

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Béjaia  
Faculté des Science de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique



# Mémoire de Master

Filière: Science Biologique

Option : Pharmacologie Moléculaire

## Thème

**Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne  
de l'extrait éthanolique du *Cedrus atlantica* et essais de  
son incorporation dans l'huile de soja**

Présenté par : M<sup>elle</sup> : BAHOUICHE Chafiaa

Mr : GABIS Boubekour

### Composition du jury

M <sup>elle</sup> ADRAR .S	M.A.A, A-Mira, Bejaia	Présidente
Mr BELKACEM .N	M.A.B, A-Mira, Bejaia	Promoteur
Mr ALIANE .K	Ingénieur RD, Cevital	Co-promoteur
M <sup>me</sup> AMIR .H	M.A.A, A-Mira, Bejaia	Examinatrice
Mr HADJAL .S	Directeur RD, Cevital	Invité

Année universitaire : 2015-2016

## Remerciement

*Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*Nous tenons tout d'abord à adresser nos plus vifs remerciements à Mr BELKACEM Nassim enseignant à l'Université Abdrahmane Mira qui nous a encadré tout au long de ce travail et qui nous a fait partager ses brillantes intuitions. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il nous a prodigué.*

*Nous remercions Mr HADJAL Samir, directeur de la structure de Recherche et de Développement de Cevital qui nous a dirigé tout au long de ces mois de mémoire. Il a toujours été disponible, à l'écoute de nos nombreuses questions, et s'est toujours intéressé à l'avancée de notre travail.*

*Nous remercions Mr ALIANE Khelaf ingénieur de la structure recherche et développement de Cevital avec qui nous avons eu la chance de pouvoir travailler. Sa rigueur, sa capacité d'analyse des problèmes et ses très nombreuses connaissances nous ont permis de progresser et ont répondu à plusieurs de nos préoccupations.*

*Nous remercions M<sup>ELLE</sup> ADRARS d'avoir accepté de présider ce jury et d'apporter ses appréciations sur notre travail.*

*Nous remercions M<sup>me</sup> AMIRH qui nous a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Nous remercions l'ingénieur de laboratoire BPC mademoiselle TABTI Naima pour ces nombreux conseils valeureux.*

*Nous remercions les techniciens de laboratoire Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique.*

*Merci à toutes les personnes qui ont été à nos côtés lors de la réalisation de ce travail.*

## Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance.

Alors tout simplement je dédie ce travail :

Aux deux êtres les plus chers au monde mes parents mon Papouni chéri et à Mama aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

A mes frères chéris Moussa et Syphax. En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse, que Dieu vous protège

A mes grands parents sur tout Djedi houhou

A mes chers cousins et cousines

A mes chères copines

A mon cher camarade Boubekour et sa famille

A toute la promotion de pharmacologie moléculaire «2016»

Chafiaa. B

## Dédicaces

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance.  
Alors tout simplement je dédie ce travail :

Aux deux êtres les plus chers au monde mes parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi

A mes chers frères Aimad, Zino, Islam

A mes chères sœurs Souhila, Hanifa

A mes beaux frères Salim, Nourdine

A mes nièces Nouressine, Jana

A mes chers cousins et cousines

A tout mes copains

A toute la famille GABIS

A ma chère binôme Chafiaa et sa famille

A celle qui est chère au cœur

A toute la promotion de pharmacologie moléculaire «2016»

Boubekeur. G

## PRESENTATION DE L'ENTREPRISE CEVITAL

**CEVITAL** une entreprise agroalimentaire Algérienne dotée d'une raffinerie de l'huile et une raffinerie de sucre à Bejaia crée par l'entrepreneur **ISSAD REBRAB** en 1998. Son complexe de production se situe dans le port de Bejaia et couvre une surface de 45000m<sup>2</sup>. Elle a pour but de s'imposer dans le marché national en proposant aux consommateurs une large gamme de produits de qualité.

### LES OBJECTIFS DE L'ENTREPRISE

L'entreprise a pour but de développer la production tout en assurant la qualité des produits pour satisfaire le client.

Les objectifs de l'entreprise peuvent se résumer par :

- La modernisation des équipements et des techniques en l'enrichissant avec des appareils plus sophistiqués pour augmenter le volume de la production.
- L'extension de sa gamme de produits sur tout le territoire national.
- Investissement dans d'autres secteurs autre que l'agroalimentaire.

### LES ACTIVITES DE L'ENTREPRISE

Les activités de **CeVital** (unité de Bejaia) consistent à la production des huiles végétales, de sucre et la margarine :

- Raffinerie et conditionnement de sucre.
- Raffinerie et conditionnement de l'huile.
- Production et conditionnement de la margarine. .
- fabrication d'emballage.
- stockage céréales.

## LISTE DES ABREVIATIONS

<p><b>Cu</b> : Cuivre  <b>Fe</b> : fer  <b>Co</b> : Cobalt  <b>Mn</b> : Manganèse  <b>Ni</b> : Nickel  <b>O<sub>2</sub></b>: Oxygène  <b>ROO°</b>: Radical pyroxyde  <b>OH°</b>: Radical hydroxyle  <b>EOA</b>: Espèces oxygénées activées  <b>DRO</b>: Dérivés réactifs de l'oxygène  <b>RO°</b>: Radical alkoxyde  <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>: Peroxyde d'hydrogène  <b>ROOH</b>: l'hydroperoxyde organique  <b>O<sub>2</sub>·-</b>: Radical superoxyde  <b>OH·</b> : Radical hydroxide  <b>SOD</b>: Superoxyde dismutase  <b>O°</b>: Ion super-oxyde  <b>O<sub>2</sub>°</b>: Oxygène singulet  <b>AH</b>: Antioxydant</p>	<p><b>DPPH</b>: 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl  <b>ABTS</b>: Acide 2, 2-azinobis-(3-éthylbensothiazoline-6-sulfonique)  <b>TRAP</b>: Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter  <b>FRAP</b>: Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter  <b>ORAC</b>: Oxygen Radical Absorbance Capacity  <b>ATCC</b> : American Type Culture Collection  <b>VIH</b> : Virus de l'Immunodéficience Humaine  <b>MDA</b> : Malondialdéhyde  <b>OMS</b> : Organisation Mondiale de la Santé  <b>DMSO</b> : Diméthyl sulfoxyde  <b>Abs</b> : Absorbance  <b>EAG</b>: Equivalent en acide gallique  <b>EQ</b>: Equivalent quercétine  <b>EC</b>: Equivalent catéchine  <b>BHA</b>: butyle hydroxytoluène  <b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>: Carbonate de sodium  <b>K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub></b>: Persulfate de potassium  <b>AlCl<sub>3</sub></b>: Trichlorure d'aluminium  <b>MF</b>: Mc Farland  <b>NaOH</b>: Hydroxyde de sodium  <b>IC<sub>50</sub></b>: Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libre  <b>TEAC</b> : Trolox Equivalent Antioxydant Capacity  <b>MG</b>: Matière Grasse</p>
---	---

## LISTE DES FIGURES

<i>N° Figure</i>	<i>Titre de la page</i>	<i>Page</i>
<b>1</b>	Taxonomie de <i>Cedrus atlantica</i> .	<b>3</b>
<b>2</b>	Caractères botaniques de <i>Cedrus atlantica</i> .	<b>4</b>
<b>3</b>	Répartition du Cèdre de l'Atlas dans l'Afrique du Nord .	<b>5</b>
<b>4</b>	Peroxydation d'une portion de chaîne d'acide gras insaturé	<b>7</b>
<b>5</b>	Biosynthèse du radical hydroxyle (OH <sup>•</sup> ) à partir du radical superoxyde (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ).	<b>8</b>
<b>6</b>	Graines de soja.	<b>17</b>
<b>7</b>	Procédé général de raffinage des huiles.	<b>17</b>
<b>8</b>	Localisation géographique de lieu de récolte des tiges du <i>Cedrus atlantica</i>	<b>22</b>
<b>9</b>	Photographie d'extracteur Soxhelt et Evaporateur rotatif au niveau de laboratoire de recherche et développement CEVITAL.	<b>24</b>
<b>10</b>	Protocole d'extraction à partir des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> .	<b>25</b>
<b>11</b>	Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique par l'ABTS <sup>+</sup> .	<b>29</b>
<b>12</b>	Photographie originale d'OPTIFRY MIROIL pour la mesure des composés polaires.	<b>34</b>
<b>13</b>	Teneur en humidité de la poudre des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> .	<b>38</b>
<b>14</b>	Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.	<b>39</b>
<b>15</b>	Courbe d'étalonnage de la Quercétine.	<b>40</b>
<b>16</b>	Courbe d'étalonnage de la Catéchine.	<b>41</b>
<b>17</b>	Réaction du radical DPPH avec un antioxydant AH.	<b>41</b>
<b>18</b>	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait, BHA et acide ascorbique.	<b>42</b>
<b>19</b>	Courbe d'étalonnage de Trolox.	<b>43</b>
<b>20</b>	Effet de l'extrait éthanolique sur le radical cation ABTS à une concentration de 50µg /ml en fonction du temps.	<b>44</b>

<b>21</b>	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS par l'extrait éthanolique des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> à différentes concentrations.	<b>44</b>
<b>22</b>	Effet des antibiotiques sur les différentes souches bactériennes étudiées	<b>48</b>
<b>23</b>	Effet de l'extrait éthanolique des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> sur les différentes souches bactériennes étudiées.	<b>50</b>
<b>24</b>	Effet de l'extrait éthanolique des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> sur <i>Aspergillus niger</i> .	<b>53</b>
<b>25</b>	Effet de l'extrait éthanolique des tiges du <i>Cedrus atlantica</i> sur <i>Candida albicans</i> .	<b>54</b>
<b>26</b>	Evolution de la couleur jaune en fonction de nombre de fritures.	<b>55</b>
<b>27</b>	Evolution de la couleur rouge en fonction de nombre de fritures.	<b>55</b>
<b>28</b>	Evolution de l'indice de réfraction en fonction de nombre de fritures.	<b>56</b>
<b>29</b>	Evolution de composés polaires en fonction de nombre de fritures.	<b>57</b>
<b>30</b>	Evolution d'acidité en fonction de nombre de fritures.	<b>58</b>
<b>31</b>	Variation de l'indice de peroxyde en fonction de nombre de fritures.	<b>59</b>



## LISTE DES TABLEAUX

<i>N° Tableau</i>	<i>Titre de tableau</i>	<i>Page</i>
<b>I</b>	Les caractères biologiques de différentes souches utilisées.	<b>13</b>
<b>II</b>	Principaux produits d'altération au cours des traitements Thermiques.	<b>18</b>
<b>III</b>	La liste des appareils et des produits utilisés.	<b>23</b>
<b>IV</b>	Conditions expérimentales des tests de fritures.	<b>32</b>
<b>V</b>	Les caractéristiques de l'extrait éthanolique.	<b>38</b>
<b>VI</b>	L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.	<b>45</b>
<b>VII</b>	Résultats de l'antibiogramme (Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne).	<b>46</b>
<b>VIII</b>	Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique.	<b>49</b>
<b>IX</b>	Les différentes concentrations minimales inhibitrices(CMI).	<b>52</b>
<b>X</b>	Activité antifongique de l'extrait éthanolique.	<b>53</b>
<b>XI</b>	Poids corporel des animaux testés.	<b>60</b>
<b>XII</b>	Les signes de toxicité des animaux testés après administration de l'extrait par voie orale.	<b>61</b>

# SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS .....	I
LISTE DES FIGURES.....	II
LISTE DES TABLEAUX .....	III
INTRODUCTION.....	01

## *PARTIE THEORIQUE*

### *CHAPITRE I : MONOGRAPHIE DU CEDRUS ATLANTICA*

I.1-GENERALITE .....	03
I.2-TAXONOMIE ET CARACTERISATION BOTANIQUE .....	03
I.2.1-TAXONOMIE .....	03
I.2.2- DESCRIPTION BOTANIQUE.....	04
I.3- REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	05
I.3.1- CEDRE DE L'ATLAS DANS SON AIRE NATURELLE .....	05
I.5- COMPOSITIONS CHIMIQUE DE CEDRE D'ATLAS .....	06
I.5.1- TERPENOÏDES .....	06
I.5.2- CAROTENOÏDE.....	06

### *CHAPITRE II : ACTIVITE ANTIOXYDANTE*

II.1- RAPPEL SUR LE PROCESSUS D'OXYDATION.....	07
II.2- STRESS OXYDATIF .....	07
II.3- RADICAUX LIBRES .....	08
II.3.1- ACTION DES RADICAUX LIBRES .....	09
II.4- ANTIOXYDANTS .....	09
II.4.1- ANTIOXYDANTS PRIMAIRES (OU VRAIS).....	09
II.4.2- ANTIOXYDANTS SECONDAIRES (OU PREVENTIFS).....	10
II.5- MECANISME D'ACTION DES ANTIOXYDANTS .....	10
II.6- ANTIOXYDANTS .....	10
II.6.1- POLYPHENOLS .....	10
II.6.1.1- FLAVONOÏDES .....	10
II.6.1.2. TANINS 11	
II.7- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	11
II.7.1- METHODE DE DPPH.....	11
II.7.2- METHODE D'ABTS.....	11

### *CHAPITRE III : ACTIVITE ANTIMICROBIENNE*

III.1- INTRODUCTION .....	12
III.2- MICROBES .....	12
III.2.1- BACTERIE .....	12
III.2.2- VIRUS.....	12
III.2.3- CHAMPIGNONS .....	12
III.3- DESCRIPTION DES MICROORGANISMES ETUDIES .....	13
III.4- ANTIMICROBIENS .....	14

III.4.1- ANTIBIOTIQUES .....	14
III.4.2- COMPOSES PHENOLIQUES .....	14
III.5- METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE .....	16
III.5.1- METHODE DE DIFFUSION EN MILIEU SOLIDE .....	16
III.5.2- METHODE DE DILUTION EN MILIEU LIQUIDE .....	16
III.5.3- METHODE DE DIFFUSION SUR DISQUE DE CELLULOSE .....	16

#### ***CHAPITRE IV : HUILE DE SOJA***

IV.1- DEFINITION .....	17
IV.2- RAFFINAGE DE L'HUILE DE SOJA .....	17
IV.3- ALTERATION DES HUILES DURANT LA FRITURE .....	18
VI.3.1- PRODUITS DE LA THERMOXYDATION .....	18
VI.3.1.1- PRODUITS PRIMAIRES .....	19
VI.3.1.2- PRODUITS SECONDAIRES .....	19

#### ***CHAPITRE V : TOXICITE AIGUE***

V.1- TOXICITE AIGUE PAR VOIE ORALE .....	20
V.1.1- INTRODUCTION .....	20
V.1.2- TOXICITE AIGUE .....	20
V.1.3- DETERMINATION DE LA DOSE LETALE (DL <sub>50</sub> ) .....	21

### ***PARTIE PRATIQUE***

#### ***CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES***

I.1- MATERIEL .....	22
I.1.1- MATERIEL VEGETAL .....	22
I.1.2- MATERIEL BIOLOGIQUE .....	22
I.1.2.1- LES SOUCHES MICROBIENNES UTILISEES .....	22
I.1.3- APPAREILS ET PRODUITS CHIMIQUES .....	23
I.2- METHODES .....	24
I.2.1- DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU .....	24
I.2.2- METHODE D'EXTRACTION .....	24
I.2.3- ANALYSE CHIMIQUE .....	26
I.2.3.1- DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX .....	26
I.2.3.2- DOSAGE DES FLAVONOÏDES TOTAUX .....	26
I.2.3.3- DOSAGE DES TANINS CONDENSES .....	27
I.2.4- EVALUATION, IN VITRO, DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE .....	28
I.2.4.1- METHODE DE REDUCTION DU RADICAL LIBRE DPPH .....	28
I.2.4.2- METHODE DE REDUCTION DU RADICAL-CATION ABTS <sup>o+</sup> .....	28
I.2.5- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE .....	30
I.2.5.1- ISOLEMENT DES SOUCHES .....	30
I.2.5.2- PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE .....	30
I.2.5.3- PREPARATION DE L'EXTRAIT .....	30
I.2.5.4- PREPARATION DE L'INOCULUM .....	30

I.2.5.5- MISE EN TEST .....	31
I.2.6- INCORPORATION DE L'EXTRAIT DANS L'HUILE DE SOJA .....	31
I.2.6.1- ANALYSES PHYSIQUES .....	32
I.2.6.2- ANALYSES CHIMIQUES .....	33
I.2.7- TOXICITE ORALE AIGUË .....	36
I.2.7.1- SELECTION DES ESPECES .....	36
I.2.7.2- CONDITIONS D'HEBERGEMENT .....	36
I.2.7.3- LE PRINCIPE DE LA METHODE .....	36
I.2.7.4- MODE OPERATOIRE.....	37
 <i><b>CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION</b></i>	
II.1- DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU .....	38
II.2- EXTRACTION .....	38
II.3- ETUDE PHYTOCHIMIQUE .....	39
II.3.1- TENEUR EN POLYPHENOLS TOTAUX .....	39
II.3.2- TENEUR EN FLAVONOÏDES TOTAUX .....	40
II.3.3- TENEUR EN TANINS CONDENSES.....	40
II.4- ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	41
II.4.1- ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL DPPH.....	41
II.4.2- ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL ABTS <sup>●+</sup> .....	43
II.5- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE .....	45
II.5.1- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES : ANTIBIOGRAMME .....	46
II.5.2- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE .....	49
II.5.2.1- DETERMINATION DE LA CMI.....	52
II.5.3- ACTIVITE ANTIFONGIQUE .....	53
II.6- INCORPORATION DE L'EXTRAIT DANS L'HUILE DE SOJA .....	55
II.6.1- ANALYSES PHYSIQUES .....	55
II.6.1.1- EVALUATION DE LA COULEUR .....	55
II.6.1.2- INDICE DE REFRACTION .....	56
II.6.2- ANALYSES CHIMIQUES .....	57
II.6.2.1- DOSAGE DES COMPOSES POLAIRES .....	57
II.6.2.2- ACIDITE .....	58
II.6.2.3- INDICE DE PEROXYDE.....	59
II.7- TOXICITE ORALE AIGUË.....	60
II.7.1- ESSAI LIMITE A 2000KG/MG .....	60
II.7.2- ESSAI LIMITE A 5000KG/MG .....	60
II.7.3-DETERMINATION DE LA DL <sub>50</sub> .....	61
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	62
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	64
ANNEXES	

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION

Depuis longtemps, l'homme a utilisé des plantes pour se nourrir puis pour se soigner. C'est un fait qui paraissait magique. En effet il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique.

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours à la médecine traditionnelle à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Bakchiche et al., 2013**).

Le stress oxydant est l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées, suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue d'EOA soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante. La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont, par exemple, autant de sources de production d'EOA (**Defraigne et Pincemail., 2007**).

La multirésistance microbienne pose de grands problèmes au niveau de la santé publique. En fait, il ne reste que peu d'agents antimicrobiens effectifs contre certains microbes multirésistants. Les scientifiques sont donc à la recherche de nouveaux produits antimicrobiens (**Kuete et al., 2004**).

Dans ce travail, nous nous sommes penchés sur l'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante, incorporation dans l'huile de soja, et enfin l'évaluation de la toxicité aigue de l'extrait éthanolique de l'espèce *Cedrus atlantica*. L'espèce est récoltée au niveau de la région d'ADEKAR le lac noir ou AGUELMIME ABERKANE en berbère.

Dans ce contexte s'inscrira notre projet de master. Pour cela, nous avons fixé comme objectifs à atteindre:

- La récolte des tiges du cèdre d'atlas dans de la région d'Akfadou ;
- Extraction éthanolique par soxhlet à partir des tiges du *Cedrus atlantica*;
- Caractérisation physico-chimique de l'extrait éthanolique;
- Evaluation des activités biologiques antioxydante et antimicrobienne ;
- Incorporation dans l'huile de soja ;

- Analyses de l'acidité, indice de peroxyde, composés polaires, couleur de l'huile et indice de réfraction après l'incorporation.
- Evaluation de la toxicité aigue par voie orale de l'extrait éthanolique.

Pour atteindre ces objectifs, notre travail a été effectué dans les laboratoires suivants : laboratoire de Biotechnologie Végétale et Ethnobotanique, Faculté Science de la nature et de la vie, Université Abderrahmane Mira (Targa Ouzemour) Bejaia, Laboratoire de la structure Recherche et Développements de Cevital et laboratoire de microbiologie du CHU de SETIF.

Une première partie consiste en une étude bibliographique sur la description botanique du *Cedrus atlantica*.

La deuxième partie consiste à l'étude expérimentale des tiges du *Cedrus atlantica*, obtention de l'extrait éthanolique des tiges, analyse et caractérisation physico-chimique, étude des activités biologiques, incorporation et essai de toxicité aigue.

# *PARTIE THEORIQUE*



*CHAPITRE I*  
*MONOGRAPHIE DU*  
*Cedrus atlantica*

**I.1- GENERALITE**

Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) ou Idkil ou Idil en berbère et Arz el Atlas en arabe : est une essence forestière endémique des montagnes de l'Afrique du Nord, ses origines remontent avant le début de notre ère (**Derridj, 1991**).


Cet arbre se développe entre 1500 et 2000m d'altitude. Il peut atteindre 40m de hauteur et 3m de diamètre dont la circonférence peut atteindre parfois 7m. Sa longévité est remarquable et dépasse 600 à 700 ans (**Azim, 2009**).

C'est un conifère à croissance assez rapide, qui peut atteindre 40 mètres de hauteur dans son milieu naturel, mais reste souvent plus petit en culture. De forme élancée lorsqu'il est jeune, il s'élargit avec le temps et sa cime devient tabulaire en lui conférant un port majestueux (**Labrousse et Bois., 2011**).

**I.2- TAXONOMIE ET CARACTERISATION BOTANIQUE**

**I.2.1- TAXONOMIE**

Le genre *Cedrus* appartient à la systématique suivante (**Maire, 1952**) :

	➤ Embranchement : Spermaphytes
	➤ Sous embranchement : Gymnospermes
	➤ Classe : Vectrices
	➤ Ordre : Coniferales
	➤ Famille : Pinacées
	➤ Sous famille : Abiétées
	➤ Genre : <i>Cedrus</i>
	➤ Espèce : <i>Cedrus atlantica</i>
<p><b>Figure 1 : Taxonomie de <i>Cedrus atlantica</i> (Photo prise au lac noir le 20 janvier 2016).</b></p>	

## I.2.2- DESCRIPTION BOTANIQUE

- **Racine** : Le système racinaire est développé (**Boudy, 1952**).
- **Ecorce** : Grise et structure lisse à l'état juvénile, puis constituée de petites écailles et de crevasses sinueuses (**Archaux, 2004**).
- **Feuille** : Réunies en rosette sur des rameaux courts, isolées sur les jeunes rameaux longs vivent trois ans en général et en une longueur de 1 à 2 cm. Leur couleur varie du vert foncé au vert bleuté (**Mansion, 2007**).
- **Fruit** : Maturité des cônes dure 2 ans après la floraison de couleur brune violacée, ils ont 5 à 8 cm de dimension atteignant plus de 10 cm (**Mansion, 2007**).
- **Graine** : Marron-roux, subtriangulaire, longue de 10 à 15 mm, tendre, très résineuse à aile large (**Debazac, 1964**).
- **Fleurs** : En inflorescence unisexuée sous forme de chatons mâles jaunâtres et femelles vertes foncées, libération du pollen en août-septembre (**Archaux, 2004**).

