

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE

Faculté des science et de la technologie

Département de biologie



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

Dans le cadre de la décision 1275 : Diplôme – Stratup

Spécialité : microbiologie et contrôle de qualité

Intitulé

Spray désinfectant naturel à base des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata*

Présenté par :

BENSAIDA Imane Nassrine

GRINE Fatima Zohra

GHOULIMI Ikram

Devant les membres de jury :

Président : Mr BENTAALLAH Mohamed El Amine

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

Encadrant : Mr SI MOHAMMED Abdesslem

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

Examineur : Mr DJELLOULI Mustapha

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

Représentant de l'incubateur : Mme OUCIF Hanane

Maître de conférences (B) (U. Relizane)

Représentant du partenaire économique : Mr

(Etablissement / adresse)

Année universitaire : 2024/2023

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Allah d'être notre meilleur confident, de nous avoir guidés, et de nous avoir donné la volonté et la force de surmonter toutes les difficultés pour réaliser ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à notre encadreur, **M. SI MOHAMMED Abdesslem**, pour avoir accepté de superviser notre travail. Son dévouement, ses précieux conseils, ses encouragements et sa patience ont été d'une grande aide pour nous.*

*Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à tous les **membres du jury**. Leur expertise et leur impartialité vont grandement enrichir la qualité de notre travail. Nous sommes profondément reconnaissants pour le temps et l'effort qu'ils vont consacrer à cette tâche importante.*

*Nos sincères remerciements vont à **M. HOURI Hadj Habib** pour ses précieuses orientations et éclaircissements. Nous souhaitons également remercier chaleureusement **le personnel du laboratoire**, votre collaboration et votre assistance ont été inestimables pour mener à bien ce travail.*

Nos remerciements vont également à l'ensemble de la famille de la faculté des sciences et de la technologie : les enseignants, les étudiants, les administrateurs et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes chers parents :

À mon père qui m'a toujours encouragé et soutenu, et à ma mère, la femme qui n'a ménagé aucun effort pour répondre à mes besoins et me satisfaire, je vous adresse toute ma gratitude.

À mes sœurs :

Inès et Ilham

À Mes frères :

Mohamed Bachir et Abdelkader

À tous les membres de ma famille

Mes oncles et mes tantes

À mes cousines :

Zahira, Chaimaa, Naïma, Fatma, Barda, Ikram et Souria.

À Toutes mes amies.

Imane Nassrine

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*À mes chers parents : Vous êtes la source de mes joies et les secrets de ma force. Vous serez toujours un modèle pour moi. **Papa**, tu es un exemple de détermination, de force et d'honnêteté. **Maman**, ta bonté, ta patience et ton dévouement pour moi sont admirables. Je vous remercie pour tous vos sacrifices afin que vos enfants puissent grandir et prospérer. Merci de travailler sans relâche, malgré les difficultés de la vie. Je suis reconnaissante d'avoir des parents comme vous.*

C'est à vous que je dois ce travail, et je suis fière de vous l'offrir.

À mes frères et ma sœur :

Ismail, Abed EL Nour, Mohammed Islam et Sabrine, à travers ce travail, je tiens à vous exprimer mes sentiments de fraternité et d'amour.

À mes meilleures amies :

Chaimaa, Hadjoub, Rabha, votre présence constante à mes côtés, surtout dans les moments les plus éprouvants, est une source de réconfort inestimable.

À tous mes copines :

Fatima, Houda, Marwa, Zobida, Chaimaa, Kheira.

À Imane Nessrine et Fatima Zohra :

C'est avec une immense gratitude que je m'adresse à vous pour vous exprimer ma profonde reconnaissance pour votre contribution inestimable tout au long de la réalisation de notre mémoire de fin d'études.

Ikram

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec une grande affection

*À celui qui m'a apporté de la bonté et de l'espoir, à la source d'amour inconditionnel, à mon grand-père **GRINE Mohamemed**.*

*À celle qui a été mon soutien dans la vie, celle qui m'a soutenu et guidé vers la réussite, ma maman **ELARBI DAOUAGI Fatma**.*

À mes chères frères : Tayeb, Ahmed, Habib et Sedik

À mes sœurs : Yamina, Aisha et Dalal

À ma chère tante : Zina

À mes belles sœurs : Samia, Mouna et Fatiha

À mes meilleures amies : ZINE Lobna, HADJAZ Nessrine et HAJOUT Imen

À Imen Nesrine et Ikram :

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour votre précieuse contribution tout au long de la réalisation de notre mémoire de fin d'études.

