

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique Et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de la Recherche Scientifique  
Université de 8 Mai 1945 – Guelma -  
Faculté des Sciences de la Nature Et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie

**Filière :** sciences biologiques

**Spécialité :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Département :** Biologie

**Thème :**

---

### Etude de l'activité antibactérienne du Cyprès

---

**Présenté par :**

- Aissaoui Akram
- Benchahra Aida
- Harkett Randa
- Krimi Aymen

**Membres de jury**

Dr. Messiad R.	Présidente (M.C.B)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Dr. Djebir S.	Examinatrice (M.C.B)	Université 8 Mai 1945 Guelma
Pr. Zidi S.	Encadreur (M.C.B)	Université 8 Mai 1945 Guelma

*Année universitaire : 2021/2022*

## Remerciements

*Avant toute chose, nous remercions « Allah » le tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nos sincères gratitudes vont à Madame Messiad R pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nos vifs remerciements vont à Madame Djebir S pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.*

*Nos plus vifs remerciements vont également à notre encadreur du projet de fin d'études : Madame ZIDI Sourour, qui nous a accordé l'honneur de diriger ce modeste travail, de nous orienter et de nous aider. Merci à sa disponibilité, sa patience son soutien moral et ses conseils pertinents qui ont été pour nous un solide repère et réconfort dans tous les moments.*

*Nos remerciements vont à toutes les techniciennes du laboratoire précisément Madame Ratiba pour son aide continuelle au cours de la réalisation de la partie pratique de ce travail.*

*On remercie spécialement nos collègues et amis, et toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire. Merci !*

# *DÉDICACES*

*Je dédie ce modeste travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de  
bonheur :*

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur  
soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A ma chère sœur **HOUDA**. Mon Cher frère **MOUHAMED**.*

*A mon fiancé **Alla** pour ses encouragements et son soutien moral, Merci d'être  
toujours là pour moi.*

*A ma Chère copine d'amour **RANDA** tu es pour moi une sœur *sur* qui je peux  
compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de *tous* les*

*A mes amies avec qui j'ai vécu des beaux moments au cours de mon cursus à  
l'université surtout :*

*Mes beaux-frères **Youcef, Wail, mehdi, Moumen, akremet** mes belles  
sœurs **Safa, Abir, Souheyla et Rayen « la FaF ».***

***Aida***

# *DÉDICACES*

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

*A ma très chère mère mon paradis « Que dieu aie son âme »*

*Particulièrement mon cher père qui a été toujours été là pour moi.*

*A mes très cher frères **Amine** et **fakhreddin** pour ses encouragements et son soutien moral, Merci d'être toujours là pour moi.*

*Je ne serai terminer sans citer ma copine et ma deuxième et ma meilleur amie  
sœur Aida (Marwa)*

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

**Randa**

# *DÉDICACES*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, pour leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A ma sœur et mon frère pour leurs encouragements et leur soutien moral.*

*A mes collègues.*

*A toute ma famille, merci d'être toujours là pour moi.*

**Akrem**

## Liste d'abréviations

**ATPase** : Adénosine triphosphatases

**Amx25** : Amoxiciline

**E.coli** : Escherichia coli

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**C30** : Chloramphénicol

**C4H6CO** : Anhydride acétique

**FeCl3** : Chlorure de ferrique

**Gen 10** : Gentamicine

**HCl** : Acide chlorhydrique

**HgCl2** : Chlorure de mercure

**H2SO4**: Acidesulfurique

**I2**: Diode

**K**: Potassium

**NH4 OH** : Ammoniaque

**ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie

**P10** : pénicilline

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : la classification de la plante de cyprès ( <i>cupressus sempervirens</i> ).....	06
<b>Tableau 02</b> : les Références des souches bactériennes testées.....	18
<b>Tableau 03</b> : Les différents antibiotiques utilisés pour chaque souche testée.....	22
<b>Tableau 04</b> : Les résultats de criblage phytochimique des extraits de cyprès.....	26
<b>Tableau 05</b> : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur <i>E. coli</i> .....	27
<b>Tableau 06</b> la sensibilité d'E.coli vis-à-vis des extrais testée.....	28
<b>Tableau 07</b> : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur <i>P.aeruginosa</i> .....	29
<b>Tableau 08</b> : la sensibilité de <i>P.aeruginosa</i> vis-à-vis des extrais testée .....	31
<b>Tableau 09</b> : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur <i>S.aureus</i> .....	31
<b>Tableau 10</b> : la sensibilité de <i>S.aureus</i> vis-à-vis des extrais testée .....	32

## Liste des Figures

<b>Figure 01</b> : Cupressus sempervirens L (photo personnelle).....	03
<b>Figure 02</b> : la forme horizontale “pyramidalis“ et La forme pyramidale “horizontalis“ du cupressus sempervirens .....	04
<b>Figure 03</b> : Les fruits (cônes) de cupressus sempervirens .....	04
<b>Figure 04</b> : : Fleurs mâles (1) et femelles (2) de Cupressus sempervirens .....	05
<b>Figure 05</b> : les étapes de formation de la graine du cupressus sempervirens.....	05
<b>Figure 06</b> : Aire de répartition Du cupressus sempervirens.....	07
<b>Figure 07</b> : Structure chimique de quelques polyphénols, flavones, flavonoïdes et glycosides de flavones (1) biflavones (2) isolés de Cupressus sempervirens.....	09
<b>Figure 08</b> : Divers autres activités biologiques de Cupressus sempervirens.....	11
<b>Figure 09</b> : Méthode des disques et l'antibiogramme.....	17
<b>Figure 10</b> : Photo représentative des étapes de préparation des extraits (éthanolique, méthanolique et aqueux) .....	19
<b>Figure 11</b> : l'antibiogramme de la souche E coli.....	27
<b>Figure 12</b> : Effet des extraits de la plante étudiée sur la souche E coli.....	28
<b>Figure 13</b> : l'antibiogramme de la souche P. aeruginosa.....	29
<b>Figure 14</b> : Effet des extraits de la plante étudiée sur la souche P. aeruginosa.....	30
<b>Figure 15</b> : l'antibiogramme de la souche Staphylococcus aureus.....	31
<b>Figure 16</b> : Effet des extraits de plante étudiée sur la souche P. aeruginosa.....	32



**Remercîments**

**Dédicaces**

**Liste d'abréviation**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Sommaire**

**Introduction.....01**

**Première partie : synthèses bibliographiques**

**CHAPITRE I : Synthèse bibliographiques**

<b>1. Définition .....</b>	<b>03</b>
<b>2. Caractéristiques Botaniques.....</b>	<b>03</b>
<b>3. Caractéristiques écologiques.....</b>	<b>06</b>
<b>4. Classification.....</b>	<b>06</b>
<b>5. Répartition géographique.....</b>	<b>07</b>
<b>5.1.Dans le monde.....</b>	<b>07</b>
<b>5.2.En Algérie.....</b>	<b>07</b>
<b>6. Composition biochimique.....</b>	<b>08</b>
<b>7. Propriétés médicinales du Cyprès.....</b>	<b>09</b>
<b>Cône fructifères.....</b>	<b>09</b>
<b>7.2.Les Rameaux.....</b>	<b>10</b>
<b>8. Autres utilisations.....</b>	<b>11</b>

**CHAPITRE II : Bactériologie**

<b>1. Les Bactéries.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1.Historique.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.Définition.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.Structure et composition de la cellule bactérienne.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.1. Membrane cytoplasmique.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.2. Paroi.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3.3. Matériel génétique.....</b>	<b>14</b>

1.4. Classification des bactéries.....	14
1.4.1. Bactéries à Gram (-) .....	14
1.4.2. Bactéries à Gram (+) .....	15
2. Les Antibiotiques.....	15
2.1. Définition.....	15
2.2. Classification des antibiotiques.....	15
2.3. Mode d'action des antibiotiques.....	16
2.4. Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI).....	16
2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB).....	16
2.6. Résistances aux antibiotiques.....	16
2.7. Antibiogramme et méthode des disques.....	17
2.7.1. Antibiogramme.....	17
2.7.2. Méthode des disques.....	17

## **Deuxième Partie : Etude expérimentale**

### **CHAPITRE I : Matériels Et Méthodes**

1. Matériels.....	18
1.1. Matériel végétal.....	18
1.2. Les souches bactériennes testées.....	18
2. Méthodes.....	18
2.1. Criblage phytochimique.....	18
2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	21
2.3. Détermination des paramètres antibactériens.....	24

### **CHAPITRE II : Résultats Et Discussion**

1. Criblage phytochimique.....	26
2. Etude de l'activité antibactérienne.....	27
2.1. E. coli.....	27
2.2. Pseudomonas aeruginosa.....	29
2.3. Staphylococcus aureus.....	31
Conclusion et perspectives.....	34

- Résumé

- **Annexe**
- **Référence bibliographique**

# ***Introduction***

# Introduction

---

## Introduction

Les plantes médicinales sont connues pour avoir un effet bénéfique et thérapeutique sur l'organisme grâce à leurs principes actifs. Au fil des siècles, les traditions humaines ont su développer et utiliser leurs connaissances des végétaux dans le but d'améliorer la santé humaine **(Pomdio et Adon, 2017 ; Fouché et al, 2000)**.

Actuellement, des efforts importants sont dirigés vers l'exploration des extraits de plantes comme sources alternatives ou complémentaires pouvant être utilisées pour renforcer le système immunitaire en cas d'infection fongique, bactérienne ou virale. Les extraits de plantes sont peu toxiques et facilement biodégradables et donc sains pour l'environnement **(Okigbo et Nmeke, 2005 ; Helle, 2006 ; Okigbo et Omdamiro, 2006)**.

*Cupressus sempervirens L.* ou le cyprès vert est un conifère de la famille des *Cupressacées* originaires des régions tempérées chaudes de l'hémisphère nord. Le nombre d'espèces incluses dans ce genre varie selon les auteurs de 16 à 30, voire plus. De nombreuses espèces sont cultivées comme arbres d'ornement. Le cyprès commun est un arbre représentatif de la flore méditerranéenne. Il est utilisé dans la médecine traditionnelle pour le soulagement des douleurs de l'estomac, des inflammations, des maux de dents ainsi que pour traiter le diabète **Raynaud J (2005)**.

Depuis leur apparition, les antibiotiques sont restés le moyen privilégié de lutte contre les infections bactériennes. Cependant, du fait de leur utilisation anarchique, inadéquate et abusive en santé humaine et vétérinaire, on assiste aujourd'hui à l'émergence de bactéries multi-résistantes **(Livermore, 1995 ; Savard, 2003)**. La progression de la multi-résistance et l'absence de réelles perspectives de découverte de nouveaux antibiotiques dans les années à venir, nous a conduit à étudier l'efficacité des plantes à vertus thérapeutiques afin d'en isoler les principes actifs. Nous avons donc choisi de tester l'activité antibactérienne de différents extraits des feuilles de *Cupressus Sempervirens L.* (extrait aqueux, éthanolique et éthanolique) sur les souches suivantes : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (bactéries à Gram -) ainsi que *Staphylococcus aureus* (bactéries à Gram+). Cette étude a été précédée par une recherche des différents composants des différents extraits du cyprès par des tests phytochimiques.

Ce manuscrit est structuré en deux parties :

## **Introduction**

---

-La première est une synthèse bibliographique qui est divisée en deux chapitres : le premier traite des généralités sur la plante étudiée et le second est porté sur le monde microbien.

-La deuxième partie est expérimentale. Elle est subdivisée en plusieurs sous parties : matériel et méthodes, résultats et discussion et enfin conclusion et perspective.