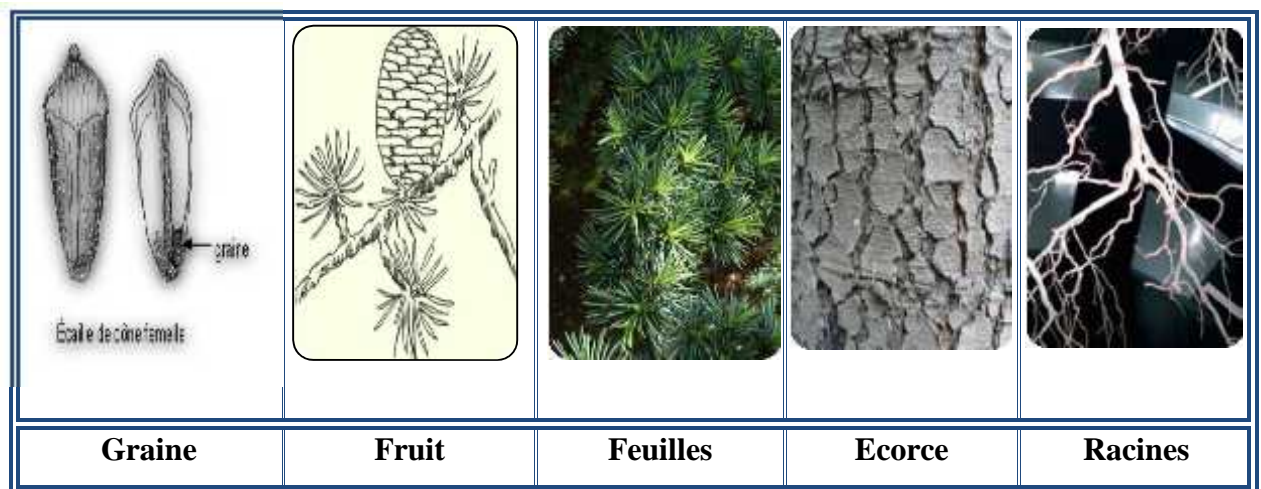


Figure 2 : Caractères botaniques de *Cedrus atlantica*.

### I.3- REPARTITION GEOGRAPHIQUE

*Cedrus atlantica* constitue les principales formations forestières montagnardes, sur environ 132 000 ha. Ces peuplements présentent d'importants atouts en rapport avec leur grande diversité biologique et leur impact sur l'équilibre socio-économique des zones de montagne et de plaine (Satrani *et al.*, 2009).

#### I.3.1- CEDRE DE L'ATLAS DANS SON AIRE NATURELLE

Le Cèdre de l'Atlas s'organise en sept blocs, en Afrique du Nord, dont quatre dans les montagnes marocaines et trois dans les montagnes algériennes (Figure 3):



**Figure 3** : Répartition du Cèdre de l'Atlas dans l'Afrique du Nord (Mhirit, 1999).

En Algérie, Le Cèdre occupe une surface d'environ 33 000 ha répartie sur deux ensembles naturels : Les cédraies humides localisées sur les montagnes littorales bien arrosées (Babors, massif de Djurdjura, l'Atlas Blidéen, Ouarsenis), et les cédraies sèches occupant les montagnes méridionales continentales de l'Atlas saharien. Ces dernières, sont représentées à l'est par les cédraies des Aurès et de Belezma, qui couvrent environ 17 000 ha (Bentouati et Oudjehih, 1999).

## I.5- COMPOSITION CHIMIQUE DE CEDRE D'ATLAS

Le bois de Cèdre est composé de fibres de structure complexe. Ces fibres sont constituées de micro-fibrilles de cellulose de structure cristalline et fibreuse, enrobées de deux types de polymères amorphes : la lignine et les hémicelluloses. Le bois contient également une petite quantité (de 2 à 5% en masse, dans le cas particulier des résineux) des composés organiques de plus faible masse moléculaire et de structures très variées. Ces composés, principalement des sels minéraux et des résines, sont désignés en tant qu'extractibles du bois (Benyoucef et Harrache., 2015).

### I.5.1- TERPENOÏDES

Les terpénoïdes de *Cedrus atlantica* ont fait l'objet d'un certain nombre d'enquêtes. Récemment, l'isolement de la structure de quatre terpénoïdes de l'extrait de l'essence de bois a été signalé. Trois nouveaux acides terpéniques ont été isolés l'acide nommé l'acide atlantonique, et l'acide dihydro atlantonique libanotique et trois acides résiniques, l'acide abiétique, l'acide déhydroabiétique et acide isodextropimarique (Avcibas *et al.*, 1988).

### I.5.2- CAROTENOÏDES

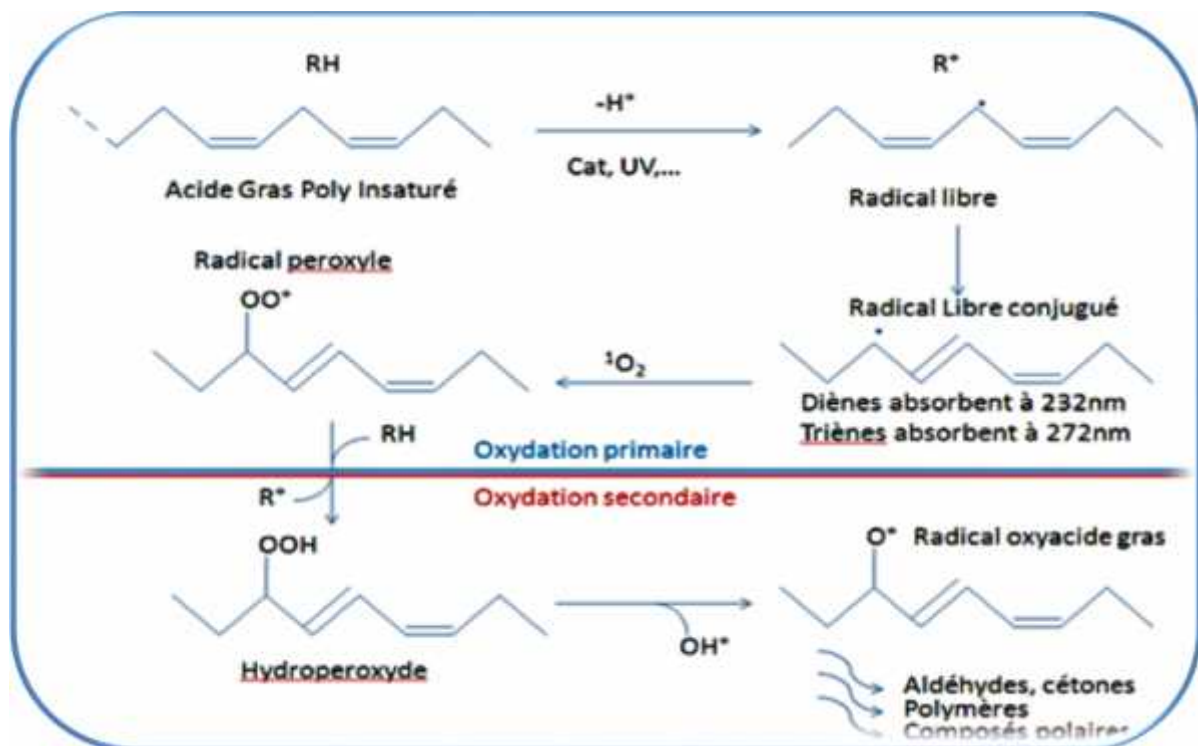
Plusieurs études ont montré que l'espèce *Cedrus atlantica* renferme les caroténoïdes suivants : -carotène, adonixanthin, mutatochrome, rhodoxanthin et de lutéine époxyde (Czeczuga, 1986).

*CHAPITRE  
II ACTIVITE  
ANTIOXYDANTE*

## II.1- RAPPEL SUR LE PROCESSUS D'OXYDATION

Les mécanismes d'oxydations sont plus souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales (Figure 4).

- La phase de déclenchement, où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).
- La phase de propagation, où l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néo radical libre et un hydro-peroxyde. Les hydro-peroxydes instables se scindent en composés plus courts.
- La phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés (**Marc et al., 2004**).



**Figure 4 :** Peroxydation d'une portion de chaîne d'acide gras insaturé.

## II.2- STRESS OXYDATIF

Le stress oxydant est un état qui résulte d'un déséquilibre au sein d'un individu entre la production d'éléments oxydants et de mécanismes de défense antioxydant. 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).

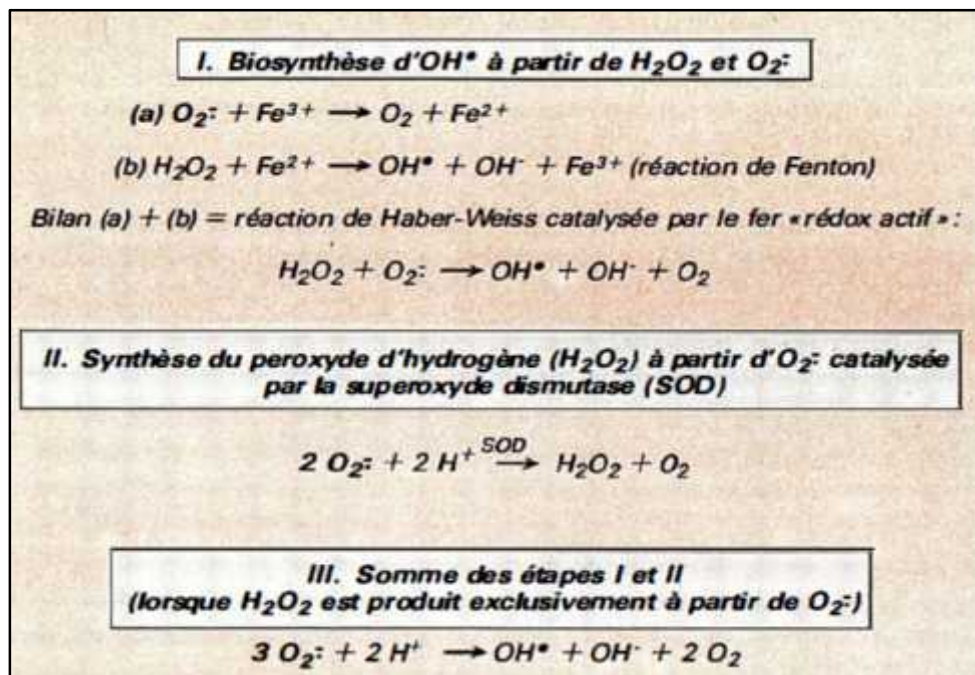
### II.3- RADICAUX LIBRES

Environ 98% de l'oxygène que nous assimilons sert effectivement aux processus énergétiques dits oxydatifs, les 2% qui restent gagnent des voies de transformation parallèles, et entrent spontanément dans des processus radicalaires (Goussard, 1999).

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif. De nombreuses réactions au sein de notre organisme se déroulent par formation de radicaux (Greet, 2004).

Les principaux représentants des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) sont, le radical hydroxyle ( $\text{HO}^\bullet$ ), le radical peroxyde ( $\text{ROO}^\bullet$ ), le radical alkoxy ( $\text{RO}^\bullet$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), l'hydroperoxyde organique ( $\text{ROOH}$ ) et l'oxygène singulet ( $\text{O}_2^-$ ) (Gardès *et al.*, 2003).

Ces DRO proviennent de produits dérivés de réactions enzymatiques essentielles, principalement de processus métaboliques endogènes. La formation initiale des DRO se base sur la réduction d'oxygène moléculaire, selon l'équation suivante (Figure 5):



**Figure 5 :** Biosynthèse du radical hydroxyle ( $\text{OH}^\bullet$ ) à partir du radical superoxyde ( $\text{O}_2^-$ ) (Nordmann *et al.*, 1988).



### II.3.1- ACTION DES RADICAUX LIBRES

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

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Ladoh et al., 2014**).

Le piégeage des espèces oxydantes est un concept qui souligne que le potentiel oxydant d'un composé peut être piégé. En fait, l'agent antioxydant ne piège pas vraiment une espèce oxydante : il la réduit en un composé par définition moins oxydant et en pratique plus stable. Il existe divers composés antioxydants naturels ou synthétiques (**Descampse et al., 2006**).

Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydrox-phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) et super-oxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) (**Mahmoud et al., 2010**).

#### II.4.1- ANTIOXYDANTS PRIMAIRES (OU VRAIS)

Qui permettent l'interruption de la chaîne auto-catalytique :



La molécule AH est antioxydante si le radical formé  $\text{A}^\bullet$  est plus stable. La stabilité du radical  $\text{A}^\bullet$  peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires (**Rolland, 2004**) :



**II.4.2- ANTIOXYDANTS SECONDAIRES (OU PREVENTIFS)**

Assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hydro-peroxydes en alcool, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, des chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines ou enfin des séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique (**Rolland, 2004**).

**II.5- MECANISME D'ACTION DES ANTIOXYDANTS**

Certains antioxydants le font en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Greet, 2004**).

**II.6- ANTIOXYDANTS****II.6.1- POLYPHENOLS**

Parmi les nombreuses propriétés bénéfiques présentées par les polyphénols, on retrouve l'activité antioxydante. Les polyphénols présentent une activité antioxydante et fournissent ainsi aux cellules de notre organisme une protection contre les méfaits causés par le vieillissement ou l'exposition prolongée à des éléments tels que les infections, les rayons UV du soleil, la pollution ou la fumée de cigarette.

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 antioxydantes (**Ladoh et al., 2014**).

**II.6.1.1- FLAVONOÏDES**

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques végétales et sont des antioxydants très efficaces (**Kuppusamy et al., 2015**).

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**).

### II.6.1.2. 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 libre et en inhibant la formation d'ions super oxyde par l'inhibition de la xanthine oxydase (**Haslam, 1989**).

## II.7- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

### II.7.1- METHODE DE DPPH

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est populaire dans les études antioxydantes de produits naturels. L'une des raisons en est que ce procédé est simple et sensible. Ce dosage est basé sur la théorie selon laquelle un donneur d'hydrogène est un antioxydant. Il mesure des composés qui sont des piègeurs de radicaux (**Marcha, 2012**).

Le DPPH est un radical de couleur violet intense. 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 (**Rolland, 2004**).

### II.7.2- METHODE D'ABTS

Procédé ABTS peut être effectué dans des milieux aqueux et organiques et sur une large gamme de valeurs de PH. En outre, comme les mesures sont effectuées à des longueurs d'onde plus longues que les interférences provenant des échantillons de couleur sont diminués (**Magalhaes et al., 2013**).

ABTS<sup>•+</sup> réactif vise la plupart des antioxydants. Il n'est pas affecté par la force ionique, et il peut être utilisé pour déterminer à la fois les capacités antioxydantes hydrophiles et hydrophobes. Au cours de cette réaction, ABTS radical cation bleu-vert est reconverti en sa forme neutre incolore. La réaction peut être surveillée par spectrophotométrie (**Dorota et al., 2012**).

D'autres méthodes sont utilisées tel que :

- TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter);
- FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Parameter);
- ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

*CHAPITRE III*  
*ACTIVITÉ*  
*ANTIMICROBIENNE*

### **III.1- INTRODUCTION**

Les maladies infectieuses d'origine bactérienne et parasitaire sont redevenues un problème de santé publique inquiétant (**Cellier et Gros., 1997**).

### **III.2- MICROBES**

Notre environnement foisonne de microorganismes tels que bactéries, champignons, virus et autres parasites. La dissémination et la prolifération de ces germes dans un organisme hôte peuvent donner lieu, si elles ne sont pas convenablement jugulées, à des infections occasionnelles susceptibles de mettre en jeu le pronostic vital. Un grand nombre de ces microorganismes vivent également comme commensaux ou saprophytes dans les cavités internes de la plupart des organismes vivants. Tous les êtres vivants, du plus simple au plus complexe, ont donc élaboré des systèmes de défense adaptés pour combattre et détruire tout agent pathogène (**Nicolas et al., 1992**).

#### **III.2.1- BACTERIE**

Unicellulaire procaryote, elle ne possède pas une membrane nucléaire ni appareil mitotique et ne possède qu'un seul chromosome, sa taille varie de 0.1 à 10 microns. Elle est capable de croître et se multiplier en présence de substances nutritives (**Pebret, 2003**).

#### **III.2.2- VIRUS**

Les virus sont des microorganismes de très petite taille, 20 à 300 nanomètres, 100 fois plus petits qu'une bactérie, non visibles en microscopie optique (**Denis, 1999**).

#### **III.2.3- CHAMPIGNONS**

Les Champignons, ou Fungi, sont des organismes nucléés (Eucaryotes), constituant un groupe autonome au sein du monde vivant. Leur structure primordiale est un thalle dépourvu de pigment assimilateur. Ils sont consommateurs, décomposeurs, ou exceptionnellement parasites obligatoires (**Rispail, 2008**).

## III.3- DESCRIPTION DES MICROORGANISMES ETUDIES

Tableau I : Les caractères biologiques de différentes souches utilisées.

Microorganisme	Caractéristiques
<i>Staphylococcus sp</i>	Les <i>Staphylococcus</i> sont des coques Gram + possédant une catalase, oxydase négatif avec les réactifs habituels, toujours immobiles. Ils sont occasionnellement pathogènes ( <b>Lamnaouer, 2002</b> ).
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Le staphylocoque doré ( <i>Staphylococcus aureus</i> ) est l'espèce la plus pathogène du genre <i>Staphylococcus</i> . 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>Escherichia coli</i> ATCC 25921	<i>Escherichia coli</i> est une bactérie à Gram négatif vivant couramment dans les intestins de l'homme et des animaux à sang chaud. La plupart des souches d' <i>E. coli</i> sont inoffensives mais certaines peuvent provoquer de graves maladies transmises par les aliments et sont appelées <i>E. coli</i> entéro-hémorragiques. ( <b>Lamnaouer, 2002</b> ).
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	C'est une bactérie à Gram négatif environnementale présente dans les sols, les plantes, les habitats aqueux et les environnements humides. Cette bactérie opportuniste se caractérise par sa pathogénicité relativement importante à l'égard des sujets immunodéprimés (diabète, mucoviscidose, cancer, VIH) et sa résistance à de nombreux antibiotiques ( <b>Faure et al., 2008</b> ).
<i>Entérocooccus sp</i>	Les entérocoques sont des bactéries Gram positif qui se présentent sous forme de diplocoques ou de coques en chaînettes. Ils sont anaérobies facultatifs, immobiles et dépourvus de capsule ( <b>Stucki et al., 2014</b> ).
<i>Bacillus sp</i>	<i>Bacillus</i> sont des bactéries anaérobies aérobie ou facultatif, en forme de tige de sporulation gram positives qui sont largement répartis dans la nature ( <b>Kuta et al., 2009</b> ).

<i>Klebsiella sp</i>	<i>Klebsiella</i> sont gram négatives, moyen en forme de tige, non motile, aérobie et anaérobie facultative fermentative ( <b>Babakhani et al., 2015</b> ).
<i>Candida albicans</i>	Les candidoses sont des infections opportunistes dues à des champignons levuriformes. <i>Candida albicans</i> existe à l'état saprophyte sur les muqueuses digestives et génitales. Un certain nombre de conditions favorisent le passage de la levure à un stade pathogène ( <b>Cedef, 2012</b> ).
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i> est un champignon filamenteux qui se produit fréquemment dans l'environnement et est généralement considéré comme non pathogène. Elle croît en milieu aérobie de la matière organique et tolère une large gamme de température et de PH ( <b>Beer, 2008</b> ).

### III.4- ANTIMICROBIENS

#### III.4.1- ANTIBIOTIQUES

Le terme « antibiotique » (issu des termes grecs *anti*, signifiant « contre » et *bios*, « vie ») a été créé à la fin du 19e siècle (**Chevalier, 2012**). 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, 2001**).

#### III.4.2.- COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et tanins) sont les métabolites secondaires les plus largement représentés et omniprésents dans le règne végétal (**Ba et al., 2010**).

Les polyphénols sont des composés qui ont une importance croissante notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé (**Talbi et al., 2015**).

Les composés phénoliques, sont toujours utilisés dans l'industrie alimentaire et cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine populaire.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhésines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire **(Cowan, 1999)**

### **A- ACIDES PHENOLIQUES**

Les acides phénoliques sont divisés en trois classes : les acides phénoliques simples, les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque et les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique **(Bruneton, 1993)**.

### **B- FLAVONOÏDES**

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols. En fonction du nombre et de la structure chimique des carbones constitutifs ainsi que sur base de la nature des substituants, les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont : les flavanones, les flavonols, les flavones, les isoflavones et les anthocyanes **(Massaux, 2012)**.

### **C- TANINS**

Les tanins végétaux sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, ils ont certaines propriétés spéciales telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et des autres protéines **(Sereme et al., 2010)**.

#### **C.1- TANINS HYDROLYSABLES**

Les tanins hydrolysables sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol. Le sucre est très généralement le glucose **(Bruneton, 2009)**.

#### **C.2- TANINS CONDENSES**

Les tanins condensés ou pro-anthocyanidines sont des polymères flavaniques. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbonées **(Bruneton, 2009)**.



**III.5- METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE****III.5.1- METHODE DE 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 au tour des puits après une pré-incubation de 45 mn à température ambiante et une incubation à l'étuve à 37° C pendant 18 heures (**Biyiti, 2004**).

**III.5.2- METHODE DE DILUTION EN MILIEU LIQUIDE**

La méthode de dilution qui consiste à distribuer le bouillon de culture régénéré dans une série de tubes à hémolyse. On distribue dans chaque tube, à l'exception du premier qui servira de témoin positif, des quantités croissantes de l'antibiotique étudié. Après une incubation de 24 à 48 heures à 37°, on observe les tubes visuellement. Dans un certain nombre de tubes où la culture est positive y aura un trouble nettement visible. Le premier tube où il n'y a plus de culture visible indique la concentration minimale inhibitrice (**Kamagate et al., 2001**).

**III.5.3- METHODE DE DIFFUSION SUR DISQUE DE CELLULOSE**

Quelques colonies de chaque bactérie sont prélevées de la gélose et transférées dans l'eau distillée stérile ajustée à une turbidité de 0,5 par la méthode de Mac Farland standard. Les boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton sont inondées par une suspension bactérienne différente. Des disques stériles de papier filtre sont imprégnés de différents extraits. Ces disques sont ensuite déposés sur la surface de la gélose de Muller Hinton inondées par les suspensions bactériennes. Les boîtes sont finalement incubées à l'étuve à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne est évaluée par la mesure de la zone de clarification en mm tout autour des disques. Des disques de papier filtre imprégnés des différents solvants serviront de témoins (**Chbani et al., 2011**).

**➤ CONCENTRATIONS MINIMALES INHIBITRICES (CMI)**

Cette CMI est la plus petite quantité d'antibiotique (ATB) capable d'inhiber une croissance visible à l'œil nu. La CMI sera donnée par la première des concentrations d'antibiotique qui supprime sur la gélose toute culture apparente. La CMI est comparée aux concentrations critiques qui permettent de classer la souche, pour l'espèce bactérienne étudiée et l'ATB testé, dans la catégorie clinique : sensible, résistante ou intermédiaire (**Amhis et al., 2001**).

# *CHAPITRE IV*

## *HUILE DE SOJA*

#### IV.1- GENERALITES

Le soja est une plante annuelle et peut atteindre une hauteur de croissance de 20 à 80 cm. Ses fleurs blanches ou violettes se transforment plus tard en gousses longues, poilues. La période de floraison débute en juillet et dure environ 3 à 4 semaines. Les gousses de 3 à 4 cm de longueur peuvent être jaunâtres, grises ou noires. Dans chaque gousse, il y a 2 à 4 graines qui renferment environ 17% de l'huile (Figure 6). La période de récolte Septembre à Octobre (Buchler, 2013).



Figure 6 : Graine de soja (Evrard et Baudet., 2003).

L'huile de soja est une huile alimentaire la plus consommée à travers le monde. Elle provient de l'extraction de la fève de soja. Elle contient un fort taux d'acides gras polyinsaturés, d'acides linoléiques et - linoléiques qui sont indispensables à l'organisme humain (Bertrand *et al.*, 1984).

#### IV.2- RAFFINAGE DE L'HUILE DE SOJA

Le raffinage a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques (goût et odeur neutres, limpidité, couleur jaune clair), nutritionnels et la stabilité des corps gras (Figure 7) (Pages *et al.*, 2010).