À tous ceux qui m'ont soutenu et donné de l'espoir et de la volonté.

Fatima Zohra

ملخص

يُعتبر العرعار البربري (*Tetraclinis articulata*) شجرة صنوبرية تنمو بشكل رئيسي في شمال أفريقيا، وبخاصة في الجزائر. لقد قمنا بدراسة تهدف إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات للزيوت العطرية المستخرجة من أوراق شجرة العرعار البربري التي جُمعت في منطقة زمورة، ولاية غليزان. يُعتبر معدل الاستخراج مقبولا، حيث بلغت قيمته 0.208%. بالإضافة إلى ذلك، تُظهر هذه الزيوت العطرية نشاطا مضادا جيدا ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة، مثل *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae*، مع تباين قطر مناطق التثبيط حسب السلالة المختبرة. كما تُظهر الزيوت العطرية نشاطا ممتازا مضادا للفطريات تجاه السلالتين المختبرتين، وهما *Fusarium sp*. و *Alternaria sp*. مع معدلات تثبيط متزايدة تصل إلى 100%.

تُبرز النتائج المتحصل عليها الخصائص الواعدة للزيوت العطرية المستخرجة من العرعار البربري كعامل مضاد للميكروبات، مما يمكن أن يكون له تطبيقات مهمة في مختلف المجالات مثل صحة الإنسان. وبالتالي، يمكن النظر في تطوير بخاخ معقم يعتمد على هذه الزيوت العطرية.

الكلمات المفتاحية: *Tetraclinis articulata*، زيت عطري، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للفطريات، بخاخ، معقم.

Résumé

Le Thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) est un arbre conifère qui pousse principalement en Afrique du Nord, notamment à l'en Algérie. Nous avons entrepris une étude visant à évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles de *T. articulata*, récoltées dans la région de Zemmora, Wilaya de Relizane. Le rendement d'extraction est considéré comme acceptable, avec une valeur de 0,208 %. De plus, cette HE présente une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches bactériennes testées, telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumonia* avec des zones d'inhibition variant en diamètre selon la souche testée. L'HE démontre également une excellente activité antifongique vis-à-vis des deux souches testées, à savoir *Fusarium* sp. et *Alternaria* sp. avec des taux d'inhibition croissants pouvant atteindre 100 %.

Les résultats obtenus mettent en évidence les propriétés prometteuses des HE de *T. articulata* en tant qu'agent antimicrobien potentiel, ce qui pourrait avoir des applications significatives dans divers domaines tels que la santé humaine. Par conséquent, il serait envisageable de développer un spray désinfectant à base de cette HE.

Mots clés : *Tetraclinis articulata*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antifongique, spray, désinfectant.

Abstract

The Barbary thuja (*Tetraclinis articulata*) is a coniferous tree that grows mainly in North Africa, particularly in Algeria. We conducted a study aimed at evaluating the antibacterial and antifungal activity of essential oils extracted from the leaves of *T. articulata*, collected in the Zemmora region, Wilaya of Relizane. The extraction yield is considered acceptable, with a value of 0.208%. Furthermore, this essential oil exhibits good antibacterial activity against all tested bacterial strains, such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumoniae*, with inhibition zones varying in diameter depending on the tested strain. The essential oil also demonstrates excellent antifungal activity against the two tested strains, namely *Fusarium sp.* and *Alternaria sp.*, with increasing inhibition rates reaching up to 100%.

The obtained results highlight the promising properties of *T. articulata* essential oils as a potential antimicrobial agent, which could have significant applications in various fields such as human health. Therefore, it would be feasible to develop a disinfectant spray based on this essential oil.

