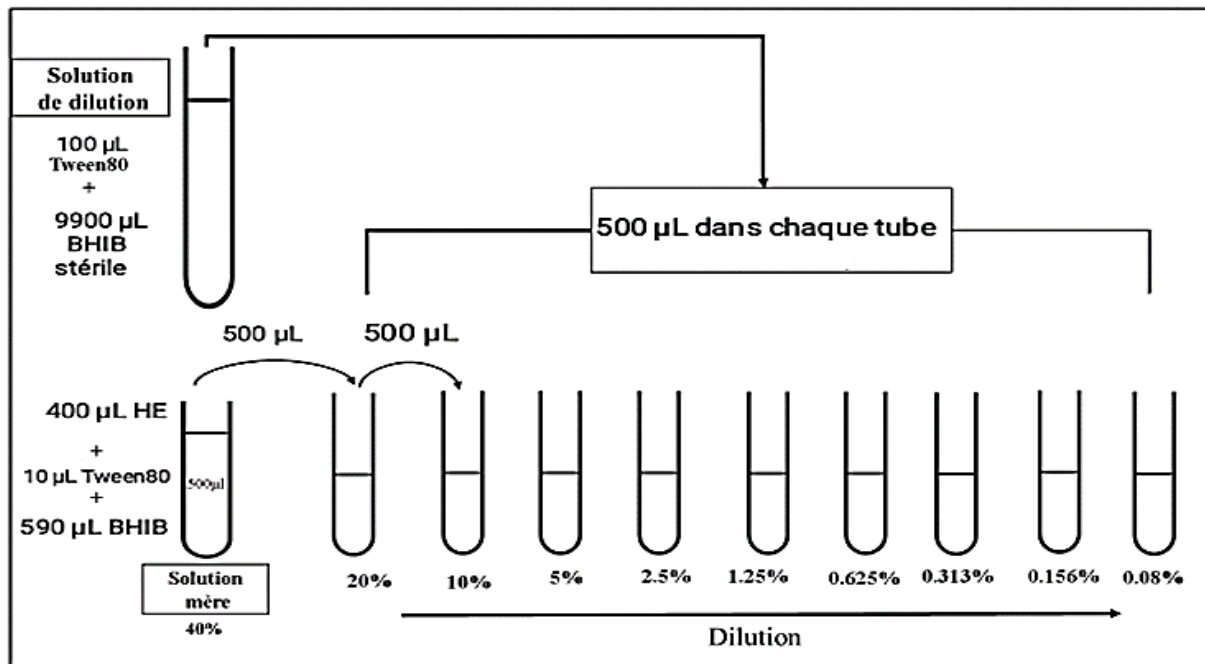


Figure 21 : Préparation des dilutions des huiles essentielles

Après, dix microplaques sont employées (deux microplaques pour chaque HE) dans lesquelles 90 μL de suspension bactérienne de 10^6UFC/mL est déposée avec 10 μL de chaque concentration (deux rongée des puits pour chaque souche). Ainsi, les concentrations des huiles essentielles dans la microplaque sont comprises entre 4% et 0.008% (**Figure 22**). Après incubation des microplaques à 37°C pendant 24h, la CMI est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle qui empêche toute croissance bactérienne visible (absence de turbidité) (**Djenane et al., 2011**). L'onzième puit est rempli par 100 μL de la suspension bactérienne comme témoin positif, et le douzième puit est rempli par 100 μL de bouillon stérile comme témoin négative pour vérifier la contamination.

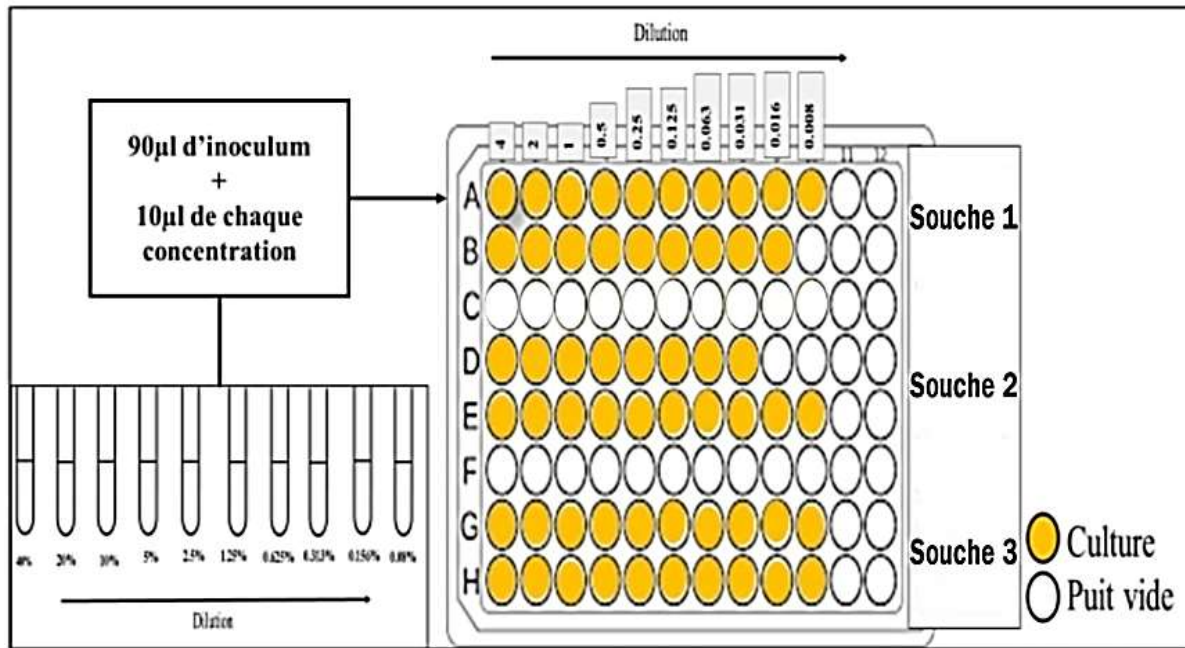


Figure 22 : Préparation de la microplaque.