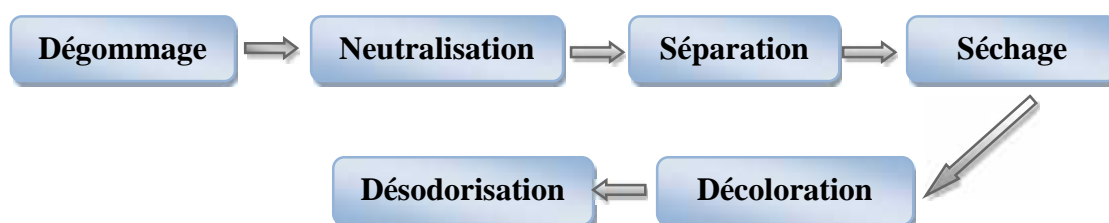


Figure 7 : Procédé générale de raffinage des huiles (Pages *et al.*, 2010).

VI.3- ALTERATION DES HUILES DURANT LA FRITURE

Au cours du processus de friture, l'huile ou la graisse est exposée à une température élevée en présence d'air et d'humidité. Dans ces conditions, une série complexe de réactions ont lieu entraînant la perte de la qualité de l'huile de friture et les aliments frits. Il est difficile de prévoir le taux de dégradation des graisses en raison du nombre élevé de variables impliquées dans le processus de friture. Certains sont liés au processus lui-même, comme la température, la durée du chauffage, continue ou discontinue (Dobarganes et Márquez-Ruiz., 1998).

Les différentes réactions d'altération au cours d'un traitement thermique d'un corps gras sont représentées dans tableau suivant :

Tableau II : Principaux produits d'altération ou cours des traitements thermiques (Saguy et al., 2003).

Réaction	Description	Les produits formés
<b>Hydrolyse</b>	La réaction de déstérification mène au fendage des liaisons entre le glycérol et les acides gras.	diglycérides, monoglycérides, acides gras libres, glycérol.
<b>Oxydation primaire</b>	Affectation de la saveur, de gout et de la couleur de l'aliment et de l'huile.	Formation des hydroperoxydes et des diènes conjugués.
<b>Oxydation secondaire</b>	Fission des hydroperoxydes à températures élevées.	Formation des produits secondaires : alcools, carbonyle et acide gras libres etc formation des composés polaires et MDA (malonaldehyde).
<b>Polymérisation thermique</b>	Polymérisation des produits secondaires d'oxydation.	Formation des polymères, obscurcissement et augmentation de la viscosité d'huile.

VI.3.1- PRODUITS DE LA THERMOXYDATION

En présence de l'oxygène (de l'air ou de l'aliment), de l'humidité de l'aliment et des hautes températures, l'huile subit des réactions d'altérations : l'hydrolyse provoquée par l'eau

et l'oxydation provoquée par l'oxygène et la chaleur. Toutes ces réactions extrêmement complexes provoquent la formation de nombreux produits (**Masson *et al.*, 1999**).

#### **VI.3.1.1- PRODUITS PRIMAIRES**

Ce sont les mêmes que ceux de l'auto-oxydation, à savoir, les radicaux peroxydes, les hydroperoxydes et les radicaux libres (**Frenot et vierling., 2001**).

#### **VI.3.1.2- PRODUITS SECONDAIRES**

La scission des produits primaires de l'oxydation conduit à la formation des composés secondaires souvent volatils (**Eymard, 2003**).

#### **A- COMPOSES VOLATILS**

La quasi totalité des composés volatils sont issus de l'oxydation des acides linoléique et linolénique, la majeure partie de ces composés est constituée d'aldéhydes, mais d'autres familles chimiques peuvent exister: alcanes, alcools, cétones et alkyl-furannes.

La proportion et la nature des composés volatils générés dans chaque processus d'oxydation des acides gras dépendent de la composition des huiles et des conditions d'oxydation (**Villiere et Genot., 2006**).

#### **B- COMPOSES NON VOLATILS**

Ce sont des composés qui restent, dans les bains, peuvent être adsorbés sur les aliments et donc être consommés (**Grandgirard, 1992**).

##### **B.1- COMPOSES POLAIRES**

Selon **Farhoosh *et al.*, (2010)**, la teneur des huiles de friture en composés polaires doit être inférieure à 25%. On trouve : les acides gras libres, mono et di glycérides, acides oxydes, triglycérides oxydes, di et polymères d'acide oxydes, di et polymères de triglycérides.

##### **B.2- COMPOSES NON POLAIRES**

Ils se forment dans le bain d'huile par hydrolyse et cyclisation sous l'effet de la température élevée. Parmi ces composés : les dimères et polymères d'acides gras, les monomères et dimères cyclique et les acides gras trans (**Lecerf, 2008**).

# *CHAPITRE V*

## *TOXICITE AIGUE*

## V.1- TOXICITE AIGUE PAR VOIE ORALE

### V.1.1- INTRODUCTION

On qualifie le toxique un composé qui peut nuire à la santé des organismes vivants, en particulier à celle des êtres humains (**Glomot, 1986; Reichel et al., 2004**).

L'effet d'un toxique dépend toujours de l'espèce et de la dose. Selon leur origine, on distingue les toxiques synthétiques et les toxiques naturels (toxine) provenant des microorganismes, des animaux ou des plantes (**Reichel et al., 2004**).

### V.1.2- TOXICITE AIGUE

C'est la première des études toxicologiques entreprises dès que quelques grammes d'une substance pharmacologiquement active sont disponibles. Cette détermination permet d'apprécier les niveaux de dose qui peuvent engendrer la mort de l'animal de laboratoire, de connaître les symptômes de l'intoxication aiguë ainsi que les circonstances de la mort (**Ramade, 1979**).

L'étude de la toxicité aiguë est aussi qualitative et quantitative des phénomènes toxiques qu'il est possible de rencontrer après l'administration de la substance active. Cette étude décrit les symptômes observés, y compris les phénomènes locaux. Elle permet:

- L'indication de la dose maximale sans effet toxique (DME), c'est à dire la dose la plus élevée pour laquelle aucun effet toxique n'est relevé par rapport au lot témoin;
- La notation de la dose minimale pour laquelle la mort survient à tous les animaux de l'expérimentation;
- La détermination de la  $DL_{50}$  avec ses limites de confiance 95% (**Ruckebusch, 1981**).

**V.1.3- DETERMINATION DE LA DOSE LETALE (DL<sub>50</sub>)**

La DL<sub>50</sub> est dans sa forme la plus simple la dose d'un composé qui provoque une mortalité de 50% dans une population d'animaux mis en expérience. C'est-à-dire ayant reçu une administration unique d'un produit dans des conditions expérimentales bien définies. Cette détermination est fondée sur l'évaluation des réponses de tout ou rien: mort ou survie des animaux (**Wallace Hayes, 2008**).

La dose qui correspond à une réponse létale de 50%, appelée « dose létale 50 » que l'on abrège en DL<sub>50</sub>. Plus DL<sub>50</sub> est faible plus la substance est jugée toxique. On retient habituellement à l'échelle de classification de Hodge et Sterner (**OCDE, 2004**), élaborée par **Cotonat (1996)**.

- Extrêmement toxique : **DL<sub>50</sub>** jusqu'à 1 mg/kg ;
- Hautement toxique: **DL<sub>50</sub>** de 1 à 50 mg/kg ;
- Modérément toxique : **DL<sub>50</sub>** de 50 à 500 mg/kg ;
- Légèrement toxique: **DL<sub>50</sub>** de 500 à 5 000 mg/kg ;
- Presque pas toxique: **DL<sub>50</sub>** de 5 000 à 15 000 mg/kg ;
- Relativement inoffensif: **DL<sub>50</sub>** plus de 15 000 mg/kg .



# *PARTIE PRATIQUE*

*CHAPITRE I*  
*MATERIEL ET*  
*METHODES*

## I.1- MATERIEL

### I.1.1- MATERIEL VEGETAL

Cette étude est réalisée sur les tiges d'une espèce de la famille des Pinacées qui est *Cedrus atlantica*.

Le matériel végétal est récolté au mois de janvier 2016 dans la région ADEKAR « LAC NOIR » Aguelmim aberkan en kabyle dans la wilaya de Bejaia (Figure 8).



**Figure 8 :** Localisation géographique de lieu de récolte des tiges du *Cedrus atlantica*.

Les tiges ont été séchées à l'air ambiant pendant 15 jours puis à l'étuve à 40°C pendant 48 heures. Les tiges sont coupées en petits morceaux à l'aide d'un sécateur, broyées en poudre d'une couleur marron claire, grâce à un broyeur électrique. La poudre obtenue après broyage est tamisée par un tamis de 250 µm de diamètre, pour avoir une poudre homogène prête à l'extraction. La poudre a été conservée dans une boîte opaque à l'abri de la lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives présentes dans la poudre.

## I.1.2- MATERIEL BIOLOGIQUE

### I.1.2.1- LES SOUCHES MICROBIENNES UTILISEES

Les souches qui ont été testées pour déceler l'activité antimicrobienne de l'extrait des tiges du *Cedrus atlantica* sont :

- Trois souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *E. coli* ATCC 25922 ;

- Deux souches cliniques isolées de patients hospitalisés (au Centre Hospitalier Universitaire de Sétif) pour des infections urinaires : *Staphylococcus sp* et *Entérocooccus sp* ;

Ces souches nous ont été fournies par le service de Microbiologie du centre hospitalo-universitaire de Sétif.

- Deux souches fournies par le laboratoire Microbiologie, Université Abderrahmane mira Béjaia : *Bacillus sp* et *Klebsiella sp* ;
- Deux souches fongiques *Candida albicans* et *Aspergillus niger* sont récupérés au niveau de laboratoires Microbiologie, Université Abderrahmane mira Bejaia.

### I.1.3- APPAREILS ET PRODUITS CHIMIQUES

Tableau III : La liste des appareils et produits chimiques utilisés.

Appareillage	Milieux utilisés	Réactifs
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Balance de précision ;</li> <li>• Broyeur électrique ;</li> <li>• Tamis ;</li> <li>• Etuve ;</li> <li>• Agitateur magnétique ;</li> <li>• Autoclave ;</li> <li>• Bec benzène ;</li> <li>• Soxhlet ;</li> <li>• Densitomètre ;</li> <li>• Spectrophotomètre ;</li> <li>• Vortex.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gélose nutritive ;</li> <li>• Gélose Chapman ;</li> <li>• Gélose sang cuit ;</li> <li>• Gélose Muller- Hinton ;</li> <li>• Gélose extrait de malt ;</li> <li>• Gélose sabaurand + gentamycine ;</li> <li>• Bouillon glucosé tamponné (BGT).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'acide gallique ;</li> <li>• Réactif de Folin-Ciocalteu ;</li> <li>• Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) ;</li> <li>• Chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) ;</li> <li>• Catéchine ;</li> <li>• L'eau distillée et l'eau physiologique ;</li> <li>• DPPH ;</li> <li>• Quercétine ;</li> <li>• HCL ;</li> <li>• Vanilline ;</li> <li>• Méthanol ;</li> <li>• Ethanol ;</li> <li>• ABTS ;</li> <li>• Persulfate de potassium ;</li> <li>• DMSO.</li> </ul>

**I.2- METHODE****I.2.1- DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU**

La méthode utilisée est la dessiccation par évaporation. On procède à la dessiccation du matériel végétal à la température de  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dans une étuve ventilée jusqu'à poids constant. La teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation (**Audigié et al., 1978**).

La teneur en eau est calculée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{M - M_2}{M} \times 100$$

**H%** : Teneur en eau.

**M<sub>1</sub>** : Masse d'échantillon avant dessiccation.

**M<sub>2</sub>** : Masse d'échantillon après dessiccation.

**I.2.2- METHODE D'EXTRACTION**

Dans notre étude, une extraction solide-liquide par Soxhlet a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche et développement de Cevital (Figure 9).

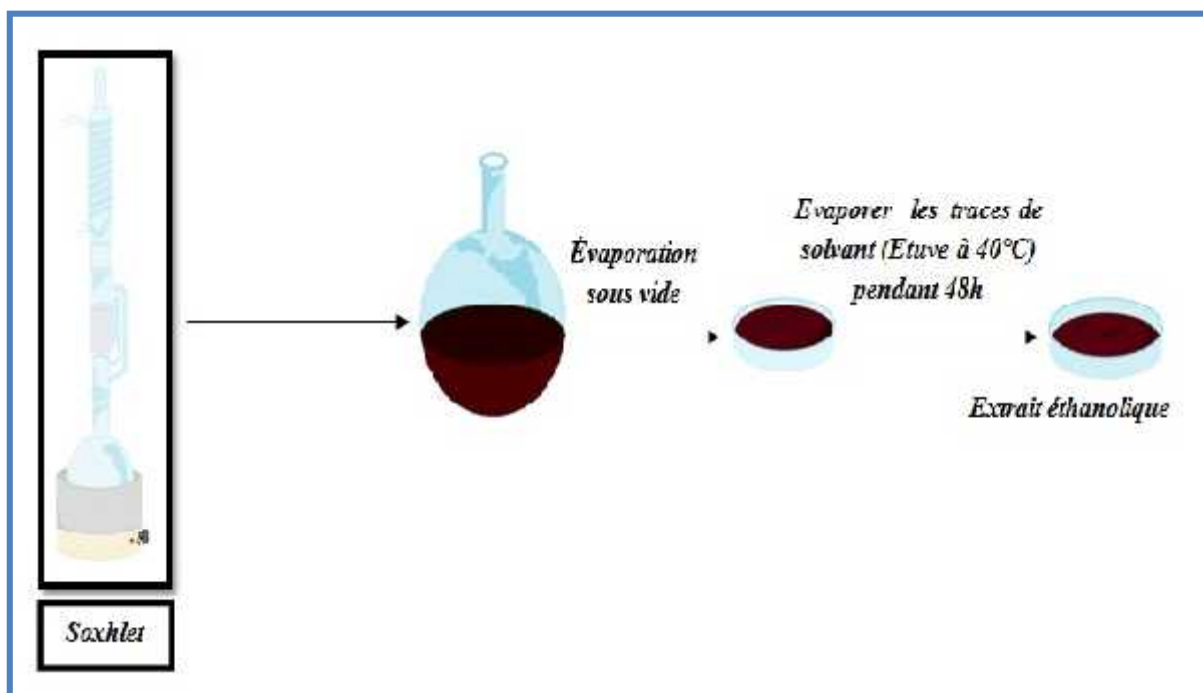


**Figure 9** : Photographie d'extracteur Soxhlet et Evaporateur rotatif au niveau de laboratoire de recherche et développement Cevital.

**Mode opératoire**

Les tiges sèches ont été broyées en poudre fine. 22g de broyat (poudre végétale des tiges du *Cedrus atlantica*) ont été introduits dans une cartouche en cellulose et soumises à une extraction avec 250 ml d'éthanol. L'extraction est répétée jusqu'à ce que le solvant récupéré devienne incolore.

Après 4 heures d'extraction, le solvant riche en substances extraites, a été récupéré dans un ballon et passé à l'évaporateur rotatif afin d'évaporer le solvant. L'extrait ainsi récupéré a été placé dans l'étuve à 40°C pendant 48 heures pour éliminer toutes traces de solvant, ensuite il est conservé à 4-6°C jusqu'à son utilisation (Figure10).



**Figure 10 :** Protocole d'extraction des tiges du *Cedrus atlantica*.

**Calcul du rendement**

Le pourcentage en extrait brut sec a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M}{M_0} \times 100$$

**R (%) :** Rendement exprimé en %.

**M:** Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

**M<sub>0</sub> :** Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

### I.2.3- ANALYSE PHYTOCHIMIQUE

#### I.2.3.1- DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique des tiges de *Cedrus atlantica* a été effectué par spectrophotomètre selon la méthode du réactif de Folin-Ciocalteu décrite par **Wong et al., (2006)**.

##### Mode opératoire

- 200µl d'extrait à concentration de 200µg/ml (dissous dans le méthanol);
- 1ml de réactif Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans l'eau distillée est ajouté ;
- La solution obtenue mélangée et incubée pendant 5min ;
- Ajout de 800µl de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75g /l dans l'eau distillée) ;
- Agitation vigoureuse ;
- Incubation pendant 1heure à température ambiante dans l'obscurité ;
- L'absorbance est lue à 740 nm par spectrophotomètre contre un blanc sans extrait (méthanol+ Folin-Ciocalteu+ de carbonate de sodium).

Le taux de polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax+b$ ), établie avec des concentrations précises d'Acide Gallique (25-100µg/ml), comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG /g).

#### I.2.3.2- DOSAGE DES FLAVONOÏDES TOTAUX

La détermination quantitative des flavonoïdes est effectuée selon la méthode du trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (**Djeridane et al ., 2006 ;Boudiaf, 2006**).

##### Mode opératoire

- 1ml d'extrait à concentration de 1mg/ml (dissous dans l'éthanol);
- Ajout de 1ml de trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$  (2% dans l'éthanol) ;
- Agitation vigoureuse ;
- Incubation pendant 10min à température ambiante dans l'obscurité ;

- L'absorbance est lue à 410nm par spectrophotomètre contre un blanc sans extrait (éthanol + trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ ).

Une courbe d'étalonnage ( $y=ax+b$ ) établie par la quercétine (dissoute dans l'éthanol 1,5- 30 $\mu$ g/ml), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon, servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

### I.2.3.3- DOSAGE DES TANINS CONDENSES

Le dosage des tanins condensés est réalisé selon la méthode **Ba et al., (2010)** basée sur la capacité de vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide chlorhydrique pour produire un complexe coloré .

#### Mode opératoire

- 500  $\mu$ l d'extrait à concentration de 500  $\mu$ g/ml (dissous dans l'éthanol);
- Ajout de 3ml de la solution vanilline-méthanol 4% (w /v) ;
- 1.5 ml d'acide chlorhydrique (HCL) à 37% est ajouté ;
- Agitation vigoureuse ;
- Incubation pendant 15min à température ambiante dans l'obscurité ;
- L'absorbance est lue à 500 nm par spectrophotomètre contre un blanc préparé avec 500 $\mu$ l d'extrait + 3ml méthanol+ 1,5 ml HCL.

La teneur des tanins condensés est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la Catéchine (100-300 $\mu$ g/ml), réalisée dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).



## I.2.4- EVALUATION, IN VITRO, DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

### I.2.4.1- METHODE DE REDUCTION DU RADICAL LIBRE DPPH

#### Mode opératoire

La méthode décrite par **Annie *et al.*, (2006)** a été employée. Différentes concentrations comprises entre 05-60 µg/ml pour l'extrait éthanolique (dissous dans le méthanol) et les antioxydants de référence (Acide Ascorbique et BHA dissous dans le méthanol).

La solution DPPH a été préparée à 0,1 mM solubilisée dans le méthanol.

- 1 ml d'extrait, acide ascorbique et BHA;
- Ajout d'1ml de DPPH (0,1mM);
- Agitation vigoureuse;
- Incubation pendant 30 min à température ambiante dans l'obscurité;
- L'absorbance est lue à 517 nm par spectrophotomètre.

Le contrôle a été préparé avec 1ml de la solution DPPH (0,1mM) + 1ml de méthanol. Les blancs sont préparés avec 1ml d'extrait éthanolique ou BHA ou Acide Ascorbique à 60µg/ml + 1ml de méthanol.

Pourcentage de réduction du radical DPPH est donné par l'équation suivante :

$$\% \text{ r} = \frac{A_c - A_E}{A} \times 100$$

**A<sub>c</sub>** : Absorbance du contrôle (DPPH+méthanol).

**A<sub>E</sub>** : Absorbance de l'échantillon [Absorbance du test (échantillon +DPPH)- Absorbance du blanc du test (échantillon+méthanol)].

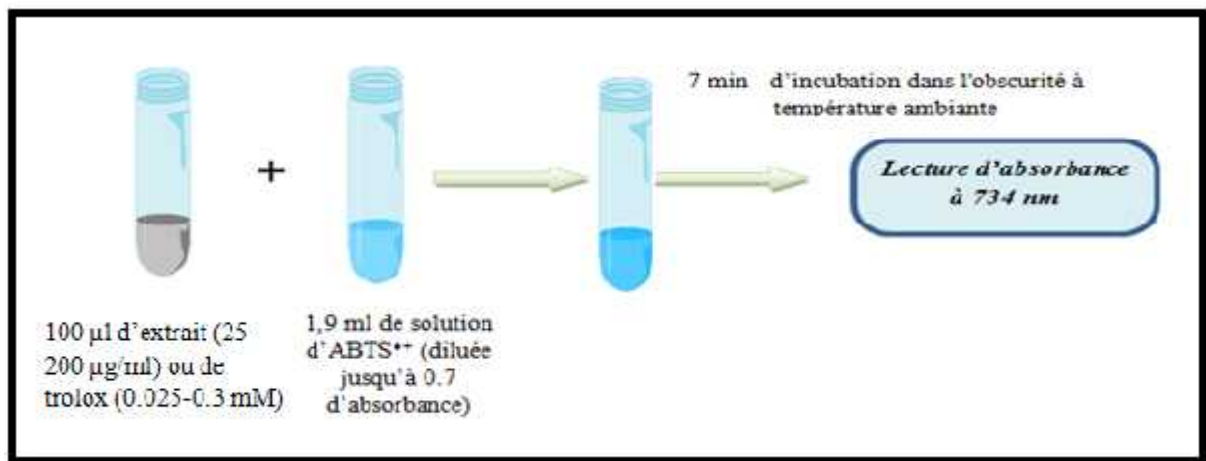
### I.2.4.2- METHODE DE REDUCTION DU RADICAL –CATION ABTS<sup>o+</sup>

#### Mode opératoire

La méthode de détermination de l'activité scavenger du radical ABTS décrite par **Le *et al.*, (2007)** a été employée. La solution ABTS<sup>o+</sup> à été préparée selon **Re, (1999)** :

- Préparation de la solution ABTS à 7mM ;
- Préparation d'une solution de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) à 2,45 mM ;

- Les deux solutions sont mélangées en respectant le rapporte suivant : un volume de la solution d'ABTS avec la moitié du volume de persulfate de potassium (1 ; 0,5) ;
- Agitation vigoureuse ;
- Incubation pendant 16 heures à température ambiante à l'abri de lumière ;
- Formation du radical  $ABTS^{\circ+}$  ;
- La solution  $ABTS^{\circ+}$  diluée jusqu'à l'obtention d'une absorbance de  $0,700 \pm 2$  nm.



**Figure 11** : Protocole de l'évaluation de l'activité anti-radicalaire de l'extrait éthanolique par l'ABTS<sup>•+</sup> (Le *et al.*, 2007).

Le contrôle a été préparé avec 1,9 ml de la solution  $ABTS^{\circ+}$  (7mM) + 100µl de méthanol.

Le pourcentage de réduction du radical  $ABTS^{\circ+}$  est donnée par l'équation suivante :

$$\% \text{ r } = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100$$

**A<sub>c</sub>** : Absorbance du contrôle ( $ABTS^{\circ+}$  + méthanol).

**A<sub>e</sub>** : Absorbance de l'échantillon [Absorbance du test (échantillon +  $ABTS^{\circ+}$ ) - Absorbance du blanc du test (échantillon + méthanol)].

**I.2.5- EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE****I.2.5.1- ISOLEMENT DES SOUCHES**

Chaque souche a été ré-isolée sur son milieu de culture spécifique, repiquée sur un milieu de conservation, et incubée à 37°C pendant 24 heures.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait s'est faite selon la méthode de diffusion sur disques de papier filtre (Sacchetti *et al.*, 2005 ; Celiktas *et al.*, 2007).

**I.2.5.2- PREPARATION DU MILIEU DE CULTURE**

Les milieux de culture utilisés dans cette étude, le Muller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries à l'extrait, Sabouraud + Gentamycine et Extrait de Malt pour l'isolement et l'entretien des champignons et l'étude de leurs sensibilités à l'extrait.

**I.2.5.3- PREPARATION DE L'EXTRAIT**

L'extrait éthanolique est dissout dans le DMSO, le screening antimicrobien a été effectué avec huit concentrations (500 mg/ml, 250mg/ml, 125mg/ml, 62.5mg/ml, 31.25mg/ml, 15.62mg/ml, 7.812mg/ml, 3.90mg/ml).