Keywords: *Tetraclinis articulata*, essential oil, antibacterial activity, antifungal activity, spray, disinfectant.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviations

Introduction 1

Partie 1 : Recherche Scientifique

Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Tetraclinis articulata* 5

I.1. Description botanique 5

I.2. Classification..... 6

I.3. Étymologie 6

I.4. Origine et répartition géographique..... 7

I.5. Ecologie 8

I.5.1. Conditions climatiques 8

I.5.2. Conditions lithologiques..... 8

I.5.3. Conditions édaphiques 8

I.6. Domaine d'utilisation..... 9

Chapitre II : Huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* 12

II.1. Définition et le rôle des huiles essentielles..... 12

II.2. Localisation des huiles essentielles 12

II.3. Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles 13

II.3.1. Composition chimique des huiles essentielles 13

II.3.2. Propriétés physiques 13

II.4. Utilisation des huiles essentielles	14
II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	14
II.5.1 Méthodes conventionnelles.....	14
II.5.2 Les nouvelles méthodes	17
II.6. Toxicité des huiles essentielles	18
II.7. Les activités biologiques des huiles essentielles	19
II.7.1. L'activité antibactérienne.....	19
II.7.2. Activité antifongique.....	20

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel & Méthode.....	23
III.1. Matériel végétal et préparation de la plante	23
III.2. Extraction des huiles essentielles	24
III.3. Calcul de rendement.....	25
III.4. Test de l'activité antifongique	26
III.5. Test de l'activité antibactérienne.....	28
III.6. Conception du spray désinfectant.....	30
Chapitre IV : Résultats et discussion.....	32
IV.1 Résultats	Erreur ! Signet non défini.
IV.2 activité antimicrobienne	32
IV.2.1 L'activité antibactérienne	32
IV.2. Discussion générale.....	38
IV.2.1. Huile essentielle.....	38
IV.2.2. Activité antimicrobienne	38
Conclusion	43
Référence Bibliographiques.....	46

Partie 2 : Annexe

1. BMC.....	52
2. Axes du projet Start-up.....	55

2.1 Premier axe : Présentation du projet.....	55
2.1.1 L'idée de projet (la solution proposée).....	55
2.1.2 Les Valeurs suggérées	55
2.1.3. Équipe de travail	56
2.1.4 Les Objectifs du projet.....	57
2.1.5 Le planning de réalisation du projet	57
2.2 Deuxième axe : Aspects innovants.....	59
2.2.1 La nature des innovations	59
2.2.2 Les domaines d'innovation	59
2.3 Troisième axe : Analyse stratégique du marché.....	60
2.3.1 Le segment du marché :.....	61
2.3.2 La mesure de l'intensité de la concurrence	61
2.3.3 La stratégie marketing	62
2.4 Quatrième axe : Plan de production et organisation.....	64
2.4.1 Le processus de production	64
2.4.2 L'approvisionnement.....	64
2.4.3 La main d'œuvre	65
2.4.4 Les principaux partenaires.....	65
2.5 Cinquième axe : Plan financier	67
2.5.1 Les coûts et les charges.....	67
2.5.2 Le chiffre d'affaires.....	67
2.6 Sixième axe : Prototype expérimental.....	71

Liste des figures

Figure 01	Photographies de <i>Tetraclinis articulata</i>	6
Figure 02	Localisation géographique d'Origine et réparation (Google earth .2024)	8
Figure 03	Schéma de principe de la technique de hydro distillation (Lucchesi, 2005) .	15
Figure 04	Représentation schématique de distillation à la vapeur (Roohinejad, et al, 2018)	16
Figure 05	Représentation schématique d'extraction des huiles essentiels par micro-onde (Lucchesi, et al,2007)	18
Figure 06	localisation géographique du site d'échantillonnage(google earth .2024).	23
Figure 07	Montage de hydro distilation simple a pression atmospherique (benaissa, ghoulimi, grine 2024).	25
Figure 08	Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne(benaissa, ghoulimi, grine 2024)	28
Figure 09	Photo de l'HEs du <i>Tetraclinis articulata</i> . (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024).	29
Figure 10	Histogrammes des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes.	33
Figure 11	Effet de l'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> sur les souches bactériennes (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024).	34
Figure 12	Histogrammes des diamètres des zones de propagation des souches fongique. (benaissa, ghoulimi,grine 2024).	35
Figure 13	Effet de l'H .E de <i>Tetraclinis articulata</i> sur les souches fongiques : cas de <i>Fusarium sp</i> . (benaissa, ghoulimi,grine 2024).	36
Figure 14	Effet de l'H .E de <i>Tetraclinis articulata</i> sur les souches fongiques : cas de <i>Alternaria sp</i> (benaissa, ghoulimi,grine 2024).	37
Figure 15	Photo de l'HEs du <i>Tetraclinis articulata</i> . (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024)	38
Figure 15	BMC	52
Figure 16	Prototype primaire du produit	71