III.6 Détermination de la concentration Minimale Inhibitrice CMI par microdilution en milieu liquide

1) Principe

La méthode de microdilution en milieu liquide est utilisée pour déterminer la sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens. Elle est considérée comme la méthode de choix pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques.

2) Technique

- Une microplaque de 96 puits est utilisée.
- Une solution de l'antibiotique avec une concentration de 256 µg/mL est préparée.
- Dans la première colonne de la microplaque, colonne de témoin, 100µL de bouillon Mueller Hinton est distribué.
- Dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 50µL du bouillon Mueller Hinton.
- 50 µL de l'antibiotique sont introduites dans le 2 ème puits. Après avoir bien homogénéisé le contenu du 2 ème puits une série de dilution est réalisée où 50µL sont prélevés, puis déposés dans le 3 ème puits, et ainsi de suite jusqu'au 12ème puits où 50 µL restantes sont

Matériel et méthodes

éliminés. Cela pour obtenir des dilutions en série de progression géométrique de raison $\frac{1}{2}$ allant de 128 $\mu\text{g/mL}$ au 0.25 $\mu\text{g/mL}$.

- 50 μL de l'inoculum bactérien de 10^8 UFC/mL (DO de 0,08-0,1) sont ajoutés dans chaque puits sauf la colonne de témoin.
- Les microplaques sont scellées et incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

3) Lecture

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotique où il n'y a pas de croissance bactérienne visible.



***Résultats et
Discussion***

Résultats et discussion

I Extractions et calcul des rendements

L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été obtenue par l'hydrodistillation de feuilles écrasées, les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et représentés dans le **Tableau 4**. Ces huiles essentielles sont liquides et de couleur jaune pâle (**Figure 23**).

Tableau 4 : Rendement d'huile essentielle de *Tetraclinis articulata*.

La plante	Durée de distillation (h)	Matière végétal(g)	Eau distillée (ml)	Poids d'H.E (g)	Rendement (%)
<i>Tetraclinis articulata</i>	2h30min	1200g	1000ml	2,6646g	0,2221%



Figure 23 : HE de *T.articulata* récupéré (photo réelle).

L'huile essentielle (HE) de *Tetraclinis articulata* a été extraite par hydrodistillation à partir de 1 200 g de feuilles sèches broyées, avec un rendement de 0,2221 %. Ce taux est comparable à celui obtenu par **Bourkhiss et al. (2007)**, qui ont rapporté un rendement moyen

Résultats et discussion

de 0,22 % pour des feuilles récoltées à Khémisset, au Maroc. Toutefois, ce rendement reste inférieur à celui observé pour les rameaux de la même espèce, pouvant atteindre 0,41 %.

Des rendements plus élevés ont également été observés à partir d'autres parties de la plante, notamment la sciure de tronc, avec un rendement pouvant aller jusqu'à 1,63 %. Ces variations s'expliquent principalement par des différences dans la composition chimique selon la partie de la plante utilisée (**Sadiki et al., 2018**), mais aussi par des facteurs environnementaux tels que le climat, le type de sol ou encore la période de récolte. Par exemple, **Hamdani et al. (2021)** ont signalé un rendement de 1,10 % pour les feuilles de *T. articulata* récoltées dans la région de Chlef, en Algérie.

II Etude de l'activité antimicrobienne

L'étude de cette activité a été réalisée par deux techniques. La technique qualitative de diffusion des disques sur gélose, basée sur la mesure des diamètres d'inhibition en mm ou en cm. Les extraits ont été testés sur les bactéries, les moisissures et les levures. Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, nous avons utilisé la transcription de **Biyiti et al. (2004)** (**Tableau 5**).

Tableau 5: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition * (D).

Inhibition	Transcription	Sensibilité
$D < 8\text{mm}$	-	Résistante
$9\text{mm} \geq D \leq 14$	+	Sensible
$15\text{mm} \geq D \leq 19\text{mm}$	++	Assez sensible
$D \geq 20\text{mm}$	+++	Très sensible

* Diamètre de disque inclus.

La deuxième technique utilisée, à savoir les dilutions en milieu liquide, est une approche quantitative visant à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance microbienne. Cette analyse sera menée sur les extraits ayant montré les diamètres d'inhibition les plus importants lors des tests précédents.

II.1 Etude de l'activité antibactérienne

1) Méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé

Les diamètres d'inhibition sont consignés dans le **Tableau 6** :

Tableau 6 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus

Souches	Huile essentielle		Gentamicine	
	Diamètres (mm)	Transcription	Diamètres (mm)	Transcription
<i>Bacillus cereus</i>	30mm	+++	16mm	++
<i>Bacillus subtilis</i>	15mm	++	18mm	++
<i>Staphylococcus aureus</i>	15mm	++	17mm	++
<i>Escherichia coli</i>	10mm	+	20mm	+++
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9mm	+	17mm	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6mm	-	19mm	++