**I.2.5.4- PREPARATION DE L'INOCULUM**

Les bactéries à tester sont repiquées dans des boites de pétries contenant des milieux de culture spécifiques pour chaque bactérie, incubées à 37°C pendant 24 heures pour obtenir des cultures jeunes.

Les champignons sont repiqués dans des milieux spécifiques et l'incubation à 28°C pendant 48 heures.

À partir de ces cultures jeunes on prélève quelques colonies à l'aide d'une pipette pasteur, puis les décharger dans un tube de 10 ml de l'eau physiologique stérile. La suspension microbienne a été bien agitée. L'opacité de ces suspensions est équivalente à 0.5 MF mesurée par un densitomètre.

**I.2.5.5- MISE EN TEST**

Un écouvillon est imprégné dans les tubes de suspension, puis essoré en pressant contre les parois internes du tube. L'ensemencement est fait en stries serrés de haut en bas pour avoir un tapis qui couvre toute la surface de la boîte de pétrie, Muller Hinton pour les bactéries, Sabouraud +Gentamycine et Extrait de Malt pour les champignons.

Dans des conditions aseptiques, des disques de 6 mm de diamètre sont imprégnés de 15 µl de chaque concentration et sont placés à laide d'une pince sur les boîtes de pétrie, à raison de 6 disques pour chaque boîte. Le DMSO est utilisé comme étant un témoin négatif. Les tests ont été répétés trois fois.

L'ensemble est incubé à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 28°C pendant 48heures pour les champignons. Après l'incubation des zones d'inhibition apparaîtront autour des disques si l'extrait inhibe la croissance microbienne, les diamètres de ces zones d'inhibition sont ainsi mesurés.

Dans les mêmes conditions les antibiogrammes sont réalisés avec des disques d'antibiotiques standards comme témoins positifs.

**I.2.6- INCORPORATION DE L'EXTRAIT DANS L'HUILE DE SOJA****➤ La friture profonde**

L'évaluation du degré d'altération de l'huile de soja raffinée et enrichie par l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* pour ensuite comparer les résultats obtenus avec ceux de l'huile de soja non enrichie.

**➤ Principe**

A l'issue des résultats des tests d'évaluation de l'activité antioxydante, la concentration qui a donné la meilleure stabilité vis-à-vis l'oxydation, est sélectionnée pour être utilisée au cours d'une friture pour évaluer son effet antioxydant. Les fritures sont réalisées avec un mode de chauffage électrique par l'utilisation d'une friteuse de marque PHILIPS d'une contenance de 2.5 litres.

Le produit utilisé est la pomme de terre en raison de sa composition simple. Elle est la plus utilisée en friture vue qu'elle est dépourvue de graisses. Les pommes de terre sont découpées en frites de tailles plus au moins égales, puis séchées par du papier absorbant avant la friture.

Les conditions expérimentales de friture sont résumées dans le tableau ci-dessous. Les portions de frites ont été préparées en respectant un rapport de 100g de frites par kg d'huile.

**Tableau IV :** Conditions expérimentales des tests de fritures.

Type de friture	Friture continue
Quantité de l'extrait ajoutée	100mg
Nombre de fritures	10
Température	180 °C
Durée de friture	4 minutes
Rapport pomme de terre/huile	100g / 1kg d'huile
Forme des tranches de pomme de terre	Bâtonnets
Quantité de l'huile utilisée	2.5 kg

#### ➤ Échantillonnage

Un échantillon témoin est prélevé de l'huile de soja enrichie avant friture, trois autres de la première, sixième et dixième friture respectivement, filtrés, refroidis puis mis dans des préformes de bouteilles d'huile (130 ml).

Des paramètres physico-chimiques sont déterminés pour ces échantillons afin de vérifier l'efficacité de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica*.

### I.2.6.1- ANALYSES PHYSIQUES

#### A- DETERMINATION DE LA COULEUR (ISO 15305 PREMIERE EDITION 15-09-1998)

##### ➤ Principe

Il consiste à comparer la couleur de la lumière transmise à travers l'huile dans une cuve à face parallèle, à la lumière provenant toujours de la même source transmise à travers des lames colorées standardisées. A l'aide d'une monoculaire les verres et l'échantillon sont éclairés par la réflexion sur un bloc de carbonate de magnésium d'une lampe de 6W.

##### ➤ Mode opératoire

On verse l'échantillon à analyser dans une cellule de 5 pouces et ¼ puis on détermine

la couleur en faisant la comparaison avec les lames de la cellule standard.

➤ **Expression des résultats**

Les valeurs de la couleur sont données comme suit :  $X_J$ ,  $Y_R$ .

Où : J : la couleur jaune.

R : la couleur rouge.

X, Y : les valeurs déterminés par Lovibond.

## **B- INDICE DE REFRACTION (NF ISO 6320 JANVIER 1996)**

➤ **Principe**

Mesurer à 40°C à l'aide d'un réfractomètre approprié l'indice de réfraction de la matière grasse.

➤ **Mode opératoire**

Filter sur papier filtre une quantité d'huile à analyser puis disposer quelques gouttes entre prisme d'un réfractomètre de façon à remplir complètement l'espace entre ces prismes et attendre quelques minutes pour permettre à la matière grasse d'atteindre la température des prismes. Effectuer la mesure.

➤ **Expression des résultats**

$$n_D^t = n_D^{40} + 0,00035 (t - 40)$$

D'où :  $t' = 40^\circ\text{C}$ .

t : température de l'échantillon pendant l'analyse.

$n_D^t$  : indice de réfraction à la température t.

0,00035 : la variation de l'indice de réfraction des triglycérides par degré au voisinage de 40°C.

## **I.2.6.2- ANALYSES CHIMIQUES**

### **A- DETERMINATION DE POURCENTAGE DES COMPOSES POLAIRES (NF EN ISO 8420)**

➤ **Principe**

La mesure des composés polaires de l'huile se fait par l'utilisation d'un «testeur OPTIFRY ».

Cet appareil permet une mesure précise des composés polaires présents dans l'huile et une approche des polymères responsables de la dégradation des huiles de friture. Les composés polaires donnent une information sur l'avancement de l'oxydation de l'huile.

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Contrôler les différents paramètres d'appareil ;
- ✓ Tremper la sonde d'appareil dans l'huile de telle façon que les trous d'aération soient complètement couverts ;
- ✓ Tenir le testeur dans l'huile à un angle d'environ 45°C afin que l'air puisse s'échapper ;
- ✓ Le résultat est affiché après environs 5secondes (Mode d'emploi OPTIFRY)  
(Figure 12).



**Figure12 :** Photographie originale d'OPTIFRY MIROIL pour la mesure des composés polaires.

**B- DETERMINATION DE L'ACIDITE (ISO 660 DEUXIEME EDITION 15-05-1996)**

➤ **Principe**

En premier lieu on effectue la neutralisation de la solution qui peut présenter un caractère acide.

En deuxième lieu on effectue la neutralisation uniquement des acides gras libres par une solution de NaOH à chaud en présence de phénolphtaléine ces derniers se caractérisent par le virage de la couleur.

➤ **Mode opératoire**

Préparer dans un Erlenmeyer une solution de 75 ml d'alcool neutralisée (éthanol+quelques gouttes de phénolphtaléine qui est un indicateur coloré, titrer le NaOH jusqu'à apparition d'une coloration rose). Ajouter 10g de l'huile à analyser, qu'on fait dissoudre en portant sur une plaque chauffante, puis procéder à un deuxième titrage des

acides gras libres par NaOH à 0.1N jusqu'à apparition de la couleur rose persistante (10 secondes) et noter la chute de la burette.

➤ **Expression des résultats**

$$\text{Acidité \%} = M \times N \times V/p \times 10$$

M : masse molaire d'acide oléique = 282g/mol.

N : normalité de NaOH à 0.1N.

P : poids de la prise d'essai.

V : volume de NaOH utilisé pour le titrage.

Donc on aura :

$$\text{Acidité \%} = 0,282 \times V$$

$$\text{Indice d'acidité} = \text{acidité (\%)} \times 2$$

**C- DETERMINATION DE L'INDICE DE PEROXYDE (ISO 3960 QUATRIEME EDITION 15-07-2007)**

➤ **Principe**

Consiste à un traitement d'une quantité d'huile en solution dans l'acide acétique et le chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), le titrage d'iode libéré se fait par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré selon la réaction suivante :



➤ **Mode opératoire**

Peser 5g d'huile à 0.01g près dans un erlenmayer, ajouter 12ml de chloroforme et 18ml d'acide acétique puis incorporer à cette solution 1ml d'iodure de potassium (KI). Agiter la solution et mettre à l'abri de la lumière pendant une minute puis ajouter 75ml d'eau distillée et agiter vigoureusement en présence d'empois d'amidon. Titrer avec le thiosulfate de sodium ( $Na_2S_2O_3$ ) à 0,01N et parallèlement effectuer un essai à blanc (sans huile) jusqu'à décoloration totale de la solution.

➤ **Expression des résultats**

$$I_p \text{ (meqg / kg)} = N \times (V_1 - V_0) \times 1000/P$$

L'indice de peroxyde est donné par la relation suivante



$I_p$  : indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent gramme par kilogramme.

$V_0$  : volume de la solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc en ml.

$V_1$  : volume de thiosulfate de sodium utilisé en ml.

$N$  : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0,01N.

$P$  : prise d'essai en gramme.

### **I.2.7- TOXICITE AIGUË - METHODE DE L'AJUSTEMENT DES DOSES (OCDE 2008)**

L'étude de la toxicité aigue de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* à été conduite selon les directives **425 d'OCDE**, sur des souris *Albinos Wistar*.

#### **I.2.7.1- SELECTION DES ESPECES**

Le test est effectué sur des femelles adultes, âgées de 8 à 12 semaines, non gravide, qui proviennent d'Institut Pasteur d'Alger.

#### **I.2.7.2- CONDITIONS D'HEBERGEMENT**

Les souris sont hébergées au niveau de l'Animalerie, de la Faculté de Sciences de la Nature et de la vie de l'Université A .MIRA de Bejaia, dans des cages individuelles, à une température de 22 ( $\pm 3$ ) °C. Les souris sont disposées de nourriture pour souris et de l'eau de robinier.

#### **I.2.7. 3- LE PRINCIPE DE LA METHODE**

Cette Ligne directrice concourt à ramener à un minimum le nombre d'animaux nécessaires pour estimer la toxicité orale aiguë d'un produit chimique. En plus de l'estimation de la  $DL_{50}$  et des intervalles de confiance, l'essai permet d'observer les signes de toxicité.

**I.2.7.4- MODE OPERATOIRE****➤ Administration des doses**

La substance d'essai est administrée par gavage en une seule dose à l'aide d'une sonde gastrique.

Les animaux sont laissés à jeun sauf l'eau 3 à 4 heures avant l'administration. Après cette période de jeûne, les animaux sont pesés, puis la substance leur est administrée. La dose est calculée en fonction du poids corporel à jeun de chaque animal. Après l'administration de la substance, les animaux peuvent continuer à être privés de nourriture, durant 1 à 2 heures.

**➤ Essai limite à 2000mg/kg**

La dose expérimentale est administrée à un animal. S'il meurt, on réalise l'essai principal afin de déterminer la  $DL_{50}$ . Si l'animal survit, on traite quatre animaux supplémentaires suivant une séquence, de telle sorte qu'un total de cinq animaux soit testé. Cependant, si trois animaux meurent, l'essai limite s'achève et on entame l'essai principal. La  $DL_{50}$  est supérieure à **2 000 mg/kg** si au moins trois animaux survivent est on passe à l'essai limite à **5000mg/kg**.

**➤ Essai limite à 5 000 mg/kg**

Administrer la dose d'essai à un animal. S'il meurt, mener l'essai principal afin de déterminer la  $DL_{50}$ . Si l'animal survit, traiter deux animaux supplémentaires. Si les deux animaux survivent, la  $DL_{50}$  est supérieure à la dose limite et l'essai est terminé. Si un ou deux animaux meurent, traiter deux autres animaux à la fois. On aura deux résultats :

- La  $DL_{50}$  est inférieure à la dose d'essai **5000 mg/kg** si au moins trois animaux meurent.
- La  $DL_{50}$  est supérieure à la dose d'essai **5000 mg/kg** si au moins trois animaux survivent.

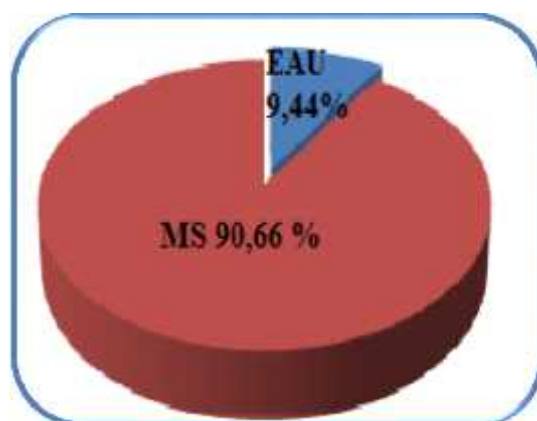
Tous les animaux qui ont survécu ont été observés pendant 14 jours pour déceler les éventuels signes de toxicité : redressement de poils, somnolence, hypoactivité, accélération du rythme cardiaque, perte d'appétit....

*CHAPITRE II*  
*RESULTATS ET*  
*DISCUSSION*

### II.1- DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU

Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre des tiges du *Cedrus atlantica*. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à une température de  $103 \pm 2^\circ\text{C}$  dans une étuve ventilée.

La poudre sèche récupérée à partir des tiges du *Cedrus atlantica* renferme un taux d'humidité de  $9,44 \pm 1,43$  % (Figure 12), ce qui confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (Paris et Moyse., 1965).



**Figure 13 :** Teneur en humidité de la poudre des tiges du *Cedrus atlantica*.

### II.2- EXTRACTION

L'extrait obtenu par l'extracteur de Soxhlet en utilisant l'éthanol est caractérisé par une couleur et un aspect spécifique, ces éléments sont présentés dans le (Tableau V) ainsi que le rendement.

**Tableau V :** Les caractéristiques de l'extrait éthanolique.

Extrait	Masse (g)	Couleur	Aspect	Rendements% Moyenne $\pm$ Ecart type
Ethanol	22	Brune	Brillant	7,35 $\pm$ 0,56

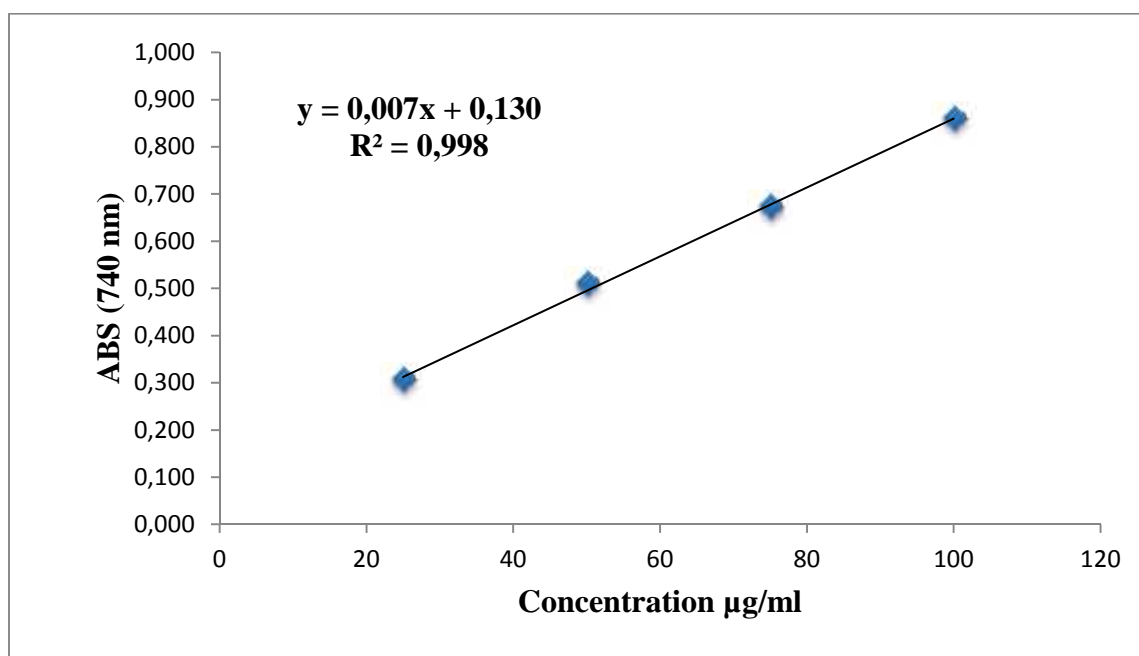
Le rendement a été déterminé par rapport au poids de la poudre des tiges du *Cedrus atlantica* les résultats ont été exprimés en pourcentage.

Les résultats révèlent un rendement de  $7,35 \pm 0,56$  %, qui est plus élevé que celui trouvé pour l'espèce *Cedrus deodara* par Jain *et al.*, (2015) qui est de l'ordre de 5%, en utilisant l'éthanol 7% par macération.

### II.3- ETUDE PHYTOCHIMIQUE

#### II.3.1- TENEUR EN POLYPHENOLS TOTAUX

La teneur en polyphénols totaux des tiges du *Cedrus atlantica* est déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui est basée sur la réduction en milieu alcalin du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue (Talbi *et al.*, 2015). En utilisant la courbe d'étalonnage obtenue avec l'Acide Gallique (Figure 14).



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.

La teneur a été rapportée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait du matériel végétal.

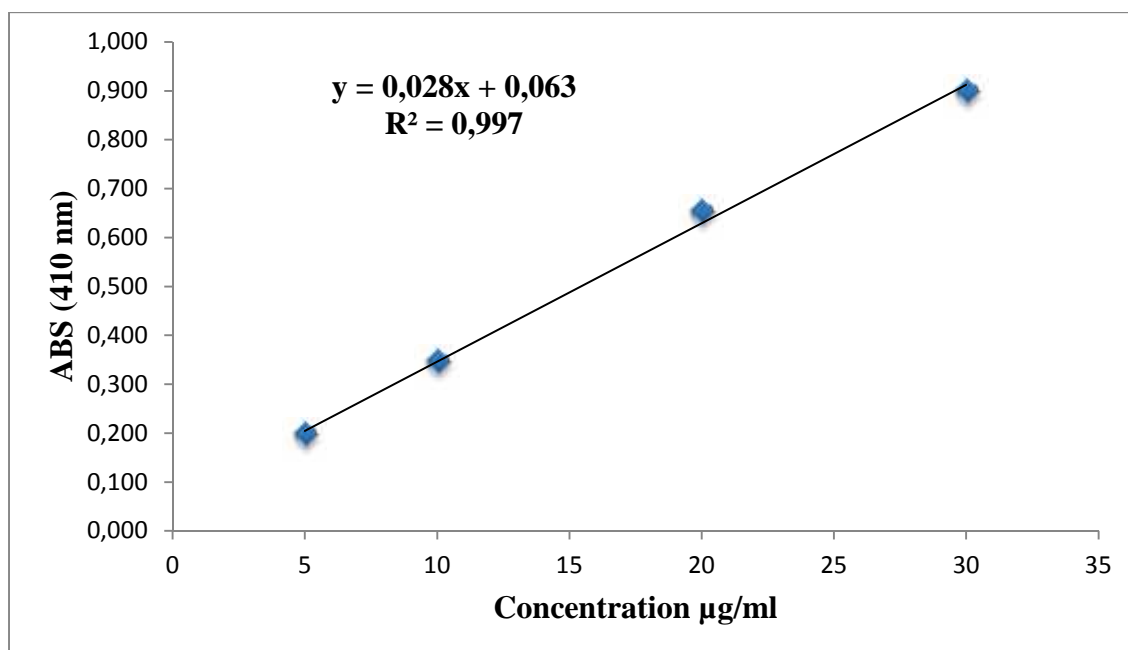
Les résultats montrent que la teneur moyenne en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique est de  $383,57 \pm 14,12$  mg EAG/g d'extrait.

Cette teneur est plus élevée que les teneurs trouvées par Jain *et al.*, (2015) pour *Cedrus deodara* ( $23,97 \mu\text{g/g}$ ) dans l'extrait aqueux et ( $17,71 \mu\text{g/g}$ ) dans l'extrait de l'éthanol 70%.

### II.3.2- TENEUR EN FLAVONOÏDES TOTAUX

La raison principale pour laquelle on a choisi cette classe de polyphénols, réside dans le fait que les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Athamena *et al.*, 2010).

L'estimation quantitative des flavonoïdes totaux est réalisée en utilisant la méthode de trichlorure d'aluminium, la Quercétine a été utilisée comme étalon (Figure 15).

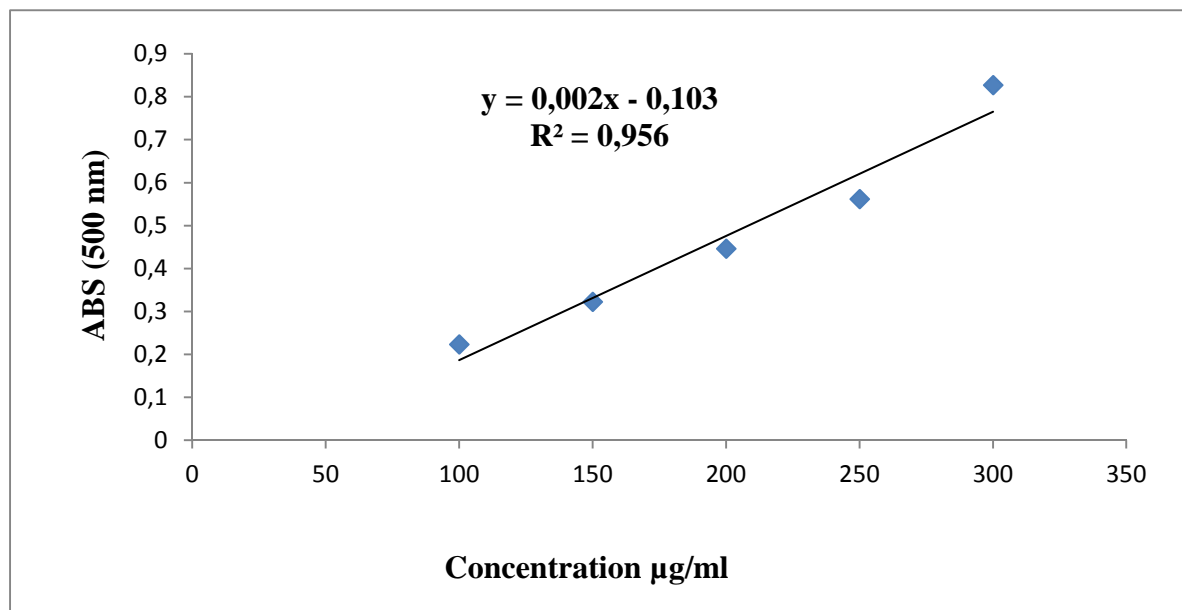


**Figure15** : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux révèlent que la teneur de ces derniers est faible dans notre extrait avec  $5,87 \pm 0,44$  mg EQ/g d'extrait. Aucune étude n'a été publiée concernant la teneur en flavonoïdes des extraits du genre *Cedrus*.

### II.3.3- TENEUR EN TANINS CONDENSES

Le dosage des tanins condensés a été effectué par la méthode de Ba *et al.*, (2010). Une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la Catéchine par gramme d'extrait (Figure 16).