*Première partie*

*Synthèse*

*bibliographique*

*Chapitre 01*  
*Généralité sur le*  
*cyprès*



## 1. Définition

Le nom *Cupressus sempervirens* L ou (Cyprès), vient du romain « semper » qui veut dire indissoluble et « virens » qui signifie astringent. *Cupressus* vient également du grec « kumarissos » qui désigne le carburant (**Riom, 2010**). A côté de ces différentes nominations, Cette plante est aussi nommée (الصنوبر) ou (السرول) par notre langue mère (langage algérien).



**Figure 01 :** *Cupressus sempervirens* L (photo personnelle,2022)

## 2. Caractéristiques Botaniques

Le Cyprès est un grand arbre, persistant et élancé avec une cime pyramidale. C'est une plante ornementale, d'une belle présence, typique de la Méditerranée. Caractérisé par (Nichane, 2015 ; Caudullo et de Rigo, 2016 ; Sebbane et khaldi, 2019) :

- **Taille moyenne :** est de 20 à 30 m. Il existe différentes formes de cyprès ; par sélection, aujourd'hui des variétés très uniques se propagent par bouturage. On distingue notamment les formes à branches horizontales et à cime conique : *Cupressus sempervirens "horizontalis"* et les formes colonnaires formant un fuseau plus ou moins étroit : *Cupressus sempervirens "pyramidalis" ou "stricta"* (**figure02**).



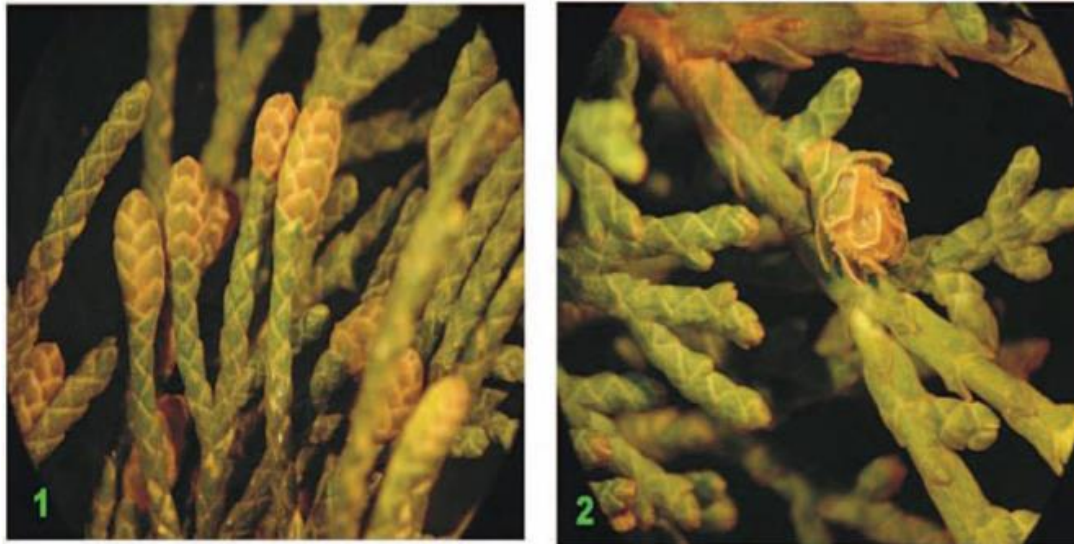
**Figure02:** la forme horizontale “*pyramidalis*“ et La forme pyramidale “*horizontalis*“ du *cupressus sempervirens* (photo personnelle ,2022)

- **Port:** allongé, conique, en colonnes étroites compactes avec des feuilles denses, persistantes, aromatiques, d’un vert foncé. Sur le long des branches courtes, de petits lobes glandulaires (glandes à résine) sont disposés en fines écailles, se chevauchant sur au moins 4 rangées aux extrémités émoussées.
- **Cônes de fruits :** cônes globuleux, verts (3-4 cm), brillants, à 6-14 écailles ligneuses polygonales, brun clair à brun foncé à maturité (tous les deux ans), avec de nombreuses graines ailées. (Figure 03).



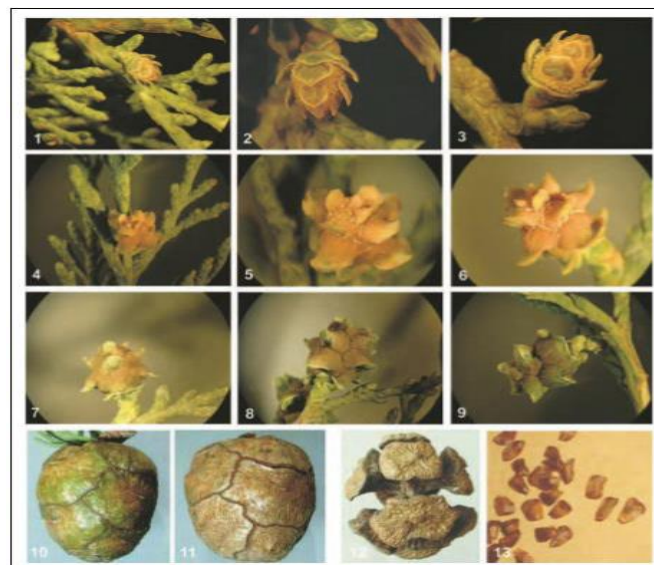
**Figure 03 :** Les fruits (cônes) de *cupressus sempervirens* ((M. Nichane 2015).

- **Fleurs en cône :** aux extrémités des pousses, chatons mâles jaunes à brun clair au pollen potentiellement allergisant (février-mars), chatons femelles bulbeux verts regroupés en grappes à l’extrémité des pousses (figure 04).



**Figure 04 :** Fleurs mâles (1) et femelles (2) de *Cupressus sempervirens* (M. Nichane 2015)

- **Graines :** elles sont petites, de 4 à 7 mm de long. Deux ailes sont déposées de chaque côté des graines (Nichane, 2015 ; Caudullo et de Rigo, 2016 ; Sebban et khaldi, 2019) (figure 05).



**Figure 05 :** Etape de formation de la graine du *Cupressus sempervirens* (M. Nichane 2015)

### 3. Caractéristiques écologiques

Le Cyprès a de nombreuses caractéristiques écologiques qui sont :

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

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

### 4. Classification

D'après Al-snafi (2016), la position systématique du Cyprès est :

**Tableau 01** : la classification de la plante de cyprès (*cupressus sempervirens*)

Règne	Plantea
Sous-Règne	Viridiplantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-Embranchement	Spermatophytina
Classe	Pinosida
Sous –classe	Pinidae
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	Cupressus
Espèce	Cupressus sempervirens

## 5. Répartition géographique

### 5.1. Dans le monde

Les cyprès sont des localités indigènes dispersées dans les grandes régions tempérées chaudes ou subtropicales de l'hémisphère nord. Son aire de répartition naturelle comprend l'ouest de l'Amérique du Nord et centrale, l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient, l'Himalaya, le sud de la Chine et le Nord du Vietnam (**Figure 06**) ; de nombreuses espèces sont cultivées comme arbres d'ornement, le Cyprès commun est un arbre représentatif de la flore méditerranéenne qui est un symbole du deuil dans cette région (**Nichane, 2015**).

La plupart des espèces de cyprès se trouvent dans l'hémisphère nord (**Figure 06**), selon plusieurs études, la répartition de cette famille est influencée par plusieurs facteurs : climat, sol, perturbations (catastrophes naturelles, exploitation humaine), etc. douze espèces originaires d'Amérique du Nord, de la Méditerranée et l'Asie tropicale se produisent à haute altitude (**Rawat et al, 2011**).



**Figure 06** : Aire de répartition du *Cupressus sempervirens*L (**Rawat et al, 2011**).

### 5.2. En Algérie :

En Algérie, la richesse du couvert forestier est influencée par de nombreux facteurs (altitude, bioclimat, activités humaines, catastrophes naturelles, etc.) ; les grappes forestières des deux atlas varient d'un secteur à l'autre, même au sein d'un même secteur, c'est-à-dire d'une région à l'autre. Peu de données sont disponibles sur la répartition sectorielle et la population de la région du Cyprès. Les espèces de Cyprès endémiques ou naturalisées sont : le Cyprès de Tassili (*Cupressus dupreziana* A. Camus), le Cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantic* Gaussen) et

le Cyprès à feuilles persistantes (*Cupressus sempervirens L.*). Le Cyprès d'Arizona (*Cupressus arizonica Greene*) est une espèce introduite mais peu utilisée (**Bouyahyaoui, 2017**).

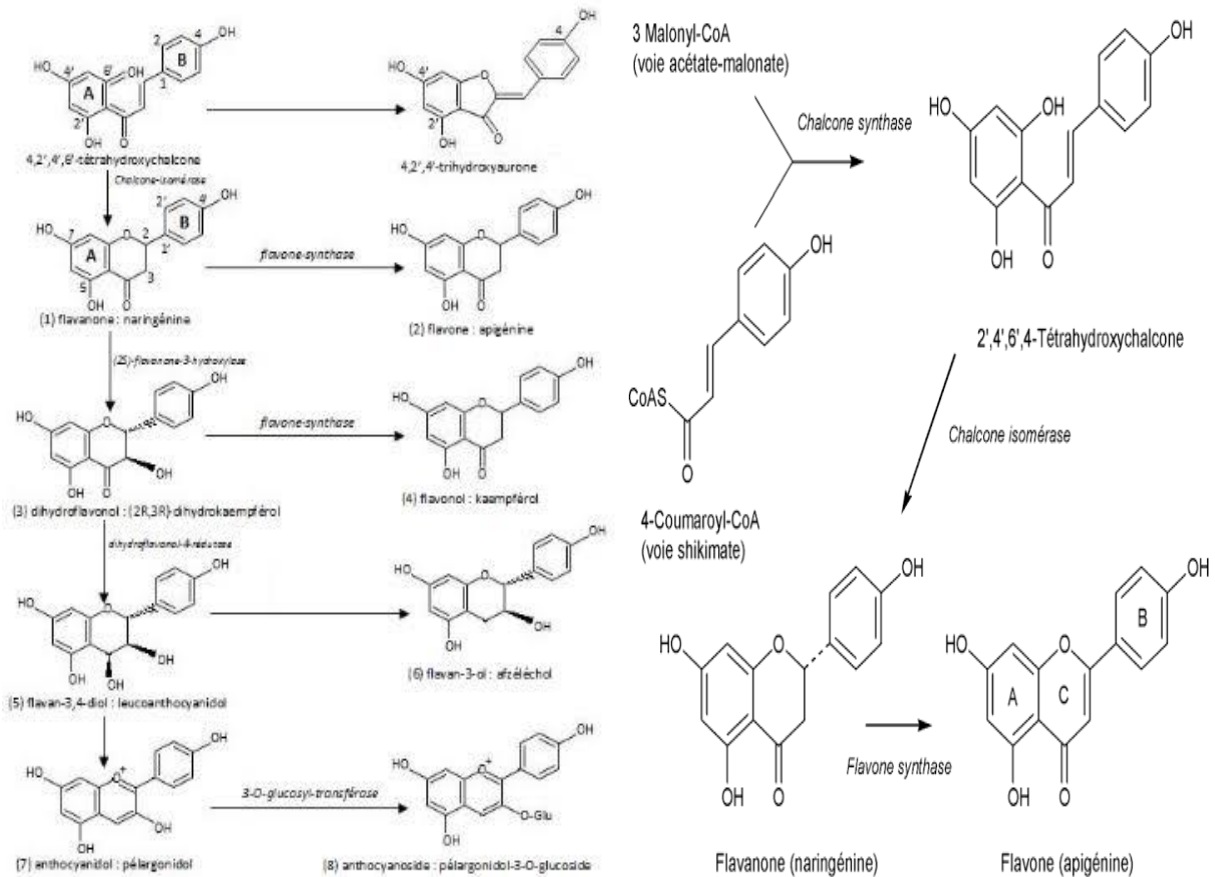
## 6. Composition biochimique

*Cupressus sempervirens* est riche en constituants flavonoïdes comme la cupressuflavone, l'aménoflavone, la rutine, la quercétine et la myricitrine. Certains composés phénoliques (anthocyanidine, catéchines flavones, flavonols et isoflavones), tanins (acide ellagique, acide gallique, phénylisopropanoïdes, acide caféique, acide coumarique et acide férulique) lignanes et catchol (**Koreim, 2009**).