+ : Sensible, ++ : Assez sensible, +++:Très sensible,- :Résistante

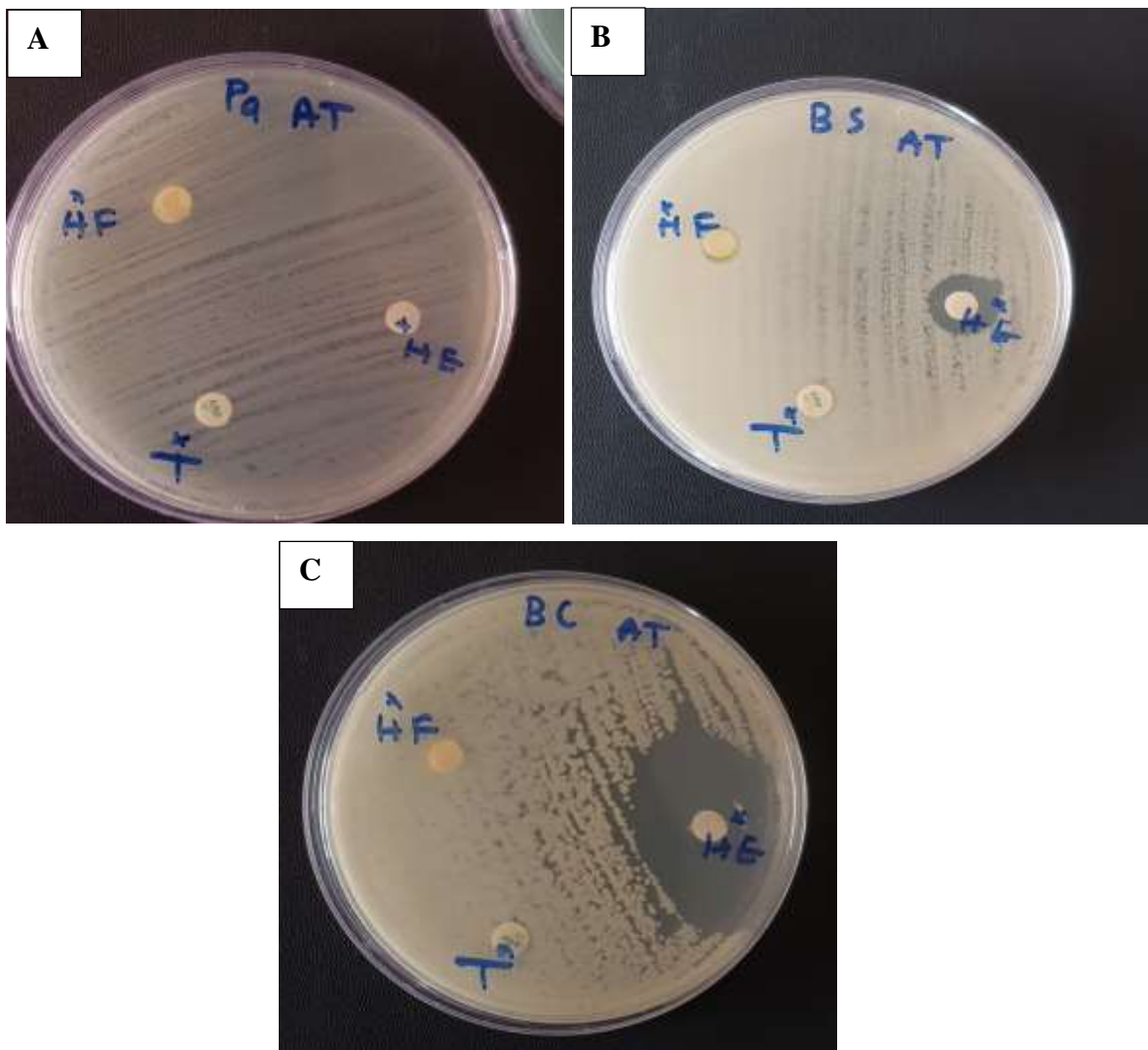


Figure 24 : L'activité antibactérienne vis-à-vis : A. *Pseudomonas aeruginosa* B. *Bacillus subtilis* C. *Bacillus cereus*

Résultats et discussion

Les souches *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* ont montré une sensibilité notable à l'huile essentielle testée, avec des diamètres d'inhibition respectivement de 30 mm (très sensible) et 15 mm (assez sensible).

Escherichia coli et *Klebsiella pneumoniae* présentent une faible sensibilité, avec des zones d'inhibition respectivement de 10 mm et 9 mm.

Pseudomonas aeruginosa s'est révélée totalement résistante, aucune zone d'inhibition n'ayant été observée.

Nos résultats ont révélé une meilleure sensibilité des bactéries Gram positives, en particulier *Bacillus cereus* (30 mm), *B. subtilis* (15 mm) et *Staphylococcus aureus* (15 mm). Et une faible ou nulle efficacité sur certaines bactéries Gram-négatives comme *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces observations sont cohérentes avec les résultats de **Boussaïd et al. (2022)**, qui ont montré une forte activité de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, mais une absence d'effet contre *P.aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*.

Dans une autre étude approfondie, **Achmit et al. (2021)** ont également rapporté une activité notable contre les souches Gram-positives, y compris des souches résistantes de *S. aureus*, et une faible ou inexistante activité sur les Gram-négatives. Ces auteurs attribuent cette efficacité aux composants majoritaires de l'huile, tels que l' α -pinène, le camphre et l'acétate de bornyle, connus pour leur effet antimicrobien.

En parallèle, **Rabib et al. (2020)** ont également confirmé une activité inhibitrice importante sur *Escherichia coli* et *S. aureus*, mais beaucoup plus réduite sur *Klebsiella pneumoniae*, et nulle sur *P. aeruginosa*. Cette résistance est souvent liée à la présence de pompes à efflux et à la structure particulière de l'enveloppe bactérienne chez *P. aeruginosa*.

Enfin, **Ayed et al. (2024)** ont mis en évidence que la partie de la plante utilisée influence l'efficacité antimicrobienne. Les huiles extraites des cônes de *T. articulata* ont montré des zones d'inhibition plus larges que celles extraites des feuilles, particulièrement contre *Bacillus cereus*.

2) Détermination des Concentrations Minimale Inhibitrice

Pour les souches qui ont montré une certaine sensibilité (9-30mm), nous avons déterminé les Concentrations Minimale Inhibitrice (CMI). Les résultats (**Tableau 7**) sont représentés dans la **Figure 25** pour HE et **Figure 26** pour l'antibiotique de référence (Gentamicine).