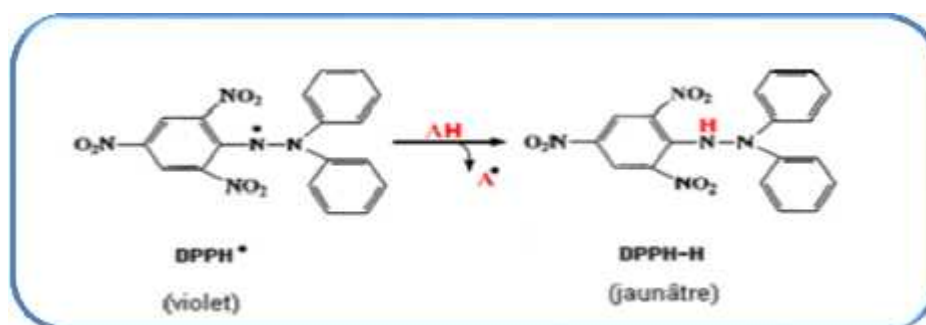
**Figure16** : Courbe d'étalonnage de la Catéchine.

La teneur en tanins condensés dans les tiges de *Cedrus atlantica* est de  $148.83 \pm 3.88$  mg EC/g d'extrait. On peut constater que presque la moitié des polyphénols dans notre extrait sont des tanins condensés.

## II.4- ACTIVITE ANTIOXYDANTE

### II.4.1- ACTIVITE SECAVENGER DU RADICAL DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de *Cedrus atlantica* et des antioxydants standards (acide ascorbique et BHA) vis-à-vis du radical DPPH. Le radical DPPH fixe un H qui est arraché à l'antioxydant AH. Ainsi, il perd sa couleur violette et son absorbance à 517 nm pour se transformer en DPPH-H de couleur jaunâtre (Figure17) (Talbi *et al.*, 2015).

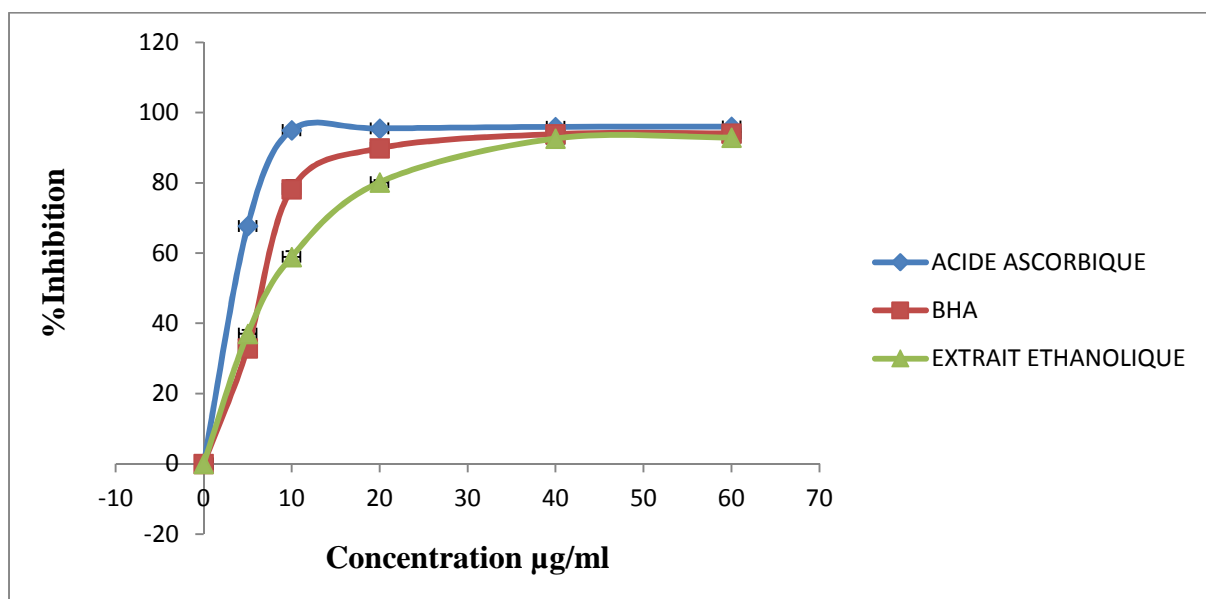


**Figure 17** : Réaction du radical DPPH avec un antioxydant AH.

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pouvoir scavenger du radical DPPH sont comparés avec les antioxydants synthétiques BHA et Acide ascorbique.

L'IC<sub>50</sub> est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Khoudali *et al.*, 2014).

Les résultats de pourcentage d'inhibition, vis-à-vis du radical DPPH des standards et de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* sont représentés dans la Figure 18.



**Figure 18 :** Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait, BHA et acide ascorbique.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration.

Les pourcentages d'inhibition moyens obtenus avec une concentration de 20 µg/ml pour les antioxydants standards et l'extrait éthanolique sont : 95,48% pour l'acide ascorbique, 89,88% pour la BHA et 80,18% pour l'extrait éthanolique. La plus grande concentration 60µg/ml présente un pourcentage d'inhibition de 92.95% pour l'extrait éthanolique, 94.13% pour BHA et 96.02% pour l'acide ascorbique.



On constate que l'extrait éthanolique présente un taux d'inhibition proche de celui des antioxydants standards. On remarque que même à des faibles concentrations, l'extrait éthanolique montre un pourcentage d'inhibition important, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'extrait éthanolique des tiges de *Cedrus atlantica* sont très efficaces comme antioxydants.

Les  $IC_{50}$  ont été déterminés graphiquement à partir des graphes représentant les pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration. L' $IC_{50}$  la plus élevée a été obtenu avec l'extrait éthanolique qui est  $10.31\mu\text{g/ml}$  suivit par celle de BHA qui est  $6.12\mu\text{g/ml}$  et enfin vient l'acide ascorbique avec  $IC_{50}= 4.55\mu\text{g/ml}$ .

#### II.4.2- ACTIVITE SCAVENGER DU RADICAL ABTS <sup>+</sup>

L'activité anti-ABTS a été déterminée par la méthode de TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) qui correspond à la concentration du Trolox donnant la même capacité antioxydante qu'une concentration du composé testé. Le Trolox est utilisé comme étalant (Figure19).

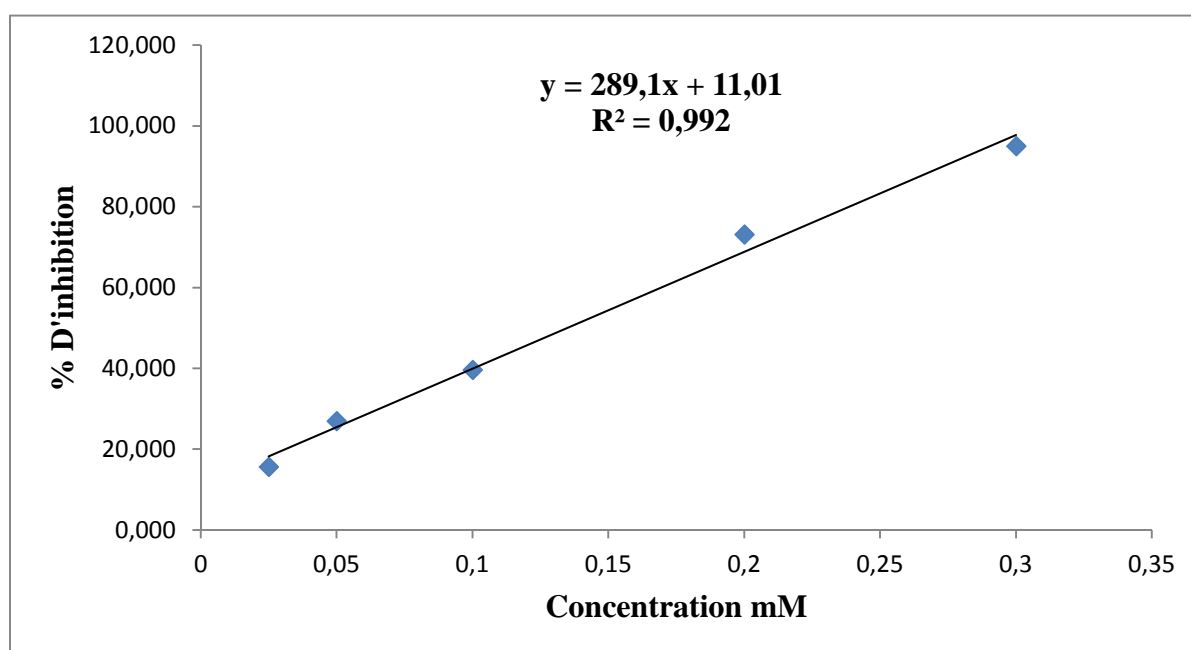
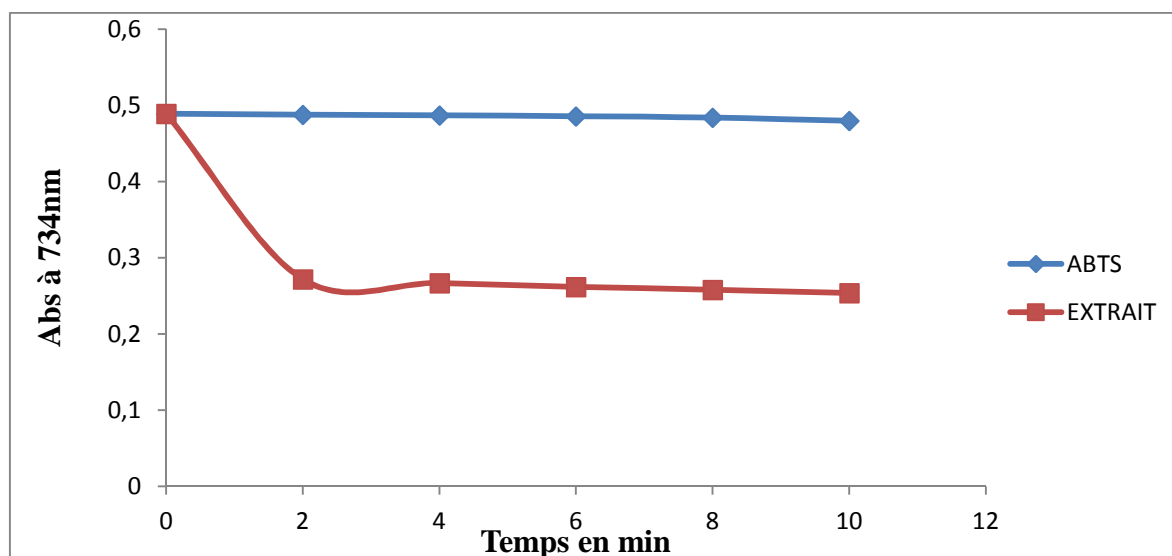


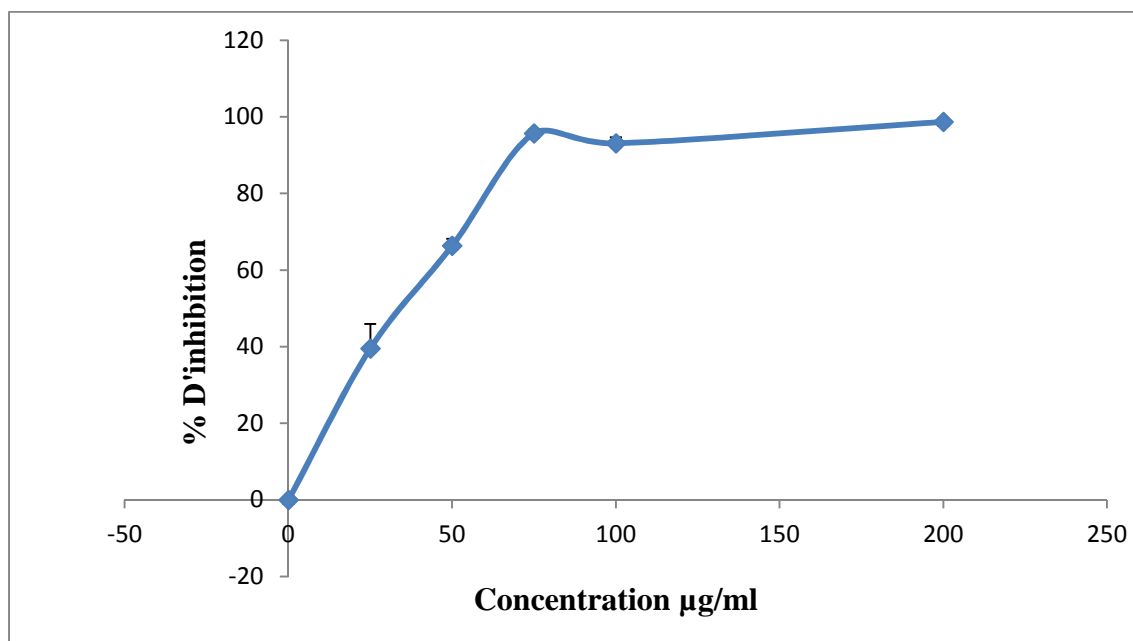
Figure 19 : Courbe d'étalonnage de Trolox.

La cinétique de la réduction du radical ABTS par l'extrait est représentée dans la Figure 20.



**Figure 20 :** Effet de l'extrait éthanolique sur le radical cation ABTS à une concentration de 50µg /ml en fonction du temps.

Le pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> par l'extrait éthanolique du *Cedrus atlantica* est représenté dans la Figure 21.



**Figure21 :** Pourcentage d'inhibition du radical ABTS par l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* à différentes concentrations.

Le taux d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait éthanolique. A 25µg/ml il est de l'ordre de 39.47% (correspond à 0.105 mM Eq Trolox) et augmente jusqu'à atteindre 98.7% (correspond à 0.297 mM Eq Trolox) à

200µg/ml, cette augmentation devient stable à des concentrations supérieures, ce qui veut dire que toutes les molécules ABTS<sup>+</sup> ont été réduites en ABTS.

La valeur d'IC<sub>50</sub> pour l'extrait éthanolique est de 37.22µg/ml (correspond à 0.097 mM Eq Trolox). D'après la (Figure 20), l'effet scavenger maximal d'ABTS est atteint en moins de 2 minutes.

## II.5- ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des tiges de *Cedrus atlantica* par la méthode de diffusion sur les disques de papiers watman, cette activité a été testée sur trois souches bactériennes de références (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Escherichia coli* ATCC 25921), deux souches cliniques isolées de patients hospitalisés (au Centre Hospitalier Universitaire de Sétif) pour des infections urinaires (*Staphylococcus sp* et *Entérocooccus sp*), deux souches fournies par laboratoire Microbiologie Université Abderehmane Mira Béjaia (*Bacillus sp* et *Klebsiella sp*) et deux souches fongiques (*Candida albicans* et *Aspergelus niger*) isolées aussi au niveau laboratoire Microbiologie Université Abderehmane mira Béjaia.

Le pouvoir antimicrobien de cet extrait est évalué par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en mm, en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par Ponce *et al.*, (2003) (Tableau VI).

**Tableau VI** : L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.

Activité antimicrobienne	Degré de sensibilité	Le diamètre de la zone d'inhibition
Extrêmement sensible	+++	Plus de 20mm
Très sensibles	++	15mm à 19mm
Sensibles	+	8 mm à 14mm
Nom sensibles	-	Moins de 8 mm

## II.5.1- SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES : ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme consiste à rechercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques.

Le tableau ci-dessous montre les valeurs en mm des zones d'inhibitions obtenues avec les différentes souches étudiées.

**Tableau VII** : Résultats de l'antibiogramme (Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne).

Souche bactériennes	Antibiotiques standards	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Doxycycline (DOX)	30
	Oxaciline (OX)	29
	Pénicilline G (P)	32
	Cefoxitine (CX)	21
<i>Staphylococcus sp</i>	Pinicilline G (P)	08
	Levofloxacin (LVX)	32
	Doxycycline (DOX)	36
	Pristinamycin (PTN)	36
	Oxaciline (OX)	18
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Amoxiciline (AMX)	08
	Imipenème (IPM)	30
	Colistine (CZT)	15
	Cefoxitine (FOX)	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Triméthoprim+sulfaméthoxazole (SXT)	06
	Ticarcilline+clavulanate (TCC)	23
	Aztrionam (ATM)	31
	Imipenème (IPM)	26
<i>Entérocoque sp</i>	Pénicilline G (P)	23
	Ampicilline (AMP)	30
	Rifampicine (RAM)	20
	Pristinamycin (PTN)	28
	Clindamycine (CMN)	06
	Erythromycine (ERY)	15
<i>Klebsiella sp</i>	Doxycycline (DO)	11
	Amoxyclav (AMC)	6,5
	Tobramycine (TOB)	13
	Pénicilline G (P)	6,5
<i>Bacillus sp</i>	Tobramycine (TOB)	25
	Doxycycline (DO)	17
	Pénicilline G (P)	06
	Amoxyclav (AMC)	06

Comparant au tableau de standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Annexe 2). On constate que *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 est sensible à Aztrionam et Imipenème ; et intermédiaire à Ticarcillin+clavulanic acid ; et il est résistant à Triméthoprim + sulfaméthoxazole. *Staphylococcus sp* est résistant à la pénicilline ; et sensible à Levofloxacine, Doxycycline et Pristinamycine. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est résistant à Cefoxitine ; et sensible à Doxycycline, Oxaciline et Pénicilline. *E. coli* ATCC 25922 est résistante à Amoxiciline et Cefoxitine ; et sensible à Imipenème et Colistine. *Entérocooccus sp* est résistant à Clindamycine et Erythromycine ; et sensible à Pénicilline G, Ampicilline, Rifampicine et Pristinamycine. *Bacillus sp* est résistant à la Pénicilline et Amoxyclav ; et sensible à Tobramycine et Doxycycline. *Klebsiella sp* est résistante à tous les antibiotiques testés (Figure 22).

On observe que les différentes souches de bactéries étudiées réagissent différemment aux antibiotiques testés, même s'il s'agit de deux souches d'une même espèce bactérienne (exemple : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus sp*) ce qui montre que le caractère mutagène de ces souches leur permet d'acquérir la résistance aux antibiotiques.

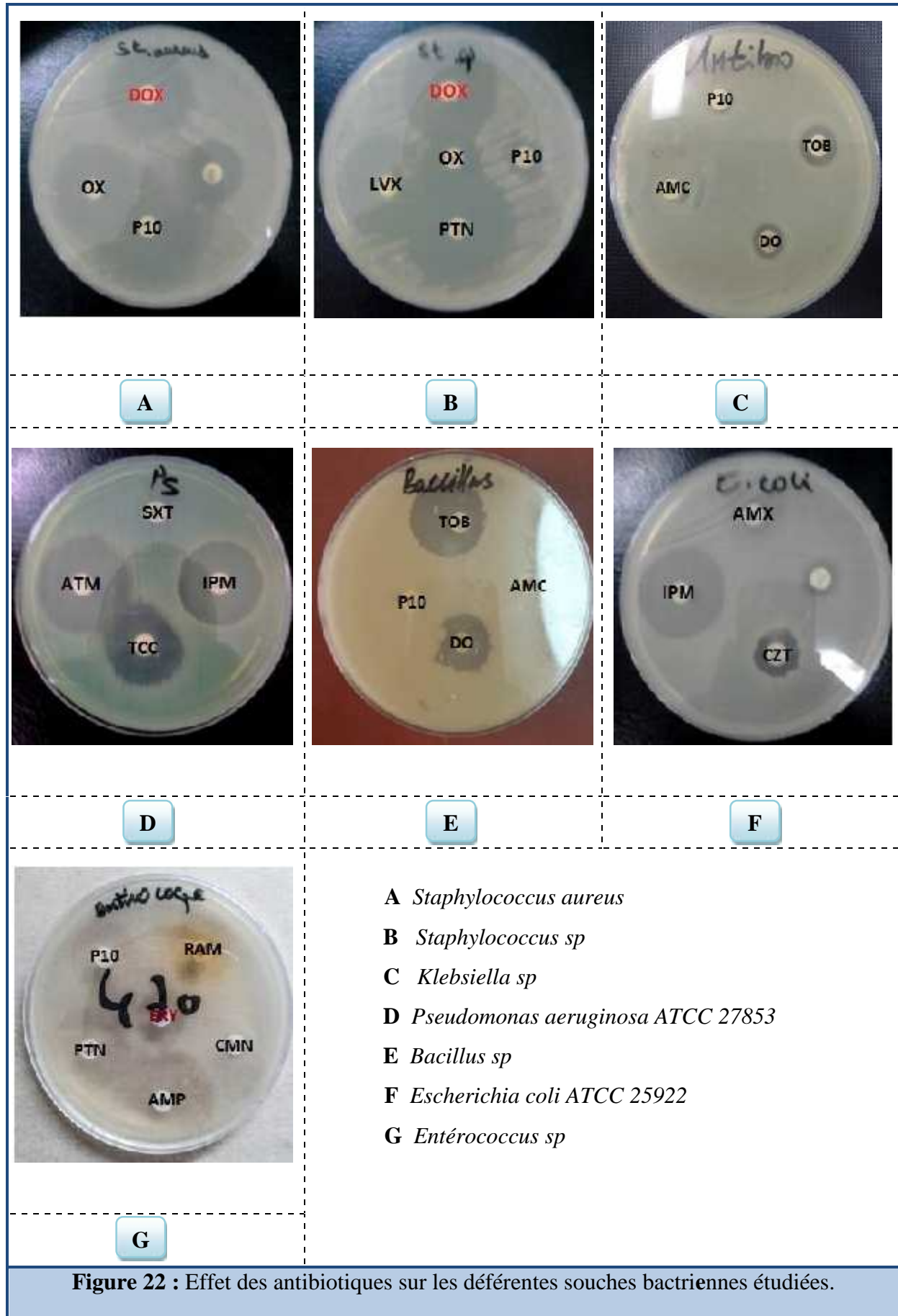


Figure 22 : Effet des antibiotiques sur les déferentes souches bactériennes étudiées.

## II.5.2- ACTIVITE ANTIBACTERIENNE

Les résultats du test de sensibilité bactérienne de l'extrait éthanolique sont reportés dans le (Tableau VIII) et la (Figure 23). Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brute étudié.

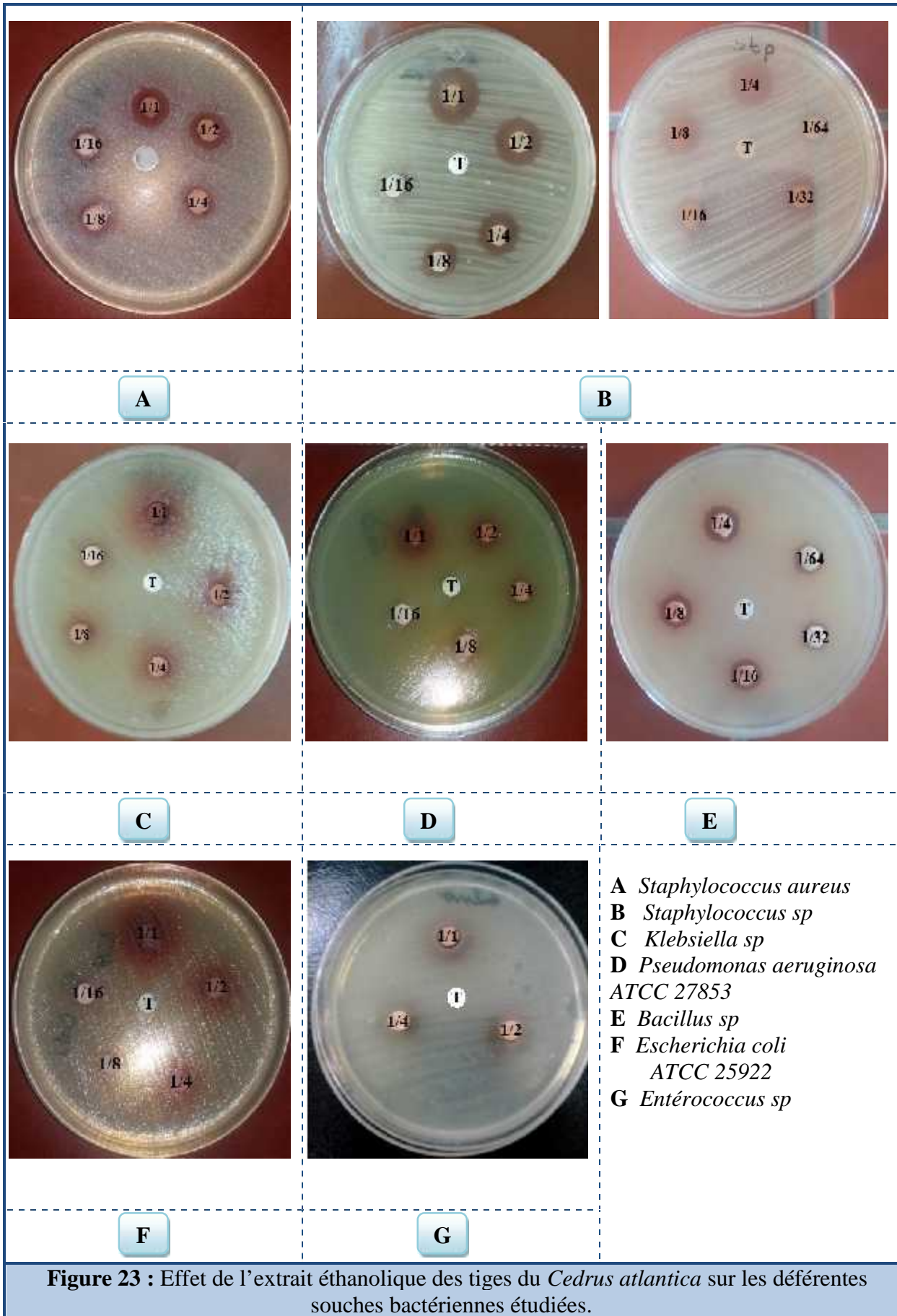
**Tableau VIII** : Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique.