Les branches du Cyprès contiennent des biflavonoïdes, des huiles essentielles (0.3-0.8%) qui sont riches en monoterpènes. Les cônes contiennent 0.5% d'huiles essentielles ; ils sont riches en pinène, acides diterpéniques, tanins et dérivés oligomères proanthocyanidoliques (**Selim et al, 2014 ; Sebban et Khaldi, 2019**).

Dans des études précédentes, les constituants principaux ont été identifiés dans des espèces de *Cupressus* comme  $\alpha$ -pinène et -3-carene. Les feuilles et les fruits de cette plante sont tout à fait riches en tanins et en flavonoïdes mais ils sont pauvres en saponines et exempts des alcaloïdes et (**Tumen et al, 2011 ; Sebban et khaldi, 2019**).

Les phénols sont donc présents dans la composition biochimique du Cyprès (**Al-Snafi, 2016 ; Sebban et Khaldi, 2019**). Les structures chimiques des Principaux polyphénols extraits dans d'autres études à partir de la plante sont représentées dans **la figure03** :



**Figure 07 :** Structure chimique de quelques polyphénols, flavones, flavonoïdes et glycosides de flavones (1) biflavones (2) isolés de *Cupressus sempervirens* (Khan et al, 2017 ; Sebban et Khaldi, 2019).

## 7. Propriétés médicinales du Cyprés

Parmi les domaines d'utilisation les plus importants de cette plante, est le domaine thérapeutique par exemple : aromathérapie, phytothérapie, car le Cyprés contient de nombreux ingrédients et produits biologiques aux propriétés pharmacologiques spécifiques. Cette plante est considérée comme une plante médicinale, les deux parties les plus couramment utilisées sont les rameaux et les cônes (Riom, 2010).

### 7.1. Cônes fructifères

La composition chimique des cônes révèle la présence de beaucoup de molécules chimiques comme les terpènes et les tanins qui sont les principaux constituants de ces cônes et qui ont une action antivirale qui se manifeste sur quelques virus notamment celui de l'herpès, de la grippe de type A et sur le coronavirus (Riom,C , 2010).

L'huile essentielle de *Cupressus sempervirens* est utilisée dans de nombreux domaines tels que la médecine (usage externe pour les rhumes la toux et la bronchite), la pharmacie, la parapharmacie, l'industrie cosmétique la parfumerie et l'industrie alimentaire (**Amara et Boughérara ,2017 ; Bouyahyaoui, 2017**).

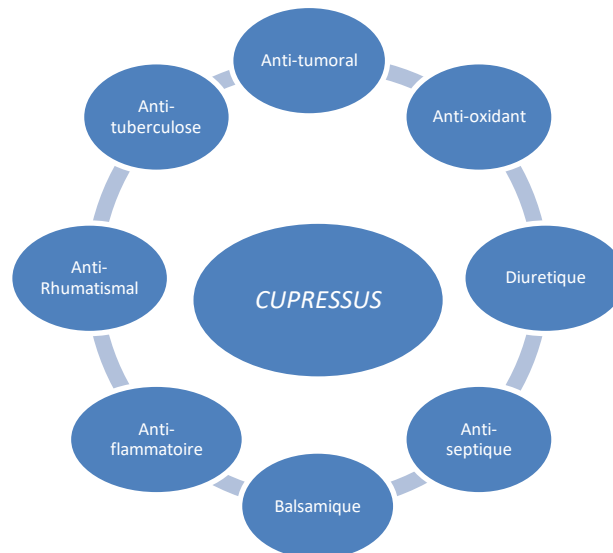
### 7.2. Les Rameaux

Le produit principal de cette plante est l'huile essentielle extraite des brindilles et des cônes de la plante ; cette dernière possède des propriétés variées, et est utilisée pour traiter différentes maladies (**Riom, 2010**). Parmi les différents usages des huiles essentielles de la plante on peut citer :

- Leur utilisation pour les congestions veineuses, principalement dans : hémorroïdes, varices, les œdèmes des membres inférieurs, et dans l'énurésie infantile.
- Elles sont recommandées pour tous les types de toux, en particulier les toux sèches, et les crampes, cette activité antitussive est due à la présence de terpènes.
- Elles sont utilisées pour traiter les bouffées de chaleur au cours de la ménopause (chez les femmes).
- Ces huiles sont des stimulants immunitaires et peuvent être utilisées pour les maladies chroniques et pour Réguler la nervosité.

La présence de divers principes actifs confère au Cyprès diverses activités biologiques qui sont résumées dans la **Figure 08**.





**Figure 08** : Divers autre activités biologiques de *Cupressus sempervirens* (Khan et al, 2017).

## 8. Autres utilisations

En raison de sa forme de canopée conique, cet arbre est principalement utilisé comme arbre d'ornement (Caudullo et de Rigo, 2016) et comme brise-vent (dans la plantation) dans les jardins (Amara et Boughérara, 2017).

Le cyprès est une caractéristique de la côte méditerranéenne et des paysages urbains depuis l'époque grecque et romaine, et en raison de ses qualités écologiques, ce cyprès a été utilisé pour protéger les forêts de la désertification et la conservation des sols dans les régions chaudes avec des sols peu profonds et des sols peu profonds. Le cyprès méditerranéen tolère également les vents salins, il est donc utilisé comme brise-vent côtier. Il a une bonne résistance aux dommages fréquents dus au gel, à l'élagage et au pâturage et convient également comme haie persistante car il se régénère rapidement. (Caudullo et de Rigo, 2016).

*Chapitre 02*  
*Bactériologie*

## 1. Les Bactéries

### 1.1. Historique

En 1673, **Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723)** fut le premier à observer les bactéries qu'il appela animalcules. En plus de la première description des globules rouges et des spermatozoïdes, (**Hachemie et Ruis, 2002**).

Ce drapier hollandais décrivit pour la première fois les différentes formes des bactéries. Ce n'est que deux siècles plus tard que leur étude a commencé et que leur rôle dans les processus de fermentation et dans la transmission a été découvert par des illustres scientifiques de l'époque qui furent **Louis Pasteur et Robert Koch (03 Aout 1857)**.

La date de **1860** marque une ère nouvelle dans l'histoire des Bactéries : ce groupe d'organismes vivants, restait jusqu'alors presque inconnu, va jouer désormais un rôle immense dans l'industrie, la médecine et l'hygiène. (**Renaud, 2005**).

Le **14 Aout 1889**, **Paul Vuillemin** créa le mot antibiose et l'adjectif antibiotique. A la fin du **XIX<sup>e</sup> siècle**, la réalité des infections bactériennes semble au moins établie. Il n'existe pas pour autant de véritable traitements pour combattre les maladies causées par des bactéries. Ainsi, en **1890**, Emil von Behring et Kitasato Shibasaburo annoncent-ils à Berlin la découverte de l'antitoxine diphtérique, qui deviendra dans les années suivantes la base de la sérothérapie toujours en usage aujourd'hui dans le cas de cette maladie (**Latour, 2001**).

De **1940 à 1960**, c'est l'apogée de l'antibiothérapie, de nouvelles substances ont été découvertes et une bonne partie des antibiotiques contre les bactéries utilisées aujourd'hui, sont de cette époque. De plus dès **1947**, la recherche s'accélère et de multiples antibiotiques apparaissent, exemple de l'auréomycine élaboré par Duggar en **1948**, la terramycine inventée par Finlay en **1950**, qui sont issus de l'étude de la streptomycine » (**Benlahsen, 2018**).

**Alexander Fleming (1881-1955)** souligne le phénomène d'antibiose et découvre la pénicilline en **1928**. Il reçoit le prix Nobel de médecine en **1945**, conjointement avec Ernst Boris Chain (**1906-1979**) et Howard Walter Florey (**1898-1968**) (**LM Bush et al, 2019**).

## 1.2. Définition

Les bactéries sont des micro-organismes vivants unicellulaires procaryotes. Elles mesurent quelques micromètres de long (généralement entre 0.5 - 10  $\mu\text{m}$  de longueur) et peuvent présenter différentes formes : des formes sphériques (coques) allongées ou en bâtonnets (bacilles) et des formes plus ou moins spiralées (spirilles). Le poids d'une bactérie est d'environ 10-12 g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec. (**Heart T et al, 2006**).

Les bactéries sont omniprésentes dans la nature : eau - air - sol, sur les végétaux et les animaux .... Chez l'homme il a été calculé que  $10^{12}$  colonisent la peau,  $10^{10}$  colonisent la bouche et  $10^{13}$  colonisent l'intestin. La plupart des bactéries sont inoffensives ou bénéfiques pour l'organisme. Cependant, de nombreuses espèces bactériennes sont pathogènes et sont responsables des maladies infectieuses comme le choléra et la tuberculose (**Chevalier et al, 2008 ; Carlet et al, 2012**).

## 1.3. Structure et composition de la cellule bactérienne

Dans la cellule bactérienne, on peut distinguer des éléments constants « obligatoires » retrouvés chez toutes les espèces bactériennes, et d'autres « facultatifs » qui ne sont présents que dans quelques espèces (**Chevalier et al, 2008 ; Carlet et al, 2012**).

### 1.3.1. Membrane cytoplasmique

C'est une structure interne à l'interface entre le cytoplasme et les structures externes. C'est une membrane trilamellaire formée d'une double couche de phospholipides dont les pôles hydrophobes sont face à face, associés à des protéines. Certaines protéines, les perméases, ont un rôle important dans les échanges. D'autres ont un rôle dans la synthèse du peptidoglycane et sont des protéines de liaison aux pénicillines (PLP ou PBP). D'autres protéines sont des enzymes respiratoires ou impliquées dans la production d'énergie (ATPase). La membrane cytoplasmique ne possède pas de stérols (différente des eucaryotes) (**Guiraud, 2003**).

### 1.3.2. Paroi

C'est une enveloppe rigide assurant l'intégrité des bactéries, et est responsable de leur forme. Elle les protège également des variations de pression osmotique (5-20 atmosphères). Elle est absente chez les Mollicutes (*Mycoplasma*). En dehors des bactéries halophiles et thermophiles, la partie commune à toutes les parois bactériennes est le peptidoglycane (ou muréine), qui est l'enveloppe la plus interne (**Bianchi et al., 2013**).

### 1.3.3. Matériel génétique

Il n'existe pas de sentiment pendant lequel les bactéries et l'avion atomique sa restriction à un chromosome inclassable ou génophore empêché chez le cytoplasme et constitué d'ADN, d'ARN et de protéines. Le chromosome est périphérique, refermé sur lui – même. Il est constitué par un filet continu de gènes et ne contient pas de régions répétitives de prolix dimension. Il peut y finances des charnels successibles extra - chromosomiques plasmides, virus ... etc. Les plasmides sont des structures homogènes formées d'ADN bicaténaire périphérique de dimension et de pesage moléculaire empressé définie. Les plasmides bactériens se répliquent de lippe indépendante par concomitance au chromosome (Guiraud, 2013).