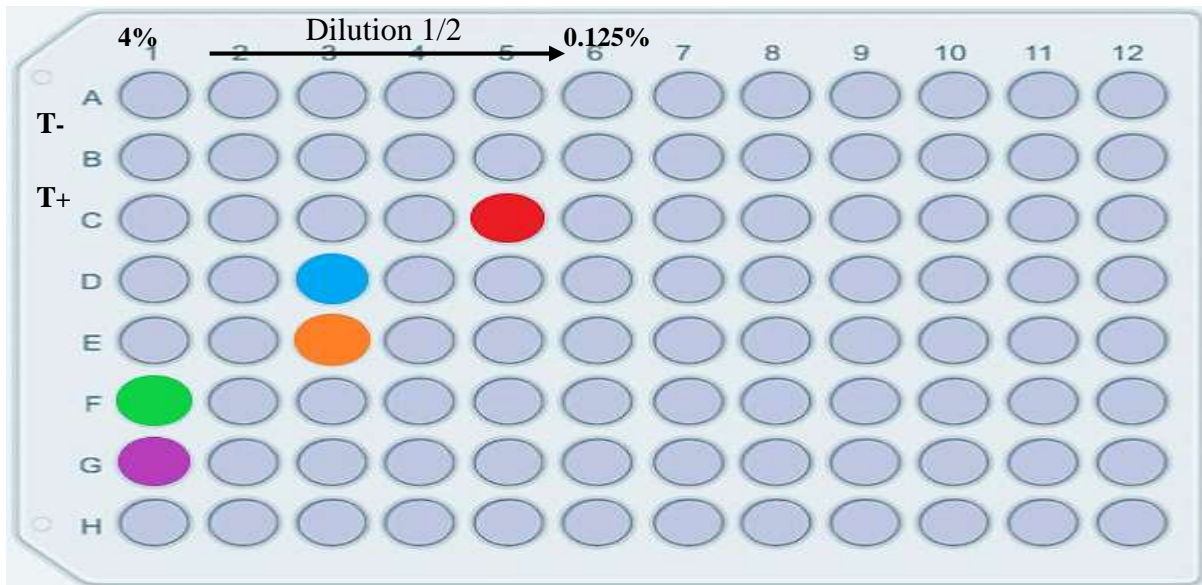


Figure 25 : Plaque CMI d'huile essentielle de *T. articulata* testée.

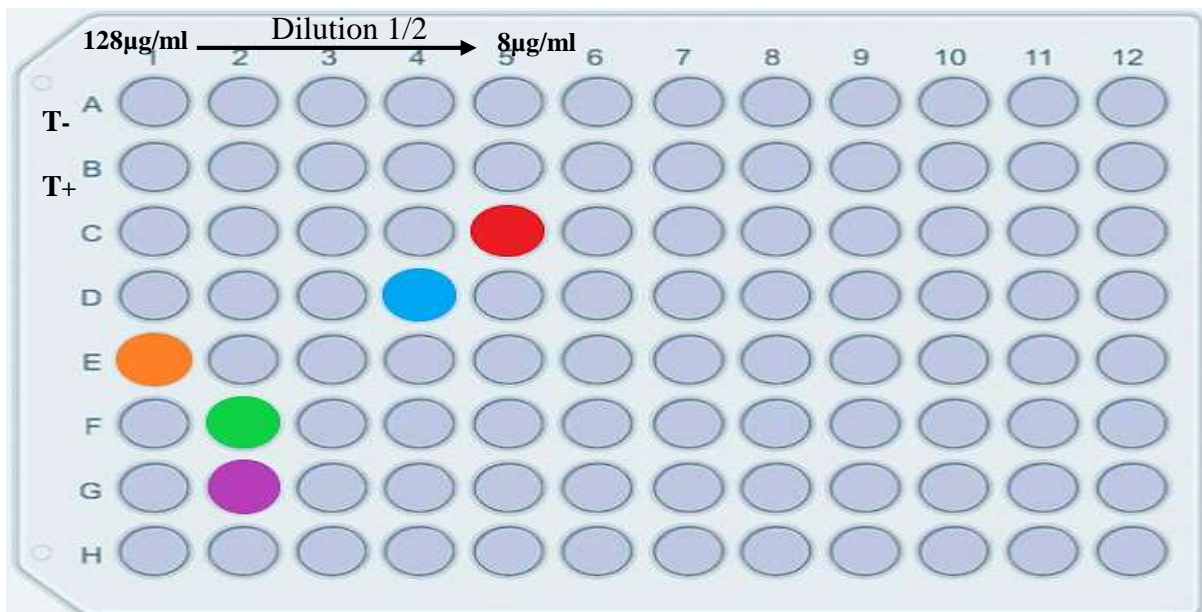


Figure 26 : Plaque CMI de l'antibiotique Gentamicine.

Orange *Staphylococcus aureus*

Green *Escherichia coli*

Blue *Bacillus subtilis*

Red *Bacillus cereus*

Purple *Klebsiella pneumoniae*

Tableau 7 : Concentration minimal inhibitrice

Souches	Huile essentielle v/v %	Gentamicine ($\mu\text{g/ml}$)
<i>Bacillus cereus</i>	0.25	8
<i>Bacillus subtilis</i>	1	16
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	128
<i>Escherichia coli</i>	4	64
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	64

Les résultats expérimentaux obtenus pour la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle (HE) de *Tetraclinis articulata* ont montré une efficacité antimicrobienne variable selon les souches bactériennes testées, avec des valeurs comprises entre 0.25 à 4%. Ces résultats sont comparables à ceux de la gentamicine, un antibiotique de référence, dont les CMI varient entre 8 à 128 $\mu\text{g/mL}$ selon la souche.

Une étude menée par **Zerkani et al. (2019)** a rapporté des CMI pour les feuilles de *T. articulata* contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae* respectivement de 1,2 $\mu\text{L/mL}$, 2,4 $\mu\text{L/mL}$ et 9,7 $\mu\text{L/mL}$, indiquant une activité antimicrobienne modérée de l'huile essentielle de *T. articulata* contre ces bactéries.

Selon l'étude réalisée par **Boussaïd et al. (2020)**, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les feuilles de *T. articulata* contre *Staphylococcus aureus* variaient entre 1 et 3 $\mu\text{L/mL}$, suggérant que l'huile essentielle de *T. articulata* possède une activité antimicrobienne très forte contre cette souche bactérienne.