Souche bactériennes	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)							
	Les dilutions d'extrait éthanolique (mg/ml)							
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	T
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	14± 01	11.33± 0.58	9.33± 0.58	08± 00	7.67± 0.58	--	--	--
<i>Staphylococcus sp</i>	16.67± 0.58	15.33± 0.58	13.33± 0.58	11.33± 0.58	9.83± 0.29	9.33±1. 15	7.33±0. 58	--
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	12± 01	9.67± 1.53	6.67± 0.58	--	--	--	--	--
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	10.33± 0.58	7.33±0. 58	6.67± 0.58	--	--	--	--	--
<i>Entérocooccus sp</i>	11.67± 0.58	10± 1	7.67± 0.58	--	--	--	--	--
<i>Klebsiella sp</i>	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Bacillus sp</i>	18± 0.58	16.33± 0.58	15.33± 0.58	14.33± 0.58	11.67± 0.58	9.67±0. 58	7.50±0. 50	--

T : témoin négatif (DMSO).

1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 : Différentes dilutions de l'extrait.

(--): Pas d'inhibition.





D'après ces résultats, on constate que l'extrait éthanolique inhibe la croissance de six souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli* ATCC 25921, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Entérocooccus sp* et *Bacillus sp*), sauf *klebsiella* qui est résistante à toutes les concentrations testées. Cet extrait exerce une activité antibactérienne à dose dépendante qui augmente en fonction de la concentration de l'extrait.

Le Tableau VIII montre que la plus forte activité est observée chez *Bacillus sp* avec une zone d'inhibition de  $18 \pm 0.58$  mm à une concentration de 500 mg/ml, suivit de *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coil* ATCC 25921 et *Entérocooccus sp*, avec des zones d'inhibitions de  $16.67 \pm 0.58$  mm,  $14 \pm 01$  mm,  $12 \pm 01$  mm,  $11.67 \pm 0.58$  mm respectivement et la plus petite activité est obtenu chez *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 avec une zone d'inhibition de  $10.33 \pm 0.58$  mm.

Selon l'échelle de **Ponce et al., (2003)**, nos résultats sont répartis comme suit : quatre souches bactériennes à gram positif, deux entre elle sont très sensibles (*Staphylococcus sp* et *Bacillus sp*, zone d'inhibition entre 15-19mm) et les deux autres souches sont sensibles (*Entérocooccus sp*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, zone d'inhibition entre 8-14 mm), les souches à gram négatives sont sensibles (*Escherichia coli* ATCC 25921, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, zone d'inhibition entre 8-14 mm), excepté *Klebsiella sp* qui est nom sensible (moins de 8 mm). Chez les souches *Escherichia coli* ATCC 25921 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 21853, on a remarqué qu'il n'ya pas d'inhibition complète c'est-à-dire il y a quelque colonies bactériennes qui se trouvent au sein des zones d'inhibitions.

A partir de nos résultats, on peut déduire que l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* montre une activité antibactérienne plus importante chez les bactéries à grams positifs que les grams négatifs.

Les résultats obtenus par **Ghanem et Olama., (2014)** en testant l'extrait méthanolique des tiges de Cèdre du Liban sur les bactéries *ESBL E.coli*, *Klebsiella pneumonia* ont donnés des zones d'inhibitions 20 mm, 26 mm respectivement.

Les résultats de **Zeng et al., (2012)**, en utilisant l'extrait aqueux de *Cedrus deodara* à une concentration de 50 mg/ml et une charge de 100 µl/disque avec les souches suivante : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 21216 et *Bacillus cereus* ATCC 14579 et il a obtenu des zone d'inhibition de  $18.7 \pm 1.3$  mm,

26.5±1.5 mm, 21.2±0.6 mm et 21.5±0.8 mm respectivement, ces résultats montre que l'espèce *Cedrus deodara* a une activité antibactérienne importante contre les bactéries grams positifs que les bactéries à grams négatifs ce qui coïncide avec nos résultats.

Le DMSO a été testé comme contrôle négatif, les résultats montrent que le solvant ne présente aucun effet sur la croissance des souches bactériennes.

### II.5.2.1- DETERMINATION DE LA CMI

**Tableau IX :** Les différentes concentrations minimales inhibitrices(CMI).

Souche bactériennes	Les différentes concentrations en extrait éthanolique de <i>Cedrus atlantica</i>
	Les dilutions de l'extrait éthanolique
	CMI
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>31.25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	>125
<i>Entérocooccus</i> sp	>125
<i>Bacillus</i> sp	>7,8125
<i>Staphylococcus</i> sp	>7,8125

La concertation minimale inhibitrice de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Entérocooccus* sp est supérieur à 125mg/ml et celle de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 est supérieure à 31.25mg/ml. La CMI qui est obtenu avec *Bacillus* sp et *Staphylococcus* sp est supérieur à 7,8125 mg/ml.

## II.5.3- ACTIVITE ANTIFONGIQUE

Les résultats de l'activité antifongique sont représentés dans le Tableau X et les Figures 24-25.

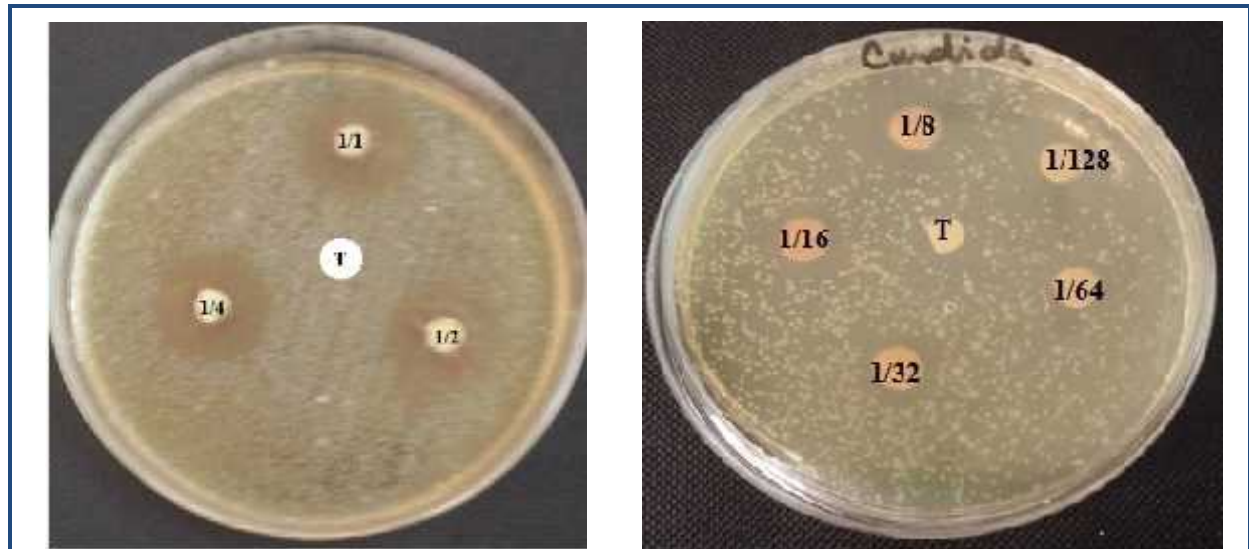
**Tableau X** : Activité antifongique de l'extrait éthanolique.

Souches fongiques	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)								
	Les dilutions d'extrait éthanolique (mg/ml)								
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	T
<i>Candida albicans</i>	21± 01	17,5± 0,5	16,33± 0,76	14,33± 0,58	13,17± 0,76	11,17± 0,29	08,83± 01,61	07± 01	--
<i>Aspergillus niger</i>	--	--	--	--	--	--	--	--	--

D'après les résultats de Tableau X, l'extrait éthanolique a exercé une activité antifongique importante (Figure 25) sur *Candida albicans* à une concentration de 500 mg/ml avec un diamètre d'inhibition de 21±01 mm, et la sensibilité de la souche diminue en fonction de la concentration de l'extrait. Pour les dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 on obtient des zones d'inhibitions de 17.5±0.5 mm, 16.33±0.76 mm, 14.33±0.58 mm, 13.17±0.76 mm, 11.17±0.29mm, 08.83±01.61 mm et 07±01 mm respectivement. La CMI > à 3.906mg/ml. Par contre la souche fongique *Aspergillus niger* présente une résistance à l'extrait éthanolique (Figure 24).



**Figure 24** : Effet de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* sur *Aspergillus niger*.



**Figure 25 :** Effet de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* sur *Candida albicans*.

## II.6- INCORPORATION DE L'EXTRAIT DANS L'HUILE DE SOJA

## II.6.1- ANALYSES PHYSIQUES

## II.6.1.1- EVALUATION DE LA COULEUR

L'intensification de la couleur initiale de l'huile est signe d'altération. D'après la Figure 26 et la Figure 27 l'intensité de la couleur augmente proportionnellement avec le nombre de fritures.

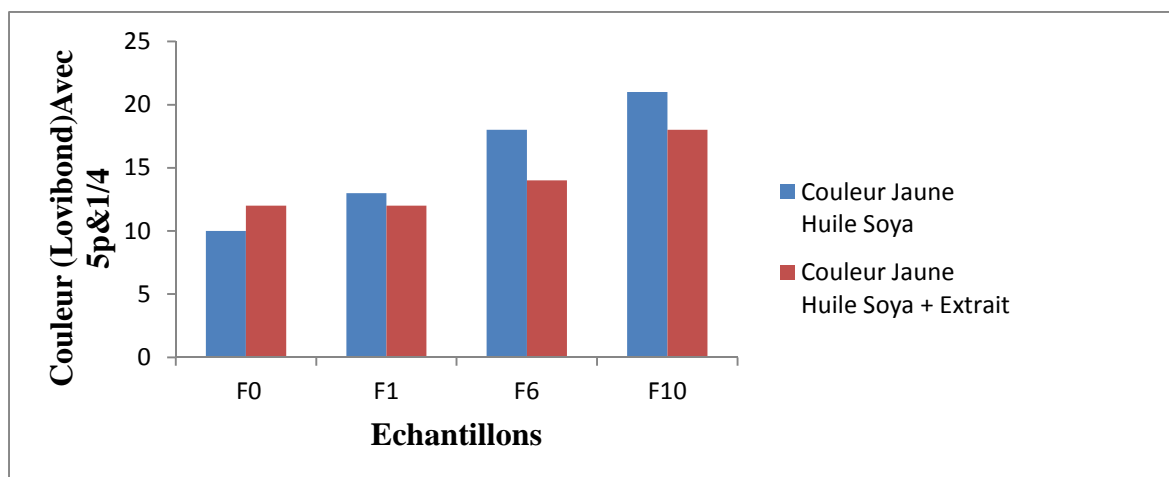


Figure 26 : Evolution de la couleur jaune en fonction de nombre de fritures.

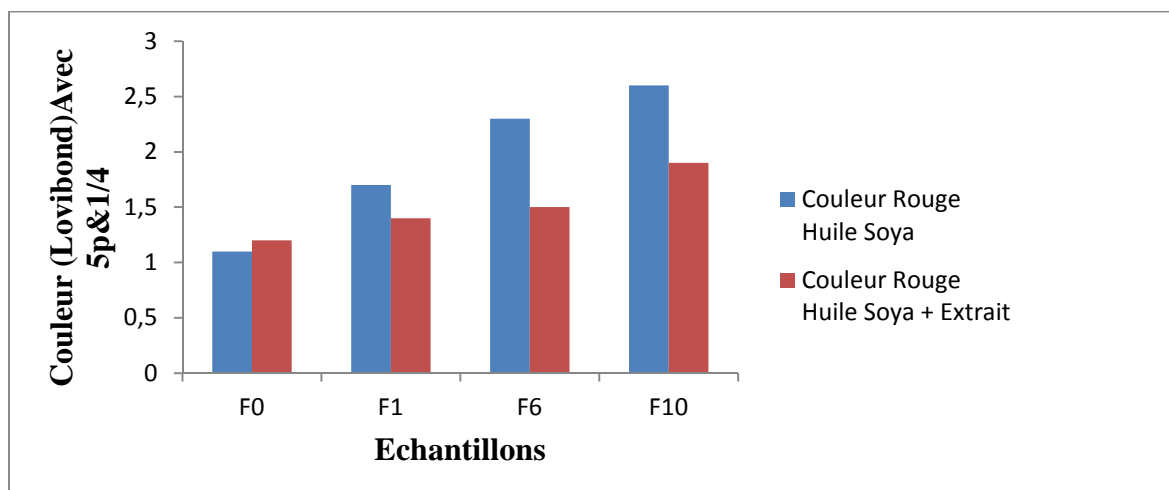


Figure 27 : Evolution de la couleur rouge en fonction de nombre de fritures.

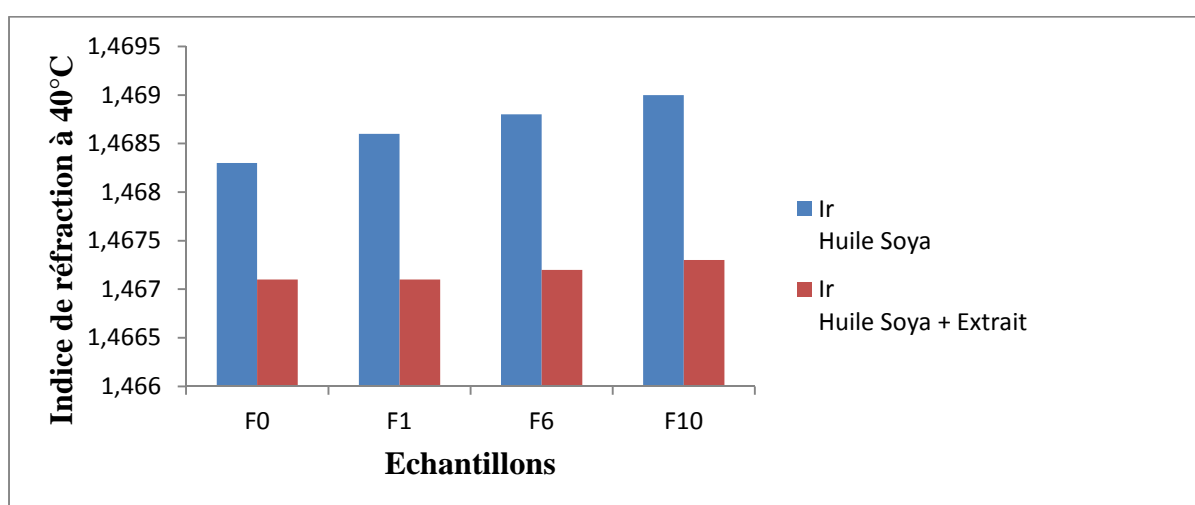
Le changement de la couleur de l'huile au fur et à mesure de la friture vers une couleur brune est peut être dû à la formation de « mélanoides » résultant de la réaction de maillard et/ ou de la décomposition des colorants naturels présents dans l'huile (Pokorny, 2003 ; Ramirez *et al.*, 2004).

La variation de la couleur des huiles de friture serait liée directement à la composition de l'aliment frit. En effet, certains composés de l'aliment peuvent être introduits dans l'huile, comme les hydrates de carbone, de tels composés réagissent avec l'huile et changent sa couleur (Ghazali *et al.*, 2009).

D'après ces résultats l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* diminue considérablement l'intensité de la couleur, cela peut être par blocage de l'oxydation.

### II.6.1.2- INDICE DE REFRACTION

Les résultats d'indice de réfraction sont présentés dans la Figure 28.



**Figure28** : Evolution de l'indice de réfraction en fonction de nombre de fritures.

Les résultats de la Figure 28 montrent que l'indice de réfraction augmente avec l'augmentation de nombre de fritures, qui s'explique par l'état d'altération de l'huile, par des réactions d'oxydation et de polymérisation, la présence sur les chaînes grasses des fonctions secondaires et à l'accumulation des acides gras conjugués dans le bain de friture (Perrin, 1992 ; Gertz, 2008).

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croit avec le degré d'insaturation et il est influencé par l'acidité libre de l'huile. Ces valeurs sont conformes à celles fixées par (AFNOR, 1984 ; AFNOR, 1993).

L'ajout de l'extrait éthanolique a diminué plus de la moitié l'indice de réfraction, cela est peut être dû à l'effet antioxydant qu'il exerce.

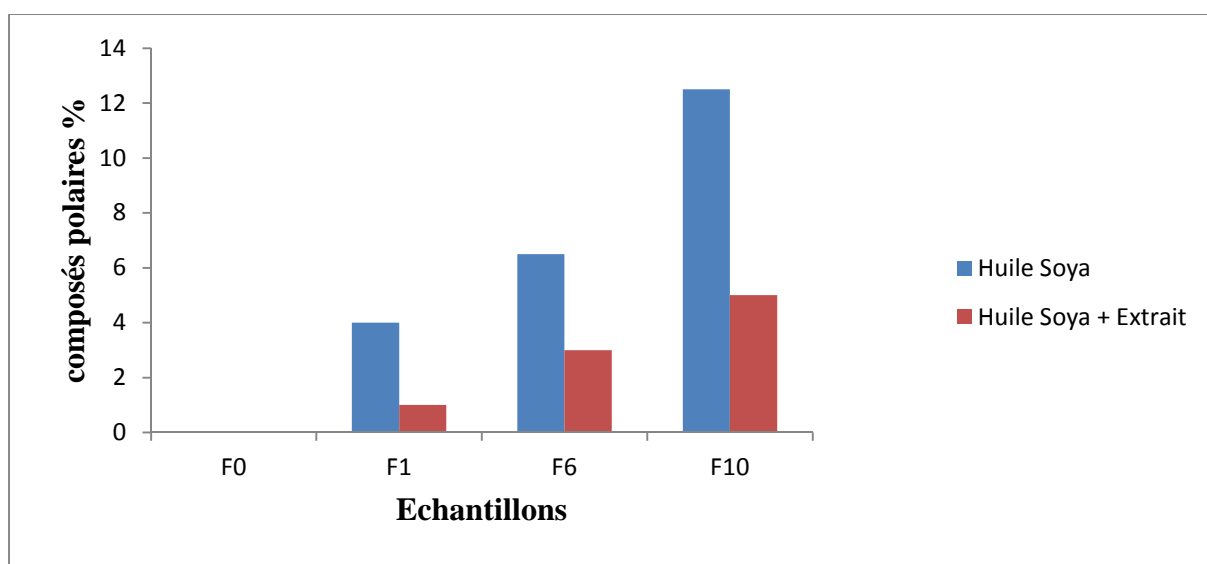
## II.6.2- ANALYSES CHIMIQUES

### II.6.2.1- DOSAGE DES COMPOSES POLAIRES

Solen Ghazali *et al.*, (2009), l'augmentation du taux des composés polaires est liée au degré d'insaturation de l'huile.

La valeur maximale en composés polaires autorisée doit être comprise entre **25 %** et **27 %**, au-delà l'huile de friture est considérée impropre à la consommation (Masson *et al.*, 1999 ; Sanchez-Gimeno *et al.*, 2008).

Le taux des composés polaires reflète le taux de dégradation de l'huile et de dissociation des triglycérides (Sanchez-Gimeno *et al.*, 2008 ).



**Figure 29** : Evolution de composés polaire en fonction de nombre de fritures.

La teneur en composés polaires augmente au fur et à mesure de l'augmentation de nombre de fritures. Elle est de **4%** à la 1<sup>ère</sup> friture et atteint **12.5%** à la 10<sup>ème</sup> friture pour l'huile de soja. Après l'ajout de l'extrait la teneur en composés polaires est de **1%** à la 1<sup>ère</sup> friture et atteint **5%** à la 10<sup>ème</sup> friture. Ce qui peut être expliqué par la diminution de l'oxydation par l'extrait éthanolique du *Cedrus atlantica*. On peut conclure que l'ajout de l'extrait à l'huile de soja peut permettre plus de fritures sans dépasser les normes exigées concernant le taux en composés polaires.

## II.6.2.2- ACIDITE

C'est le pourcentage d'acides gras libre exprimé selon la teneur de corps gras en acides gras libres (Elbir *et al.*, 2014).

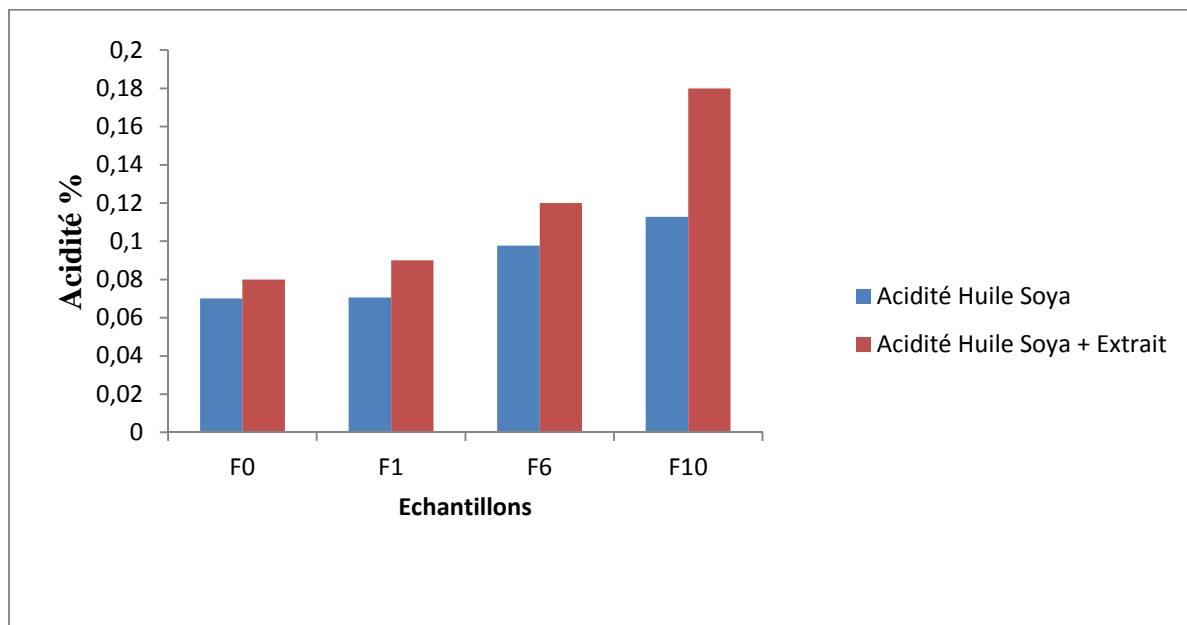


Figure 30 : Evolution d'acidité en fonction de nombre de fritures.