### 1.4. Classification des bactéries

On peut classer et donc identifier les bactéries selon plusieurs critères :

- Morphologie microscopique : bacilles ou allongées en bâtonnet, coques ou rondes, isolées, groupées en deux, en chaînette, en amas ...
- Morphologie macroscopique : forme, taille, couleur des colonies sur culture
- Résultat de la coloration de Gram : à Gram positif ou à gram négatif
- Température de croissance
- Besoins respiratoires : aérobies, anaérobies strictes, aéro-anaérobies facultatives, micros aérophiles
- Mobilité
- Présence de spores
- Besoins nutritionnels : nécessité de substances particulières.

#### 1.4.1. Bactéries à Gram (-)

Les bactéries à Gram négatif sont classées selon la couleur qu'elles prennent après avoir subi un processus chimique appelé coloration de Gram. Elles se colorent en rouge lorsque ce processus est utilisé (LM Bush, 2019).

- *Escherichia coli*

*E. coli* est une bactérie qui se présente sous la forme de bâtonnets allongés (bacille). Elles peuvent provoquer de graves maladies d'origine alimentaire. (Le Minor et al., 1990).

- *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* comprend des bactéries en forme de bâtonnets, aérobies à Gram négatif et mesurant de 2 à 4 µm de longueur. Leur flagelle en assure la mobilité et joue un rôle dans la pathogénicité. *Pseudomonas* peut produire des pigments comme la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine (jaune-vert), fluorescentes (**chaker, 2012**).

#### 1.4.2. Bactéries à Gram (+)

- *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus*, autrement appelé Staphylocoque à coagulase positive, est une bactérie à gram positif. C'est un coccus, de forme arrondie, qui se présente sous la forme de diplocoques (des cocci associés par deux) ou sous la forme d'amas ayant la forme de grappes de raisin (**Ogston, 1984 ; Yves, 2009 ; Somerville, 2016**).

## 2. Les Antibiotiques

### 2.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques à activité antibactérienne qui sont fabriqués par des organismes vivants ou produits par synthèse chimique. Cette activité se manifeste en inhibant ou en altérant certains processus importants chez les micro-organismes. Selon la molécule, sa concentration et le temps de contact avec les bactéries, les antibiotiques peuvent les tuer (effet bactéricide) ou ralentir leur croissance (effet bactériostatique) (**P.G.Guilfoile, 2007**).

### 2.2. Classification des antibiotiques

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères :

- **L'origine** : bio synthétisés par des champignons, des bacilles ou des Streptomyces, ou bien issus du génie chimique.
- **La composition chimique** : dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques.
- **L'activité** : antibactérienne, antifongiques, antimitotiques.
- **Le mode d'action** : différents modes sont envisagés selon l'antibiotique.
- **La modalité d'action** : bactériostatique si l'antibiotique exerce son action par une simple inhibition de la croissance bactérienne ou bactéricide s'il y a mort de la bactérie (**Senhadji, 2019**).

**2.3. Mode d'action des antibiotiques**

Le mode d'action des antibiotiques est, soit bactériostatique empêchant le développement microbien (mode d'action des tétracyclines, pénicols, macrolides), soit bactéricide détruisant les germes (les bêta lactamines, les aminosides, Les polypeptides). Leur mécanisme d'action varie d'un antibiotique à un autre. (**Garnier, 1992 ; Khiati, 1998**).

**2.4. Concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice donne une idée de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Ceci est encore plus prononcé lorsque le CMI est basse. La CMI d'un antibiotique contre les souches étudiées est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe (en milieu liquide ou gélosé) la croissance de toute bactérie visible à l'œil nu après 18 à 24 heures dans une étuve à 36°C(**caquet, 2010**).

**2.5. Concentration minimale bactéricide (CMB)**

La concentration bactéricide minimale est la concentration minimale d'antibiotique qui laisse un petit pourcentage de bactéries viables. Le CMB est secondaire à la détermination de la CMI ; les bactéries survivantes sont comptées à des concentrations d'antibiotiques supérieures à la CMI. (**Woolfrey et al., 1986 ; courvalin et al., 1996**).

**2.6. Résistances aux antibiotiques**

La résistance aux antibiotiques est la capacité des micro-organismes à résister à l'action des antibiotiques. C'est une forme de résistance aux médicaments. Il existe deux types de résistance bactérienne aux antibiotiques :

- **Les résistances naturelles**

Lorsque les bactéries deviennent naturellement résistantes aux antibiotiques, leur patrimoine génétique les rend insensibles à certaines familles d'antibiotiques, et cette résistance est transmise à leur descendance.

- **Les résistances acquises**

De plus, lorsque les bactéries sont traitées avec des antibiotiques, elles finissent par devenir résistantes aux antibiotiques auxquels elles étaient auparavant sensibles. La résistance peut être acquise par mutation chromosomique spontanée suivie d'une sélection par l'utilisation d'antibiotiques, connue sous le nom d'évolution verticale, ou par l'acquisition de matériel

génétique d'autres organismes résistants, connue sous le nom d'évolution horizontale (Opatowski, 2016).

## 2.7. Antibiogramme et méthode des disques

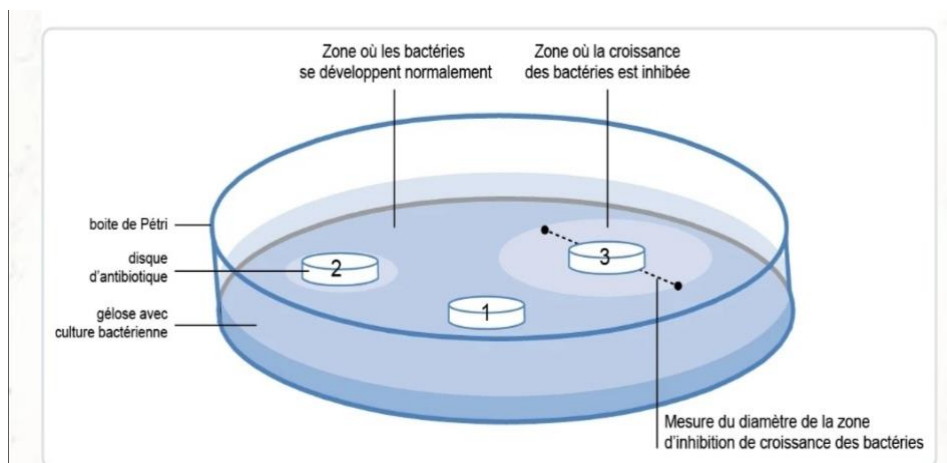
### 2.7.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est un examen de laboratoire visant à déterminer la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. En effet, de nombreuses bactéries sont devenues, avec le temps, résistantes aux antibiotiques. Il n'est donc pas toujours évident de trouver l'antibiotique qui sera efficace pour traiter une souche bactérienne donnée.

En mettant en contact des bactéries (prélevées chez un malade) avec plusieurs antibiotiques, l'antibiogramme permet de voir quels sont les produits qui inhibent la croissance bactérienne et qui seront efficaces pour traiter l'infection (Rubetti, 2021).

### 2.7.2. Méthode des disques

Elle consiste en une diffusion sur milieu solide Sur une gélose qui aura été préalablement ensemencée avec la bactérie à étudier, un support (disque de papier buvard) contenant les antibiotiques (à différentes concentrations) à tester sera déposé par-dessus (Figure 09) (Caron, 2012).



**Figure 09 :** Méthode de disque et l'antibiogramme (Raynaud J., 2006).

Cette méthode permet de réaliser un classement en utilisant la relation entre la concentration minimale inhibitrice (CMI) et le diamètre de la zone d'inhibition. Pour une bactérie et un antibiotique donné, le diamètre mesuré sera comparé aux diamètres critiques, ce qui permettra de classer la bactérie par rapport à un antibiotique précis (Marcel, 2005).



*Deuxième partie*  
*Travail expérimental*

*Chapitre 01*  
*Matériel et méthodes*

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie de l'Université -08 mai 1945 de Guelma. Elle a été divisée en deux parties, dont l'une était consacrée pour l'étude phytochimique de différents extraits d'une plante très répandue dans la wilaya de Guelma « le cyprès » et l'autre pour l'étude de l'activité antibactérienne de ces derniers.

## 1. Matériel

### 1.1. Matériel végétal

Notre étude porte sur différents extraits (aqueux, éthanolique et méthanolique) des feuilles de *Cupressus sempervirens* (Cyprès).

- **Récolte de la plante :** cette plante a été récoltée au niveau de l'Université de Guelma au mois de Mars 2022.

### 1.2. Les souches bactériennes testées

Les différents extraits de plante du cyprès ont été testés sur trois souches bactériennes : les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et les bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Ces souches ont été fournies par le laboratoire de Microbiologie Appliquée (L.M.A) de l'Université de Guelma. Le **tableau 02** présente les différentes propriétés des souches bactériennes testées.

**Tableau02 :** Les références des souches bactériennes testées.

Souche	Pseudomonas aeruginosa	Escherichia coli	Staphylococcus aureus
Référence	ATCC 27853	ATCC 25922	ATCC 25923

## 2. Méthodes

### 2.1. Préparations des différents extraits du cyprès

#### ❖ Préparation de la poudre de plante

Pour préparer les différents extraits de la plante étudiée (*Cupressus sempervirens*), nous avons utilisé des feuilles mures, saines, qu'on a lavé à l'eau du robinet et rincé ensuite avec l'eau distillée stérile. Les feuilles ont été séchées à l'ombre et broyées pour obtenir une poudre.

### ❖ Préparation de l'extrait aqueux

On a introduit 1g de poudre de feuilles de cyprès dans 20 ml d'eau bouillante qu'on a laissé infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat (**Figure : 10**) (**Gerbino, 2006**).

### ❖ Préparation de l'extrait méthanolique

Elle consiste à introduire 1g de poudre de feuilles de Cyprès dans 20 ml de méthanol à 80%, puis laisser macérer pendant 24h. L'extrait obtenu est ensuite filtré à l'aide d'une compresse stérile puis avec du papier Wattman N°2 (**Figure : 10**) (**Gerbino, 2006**).

### ❖ Préparation de l'extrait éthanolique

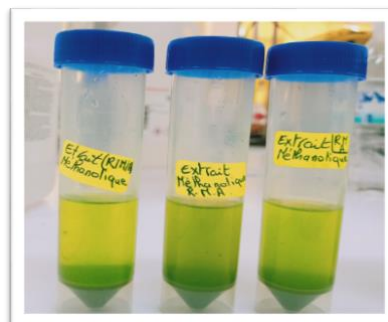
Elle consiste à introduire 1g de poudre de feuilles de cyprès dans 20 ml d'éthanol à 60%, puis laisser macérer pendant 24h. L'extrait obtenu est ensuite filtré à l'aide d'une compresse stérile puis avec du papier Wattman N°2 (**Figure : 10**) (**Gerbino, 2006**).



*Lavage des feuilles*



*Broyage des feuilles sèches*



*Ajout de l'eau ou de l'alcool et filtration*

*Obtention des différents extraits*

**Figure 10** : Photo représentative des étapes de préparation des extraits (éthanolique, méthanolique, aqueux) (**photo personnelle, 2022**)

**2.2. Tests phytochimiques**

Afin de déterminer la composition des extraits obtenus, des tests phytochimiques ont été réalisés en présence de certains réactifs de caractérisation. Il s'agit d'une analyse qualitative basée sur des réactions de coloration et/ou de précipitation pour détecter la présence ou l'absence de certains composés chimiques (**Harborne, 1998**).

Les tests réalisés sont :

**✓ Les Alcaloïdes**

Il existe deux tests d'identification des Alcaloïdes. Ils sont réalisés par des réactions de précipitation soit avec le réactif de Mayer ou bien celui de Wagner. 1ml de l'extrait est divisé en deux volumes égaux. Un Volume est traité par 0,5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc avec le premier réactif ou bien brun avec le deuxième réactif révèle la présence des Alcaloïdes (**Haoulia, 2015**).