Enfin, une étude de **Achmit et al. (2021)** a rapporté des CMI pour l'huile essentielle de *T. articulata* contre *Staphylococcus aureus* variant entre 0,19 et 48 $\mu\text{L/mL}$, indiquant une activité antimicrobienne potentiellement plus notable de l'HE de *T. articulata* contre cette bactérie.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* possède une activité antimicrobienne significative, comparable à celle de la gentamicine, contre diverses souches bactériennes.

Résultats et discussion

II.2 Etude de l'activité antifongique

1) Méthode des disques

Les diamètres d'inhibition sont consignés dans le **Tableau 8** :

Tableau 8 : Diamètres des zones d'inhibition obtenus.

Souches	Diamètre (mm)	Transcription
<i>Candida albicans1</i>	22mm	+++
<i>Candida albicans2</i>	10mm	+
<i>Candida albicans3</i>	10mm	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	29mm	+++
<i>Fusarium oxysporum</i>	13mm	+

+ : Sensible, ++ : Assez sensible, +++:Très sensible, - :Résistante

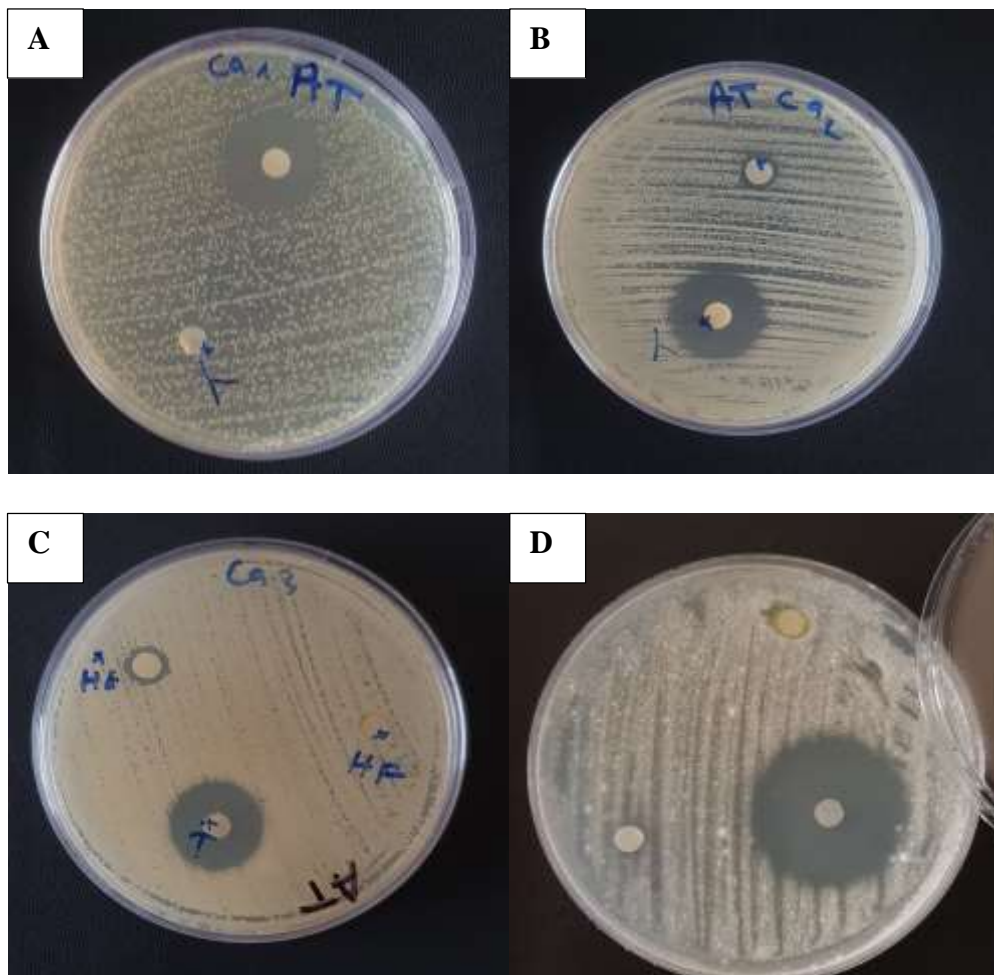


Figure 27 : L'activité antifongique vis-à-vis :A. *Candida albicans1* B. *Candida albicans2* C. *Candida albicans3* D. *Aspergillus fumigatus*

Résultats et discussion

L'huile essentielle testée présente une forte activité antifongique contre *Aspergillus fumigatus* (29 mm) et une souche de *Candida albicans* 1 (22 mm), indiquant une très bonne sensibilité.

Deux autres souches de *Candida albicans* 2 et 3 montrent une sensibilité modérée (zones d'inhibition de 10 mm), suggérant une variabilité inter-souches.

Fusarium oxysporum présente une faible sensibilité (13 mm), ce qui indique une action antifongique plus limitée.

Ces résultats montrent que l'huile essentielle testée est particulièrement efficace contre certaines levures et moisissures, notamment *Aspergillus fumigatus* et certaines souches de *Candida albicans*. Toutefois, son efficacité peut varier selon les souches, ce qui souligne l'importance de tests ciblés pour évaluer son potentiel antifongique global.

Une étude de **Boussaïd et al. (2022)** a également rapporté une inhibition significative de *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*, avec des CMI variant entre 1 et 3 µL/mL pour l'échantillon contenant principalement du camphre.

Une autre étude de **Rabib et al. (2020)** a évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* du Maroc, rapportant une inhibition remarquable de *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*, avec des CMI variant entre 1 et 3 µL/mL.

Comme mentionné dans la littérature (**Abi-Ayad et al., 2013 ; Achmit et al., 2021**), l'efficacité des HE ne dépend pas uniquement d'un seul composé, mais bien de l'effet synergique entre plusieurs molécules volatiles. Ainsi, des associations comme α -pinène + camphre, ou limonène + acétate de bornyle, sont considérées comme plus actives que leurs composés isolés. Cela justifie le choix d'utiliser les HE entières dans les tests biologiques plutôt que des extraits fractionnés.