On remarque que l'acidité augmente au fur et à mesure que le nombre de friture augmente.

L'ajout de l'extrait a fait augmenter l'acidité à **0.18%** à la 10<sup>ème</sup> friture, comparant à celle de l'huile seule qui de **0.11%** à la 10<sup>ème</sup> friture, ce qui peut être expliqué par un taux d'hydrolyse plus élevé lors de l'ajout de l'extrait. Les deux valeurs sont au-dessous de la norme de **0,3%** (AFNOR., 1984).

L'acidité nous renseigne sur le taux d'acides gras libres présents dans l'huile et permet d'estimer le degré d'altération hydrolytique, qui est favorisé par la présence d'eau dans l'aliment (Kpoviessi *et al.*, 2004).



## II.6.2.3- INDICE DE PEROXYDE

L'indice de peroxyde (IP) est destiné à mesurer l'état d'oxydation.

L'huile de soja est riche en acides gras polyinsaturés (C18 :3) et (C18 :2), ce qui fait que l'huile de soja est extrêmement sensible à l'oxydation (Shahidi et Wanasundara., 2002).

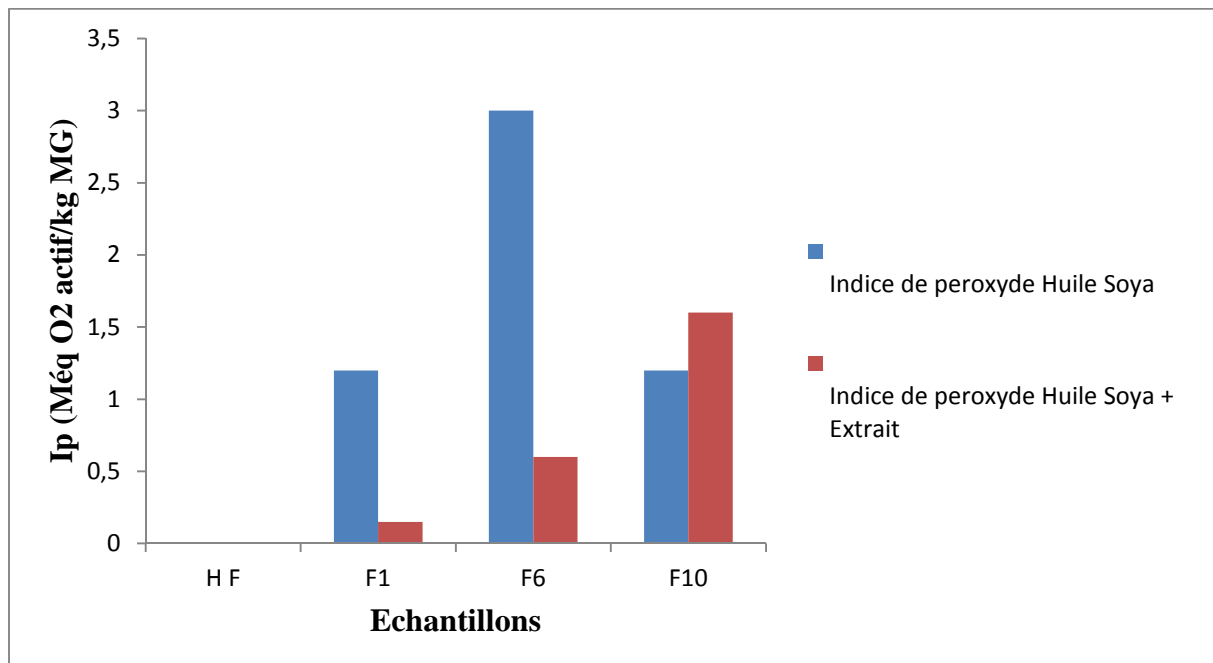


Figure 31 : Variation de l'indice de peroxyde en fonction de nombre de fritures.

La Figure 31 montre que pour l'huile de soja sans ajout de l'extrait, il y a deux phases, la première phase avec une forte augmentation du taux de peroxydes avec une valeur maximale de **3 (meq O<sub>2</sub>/kg d'huile)** qui est l'oxydation primaire, et une deuxième phase où le taux de peroxyde diminue jusqu'à une valeur de **1.2 (meq O<sub>2</sub>/kg de l'huile)** qui est l'oxydation secondaire les peroxyde se transforme en aldéhyde et cétone (Cuvelier et Maillard., 2012).

Par contre pour huile de soja en présence de l'extrait éthanolique la figure 31 montre qu'il y a une légère augmentation continue de taux de peroxyde ce qui explique que le mélange n'est pas rentré dans l'oxydation secondaire.

## II.7- TOXICITE AIGUË

### II.7.1- ESSAI LIMITE A 2000 mg/kg

Après l'administration d'une dose de 2000 mg/kg par voie orale de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* au premier animal on a remarqué sa survie, la durée d'observation est de 48 heures. Après la survie du premier animal on a testé 4 autres animaux et on leur a administré des doses successives de 2000 mg/kg. Suite à ses essais on a remarqué la survie de trois animaux, et la mort du quatrième animal qui est peut être due à sa sensibilité. Ensuite on est passé à l'essai limite à 5000 mg/kg.

### II.7.2- ESSAI LIMITE A 5000 mg/kg

L'essai limite à 5000 mg/kg consiste à administrer cette dose au premier animal qui a comme résultat la survie de ce dernier. On a testé deux autres animaux, on leur a administré des doses de 5000 mg/kg et on a remarqué la survie des deux animaux, ce qui a conduit à l'arrêt de l'essai.

#### ➤ Poids corporel

**Tableau XI** : poids corporel des animaux testés.

ID	Dose mg/kg	Avant l'administration	1ère semaine	2ème semaine
1	2000	26 g	27,2 g	29,1 g
2	2000	25 g	26,4 g	28 g
3	2000	25 g	26,2 g	27,8 g
4	2000	24 g	25,3 g	27,2 g
5	5000	22 g	22,9 g	24,1 g
6	5000	24 g	25,3 g	27 g
7	5000	25 g	26,2 g	28,3 g

D'après les résultats obtenus, on remarque une augmentation de poids corporelle de toutes les souris traitées, mais avec une déférence d'augmentation du poids corporelle entre la première et la deuxième semaine, cette déférence est constatée aussi par rapport aux doses administrées. Pour la première semaine, une augmentation de 0,9g à 1,4g, contrairement à la deuxième semaine où on a observé une augmentation de 1,2g à 2,1g.

## ➤ Observation

Tableau XII : Les signes de toxicité des animaux testés après l'administration.

ID	Dose mg/kg	Signes de toxicité		
		Les 4 premières heures	1 <sup>ère</sup> semaine	2 <sup>ème</sup> semaine
1	2000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité.	Normal	Normal
2	2000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité.	Normal	Normal
3	2000	Redressement de poils, somnolence.	Normal	Normal
4	2000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité.	Normal	Normal
5	2000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité, accélération de rythme cardiaque, perte d'appétit, faiblesse, respiration laborieuse.	Mort après 24heures	-
6	5000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité, anorexie, isolement.	Normal	Normal
7	5000	Redressement de poils, somnolence, hypoactivité, isolement.	Normal	Normal
8	5000	Redressement de poils, somnolence, isolement hypoactivité.	Normal	Normal

La première souris meurt à la dose de 2000 mg/kg, après 24 heures d'administration suite à des signes graves d'intoxication. Dans les premières 4 heures qui suivent l'administration, la souris a montré comme signes de toxicité le redressement de poils, somnolence, hypoactivité, accélération de rythme cardiaque, perte d'appétit, faiblesse et respiration laborieuse.

Les signes de toxicité sont presque les mêmes pour toutes les souris. On remarque chez les souris traitées avec la dose 2000 mg/kg, le redressement de poils, somnolence, hypoactivité. Les signes de toxicité augmentent avec l'augmentation de la dose.

A la dose 5000 mg/kg les souris montrent des signes encore plus forts d'intoxication, redressement de poils, somnolence, hypoactivité, anorexie et isolement. Toutes les souris qui ont survécus retrouvent leur état normal après les 2 premiers jours et les signes de toxicité diminuent progressivement jusqu'à leur disparition totale à la fin de la deuxième semaine.

### II.7.3- DETERMINATION DE LA DL<sub>50</sub>

D'après les résultats obtenus à l'essai limite à 5000 mg/kg, trois animaux ont survécus à cette dose, donc on peut constater que la DL<sub>50</sub> est supérieure à la dose limite (5000mg/kg).

Selon l'échelle de classification de Hodge et Sterner, l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* presque pas toxique.

*CONCLUSION*  
*ET*  
*PERSPECTIVES*

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les plantes médicinales restent toujours la source importante des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Cet intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. Ce travail nous a permis d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne, ainsi que l'incorporation dans l'huile de soja et le suivi de l'évolution de plusieurs paramètres et enfin évaluer la toxicité aigüe de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica*. Notre étude a abouti aux résultats suivants :

- ✓ La teneur en polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révélée que le *Cedrus atlantica* contient **383,57±14,12 mg EAG/g d'extrait**.
- ✓ La teneur en flavonoïdes par la méthode d'AlCl<sub>3</sub> nous mène à conclure que cette plante contient **5,87±0,44 mg EQ/g d'extrait**.
- ✓ La teneur en tanins condensés par la méthode de la vanilline-HCL a révélé une valeur **de 148.83±3.88 mg EC/g d'extrait**.
- ✓ Les résultats de test DPPH ont montré un pourcentage d'inhibition égal à **92.95%** avec un **IC<sub>50</sub> = 10.31µg/ml**. Le pourcentage d'inhibition de cet extrait reste inférieur à celui de BHA (**94.13%**) et acide ascorbique (**96.02%**).
- ✓ Les résultats du test ABTS présentent un pourcentage d'inhibition de **98.7%** qui correspond à **0.297 mM Eq Trolox** et **IC<sub>50</sub> = 37.22µg/ml** qui correspond à **0.097 mM Eq Trolox**.
- ✓ L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique des tiges du *Cedrus atlantica* a été évaluée sur sept bactéries et deux souches fongiques par la méthode de diffusion sur disque de cellulose. Les résultats montrent que l'extrait a une activité antibactérienne contre toutes les bactéries utilisées sauf *klebseilla sp*. Les bactéries à gram+ sont les plus sensibles à l'extrait éthanolique, *Bacillus sp* et *Staphylococcus sp* avec une CMI > à **7.8125 mg/ml**.  
L'extrait éthanolique de *Cedrus atlantica* a montré une activité contre *Candida sp* avec une CMI > à **3.906 mg/ml** et pas d'effet sur *Aspergillus niger*.

- ✓ Les résultats d'incorporation montrent que l'ajout de l'extrait éthanolique empêche l'altération de l'huile de soja et cela en empêchant le changement de certains

paramètres importants tel que la couleur, l'indice de réfraction, composés polaires et l'indice de peroxyde.

- ✓ L'évaluation de la toxicité aigue a montré la DL<sub>50</sub> est supérieur à 500mg/kg donc l'extrait éthanolique est peu ou non toxique.

Le présent travail a montré que l'extrait éthanolique a une activité antioxydante et antibactérienne, apporte un changement considérable des propriétés de l'huile de soja *in vitro* et aussi montre que cet extrait n'est pas toxique. En conclusion, ces résultats peuvent être considérés comme très prometteurs est justifient la poursuite des recherches, entre autres, sur l'identification des composants antioxydants et antimicrobiens dans les extraits actifs de cette plante, ainsi que la poursuite des études de la toxicité.

*REFERENCES*

*BIBLIOGRAPHIQUES*

A

**AFNOR 1993.** Recueil des normes françaises, corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés. 5<sup>ème</sup> édition.

**AFNOR 1984.** Recueil des normes françaises, corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés.

**Amhis, W., Benslimane, A., Tiouit, D. et Naim, M. (2001).** Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb*, 4 (91) : 21-25.

**Annie, S., Arun, S., Kuppusamy, R. et Issac, S. R. O.(2006).** In Vitro Antioxidant Studies on the Benzyl Tetra Isoquinoline Alkaloide Berberine. *Indian Biology and Pharmacology Bulltin*, 29(9) 1906-1910.

**Archaux, F. (2004).** Cedrus atlantica. *Cèdre de l'atlas*, p159.

**Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui,S. et Khebri, S. (2010).** activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* l. *Lebanese Science Journal*, 11 (1) : 69-81.

**Audigié, C., Figarella, J. et Zonszain, F. (1978).** *Manipulation d'analyse biochimique*. Doin (Ed).Paris, 247p.

**Avcibasi, H., Anil, H. et Toprak, M. (1988).** Terpene acids from *cedrus libani*. *Phytochemistry*, 21 (12) :3967-3968.

**Azim, D. (2009).** Pour la protection du cèdre de l'atlas. *Seize coopératives militent pour la sauvegarde du patrimoine forestier*, p 26.

B

**Ba, K., Tine, E., Destain,J., Cissé, N. et 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.

**Babakhani, S., Shokri, S. et Nazer, M.(2015).** The frequency and pattern of antibiotic resistance among *klebsiella* spp. Isolated from nosocomial infection in khorramabad hospital. *Report of health care*, 5 (1): 1-5.

**Bakchiche, B., Gherib A., Aazza S., Gago C. et Miguel M.G. (2013).** Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85-96.

**Beer –Olempska, Z. (2008).** Asparaginase from *aspergillus niger* expressed in *a. niger* chemical and technical assessment (cta). *Asparaginase from aspergillus niger expressed in a. niger (cta)*, 7:1-7.



- Bentouati, A. et Oudjehih, B. (1999).** Première étude de la croissance et de la productivité du cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica* manetti) dans le massif de bélezma (aurès - algérie). *Foret méditerranéenne*, 5(2) : 15-19.
- Benyoucef, S. et Harrache, D. (2015).** Caractérisation de la microstructure de sciure de bois de pin sylvestre "pinus sylvestris" [microstructure characterization of scots pine "pinus sylvestris" sawdust]. *Journal of materials environmental science*, 6 (3) :765-772.
- Bertrand, J.P., Laurent, C. et Leclercq, V. (1984).** *Le monde du soja*. Paris : la découverte. 122p.
- Biyiti, I.F., Meko'o, D.I., Tamzc, V. et Amvam Zollo, P.H. (2004).** Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharmacologie et médecine traditionnelle africaine*, 10 :11-20.
- Boudiaf, K. (2006).** Etude des effets anti-xanthine oxydoréductase et anti-radicalaires des extraits des grains de *Nigella sativa*. Mémoire de magister. Sétif.
- Boudy, P. (1952).** *Guide forestier en Afrique du nord*. Paris : Edit la maison rustique. 288 p.
- Buchler, E. (2013).** Huiles et graisses, la brochure complète. *Pistor*, 68 : 1-68.
- Bruneton, J. (1993).** Composés phénoliques: shikimate-acétates. In: « pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales ». *Technique et documentation-lavoisier* (paris) ; chap. 3 : 199-383.
- Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris : tec & doc. 1243p.

## C

- Cedef. (2012).** Item 87 -infections cutanéomuqueuses bactériennes et mycosiques : *candida albicans*. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 7 (139) : 40-46.
- Celiktas, O.Y., Hames-Kocabas, E.E., Bedir, E., Verdar, S. et Ozekt, B.K.H.C. (2007).** Antimicrobial activities of methanolic extract and essential oils of *Rosmarinus officinalis* depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 100:553-559.
- Cellier, M. et Gros, P. (1997).** Le gène nramp1: résistance aux infections intracellulaires et activité antimicrobienne des phagocytes. *Médecine/sciences*, 9 (4) :501-508.
- Chbani, A., Mawlawi, H. et Etahiri, S. (2011).** Evaluation de l'activité inhibitrice des extraits d'une algue brune, *padina pavonica*, récoltée sur les côtes libanaises. *Afrique science*, 6 (3) : 91 – 96.
- Chevalier, P. (2012).** L'usage des substances antimicrobiennes en production animale : position des experts et des gouvernements. *Revue des connaissances scientifiques*, 60 : 1-60.

**Cotonat J (1996).** *La toxicologie*. Paris, Presses Universitaires de France (PUF). 128p.

**Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12 (4): 564-570.

**Cuvelier, M.E. et Maillard, M.N. (2012).** Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Qualité – sécurité alimentaire*, 19(2) : 125-132.

**Czeczuga, B. (1986).** Carotenoids in gymnosperms. *Biochemical systematics and ecology*, 14(1) :13-15.

### D

**Debazac, E.F. (1964).** Manuel des conifères. *Nancy, école nationale des eaux et forêts*, 172 p.

**Defraigne, J.O., Pincemail, J. (2007).** Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalités. *Revue Médicale Liège*, 32 :1-4.

**Denis, F. (1999).** *Les virus transmissibles de la mère à l'enfant*. Paris : éditions John Libbey Eurotext. 465p.

**Derridj, A., Cadeac, F. et Durrieu, G. (1991).** Etude de la variabilité géographique des dimensions des pollens du cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica manetti*) en algérie. *Bulletin de la société botanique de france. Lettres botaniques*, (3) :215-230.

**Descamps, E., Gelé, P., Bordet, R. et Vamecq, J. (2006).** Modulation pharmacologique du stress oxydatif. *La lettre du pharmacologue*, 20 (4) :107-118.

**Djeridane, A.M., Yousfi, B., Nadjemi, D., Boutassouma, P. et Stocker, N. (2006).** Vidal Antioxidant activity of some Algerian plants for the phenolic compounds and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 224:801-809.

**Dobarganes, M.C. et Márquez-Ruíz, G. (1998).** Regulation of used frying fats and validity of quick tests for discarding the fats. *Grasas y aceites*, 5: 331-335.

**Dorota, M.Z. et Weronika, W. (2012).** A comparison of abts and dpph methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta scientiarum po lonorum*, 11 (1): 83-89.

### E

**Elbir, M., Amhoud, A., Houlali, I., Moubarik, A., H. Hasib, H., Jouad, A. et Mbarki, M. (2014).** Caractérisation et classification des huiles d'olives monovariétales de deux régions au Maroc (Meknès-Tafilalet et Marrakech-Tensift-Al Haouz). *Journal of Materials Environmental Science*, 5 (2): 565-570.

**Evrard, J. et baudet, J.J. (2003).** Graines entieres de soja : de l'énergie et des protéines. 4 : 1-4.

**Eymard, S. (2003).** Thèse doctorat. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*trachurus trachurus*) : choix des procédés. *Université de Nantes, France.*

### F

**Farhoosh, R. et Tavassoli-Kafrani, M.H. (2010).** Polar compounds distribution of sunflower oil as affected by unsaponifiable matters of Bene hull oil (BHO) and tertiar butylhydroquinone (TBHQ) during deep-frying. *Food chemistry*, 122: 381-385.

**Faure, K., Kipnis, E. et Guery, B. (2008).** Prise en charge des pneumonies liées a pseudomonas. *Revue tunisienne d'infectiologie*, 8 (1) : 1 – 8.

**Favier, A. (2003).** Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, 8 : 108-115.

**Frenot, M. et Vierling, E.(2001).** Les lipides, les vitamines. In *Biochimie des aliments diététique du sujet bien portant*, Doin. pp 83-190.

### G

**Gardès-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh, Z. et Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique. *Mécanismes biochimiques*, 6: 91-96.

**Gertz, C. (2008).** Optimum deep frying, from the Food Industries Association of Austria, F.I.A.A . *From June*, 125-135.

**Ghanem, S. et Olama, Z. (2014).** Microbial potential of lebanese cedar extract against human pathogens and food spoilage microorganisms. *European journal of botany, plant science and phytology*, 1(1) :1-26.

**Ghazali, H. M., Tan, A., Abdulkarim, D. et Zulkilly, M.U. (2009).** Oxidative stability of virgin coconutoil compared with RBD palm olein in deep fat frying of fishe craches. *Journal of food*, 7(4): 23-29.

**Glomot, R. (1986).** Etude toxicologique in vivo. In : Derache, R. *Toxicologie et Sécurité des aliments*. Paris : Ed Lavoisier. 08p.

**Goussard, J.P. (1999).** Les radicaux libres et antioxydants. *Guide nutritionnel des sports d'endurance*, 11 : 1-11.

**Grandgirard, A. (1992).** Transformation des lipides au cours des traitements thermiques. Effets notionnels et toxicologiques. In : *Aspects nutritionnels des constituants des aliments. Influence des technologies* Lavoisier, Ed. Tec & Doc, pp 49-63.

**Greet, V. (2004).** Radicaux libres et antioxydants : principes de base. *Symposium « antioxydants et alimentation »*, 2: 1-2.

### H

**Haslam, E. (1989).** Plant polyphénols: Vegetables Tannins Revisited. *Cambridge University Press, Cambridge*, 32: 1-13.

### J

**Jain, S., Jain, A., Jain, S., Malsiya, N., Jain, V. et Kumar, D. (2014).** Estimation of total phenolic, tannins, and flavonoid contents and antioxidant activity of Cedrus deodara heart wood extracts. *Egyptian pharmaceutical journal*, 14: 10-14.

### K

**Kamagate, A., Kone, D., Coulibaly, N. T., Brou, E. et Sixou, M. (2001).** Etude comparative de différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies strictes de la flore sous-gingivale. *Odonto-stomatologie tropicale*, 4 (95) : 9-12.

**Khoudali, S., Benmessaoud left, D., Essaqui, A., Zertoubi<sup>2</sup>, M. Azzi, M. et Benaissa, M. (2014).** Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (*Chamaerops humilis* L.) du Maroc. *Journal of Materials and Environmental Science*, 5 (3) : 887-898.

**Kpoviessi D. S., George C., Accrombessi., Kossouch C., Mohamed M., Soumanau. et Moudachirou, M. (2004).** Propriétés physicochimiques et compositions de l'huile non conventionnelle de pourghère (*Jatropha-curca*) de différentes régions du Bénin. *Compte Rendu chimie*, 7: 1007-1012.

**Kuppusamy, S., Thavamani, P., Mallavarapu Megharaj, M., Nirola, R., Lee, Y.B. et Naidu, R. (2015).** Assessment of antioxidant activity, minerals, phenols and flavonoid contents of common plant/tree waste extracts. *Industrial crops and products*, 5: 1-5.

**Kuta, F., Nimzing, L. et Yahemba, P.(2009).** Screening of bacillus species with potentials of antibiotics production. *Applied medical informatics*, 5 (4): 42 – 46.

**Kuete, V., Penlap, B. V., Etoa, F.X., Modjo, S.L., Bogne,P., Assob, J. C and Lontsi, D. (2004).** Activités antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruit de citrus medica lin. (rutaceae). *Pharmacologie Médecine Traditionnelle Africaine*, 13 : 91-101.

L

**Labrousse, D. et Bois, A. (2011).** Les cèdres nom latin : Cedrus .p12.

**Ladoh, Y C.F., Dibong S.D., Nyegue M.A., Djembissi talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Ynyang, J. et Wansi, J.D. (2014).** Activité antioxydante des extrait méthanoliques de phragmanthera capitata (loranthaceae) récoltée sur citrus sinensis. *Journal of applied biosciences*, 8:7636– 7643.

**Lamnaouer, D. (2002).** Détermination des propriétés biologiques (activités pharmacologiques et toxicologiques) des plantes médicinales et aromatiques du pnt. *Programme de l'uicn en afrique du nord : phase iii*, 9 :1-9.

**Le, K., Chiu F. et Ng, K. (2007).** Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii. *Food Chemistry*, 105 :353-363.

**Lecerf, J .M. (2008).** Quel est l'impact connu et possible des modes de cuisson sur la survenue des cancers. Service de nutrition ; Institut Pasture de Lille.

M

**Magalhaes , M. L., Barreiros, L., Reis, S. et Segundo, A. M. (2014).** Kinetic matching approach applied to ABTS assay for high-throughput determination of total antioxidant capacity of food products. *Journal of food composition and analysis*, 8 (33): 187–194.

**Mahmoud, A., Saleh, D., Shavon, C., Brooke, W. et Suziat, A.D. S. (2010).** Antioxidant and free radical scavenging activities of essential oils. *Ethnicity & disease*, 20: 78-82.