Les deux réactifs sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer** : 5g de KI et 1.35g de Hgcl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.
- **Réactif de Wagner** : 2g de KI et 1.27g de I<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

**✓ Les Tanins**

Mélanger 1 ml de la solution à tester avec 2 ml H<sub>2</sub>O et ajouter 2 à 3 gouttes de Fecl<sub>3</sub> (2%). La coloration verdâtre ou bleu - noir indique la présence des tanins (**Edeogal et al., 2005**).

**✓ Les Flavonoïdes**

Traiter 5 ml de l'extrait avec quelques gouttes d'HCl concentré. Ajouter une quantité de tournures de magnésium (laisser agir). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge ou rose (**Edeogal et al., 2005**).

**✓ Les Saponosides**

Introduite 10 ml de l'extrait dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée Agiter pendant 2 min. La formation d'une mousse persistante après 15 mn de repos confirme la présence des Saponosides (**Karumi et al., 2004**).

### ✓ Les Stérois et Triterpènes

Dans un bécher, introduire 5ml de l'extrait à étudier, ajouter 5ml d'anhydride acétique, 5ml de chloroforme et 1 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentré dans la paroi de bécher sans agiter. Laisser reposer 20 min. La formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contacte des deux liquides et une coloration violette de la couche surnageant montre la présence des Stérois et triterpènes (**Karumi et al., 2004**).

### ✓ Les composés réducteurs

Dans un tube à essai, ajouter 1ml de liqueur de Fehling (0,5ml de réactif A et 0,5ml de réactif B) à 1ml d'extrait à tester et incuber l'ensemble 08 min dans un bain marie bouillant. L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Karumi et al., 2004**).

### ✓ Les Coumarines

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube, ajouter 0.5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 25 %, mélanger et observer sous la lampe UV à 366 nm. Une fluorescence intense confirme la présence des coumarines (**Haoulia, 2015**).

### ✓ Les Mucilages

Dans un tube à essai, mélanger 1 ml d'extrait et 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux dans le mélange, indique la présence de mucilages (**Karumi et al., 2004**).

### ✓ Les Terpénoïdes

Dans un tube à essai, additionner à 2 ml d'extrait, 2ml de chloroforme et 2 ml d'acide sulfurique concentré. La présence des terpénoïdes est confirmée par La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase (**Karumi et al., 2004**).

## 2.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

La sensibilité des souches (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*) a été évaluée par rapport à trois types d'extraits (l'extrait aqueux, l'extrait méthanolique et l'extrait éthanolique) issus des feuilles de la plante étudiée. Dans ce but, nous avons utilisé la technique de diffusion en milieu gélosé. Cette méthode est adaptée à l'étude de l'action d'une molécule ou d'un extrait donné sur la croissance bactérienne.

L'activité biologique se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour du disque contenant l'extrait à tester. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle en (mm)(Dulger et Gonuz, 2004 ; Parekh et Chanda, 2007 ; Rota et al, 2008).

➤ **Repiquage des espèces bactériennes**

Les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C afin d'obtenir des colonies jeunes isolées (moins de 24 heures) qui vont servir à la préparation de l'inoculum(Dulger, 2004).

➤ **Préparation de l'inoculum**

Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°C (Gonuz, 2004)

➤ **Préparation des disques des solutions à tester**

Des disques de papier Whatman N°2 de 6 mm de diamètre, stériles (stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés des différents extraits à tester (extraits aqueux, méthanolique et éthanolique de plante étudiée). Des disques imprégnés de méthanol et éthanol purs et d'eau distillée sont également utilisées comme témoin négatif et enfin des disques d'antibiotiques ayant un effet sur chaque bactérie testée ont été utilisés comme témoins positifs (Tableau 03) (Gonuz, 2004).

Les antibiotiques testés			
<i>E.coli</i>	GEN10 : Gentamicine	AMX25 : Amoxicilline	C30 : Chloramphénicol
<i>P.aeruginosa</i>	GEN10 : Gentamicine	P10 : Pénicilline	C30 : Chloramphénicol

<i>S.aureus</i>	GEN10 : Gentamicine	P10 : Pénicilline	VA30 : Vancomycine
-----------------	------------------------	----------------------	-----------------------

**Tableau 03** : Les différents antibiotiques utilisés pour chaque souche testée (**Chanda, 2007**).

➤ **Préparation des milieux de culture**

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi (**Rota et al, 2008**).

➤ **Ensemencement par écouvillonnage**

Des boîtes de pétri stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon ; l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries (**Rota et al, 2008**).

➤ **Application des disques**

À l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable ; pour chaque boîte de bactérie inoculée, 03 disques d'antibiotiques servant comme témoins positifs sont également déposés. Il faut veiller à ne pas chauffer les disques par la pince flambée (**Rota et al, 2008**).

L'expérience devrait être refaite trois (3) fois.

• **Lecture**

La lecture des résultats (l'activité antibactérienne) se fait par la mesure, à l'aide d'un pied de coulisse ou règle en (mm), du diamètre d'inhibition, caractérisé par une zone n'ayant aucune croissance bactérienne autour du disque, après 24 h d'incubation à 37° C. Les diamètres de la zone d'inhibition peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.



- Très sensible (++) : diamètre entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible :(+++): >20mm.

## 2.4. Détermination des paramètres antibactériens

### ➤ Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Ces dernières ont servi à préparer l'inoculum (Moroh et al, 2008).

### ➤ Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien a été préparé à partir de colonies de moins de 24 h en bouillon Mueller Hinton (BMH). Une colonie isolée de la culture bactérienne de chaque espèce utilisée a été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisée dans 10 ml de bouillon nutritif puis portée à l'incubation pendant (3-5) heures à 37°C pour avoir une pré culture. Un volume de 0,01 ml ou 0,1 ml ou 1 ml a été prélevé respectivement pour *P. aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus* et a été ajouté à 10ml de BMH stérile. Cette suspension bactérienne réalisée est évaluée à environ 10<sup>6</sup> cellules/ml et constitue la dilution 100 ou l'inoculum pur (Toty et al, 2013).

### ➤ Préparation de la gamme de concentration des extraits végétaux

La gamme de concentration de l'extrait végétal, a été préparée dans sept tubes à essais numérotés de 1 à 7 par la méthode de la double dilution selon une progression géométrique à raison de 1/2 (Toty et al, 2013).

### ➤ Inoculation

Dans une série de 8 tubes à hémolyse numérotés de C1 à C8, introduire 1ml de BMH concentré deux fois, déjà contaminé par le germe à tester. Ensuite ajouter dans ces mêmes tubes 1ml d'extrait végétal de concentration bien connue selon la gamme de concentrations préparées. Cette répartition d'extrait végétal a été faite de sorte que 1ml d'extrait végétal de 200 mg/ml soit transféré dans le tube C1, le tube C2 recevra 1 ml de 100 mg/ml ainsi de suite jusqu'au tube C7 qui recevra 1ml de la solution à 3,1 mg/ml (Toty et al, 2013). Le tube C8 recevra, au lieu et à la place de l'extrait végétal, 1 ml d'eau distillée stérile qui va servir de témoin de croissance. Dans chacun des tubes contenant déjà 1 ml d'inoculum, ramener la concentration du milieu en extrait végétal à sa moitié. Les sept (7) premiers tubes (de C1 à C7) sont appelés « tubes expérimentaux » et le dernier tube (C8) est noté « tube témoin de croissance ou TC ». Ces tubes chargés sont

incubés à 37°C pendant 24 heures. L'expérience devrait être réalisée trois (3) fois (**Moroh et al, 2008**).

➤ **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est la plus faible concentration de la substance pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h. Sa détermination est réalisée par observation du trouble induit par la croissance des germes étudiés dans chaque tube. La CMI est la plus petite concentration pour laquelle il n'y aura pas de trouble observé à l'œil nu (**Toty et al, 2013**).

*Chapitre 02*  
*Résultats et discussion*

## 1. Criblage phytochimique des différents extraits étudiés

Les tests phytochimique qui ont été réalisés sur les trois extraits préparés (**aqueux, éthanolique et méthanolique**) de la partie aérienne (les feuilles) de la plante de cyprès (*Cupressus sempervirens*), ont permis de mettre en évidence la présence de certains groupes de métabolites secondaires et l'absence d'autres. Les résultats sont récapitulés dans le **tableau 04** suivant :

Les résultats du criblage phytochimique réalisé sur les trois extraits (méthanolique éthanolique et aqueux) de la plante de cyprès (*Cupressus sempervirens*) ont révélé la présence des Tanins, Stérols, triterpènes, Composés réducteurs Terpénoides et Coumarines ainsi que l'absence des saponosides dans tous les extraits de la plante étudiée. Il a été révélé également la présence des alcaloïdes et mucilages seulement dans l'extrait aqueux. Les Flavonoïdes sont été retrouvés uniquement dans les deux extraits éthanoliques et méthanoliques. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Bruneton (1999)** qui a montré la présence et l'absence des mêmes groupes chimiques dans les trois extraits de la plante.

**Tableau 04** : Les résultats du criblage phytochimique des différents extraits du cyprès

Groupes chimiques	Extrait		Extrait aqueux	Extrait éthanolique	Extrait méthanolique
	Réactif				
Alcaloïdes	Mayer		+	-	-
	Wagner		+	-	-
Tanins	FeCl <sub>3</sub>		+	+	+
Flavonoïdes	HCL+Mg		-	+	+
Saponosides	Eau distillé chaud		-	-	-
Stérols et triterpènes	CH <sub>3</sub> Co H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		+	+	+
Composés réducteurs	Fehling	A	+	+	+
		B			
Les coumarines	NH <sub>4</sub> OH		+	+	+
Mucilages	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH		+	-	-
Terpénoides	CHCL <sub>3</sub>		+	+	+
	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>				

(-) : indique l'absence

(+) : indique la présence

## 2. Étude de l'activité antibactérienne

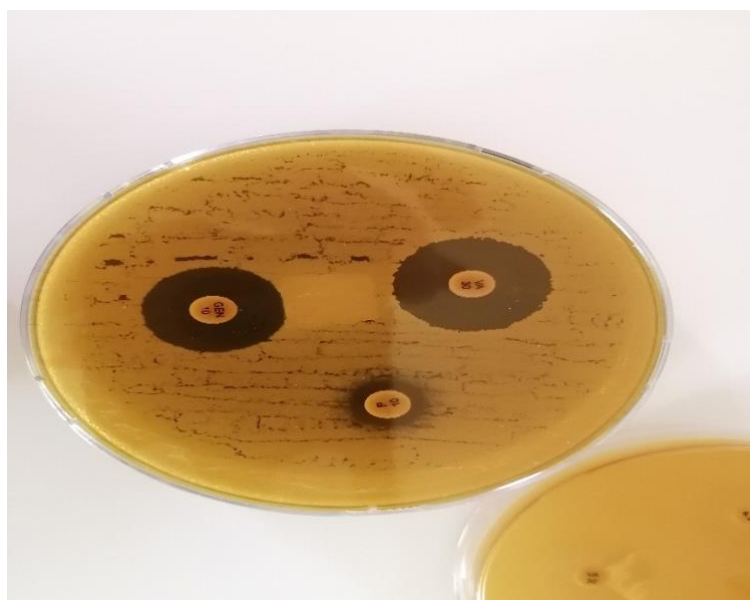
### 2.1. *Escherichia coli*

#### ❖ Sensibilités aux antibiotiques

Selon le tableau le **tableau 05**, nous remarquons qu'*Escherichia coli* manifeste une forte sensibilité vis-à-vis des antibiotiques utilisés (Amoxicilline, Chloramphénicol et Gentamicine) avec un diamètre d'inhibition respectivement de 25mm, 29mm et 35mm.