Conclusión

Conclusion

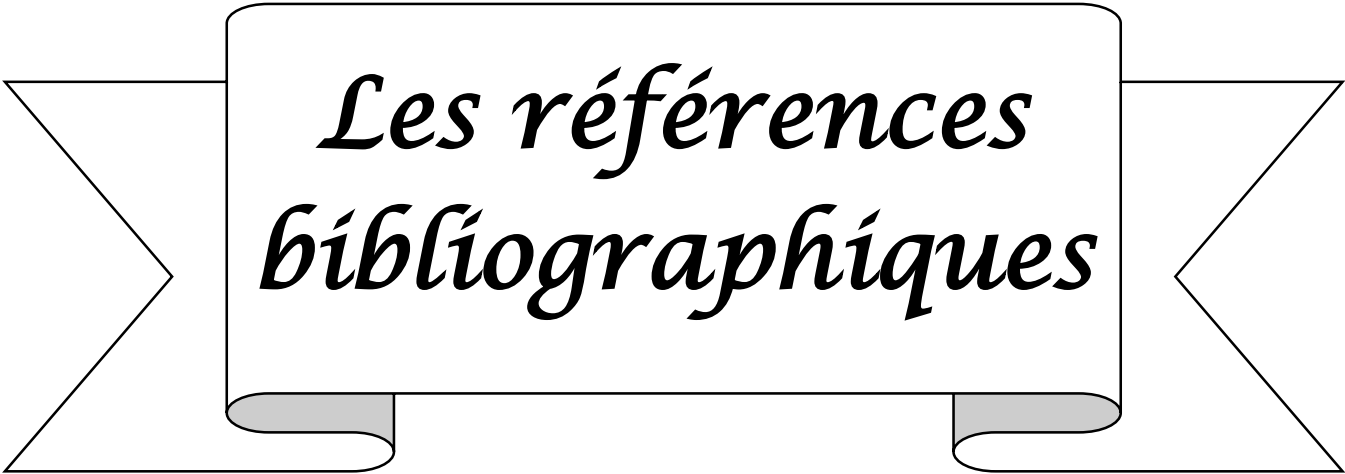
Ce travail s'inscrit dans l'effort de valorisation des plantes médicinales locales en étudiant les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetraclinis articulata* cultivées dans la région de Sebdou (Tlemcen, Algérie). Un rendement de 0,2221% a été obtenu par extraction par hydrodistillation, ce qui est relativement modeste mais cohérent avec les résultats d'études connexes impliquant des extraits foliaires.

Les tests ont révélé une activité antimicrobienne significative, en particulier contre certaines bactéries Gram-positives, telles que *Staphylococcus aureus* (15 mm), *Bacillus cereus* (30 mm) et *Bacillus subtilis* (15 mm), tandis que des bactéries Gram-négatives comme *E. coli* et *K. pneumoniae* ont montré une sensibilité moindre. D'autre part, *Pseudomonas aeruginosa* s'est avéré résistante, Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) ont présenté une large variabilité de valeurs (jusqu'à 0.25 %) en comparaison avec les zones d'inhibition (30mm). L'activité antifongique observée, bien que variable, a démontré une grande efficacité contre *Aspergillus fumigatus* (29 mm) et certaines souches de *Candida albicans* (22 mm), suggérant un potentiel antifongique incontournable.

Les comparaisons avec les données de la littérature scientifique indiquent que les huiles essentielles de *T. articulata*, y compris celles extraites des cônes et des tiges, sont généralement plus riches en composés bioactifs tels que l' α -pinène, le limonène, le camphre et l'acétate de bornyle. Cette composition chimique explique en grande partie leurs propriétés antibactériennes, antioxydantes et antifongiques supérieures. En revanche, la concentration relativement faible de ces composés volatils dans les feuilles, utilisées exclusivement dans cette étude, pourrait expliquer les niveaux d'activité modérée observés dans certains cas.

Dans l'ensemble, cette étude valide la valeur scientifique et pratique des plantes médicinales et soutient une approche intégrée combinant l'ethnobotanique, la chimie des substances naturelles et la microbiologie pour promouvoir une alternative durable aux antimicrobiens synthétiques en réponse à la problématique croissante de la résistance aux antibiotiques, Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour améliorer notre travail :

- Analyse des autres parties de la plante (racines, tiges et cônes),
- L'évaluation des effets cytotoxiques et pharmacologiques in vivo,
- L'identification précise des mécanismes d'action moléculaires,
- Optimisation des techniques d'extraction et de formulation.



*Les références
bibliographiques*

- **Abi-Ayad, F. Z., Abi-Ayad, M., Lazouni, H. A., & Rebiahi, S. A.** (2013). Evaluation of *Tetraclinis articulata* essential oil from Algeria flora as a potential source of antifungal activity and study of its chemical composition. *Journal Of The Indian Academy Of Wood Science*, 10(1), 9-15. <https://doi.org/10.1007/s13196-013-0086-7>
- **Achmit, M., Aoussar, N., Mellouki, F., Mhand, R. A., Ibáñez, M. D., Blázquez, M. A., Akssira, M., Zerouali, K., & Rhallabi, N.** (2020). In vitro antibacterial and biofilm inhibitory activity of the sawdust essential oil of *Tetraclinis articulata* (vahl) against catheter-associated *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Current Research In Biotechnology*, 3, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2020.12.001>
- **Ayed, A., Caputo, L., De Feo, V., Nazzaro, F., Fratianni, F., Amri, I., Hamrouni, L., Mabrouk, Y., & Polito, F.** (2024). Essential Oils of Tunisian *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. : Chemical and Biological Insights. *Chemistry & Biodiversity*. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202401618>
- **Azzaoui, M. E., Maatoug, M., Berrayah, M.** (2017). Phytoecological study of *Tetraclinis articulata* in the woodland of Beni Affene, Sdamas Chergui (Tiaret, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(2).
- **Benabdellah, M., A., Amrani, S., M., Elhaitoum, A., Ollier, S.** (2010). Analyse phytoécologique des groupements à thuya (*Tetraclinis articulata*) et à chêne vert (*Quercus rotundifolia*) dans les monts de Tlemcen (Algérie occidentale). *Ecologia Mediterranea*, 36(2), 97–120.
- **Benali Toumi, F., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H et Boudaghen L.** (2011). Etude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters originaire d'Algerie. pp. 93-100.
- **Bouakkaz, M., & Salem, L.** (2020, 1 septembre). *Analyses physicochimiques et chromatographiques des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Thuya de Berberie) de deux sites différents*. <http://di.univ-blida.dz:8080/jspui/handle/123456789/7971>
- **Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Hnach, M., Bourkhiss, M., Satrani, B., Farah, A.** (2007). Composition chimique et bioactivité de l'huile essentielle des rameaux de *tetraclinis articulata*. S.1, *Laboratoire de Biotechnologie microbienne, Faculté des Sciences*,