**Maire, R. (1952).** *Flore de l'Afrique du Nord*. Encyclopédie biologique. Paris : Paul Le chevalier. 366p.

**Mansion, D. (2007).** Le cèdre de l'atlas. *Centre régional de la propriété forestière de poitou-charente*, 4.

**Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M. et Fritsch, P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine/sciences*, 20 (4): 458-63.

**Marsha, L.J. (2012).** Natural product screening: antioxidant screen for extracts. 3 (2): 1-3.

**Massaux, C. (2012).** Polyphénols : des alliés pour la santé. *Abeilles & Cie*, 4(149) :1-4.

**Masson, L., Robert, P., Lgourieta, M., Romero, N. et Ortiz, J. (1999).** Fat deterioration in deep fat frying of “French fries” potatoes at restaurant and food shop sector, 50: 460-468.

**Mhirit, O. (1999).** Le cèdre de l'atlas à travers le réseau Silva méditerranéen «cèdre». Bilan et perspectives. *Forêt méditerranéenne*, 10 (3) : 92-99.

**Morena, M., Martin-Mateo, M., Cristol, J.P. et Canaud, B. (2002).** Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23(5) : 201-208.

### N

**Nejjah, F., Ouhssine, M., Srhiri, A., El yachioui, M. et Hajjaji. N. (2006).** Activité inhibitrice de la n-hexadécylbétaine sur *staphylococcus aureus*. *Bulltin de la société Pharmacie en bordeaux*, 6 (145) : 85-90.

**Nicolas, P., Mor, A. et Delfour, A. (1992).** Les peptides de la défense antimicrobienne des vertébrés, *Médecine /sciences*, 11 (5): 423-431.

**Nordmann, R., Ribière, C. et Rouach, H. (1988).** Alcool et radicaux libres : données actuelles. *Médecine/sciences*, 10 (6) :336-345.

Norme internationale, I.S.O. 3960, 4<sup>ème</sup> édition (2007).

Norme internationale, I.S.O. 660, 2<sup>ème</sup> édition (1996).

Norme internationale, I.S.O. 15305, 1<sup>ère</sup> édition (1998).

Norme française, I.S.O. 6320, (1996).

### O

**OCDE (2004).** Absorption cutanée: méthode in vivo, Ligne directrice N° 427, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, OCDE, Paris.

**OCDE (2008).** Toxicité orale aiguë - Méthode de l'ajustement des doses. Ligne directrice N°425, Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, OCDE, Paris

### P

**Pages, X., Morin, O., Birot, C., Gaud, M., Fazeuilh, S. et Gouband, M. (2010).** Raffinage des huiles et des corps gras et élimination des contaminants. *Qualité – sécurité sanitaire*, 17(2) : 86-99.

**Paris, R.R. et Moyse, H., 1976.** *Collection de précis de pharmacie*. Tome I. Masson (Ed). Paris, 420p.

**Pebret, P. (2003).** *Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*. Paris : heures de France, 593p.

**Perrin, J. (1992).** Détermination de l'altération. In : Manuel des corps gras. Lavoisier Tom2. *Ed. Tec & Doc*, 1198-1218.

**Pokorny, J. (2003).** Problèmes de stabilité des produits alimentaires liés à la présence des lipides in : Lipides et corps gras alimentaires, Lavoisier, *Ed. Tec & Doc*, 53-74.

**Ponce, A.G., Fritz, R., Del-Valle, C. et 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.

### R

**Ramade, F. (1979).** *Ecotoxicologie*. Paris: Ed Masson. 5p.

**Ramirez, R. M., Morcuend, D., Estevey, M. et Cava, R. (2004).** Effet of the type of frying with culinary fat and refrigerated storage on lipide oxidation and colour of fried porkloin. 88: P85-94.

**Re, R. (1999).** Pelliegrini N. ET posteggente A. Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assy. *Free Radicals in Biology and Biology Medecin*.26:1231-1237.

**Reichel, J., Benecke, N., Eckert, K. G., Erber, B., Golly, I. C., Kreppel, H., Liebel, B., Mukte, H., Szinicz, L. et Zilker, T. (2004).** *Guide pratique de toxicologie*. Ed De Boeck. 04p.

**Rispail, P. (2008).** Champignons principaux champignons impliqués en pathologie humaine mycoses chez l'homme. *Champignons et mycoses*, 6 :1-6.

**Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. *Burgundy botanical extracts*, 11 (6) : 419-424.

**Ruckebusch, Y. (1981).** *Physiologie, pharmacologie, thérapeutique animale*. Paris: Ed Maloine. 611p.

### S

**Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Mansredini, S., Radice, M. et Irimi, R. (2005).** Comparative evaluation of 11 essentials oils of different origin as functional antioxydants, antiradicals and antimicrobial in food. *Food Chemistry*, 91: 621-632.

**Saguy, I. S. et Dana, D. (2003).** Integrated approach to deep fat frying: engineering, nutrition, health and consumer aspects. *Food Chemistry*, 50: 143-152.

**Sahli, M. (2004).** Protection de la nature et développement: cas du parc national du belezma (monts de batna, algérie), 6(4) : 38-43.

**Sanchez-Gimeno, A.C., Negueruela, A. I., Benito, M. et Vecet, R.O.(2008)** . Some physical changes in Aragon extra virgin olive oil during the frying process. *Food chemistry*, 110: 654-658.

**Satrani , B., El Ouadihi, N., Guedira, G., Frey-klett, P., Arahou, M. et Garbaye, J. (2009)**. Effet de la bactérisation des graines sur la croissance des plants de cedrus atlantica manetti. *Biotechnologie agronomie société et environnement*, 13 (3) :367-372.

**Sereme, A., Millogo-Rasolodimby, J., Guinko, S. et Nacro, M. (2010)**. Anatomie et concentration des tanins des plantes tannifères du burkina faso. *Journal des sciences*, 10 (2) : 24 – 32.

**Shahidi, F. et Wanasundara, U.N. (2002)**. Méthods for measuring oxidative rancidity in fat and oils. *In: Food lipids*, 1025-1140.

**Stucki, K., Harbarth, S. et Nendaz, M. (2014)**. Infections à entérocoques : du plus simple au plus complexe. *Revue médicale suisse*, 6 (10): 1918-1923.

### T

**Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. et Hilali, A. (2015)**. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4) : 1111-1117.

**Toth, J. (1980)**. Le cèdre dans quelques pays du pourtour méditerranéen et dans deux autres pays a grande importance forestière. *Forêt méditerranéenne*, 8 (1) : 23-30.

### V

**Villiere, A. et Genot, C. (2006)**. Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsion. *Oléagineuses des Corps gras-Lipides*, 152-159.

### W

**Wallace Hayes, A. (2008)**. *Principle and methods of toxicology*. New York: Ed Tayler & Francis. 1134p.

**Wong, C.C., Li H.B., Cheng, K.W. et 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.

### Y



**Yala, D., Merad, A.S., D. Mohamedi, D. et Ouar korich, M.N.( 2001).** Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 8(91) : 5-12.

**Z**

**Zeng, W.C., He, Q., Sun, Q., Zhong, K. et Gao, H. (2012).** Antibacterial activity of water-soluble extract from pine needles of *Cedrus deodara*. *International journal of food microbiology*, 153: 78-84.

# *ANNEXES*

## **Annexes1**

### **Milieu Sabouraud**

Eau distillée ..... 1000ml ;

Peptone ..... 10g ;

Glucose ..... 20g;

Agar-agar..... 15g.

PH=6.3

### **Milieu Mueller Hinton**

Extrait de viande..... 03g ;

Hydrolysate acide de caséine ..... 17,5g ;

Amidon ..... 1,5g ;

Agar ..... 16g.

PH=7,3

### **Préparation**

Dissoudre 38g dans un litre d'eau distillée

Autoclaver 15 min à 121°C

### **Milieu Extrait de Malte**

Extrait de Malt..... 20g ;

Agar ..... 12 à15 g .

## Annexe 2

Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire)

7<sup>ème</sup> édition 2014

**Table de lecture 1\*** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Entérobactéries*.

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8	La réponse à l'ampicilline est valable pour l'amoxicilline
Amoxicilline +Ac. clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4	Les breakpoints des céphalosporines et de l'aztréonam ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. Ainsi, l'application de ces breakpoints dépend du respect de posologies précises : céfazoline (2g toutes les 8h), céfoxiline (2g toutes les 8h), céfotaxime (1g toutes les 8h).
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2	Suite à la révision des breakpoints des céphalosporines, la lecture interprétative anciennement basée sur la détection ou non d'une BLSE, n'est plus nécessaire. La réponse R, I ou S se fait en se référant aux seuls diamètres mesurés.
Céfalothine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	A souligner cependant que la détection phénotypique de la BLSE garde tout son intérêt dans les études épidémiologiques et en hygiène hospitalière. (voir chapitre recherches complémentaires).
Céfoxiline	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Pour prédire les résultats des céphalosporines orales quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire, le test de la céfazoline est préféré à celui de la céphalothine.
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1	Les résultats de la céfazoline permettent de prédire les résultats pour les céphalosporines orales : céftaclor, céfdinir, céfpodoxime, céfprozil, céfuroxime axétil, céphalexine et loracarbef quand elles sont utilisées pour le traitement des infections non compliquées du tractus urinaire dues à <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>P. mirabilis</i> . Céfpodoxime, céfdinir et céfuroxime axétil peuvent être testés individuellement car certaines souches peuvent être sensibles à ces antibiotiques alors qu'elles sont résistantes à la céfazoline.
Céfazoline (Infections non compliquées du tractus urinaire)	30µg	≤ 14	----	≥ 15	≥ 32	----	≤ 16	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Céftazidime	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Aztréonam	30µg	≤ 17	18 – 20	≥ 21	≥ 16	8	≤ 4	Les critères d'interprétation sont basés sur la posologie de 1g toutes les 8h.
Imipénème	10µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1	Les breakpoints des carbapénèmes ont été révisés en fonction des propriétés PK-PD et des données cliniques. L'application de ces breakpoints dépend du respect des posologies suivantes : Imipénème : 500 mg toutes les 6h ou 1 g toutes les 8h, Ertapénème : 1g toutes les 24h.
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 – 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0.5	La détection phénotypique d'une carbapénémase par le test MHT est réservée aux études épidémiologiques (voir chapitre recherches complémentaires).
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	—	≤ 16	La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est détectée chez les salmonelles isolées d'infections extra-intestinales en testant l'acide nalidixique à l'antibiogramme.
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	Valable pour entérobactéries autres que <i>Salmonella Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Né pas reporter en routine pour les souches isolées d'ITU sauf pour les salmonelles. Valable pour <i>S. Typhi</i> et <i>Salmonella</i> spp. extra-intestinales.
Colistine**	CMI	-----	-----	-----	>2	-----	≤2	
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32	
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64	Indiqué uniquement pour les souches d' <i>E. coli</i> isolées d'infections urinaires. Le disque de 200µg contient 50µg de glucose-6-phosphate. La CMI est déterminée par la technique de dilution en gélose supplémentée de 25µg/ml de glucose 6-phosphate.

\* Tableau extrait du Document M100 – S24, Vol. 34, n°1, 2014, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

\*\* Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

**Table de lecture 4\*** : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥ 29	≥ 0,25	---	≤ 0,12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux (voir « Tests complémentaires »). Interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamases (ampicilline, ticarcilline, pipéracilline...)
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	---	---	---	---	≥ 4	---	≤ 2	Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine ( <i>S.aureus</i> )	30 µg	≤ 21	---	≥ 22	≥ 8	---	≤ 4	La résistance à la céfoxitine signifie la résistance à toute la famille des β-lactamines.
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	---	---	---	---	≥ 0,5	---	≤ 0,25	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Céfoxitine (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	≤ 24	---	≥ 25	---	---	---	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable. Tester le disque de céfoxitine 30 µg pour détecter la résistance à la méticilline de <i>S.aureus</i> et des staphylocoques à coagulase négative.
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 64	32	≤ 16	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine. **
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥ 23	≥ 8	1-4	≤ 0,5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine. En présence d'une image d'antagonisme, répondre « Résistance à érythromycine et clindamycine ».
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥ 21	≥ 4	1-2	≤ 0,5	
Vancomycine ( <i>S. aureus</i> )		---	---	---	≥ 16	4 - 8	≤ 2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco « S » et « I » de <i>Staphylococcus aureus</i> , ni de différencier les souches vanco « S », « I » et « R » de S.C.N., car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de vancomycine est obligatoire.
Vancomycine (SCN)		---	---	---	≥ 32	8 - 16	≤ 4	
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14	≥ 32	16	≤ 8	
Ofloxacine	5µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 4	2	≤ 1	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1	
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1,25/23,75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	---	≤ 2/38	
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥ 20	≥ 4	2	≤ 1	
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19	≥ 16	8	≤ 4	Les souches sensibles à la tétracycline, sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline.
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	
Quinupristine-dalphopristine	15µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 4	2	≤ 1	A reporter pour les souches de <i>S. aureus</i> méthicillino-sensibles. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Acide fusidique**	10 µg	≤ 24	-----	≥ 24	> 1		≤ 1	
Fosfomycine IV**		---	-----	---	> 32		≤ 32	

\* Tableau extrait du Document M100 – S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

\*\* Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

**Table de lecture 5<sup>e</sup> : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Enterococcus* spp.**

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ampicilline	10µg	≤16	---	≥17	≥16	---	≤8	Interprétation valable pour amoxicilline. Les résultats des tests de sensibilité à l'ampicilline doivent être utilisés pour prédire l'activité de l'amoxicilline.
Tétracycline	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Interprétation valable pour la doxycycline.
Vancomycine	30µg	≤14	15-16	≥17	≥32	8-16	≤4	Rechercher la sensibilité diminuée aux glycopeptides (voir « Tests complémentaires »). Confirmer par la CMI de vancomycine et de teicoplanine en cas de réponse R ou I ou de screening test positif. Pour les souches dont la CMI est entre 8 et 16µg/ml, il faut confirmer l'identification biochimique.
Teicoplanine	30µg	≤10	11-13	≥14	≥32	16	≤8	
Gentamicine Haut niveau	120µg	≤6	7-9	≥10	>500	----	≤500	CMI en milieu solide (BHI agar)
Streptomycine Haut niveau	300µg	≤6	7-9	≥10	>1000		≤500	CMI en milieu liquide (BHI bouillon).
					>2000		≤1000	CMI en milieu solide (BHI agar).
Ciprofloxacine	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Lévofloxacine	5µg	≤13	14-16	≥17	≥8		≤2	
Erythromycine	15µg	≤13	14-22	≥23	≥8	1-4	≤0,5	
Furanes	300µg	≤14	15-16	≥17	≥128	64	≤32	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Rifampicine	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1	
Fosfomycine	200µg	≤12	13-15	≥16	≥256	128	≤64	Recommandé pour les souches d' <i>E. faecalis</i> isolées du tractus urinaire.
Quinupristine-dalfopristine	15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	A reporter pour les souches d' <i>E. faecium</i> vancomycine résistant. Interprétation valable pour la pristinamycine.
Chloramphénicol	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	Interprétation non valable pour les souches urinaires. Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tigécycline**	15µg	15	---	18	0,5	---	0,25	Réponse en cas de multirésistance. Des CMI supérieures à la concentration critique de sensibilité sont très rares. L'identification et le test de sensibilité devront être répétés. En cas de confirmation, la souche devra être envoyée à un centre de référence et catégorisée « résistant ».

**Table de lecture 13\*** : Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC49619	<i>H. influenzae</i> ATCC49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC49226
Amikacine	30µg	19-26	20-26	18-26	---	---	---
Amoxicilline + Ac clavulanique	20/10µg	18-24	28-36	---	---	15-23	---
Ampicilline	10µg	16-22	27-35	---	30-36	13-21	---
Azithromycine	15µg	---	21-26	---	19-25	13-21	---
Ac nalidixique	30µg	22-28	---	---	---	Non déterminé	---
Aztréonam	30µg	28-36	---	23-29	---	30-38	---
Cefazoline	30µg	21-27	29-35	---	---	---	---
Céfialotine	30µg	15-21	29-37	---	26-32	Non déterminé	---
Céfoxitine	30µg	23-29	23-29	---	33-41	---	---
Céfotaxime	30µg	29-35	25-31	18-22	31-39	31-39	38-48
Céftriaxone	30µg	29-35	22-28	17-23	---	---	39-51
Ceftazidime	30µg	---	---	22-29	---	27-35	35-43
Ciprofloxacine	5µg	30-40	22-30	25-33	---	34-42	48-58
Colistine	10µg	11-17	---	11-17	---	---	---
Chloramphénicol	30µg	21-27	19-26	---	23-27	31-40	---
Clindamycine	2µg	---	24-30	---	19-25	---	---
Doxycycline	30µg	18-24	23-29	Non déterminé	25-34	---	---
Ertapénème	10µg	29-28	24-31	13-21	28-35	20-28	---
Erythromycine	15µg	---	22-30	---	25-30	---	---
Fosfomycine	200µg	22-30	25-33	Non déterminé	---	---	---
Furanes	300µg	20-25	18-22	---	23-29	---	---

**Table de lecture 13\*** (suite): Valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

Antibiotiques testés	Charge des disques	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC49226
Gentamicine	10µg	19-26	19-27	17-23	---	---	---
Gémifloxacine	5µg	29-36	27-33	19-25	---	---	---
Imipenème	10µg	26-32	---	20-28	---	21-29	---
Kanamycine	30µg	---	19-26	---	---	---	---
Levofloxacine	5µg	29-37	25-30	19-26	20-25	32-40	---
Nétilmicine	30µg	22-30	22-31	17-23	---	---	---
Ofloxacine	5µg	29-33	24-28	17-21	16-21	31-40	43-51
Oxacilline	1µg	---	18-24	---	≤ 12	---	---
Pénicilline	10UI	---	26-37	---	24-30	---	26-34
Pipéracilline	100µg	24-30	25-33	25-33	---	33-38	---
Rifampicine	5µg	8-10	26-34	Non déterminé	25-30	22-30	---
Spectinomycine	100µg	---	---	---	---	---	23-29
Tétracycline	30µg	18-25	24-30	---	27-31	14-22	30-42
Ticarocilline	75µg	24-30	---	21-27	---	---	---
Ticarocilline + Ac clavulanique	75/10µg	24-30	29-37	20-28	---	---	---
Tobramycine	10µg	18-26	19-29	20-26	---	---	---
Triméthoprim + sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	23-29	24-32	---	20-28	24-32	---
Telcoplanine	30µg	---	15-21	---	---	---	---
Tigécycline	15µg	20-27	20-25	9-13	23-29	23-31	30-40
Vancomycine	30µg	---	17-21	---	20-27	---	---

\* Tableau extrait du Document M100 – S24. Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-four informational supplement.

\*\* Pour tester les disques de gentamicine 120µg, il faut utiliser la souche de référence *Enterococcus faecalis* ATCC29212 : (Gentamicine (16 – 22 mm)).



Table de lecture 2<sup>\*</sup> : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaires
		R	I	S	R	I	S	
Ticarcilline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16	Les valeurs critiques pour la pipéracilline et la ticarcilline (avec ou sans ac clavulanique), sont basées sur une posologie d'au moins 3g toutes les 6 heures.
Ticarcilline + ac. clavulanique	75/10µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2 – 64/2	≤ 16/2	Détecter une BLSE en plaçant le disque de TCC entre le disque de CAZ et le disque d'ATM (voir chapitre tests complémentaires).
Pipéracilline	100 µg	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16	L'application des breakpoints pour les céphalosporines dépend du respect de posologies précises.
Céftazidime	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8	Ceftazidime et Aztréonam : 1 g toutes les 6h ou 2g toutes les 8h. Il est recommandé d'informer les infectiologues, pharmaciens, comité des antibiotiques et CLIN de l'hôpital, de ces nouveaux critères d'interprétation. Consulter le clinicien, en particulier pour les patients spécifiques.
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 – 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8	
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 – 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2	En cas de diamètre R ou I, faire une détection de carbapénémases (voir recherches complémentaires). Valeurs critiques basées sur une posologie de 1g toutes les 8 heures ou 500mg toutes les 6 heures.
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16	
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8	
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4	
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥21	≥4	2	≤ 1	
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥17	≥8	4	≤ 2	
Fosfomycine**	---	---	---	---	---	---	---	Des observations cliniques suggèrent que les infections dues à des souches pour lesquelles la CMI de la fosfomycine est ≤ 128 mg/L (ECOFF) (Epidemiological cut-off value) pourraient être traitées avec de la fosfomycine.
Colistine	10µg	≤ 10	---	≥11	≥8	4	≤ 2	

\* Tableau extrait du Document M100 – S24, Vol. 34, n°1, 2014. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement.

\*\* Extraits des recommandations 2014 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

## Résumé

*Cedrus atlantica* est une plante médicinale appartenant à la famille des pinacées. L'extrait est obtenu par Soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant. La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Les flavonoïdes ont été évalués en utilisant la méthode AlCl<sub>3</sub>. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode vanilline-HCl. L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux méthodes différentes : la méthode de réduction de radical libre DPPH, et la technique de réduction du radical-cation ABTS<sup>•+</sup>. L'activité antimicrobienne a été déterminée sur sept souches bactériennes, et deux souches fongiques en employant la méthode de diffusion sur disque solide. L'évaluation du degré d'oxydation de l'huile de soja en ajoutant l'extrait éthanolique du *Cedrus atlantica* lors des fritures répétées a montré que l'extrait éthanolique améliore cette huile. Le test de toxicité aiguë a montré que l'extrait éthanolique du *Cedrus atlantica* est peu ou non toxique.

**Mots clés :** *Cedrus atlantica*, extrait éthanolique, composés phénoliques, activité antioxydante, activité antimicrobienne, Huile de soja.

## Summary

*Cedrus atlantica* is a medicinal plant belonging to the family Pinaceae. The extract is obtained by Soxhlet using ethanol as solvent. The total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu. Flavonoids were evaluated using AlCl<sub>3</sub> method. The condensed tannin content was determined by the method vanillin-HCl. The antioxidant activity was evaluated using two different methods: the method of free radical DPPH reduction and the reduction technique of radical cation ABTS + °. The antimicrobial activity was determined over seven bacterial strains, and two fungal strains using the diffusion method on solid disk. The evaluation of soybean oil oxidation by adding the ethanol extract of *Cedrus atlantica* during repeated fries showed that the ethanol extract improves this oil. The acute toxicity test showed that the ethanolic extract of *Cedrus atlantica* is little or nontoxic.

**Keywords:** *Cedrus atlantica*, éthanolique extract, phenolic compounds, antioxidant activity, antimicrobial activity, Soybean oil.

هو من النباتات الطبية تعود لعائلة الصنوبرية.

باستعمال الاثانول كمنيب. المحتوى الكلي من المركبات الفينولية تم تحديده بطريقة مفاعل Folin-Ciocalteu. وقد تم قياس مركبات الفلافونويد الكلية باستخدام طريقة. تم تحديد محتوى التانين المكثف بواسطة طريقة فانيليا-حمض الهيدروكلوريك. النشاط المضاد للأوكسدة درس بطريقتين مختلفتين : تقنية ارجاع الجذر الحر DPPH طريقة ارجاع الجذر الموجب ABTS. تم تحديد النشاط بكتيرية, و اثنتين من السلالات الفطرية باستخدام طريقة الانتشار من خلال القرص.

تقييم مستوى التأكسد لزيت الصويا بإضافة مستخلص الايثانول من أرز أطلسي. استقرار هذه الزيوت تتميز بالتغيرات الفيزيائية والكيميائية: معدل الأحماض الدهنية الحرة، وتحليل الأحماض الدهنية، ونسبة المركبات القطبية. أظهر اختبار السمية الحادة أن مستخلص الايثانول قليل أو غير سام.

**الكلمات المفتاحية :** أرز أطلسي, مستخلص الاثانول, المركبات الفينولية, النشاط المضاد للأوكسدة, النشاط المضاد للميكروبات, وزيت فول الصويا.