**Tableau 05** : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur *E. coli*.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
AMX25 : Amoxicilline	Extrêmement Sensibles	25
C30 : Chloramphénicol	Extrêmement Sensibles	29
GEN10 : Gentamicine	Extrêmement sensibles	35



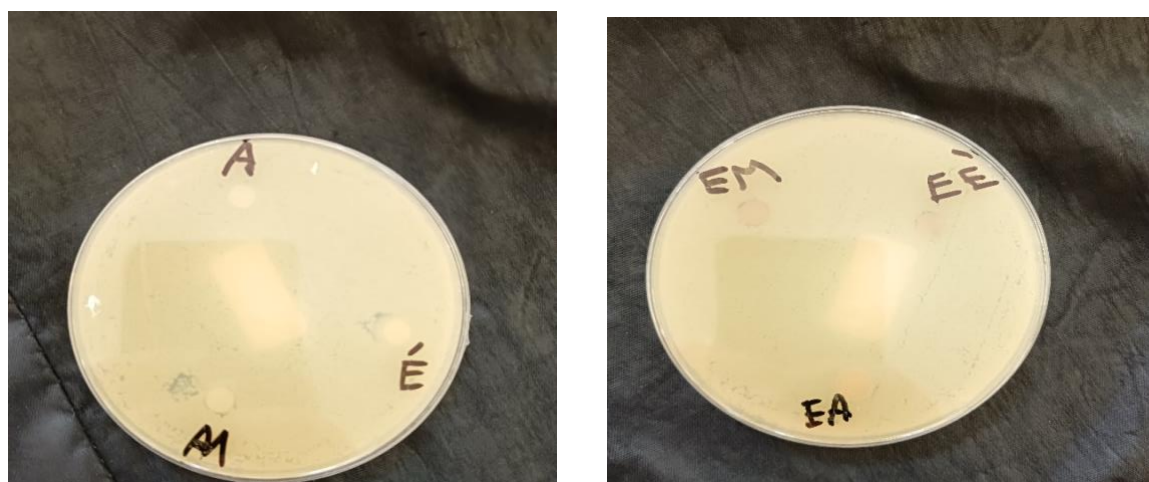
**Figure 11** :L'antibiogramme de la souche E coli.

## ❖ Sensibilités aux extraits

D'après les résultats obtenus dans le **tableau 06** et la **figure 12**, nous remarquons que les extraits n'ont eu aucun effet sur la souche *Escherichia coli* et cette dernière manifeste une résistance vis-à-vis de tous les extraits de plantes testées. Nos résultats ne s'accordent pas avec ceux d'**Amara et Boughérara (2017)**, qui ont étudié l'effet antibactérien des huiles essentielles de cyprès vis-à-vis de la même souche bactérienne.

**Tableau 06** : La sensibilité d'*E. Coli* vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrait Aqueux	Résistante	00
Extrait éthanolique	Résistante	00
Extrait méthanolique	Résistante	00
Méthanol	Résistante	00
Éthanol	Résistante	05
L'eau distillée	Résistante	00



**Figure12** : Effet des extraits de la plante étudiée sur la souche *E. coli* (EA : extrait aqueux, EE : extrait éthanolique, EM : extrait méthanolique : éthanol, M : méthanol, A : eau distillée).

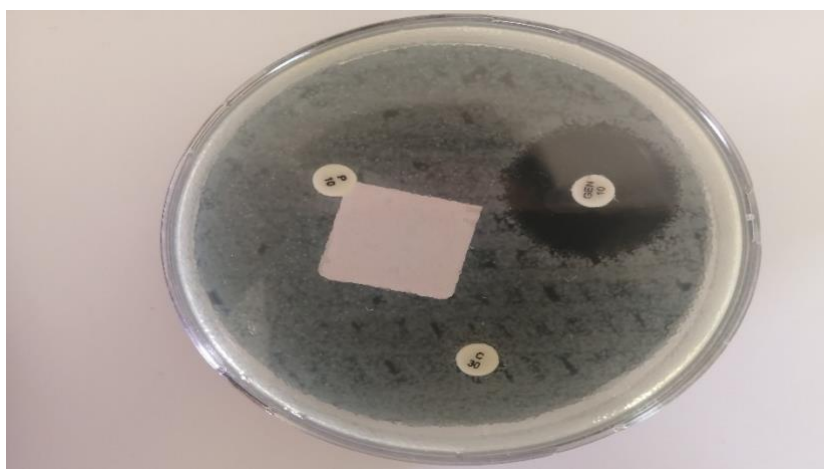
## 2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

### ❖ Sensibilités aux antibiotiques

Les résultats du **tableau 07** et la **figure 13**, montrent que la bactérie *P. aeruginosa* manifeste une forte sensibilité seulement à l'antibiotique du chloramphénicol (diamètre d'inhibition de 22mm) et une résistance vis à vis de la pénicilline-G et de la Gentamicine.

**Tableau 07** : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur *P. aeruginosa*.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
P10 : Pénicilline-G	Résistante	00
C30 : Chloramphénicol	Très sensible	22
GEN10 : Gentamicine	Résistante	07



**Figure 13** : L'antibiogramme de la souche *P.aeruginosa*.

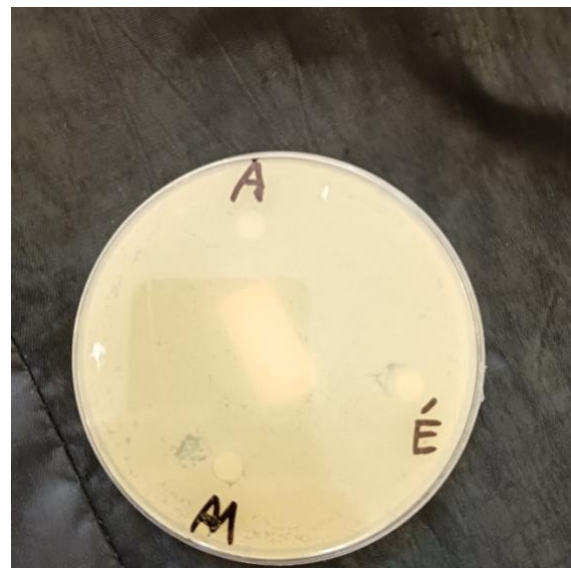
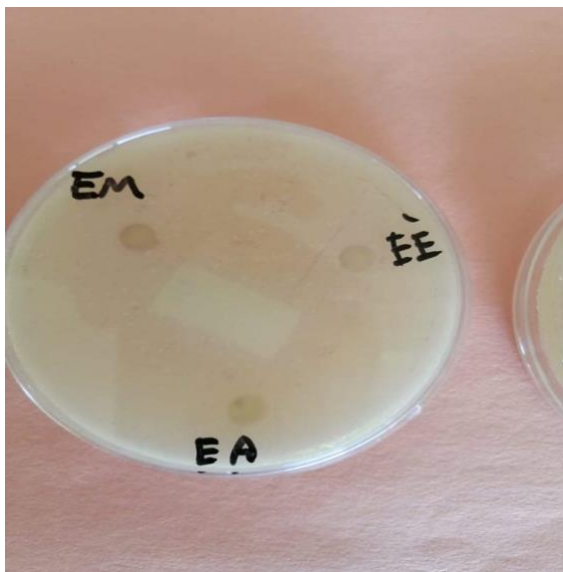
### ❖ Sensibilités aux extraits

Les résultats obtenus dans le **tableau 08** et la **figure 14** montrent que les extraits de plantes testées n'ont eu aucun effet sur *Pseudomonas aeruginosa*. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Amara et Boughérara (2017), qui ont étudié l'effet antibactérien de l'huile essentielle du cyprès vis-à-vis de la même souche bactérienne.



Tableau 08 : La sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis des extraits testés

Les extraits	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
Extrais aqueux	Résistante	00
Extrait éthanolique	Résistante	00
Extrait méthanolique	Résistante	00
Ethanol	Résistante	04
Méthanol	Résistante	00
L'eau distillée	Résistante	00

Figure14 : Effet des extraits de la plante étudiée sur *P. aeruginosa*.

(EA : extrait aqueux, EE : extrait éthanolique, EM : extrait méthanolique, E : éthanol,

M : méthanol, A : eau distillée)

2.3. *Staphylococcus aureus*

## ❖ Sensibilités aux antibiotiques

Selon le **tableau 09** et la figures 15, nous remarquons que *Staphylococcus aureus a* une grande sensibilité vis-à-vis de la Vancomycine et la Gentamicine et une sensibilité moyenne a la pénicilline-G avec des diamètres de la zone d'inhibition qui sont respectivement de 23mm, 20mm et 12mm.

**Tableau 09** : Les diamètres d'inhibitions des antibiotiques testés sur *Staphylococcus aureus*.

Les antibiotiques	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
VA30 : Vancomycine	Très sensible	23mm
GEN10 : Gentamicine	Très sensible	20mm
P10 : Pénicilline-G	Sensible	12mm



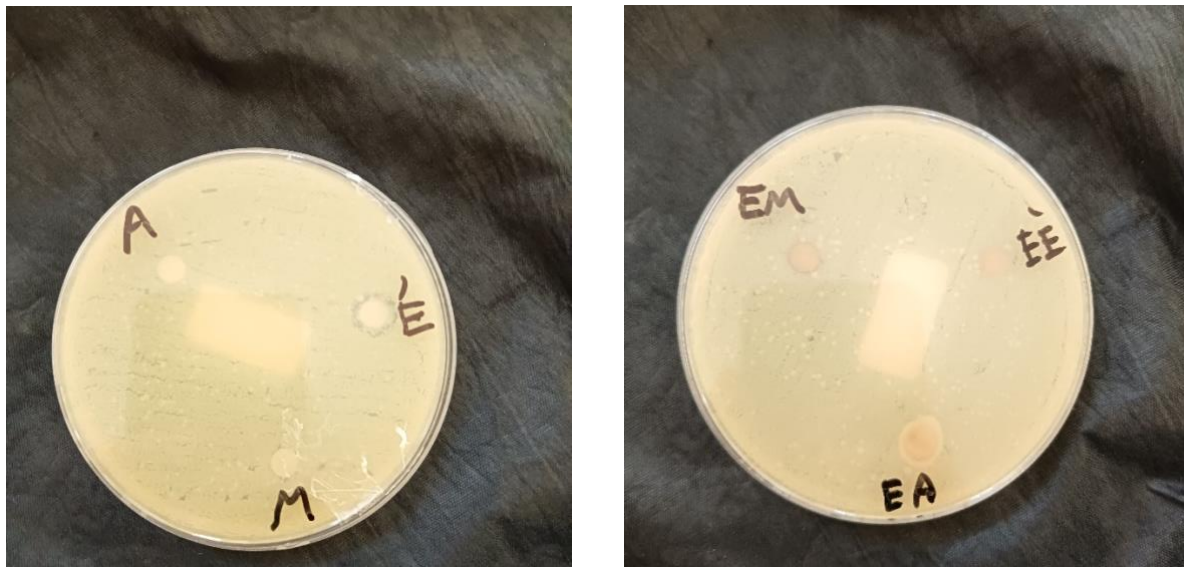
**Figure 15** :L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

## ❖ Sensibilité aux extraits

Comme les deux autres souches étudiées Nous remarquons avec intérêt que les extraits de la plante n'ont eu aucun effet sur *Staphylococcus aureus* (souche résistante). Cette même constatation a été retrouvée par **Amara et Boughérara(2017)**, qui ont étudié l'effet antibactérien de l'huile essentielle *de cyprès* vis-à-vis de la même souche.