Références bibliographiques

- Université Ibn Tofail*, 14000 Kénitra, BP 133, Maroc. : Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2007, pp. 75-84.
- **Bourkhiss, M.** (2017). Thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) – Aperçu taxonomique, phytogéographique et écologique. *Le Journal de Botanique*, 79, 69–71.
 - **Bourkhiss, M., Hnach, K., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., Chaouch, A.** (2007). Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extradite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc. *Afrique Science*, 03, 232-242.
 - **Bourrel, C., Dargent, R., Vilrem, G., Gaset, A.** (1995) Analyse chimique et propriétés fongistatiques de quelques huiles essentielles en milieu liquide. Effet sur la morphogénèse hyphale. *Rivista italiana*, 17, 31-42.
 - **Boussaid, M.** (2017, 7 mai). Caractérisation des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters (Thuya de Barbarie) de la région de Tlemcen et étude de leurs activités biologiques. <https://hal.science/tel-02522997/>
 - **Boussaïd, N. M., Bekhechi, N. C., Tomi, N. P., & Tomi, N. F.** (2022). Antimicrobial activity of *Tetraclinis articulata* aerial parts essential oil from Tlemcen, Northwestern of Algeria. *Journal Of Natural Product Research And Applications*, 1(03), 29-40. <https://doi.org/10.46325/jnpra.v1i03.26>
 - **Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M.** (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour And Fragrance Journal*, 18(6), 481-484. <https://doi.org/10.1002/ffj.1226>
 - **Bouزيد, 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: 59-69.
 - **Bruneton, j.** (1999). Huiles essentielles, In Pharmacognosie-phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} édition. S.1. : 3^{ème} éd. Doc& Tec. Lavoisier,.
 - **Buhagiar, J., Camilleri Podestà, M. T., Cioni, P. L., Flamini, G et Morelli, L.** (2000). *Essential Oil Composition of Different Parts of Tetraclinis articulata*. S.l., Faculty of Medicine and Surgery University of Malta ;Dipartimento di Chimica Bioorganica ,Universita di Pisa , Via Bonanno 33, 56126, Pisa, Italy : *Journal of Essential Oil Research*, 2000, pp. 29-32.
 - **Burt, S.** (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94 223-253.

- **Benoutman, A., Erbiai, E. H., Ettakifi, H., Legssyer, M., Handaq, N., Makrane, H., Saidi, R., Lamrani, Z., Pintado, M., Pinto, E., Silva, J. C. G. E., & Maouni, A.** (2024). Phytochemical analysis, antioxidant, antifungal activity, and genotoxicity of essential oil and solvent extracts of *Tetraclinis articulata* leaves from Northern Morocco. *Letters in Applied NanoBioScience*, 13(1), Article 50. <https://doi.org/10.33263/LIANBS131.050>
- **Carré, P.** (1953) Précis de technologie et de chimie industrielle. T3. *Edition de Ballière JB et fils.*
- **Chemat, F.** (2009) Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. *Dehradum :HKB Publishers* , 311.
- **Chikhoun, A., Hazzit, M., Kerbouche, L., Baaliouamer, A., & Aissat, K.** (2013). *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters essential oils : chemical composition and biological activities. *Journal Of Essential Oil Research*, 25(4), 300-307. <https://doi.org/10.1080/10412905.2013.774625>
- **Couic-Marinier, F et Lobstein, A.** (2013). Composition chimique des huiles essentielles. Pp. 22-25.
- **Couic-Marinier, F.** (2018). Les huiles essentielles en pratique, administration et précaution d'emploi. Pp. 26-28
- **Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., Wyllie, S.G.** (2002) The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal Applied Microbiology*, 88, 170-175.
- **Djouahri, A., Saka, B., Boudarene, L., & Baaliouamer, A.** (2016). Essential Oil Variability and Biological Activities of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. Wood According to the Extraction Time. *Chemistry & Biodiversity*, 13(12), 1691-1706. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600124>
- **El Hachlafi, N., Aanniz, T., Bakrim, S., Ghchime, R., Lahrichi, A., & El Omari, N.** (2023). *Tetraclinis articulata* essential oil as a promising source of bioactive compounds: in vitro and in silico studies on antioxidant, antimicrobial, and dermatoprotective activities. *Heliyon*, 9(6), e16147.
- **El-kalamouni, C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits des plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. (*Thèse de Doctorat*). *Université de Toulouse.*

Références bibliographiques

- EUFORGEN – European Forest Genetic Resources Programme. (2023). *Tetraclinis articulata*. www.euforgen.org
- **Farhat, A.** (2010). *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application*. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- **Fernandez, X., Chemat, F.** (2012) La chimie des huiles essentielles. *Tradition et innovation*. Paris : Vuibert, 288.
- Flora Maroccana. (2022). *Tetraclinis articulata*. www.floramaroccana.fr
- **Goetz, P., Ghedira, K.** (2012) Phytothérapie anti-infectueuse. *Edition Springer-Verlage : Paris, France*, 382.
- **Guérin-Faublée, V., Carret, G.** (1999). L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites. *Journées nationales GTV-INRA*, 5-12.
- **Hadjadj, S.** (1991). *Les peuplements de Tetraclinis articulata sur le littoral d'Oran*. *Ecologia Mediterranea*, 17, 63–78.
- **Haib, Abderrahim.** (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques (Thèse de Doctorat). Université de Toulouse). pp.6-12
- Inouye, S., Watanabe, M., Nishiyama, Y., Takeo, K., Yamaguchi, H. (1998) Antisporulating and respiration-inhibitory effect of essential oils on filamentous fungi. *Mycoses*, 41, 403-410.
- **Jemli, M. E., Kamal, R., Marmouzi, I., Doukkali, Z., Boudida, E. H., Touati, D., Nejari, R., Guessabi, L. E., Cherrah, Y., & Alaoui, K.** (2016). Chemical composition, acute toxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of Moroccan *Tetraclinis articulata* L. *Journal Of Traditional And Complementary Medicine*, 7(3), 281-287. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.06.006>
- **Joffin, J.N., Leyral, G.** (2006). Microbiologie technique. *Dictionnaire des techniques*. 4e édition.
- **Kernou, I. G. S. C. M.** (2014, 17 février). I- Généralités sur le Parfum. *TPE Sur les Parfums*. <https://tpe-les-parfums-les2.over-blog.com/i%20g%C3%A9n%C3%A9ralit%C3%A9s-sur-le-parfum.html>

Références bibliographiques

- **Khan, A., Khan, M. Z., Khan, M. A., Khan, I., & Khan, H.** (2024). Oxidative Stress: The Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3264.
- **Khatib, A., Zennaki, H., & Bouzid, M.** (2022). Usages traditionnels de *Tetraclinis articulata* dans la médecine populaire en Afrique du Nord. *Revue d'ethnopharmacologie*
- **Kumar, R.** (2022). Étude de la toxicité aiguë des extraits de *Tetraclinis articulata* chez les rats Wistar. Données expérimentales non publiées.

- **Marouf, A., Tremblin, G.** (2009) Abrégé de biochimie appliqué. *EDP Sciences*, France, 490.
- **Nakamura, C.V., Ishida, K., Faccin, L.C., Filho, B.D., Cortez, D.G., Rozental, S., Souza, W.D., Nakamura, T.U.** (2004) In vitro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L., against four *Candida* species. *Research in Microbiology*, 155, 579-586.
- **Padua, L.S., Bunyapraphatsara, N., Lemmens, R.H.M.J.** (1999). Plant resources of South-East Asia. *Medicinal and poisonous plants* (3^{ème} éd., vol.1, p. 43-45). Paris : Pharmacopée Européenne.
- **Peppino.** (2020, 8 décembre). *Tetraclinis articulata* - Monaco Nature Encyclopedia. Monaco Nature Encyclopedia. <https://www.monaconatureencyclopedia.com/tetraclinis-articulata/?lang=fr>
- **Pfaller, M.A., Messer, S.A., Karlsson, A., Bolmstrom, A.** (1998) Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, 36 (9), 2586-2589.
- **Quézel, P., Santa, S.** (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Paris : CNRS.
- **Rabib, H., Elagdi, C., Hsaine, M., Fougrach, H., Koussa, T., & Badri, W.** (2020). Antioxidant and Antibacterial Activities of the Essential Oil of Moroccan *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. *Biochemistry Research International*, 2020, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2020/9638548>
- **Rasooli, I., Owlia, P.** (2005) Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production. *Phytochemistry*, 66, 2851-2856.
- **Sadiki, M., El Bouzidi, L., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., & Farah, A.** (2018). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils extracted from the

Références bibliographiques

- branches of *Tetraclinis articulata* (Cupressaceae) from eastern Morocco. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 5, 21.
- Selma, M. A. E., Bernabéu, P. M., Pérez, J. M. M., Miñano, J., García, I. H., García, J. S. C., Charco, J., Jiménez, S. F., Giner, M. M., & Tomás, J. O. (2017). *Tetraclinis articulata* : biogeografía, ecología, amenazas y conservación.
 - Saber, H., Noureddine, D., & Berrani, S. (2022). Évaluation du risque toxicologique des plantes médicinales : Cas de *Tetraclinis articulata*. *Journal de Toxicologie et Santé Publique*.
 - Tekaïa-Karoui, H., Haouel, S., Mnafgui, K., Khammassi, M., Hajlaoui, M. R., & Gharsallaoui, A. (2024). Essential oils from cones, stems and leaves of *Tetraclinis articulata*: Comparative chemical composition and biofilm inhibition. *Industrial Crops and Products*, 213, 116317.
 - Tékaïa-karoui, A., Ben Jennet, H et Mighri, Z. (2007). Essential oil composition of terminal Branche, Cones and Roots of *Tetraclinis articulata* from Tunisia. Pp. 2495-2499.
 - Tékaïa-karoui, A., Boughalleb, N., Hammami, S., Ben Jannet, H., Mighri, Z. (2011). Chemical composition and antifungal activity of volatile components from woody terminal branches and roots of *Tetraclinis articulata* (Vahl.) Masters growing in Tunisia. *African Journal of Plant Science*, 5, 115-122.
 - Tisserand, R., & Young, R. (2014). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals* (2e éd.). Churchill Livingstone.
 - Wafaa, K. C. G. (2024, 11 février). *Etude d'extraction industrielle de l'huile de pistacia lentiscus l.* <http://dspace1.univ-tlemcen.dz/handle/112/21780>
 - Walsh, S.E., Maillard, J.Y., Russell, A.D., Catrenich, C.E., Charbonneau, D.L., Bartolo, R.G. (2003) Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram- positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 240-247.
 - Xycol. (2023). *Fiche bois : Tetraclinis articulata*.xycol.net .