Tableau10 : La sensibilité de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis des extraits testés.

Les extraits	Sensibilité	Inhibition Ø (mm)
<i>Extrais aqueux</i>	Résistante	00
<i>Extrait éthanolique</i>	Résistante	00
<i>Extrait méthanolique</i>	Résistante	00
<i>Ethanol</i>	Résistante	03
<i>Méthanol</i>	Résistante	00
<i>L'eau distillée</i>	Résistante	00

Figure16 : Effet des extraits de la plante étudiée sur *P.aeruginosa*.

(EA : extrait aqueux, EE : extrait éthanolique, EM : extrait méthanolique : éthanol  
M : méthanol, A : eau distillée).

- Nous pouvons conclure que la plante étudiée n'a eu aucun effet sur les souches bactériennes testées. Cela peut être dû à la période pendant laquelle le cyprès a été récolté, ou bien que les concentrations en principes actifs trouvés dans les extraits de plantes sont faibles (**macheix et al, 2005**). De nombreuses aussi ont démontré les effets des croûtes biologiques du sol sur le Développement et productivité de la biomasse. En général, Les effets du sol sur les plantes sont liées au climat, à l'environnement et sol local (**Zhang et al., 2016**).

### ✓ **La concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Les extraits de la plante étudiée (éthanolique, méthanolique et aqueux) n'ont eu aucun effet antibactérien. C'est pour cela que la CMI n'a pas été réalisée.

*Conclusion et  
Perspectives*

### Conclusion

Le cyprès est une plante utilisée depuis l'antiquité dans divers traitements médicaux et cosmétiques. Le criblage phytochimique des différents extraits de la plante a révélé la présence de Tanins, Stéroïdes, Triterpènes, Composés réducteurs, Coumarines et terpénoïdes et l'absence totale de Saponosides. Les Alcaloïdes et les Mucilages ont été retrouvés uniquement dans l'extrait aqueux. Quant aux Flavonoïdes ils sont présents uniquement dans l'extrait éthanolique et méthanolique. Nos résultats ont révélé que les différents extraits de plante n'ont eu aucun effet sur les bactéries testées.

En perspectives, on peut :

- Tester les extraits de la plante sur d'autres souches bactériennes
- Préparer des concentrations plus élevées en poudre de plante
- Refaire plusieurs fois les tests et faire une étude statistique
- Tester les huiles essentielles du Cyprès

### Résumé

Le cyprès est considéré comme l'une des plantes les plus populaires grâce aux différentes propriétés qu'elle possède (propriétés médicinales, pharmacologiques et cosmétologiques). et pour chercher les composantes actifs exemplaires, nous avons fait un test sur la plante de cyprès qui a été récoltée à partir de région de l'Est algérien – dans la région de la faculté de Guelma dans le mois de Mars 2022.

Plusieurs extraits des feuilles de cette plante ont été préparés (extraits aqueux, éthanolique et méthanolique) pour être testés sur des souches à Gram positif (*S.aureus*) et à Gram négatif (*E.coli* et *P. aeruginosa*). Cependant, il semblerait qu'au extraits ne possède une activité antibactérienne, malgré ce qu'ils constitués de plusieurs principes actifs ayant un potentiel antibactérien tels que les Tanins et Alcaloïde des Flavonoïdes, Coumarines, Stéroïls et Tréterpènes, Composé-réducteurs.

**Les mots clés :** Cyprès, extraits de plantes, Bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

### ملخص

يعتبر السرو من أحد النباتات الشائعة منذ القدم لامتلاكه العديد من الخصائص في مجالات مختلفة (في مجال الطب التقليدي والصيدلي والتجميلي) وللبحث عن المكونات النشطة النموذجية قمنا بأخذ عينة من أوراق السرو التي تم حصاده من المنطقة الشرقية للجزائر في منطقة جامعة قالمة شهر مارس 2022 وتحضير عدة مستخلصات منها (مستخلص إيثنولي، مائي وميثانولي) ليتم اختبارها على سلالات بكتيرية (Gram positif (S. و Gram négatif (E.coli et P. aeruginosa). (S. aureus) مع ذلك يبدو ان المستخلصات لا تمتلك نشاطا مضادا للبكتيريا ,على الرغم من حقيقة انها تتكون من العديد من المكونات النشطة ذات الامكانية المضادة للبكتيريا مثل (Tanins et Alcaloïde des Flavonoïdes, Coumarines, Stérols et Tréerpènes, Composé-réducteurs) و غياب Saponosides و من ناحية أخرى عدم وجود Mucilage وAlcaloïdes في المستخلصين الميثانولي والإيثانولي.

**الكلمات المفتاحية:** السرو، النشاط المضاد للبكتيريا، المستخلصات النباتية، بكتيريا *Escherichia coli*، بكتيريا *Staphylococcus aureus*، بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*.



### Abstract

Cypress is considered one of the most popular plants thanks to the different properties it has (medicinal, pharmacological and cosmetological properties). And to look the exemplary active components, we did a test on the cypress plant which was harvested from the eastern region of Algeria- in the region of faculty of Guelma in the month of March 2022. Several extracts from the leaves of this plant have been prepared (aqueous, ethanolic and methanolic extracts) to be tested on Gram-positive (*S.aureus*) and Gram-negative (*E.coli* and *P. aeruginosa*) strains. Only the extracts have antibacterial activity, despite the fact that they consist of several active ingredients with antibacterial potential such as Tannins and Alkaloids of Flavonoids, Coumarins, Sterols and Treterpenes, Compound-reducers.

Key words: Cypress, plant extracts, Bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*)

## L'Annexe

---

### L'annexe

#### 1. Solution Méthanol à 80%

- Méthanol 98%.....48ml
- Eau distillé stérile.....12ml
- 48ml de méthanol pur sont ajoutés à12 ml d'eau distillé.

#### 2. Réactif Wagner 0,5ml

- KI.....2g
- I2.....1,27g
- Eau distillé stérile.....100ml
- Hcl.....5ml

#### 3. Réactif Mayer 0,5ml

- KI.....5g
- Hgcl2.....1,38g
- Eau distillé stérile.....100ml

#### 4. Fehling 3ml

- Réactif A.....1.5ml
- Réactif B.....1.5ml

#### 5. Mg .....0,9g

#### 6. C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>CO.....15ml

#### 7. cHcl3.....21ml

#### 8. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>..... 9ml

#### 9. NH<sub>4</sub>OH 25%..... 1.5ml

#### 10. éthanol pure..... 25ml

#### 11. Méthanol pure.....10ml

#### 12. Eaudistillé.....10ml

#### 13. Eau physiologique stérile.....30ml

#### 14. Gélose nutritif.....1 flacon

#### 15. Gélose Mueller Hinton(MH).....4 flacon

#### 16. Les Antibiotiques utilisée

- Amoxicilline(AMX25) ; Gentamicine(GEN10) ; Pénicilline -G(P10) ; Vancomycine (VA 30).

### 17. Criblage phytochimique

- Les Stérols et triterpènes

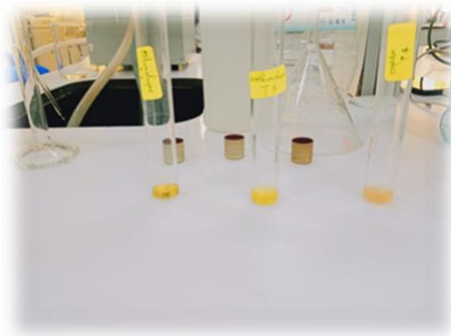


Avant

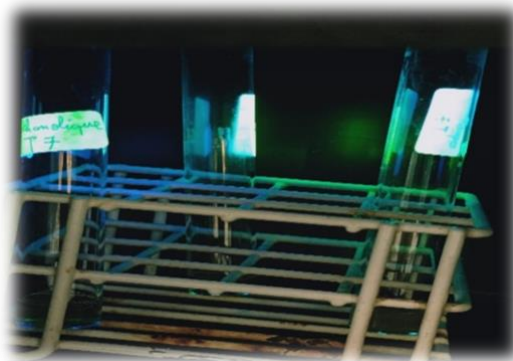


Après

- Les coumarines



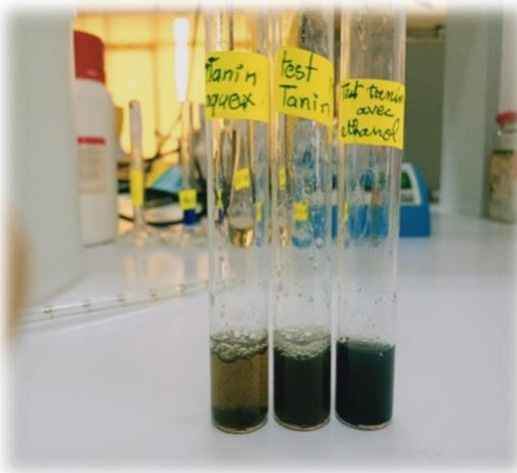
Avant



Après

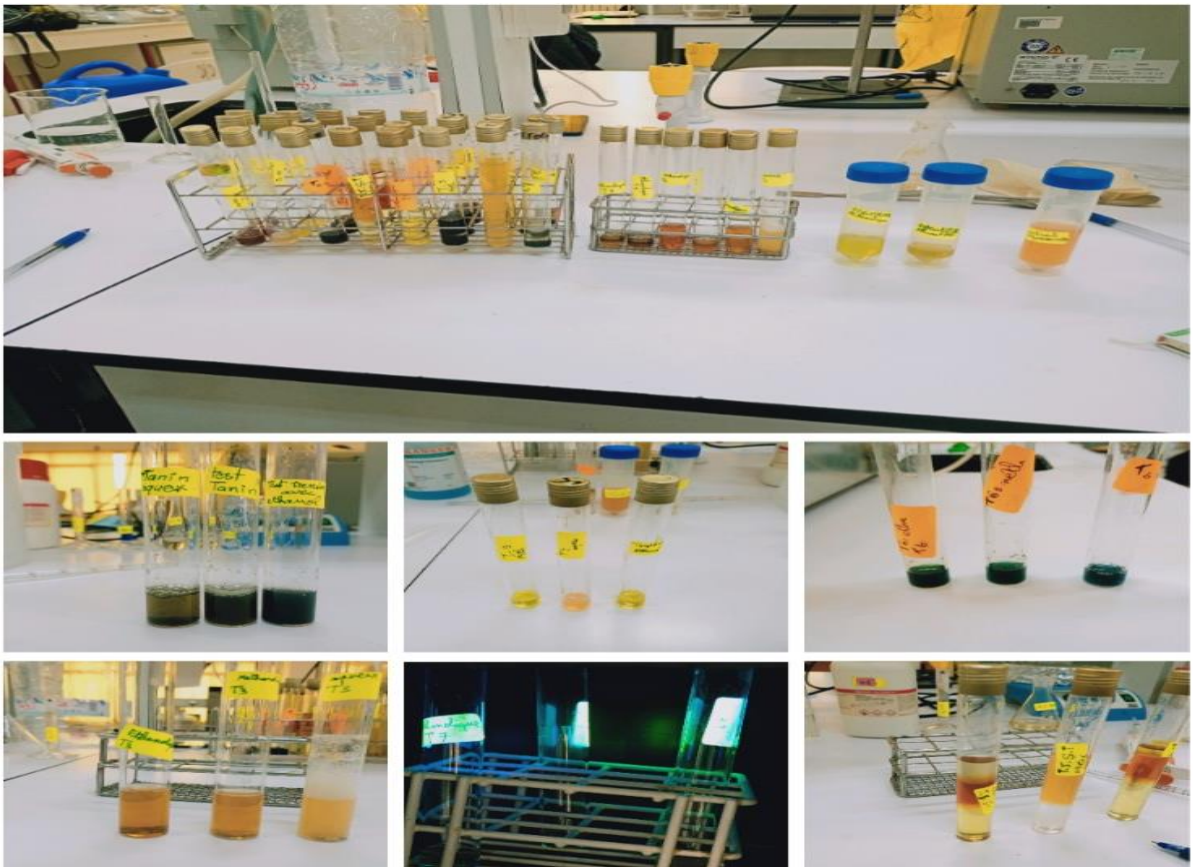
## L'Annexe

- Les Tanin :



Avant

Après



**Figure :** Résultat des Criblage Phytochimique sur les trois extraits

18. Les souches bactériennes utilisées



*Escherichia coli*

*Pseudomonas aeruginosa staphylococcus Aureus*

## Les Références

---

### *Les références :*

1. **AL-snafiEsmail A., 2016.** « *Medical importance of cupressus sempervirens- Areviews* », IOSR.Journal of pharmacy, vol : 6, Version : 2(June2016), pp.66-76.
2. **Amara N., Boughérara Y., 2017.** Activité Antimicrobienne de l’Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus Sempervirens L.*). *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2) : 455-462.
3. **ARFAOUI N., 2002** –Etude de comportement des Cyprès dans les arboretums. Mémoire de fin d’études du cycle de technicien supérieur. ISPT. Tabarka, 54p.
4. **Association nationale de consommateurs et usagers CLCV. (15 mars 2016).** Journée mondiale des droits des consommateurs 2016 Antibiotiques : halte aux mauvaises pratiques.
5. **Becker M., Picard J. F., Tibai J., 1982.** - “ la rousse des arbres de arbustes de l’Europe Occidentale ”, Ed : Larousse, Paris, p 330.
6. **Ben Nouri A., Dhifi W., Bellili S., Ghazghazi H., Aouadhi Ch., Chérif A., Hammami M., Mnif W, 2015.** “Chemical Composition, Antioxidant Potential, and Antibacterial Activity of Essential Oil Cones of Tunisian *Cupressus sempervirens*”. HindawiPublishing Corporation, *Journal of Chemistry*, p: 1-8.
7. **BENJAMAA M. L., 2004** – Dépérissement d’arbres forestiers (*Cyprès, Eucalyptus, Pins*) dans le Golf de Carthage. Rapport de tournée, Tunisie, p3.
8. **BENLAHSEN, S., (2018).** Acquisition bactérienne des gènes de résistance aux antibiotiques.
9. **Bouyahyaoui A., 2017.** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l’Atlas algérien. Thèse Pour l’obtention du diplôme de Doctorat en Sciences biologique. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 89p.
10. **Brofas G., Karetos G., Dimopoulos P., Tsagari C., 2006.**The natural environment of *cupressus sempervirens* in Greece as basis for its use in the mediterranen region. *Land DegradDevelop.* 17-659.
11. **Bruneton J, (1999).** ‘Pharmacognosy ; phytochemistry and medicinals plants’, technique, documentation, Pris, ,1119.e.
12. **Bruno Latour, Pasteur :** guerre et paix des microbes, La Découverte, 2001.

## Les Références

---

13. **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A Functional. (1995).** Classification scheme for Beta-lactamase and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents Chemother*, 39:1 211 -1 233.
14. **Caquet (2010)** .response to canopy opening does not act as a filter to *Fagussylvatica* and *Acer sp.* advance regeneration in a mixed temperate forest. *Annals of Forest Science*, 67(1), 105.
15. **Carlet, J., C. Rambaud, and C. Pulcini. (2012).** Alliance contre les bactéries multi résistantes : sauvons les antibiotiques ! *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 31(9) : p. 704-708.
16. **Caudullo G., de Rigo D., 2016.**cupressus sempervirens in Europe: distribution, habitat, usage and threats.*European Atlas of Forest Tree Species*, 3:87-89.
17. **Cherief I., Ben Jannet H., Hammami M., Gannoun S., 2006.** « *Composition chimique de l'huile Essentielle des cône du cupressus sempervirens.L.* » poussant en Tunisie, *Journal de la société Algérienne de chimie*, 16(1), pp 91-98.
18. **Chevalier J, Mulfinger C, Garnotel E, Nicolas P, Davin-Régli A, Pagès JM. (2008 Sep 12).** Identification and evolution of drug efflux pump in clinical *Enterobacteraerogenes* strains isolated in 1995 and 2003. *PLoS One*, 3(9) : e3203.
19. **CMIT.** Tableau des principales bactéries. In: E.PILLY: Vivactis Plus Ed; 2014 p 251.
20. **Définition de l'antibiogramme, (Août 2015),** Retrievedfrom : [passeportsante.net](http://passeportsante.net)
21. **Définition, Classification EtNomenclatureDesBactérie, 2012,** Retrievedfrom : [Microbes-edu.org](http://Microbes-edu.org).
22. **Dulger B and Gonuz A, (2004).** Antimicrobial activity of some Turkish medicinal plants. *Pakistan journal of biological sciences*. 7 (9): p1559-1562.
23. **EdeogalH.O., OKwu D. ET MbaebieB.O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants.*African Journal of biotechnology* Vol 4(7); p: 685-68.
24. **François Renaud,Willyhansen et Jean Freney,** Dictionnaire des précurseurs en bactériologie : les grands savants de l'infiniment petit. Editions Eska, 2005 ;
25. **Freydiere, A.M. ; Gille, Y.; Marcel, J.P.; Vincent, P. (1979).** Activité des Nitroimidazoles sur *Clostridium perfringens*. *CMI et CMB de cinq Antibiotiques : Métronidazole, Tinidazole, Ornidazole, Nimorazole et Ternidazole.* , 9(10), 533–537.
26. **Garnier D, (1992).** Dictionnaire des termes de médecine. Editions Maloine, Paris.
27. **Gaubau P et Pellegrims E. 2000.**Repères en microbiologie, Edition Garant. P : 391.
28. **Glossaire de bactériologie, 2012,** Retrievedfrom : [Microbes-edu.org](http://Microbes-edu.org)

## Les Références

---

29. **Goulet O.** La flore intestinale : un monde vivant à préserver. Journal de pédiatrie et de puériculture (2009) 22, 102—106.
30. **Haoulia A, (2015).** Tests phytochimiques, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphénols totaux extrait de la partie aérienne d'*Ammoidesverticillata* mémoire des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers Département de biologie : université aboubekrbelkaid, tlemcen, p23
31. **Harbone J, (2008).**Phytochemical methods .A guide to modern technique of plants analysis .Third Edition.25p.
32. **Heart T. Shears P.** Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences-Flammarion. 2006.
33. **Jean-Pierre Dedet (préf. Luc Montagnier),** La Microbiologie, des origines aux maladies émergentes, **Dunod, 2006.**
34. **JP. Flandrois.** Bactériologie Médicale. CollAzay. Puf. 2000.
35. **Karumi Y., Oneyjili PA et Ogugbuaja VO, (2004).**identification of active principles of *M balsamina*(balsam apple) leaf extract.J Med sci 4 : 179- 182p.
36. **Kassem F.F., Harraz F.M., El-Sebakhy N.A., 1991.** “Composition of the Essential Oil of Egyptian *Cupressus sempervirens* L. Cones”, Flavour and fragrance journal, vol: 6, pp. 205-207.
37. **Khan M. F, Ahmad T, Rawat P, 2017.** Biomedicinal and chemical profile of *Cupressus sempervirens*-A Mini Review. Insights Biomed, 2 (3):16.
38. **Khiati M, (1998).** Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
39. **Koreim K., 2009. Lead toxicity and the protective role of *Cupressus sempervirens* seeds growing in Egypt. Rev. Latinoamer. Quím, 37 (3):230-242.**
40. **LM Bush, E Charles** - Présentation des bactéries, (2019), Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University.
41. **.Mami, A. (2013).**Recherche des bactéries lactiques productrices de bacteriocine large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaire en Algérie.These de doctorat. University d'Oran :19.
42. Macheix, J.J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des Végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR Presses polytechniques, 192 p.
43. **Marcel JP.** L'antibiogramme et son impact médical. Antibiotiques 2005 ; 7 : 53-58
44. **Morgane Rubetti, 2021,** Antibiotogramme : interprétation, technique, quand le faire ? Retrieved from : [journaldesfemmes.fr](http://journaldesfemmes.fr).



## Les Références

---

45. **Moroh, J., Bahi C., Dje K., Loukou Y and Guede-guina F, (2008).** Study of the antibacterial activity of Morindamorindoides (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of Escherichia coli strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.
46. **Nichane N., 2015.-** Contribution à l'étude du dépérissement du Cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen). Département d'Ecologie et Environnement. Université Tlemcen. Algérie. Pp : 22-26.
47. **P.G.Guilfoile(2007),** Antibiotic-resistant bacteria. Chelsea house.
48. **Philip P.Gerbino.**The science and practice of pharmacy. *American journal of pharmaceutical education* 2006, 70-71.Avaibleon:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1636967/>
49. **Rawat.R. Kumar R., Mutande T., Bux F., 2011.** « Dual role of microalgae phytoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production », *Applied Energy*, Vol: 88, n°10, pp.3411-3424.
50. **Raynaud J., 2006.** Prescription et conseil en aromathérapie. Edition TEC et DOC, Lavoisier,
51. **Résistance aux antibiotiques Un phénomène massif et préoccupant, (11/07/2017)**  
**Retrieved from : inserm.fr**
52. **Résistance aux antibiotiques, (31 juillet 2020), WHO.int.**
53. **Riom .C. (2010).** *Le cupressus sempervirens et l'approche du concept du polinier sentinelle Nantais.* Faculté de pharmacie. Université de Nantes. France. Pp : 3-79.
54. **Rota M., Herrera A., Martinez R., Soto Mayor J and Jordán M, (2008).**Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, 19: 681-687.
55. **Sebban B., Khaldi M., 2019.** Quelques composés secondaires isolés à partir des plantes de la famille de Cupressacée (*Cupressus sempervirens*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus communis*) : extraction, caractérisation et activité antibactérienne. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme master. Université Ali Mohand Oulhadj – Bouira, faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, 67p.
56. **Senhadji I. (2019).**Cours de pharmacologie. Les antibiotiques : Généralités. Faculté de médecine. Université Oran 1. 38p.
57. **Seni, J., Mapunjo, S. G., Wittenauer, R., Valimba, R., Stergachis, A., Werth, B. J., Saitoti, S., Mhadu, N. H., Lusaya, E., & Konduri, N. (2020).** Antimicrobial use across

## Les Références

---

- six referral hospitals in Tanzania: A point prevalence survey. In *BMJ Open* (Vol. 10, Issue 12). BMJ Publishing Group.
58. **Shahali Y., Sutra J.P., Peltre G., Charpin D., Sénéchal H., Poncet P ; 2010** IgE Reactivity to common Cypress (*C. sempervirens*) pollen Extracts : Evidence for Novel Allergens. *WAO Journal*. 3:229-234.
59. **Tumen I., Süntar I., Keleş H., Küpeli Akkol E., 2012. A therapeutic approach for wound healing by using essential oils of *Cupressus* and *Juniperus* species growing in Turkey. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2012:1-7.**
60. **Toty A., Guessennd N., Bahi C., Kra A., Otokore D and Dosso M, (2013).** Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harunganamadagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistante. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, p : 12 – 21.
61. **Woolfrey BF, Lally R T et Tait K R, (1986).** Influence of technical factor variations on serum inhibition and bactericidal titers. *J Clin Microbiol*, 23, 997.
62. **Zhang, H., Zdolsek, J.M., Brunk. U.T.. (2016).** Alloxan cytotoxicity involves lysosomal Dégâts. *APMIS acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 100 (4): 309-16.