Liste des tableaux

Tableau 01	Tableau représente les souches fongiques	26
Tableau 02	Tableau représente la souche bactérienne	28
Tableau 03	Diamètres des zones d'inhibitions (mm)	32
Tableau 04	Sensibilité des bactéries suivant la classification de Ponce	33
Tableau 05	Diamètres des zones de propagation (mm) des souches fongiques sous l'effet des différentes concentration d'HE de <i>Tetraclinis articulata</i> (résultats du test antifongique)	34
Tableau 06	Chiffre d'affaires	67
Tableau 07	Plans de trésorerie	68
Tableau 08	Compte des résultats	69

Liste d'abréviation

HEs :	Huile Essentiel
PDA :	Patatos Dextrose Agar
R :	Rendement
µl :	Microlitre
GN :	Gélose Nutritive
ATCC :	American Type Culture Cells
E.Coli:	Escherichia coli

Introduction

Introduction

Le mode végétal est plein de ressources et de vertus d'où l'homme puise non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affecté de troubles insidieux **(Baba Aissa, 2000)**.

L'usage des plantes par les humains remonte à une époque très ancienne, que ce soit pour l'alimentation, la médecine ou la toxicologie.

De nos jours, plus de 10000 espèces de plantes sont utilisées à des fins thérapeutiques, et de nombreux remèdes et traitements sont élaborés à partir de leurs principes actifs **(Dellile, 2007)**. Parmi ces plantes, *Tetraclinis articulata*, également appelée thuya de Barbarie, est un arbre monoïque appartenant à la classe des Gymnospermes et à la famille des Cupressacées **(Hadjadj et Letreuch Belarouci, 2017 ; Zahir et Rahmani, 2020)**. Il est principalement présent dans la région méridionale de la Méditerranée occidentale **(Hadjadj et Letreuch Belarouci, 2017)** et joue un rôle important dans la végétation forestière d'Afrique du Nord.

Toutefois, l'analyse des propriétés phytothérapeutiques (antibactérienne et antifongique) constitue une tâche extrêmement intéressante et bénéfique, notamment pour les plantes d'usage rare ou non connu dans la médecine. Ces plantes constituent une mine inépuisable de substances actives. En effet, les remèdes classiques à base de plantes ont longtemps été utilisés sans connaître les composés actifs qui sont à l'origine de leurs effets bénéfiques, même si certains effets pharmacologiques démontrés sur l'animal ont été attribués à des composés **(Teixeira da Silva, 2004)**.

Notre étude, menée au sein des laboratoires de la faculté des sciences et de la technologie de l'université de Relizane, vise à explorer le potentiel antibactérien et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles séchées de *Tetraclinis articulata* récoltées dans la commune de Zemmora, wilaya de Relizane. L'objectif ultime est de valoriser les propriétés antimicrobiennes de ces huiles essentielles en les intégrant dans la conception d'un spray désinfectant innovant.

Nous avons structuré ce manuscrit en quatre parties distinctes :

- a) Une revue bibliographique qui consiste à explorer la littérature existante sur notre sujet ;
- b) Une partie expérimentale incluant la méthodologie, les outils et les analyses réalisées ;
- c) Une partie résultats et discussion avec une présentation claire et concise des résultats obtenus, appuyée par des travaux publiés sur notre sujet ;

Introduction

- d) Une présentation du BMC (Business Model Canvas), en mettant en valeur son potentiel innovant et ses avantages concurrentiels.

Synthèse Bibliographique

Chapitre I :

Généralité sure Tertacclinis articulata

Chapitre I : Généralités sur *Tetraclinis articulata*

I.1. Description botanique

Tetraclinis articulata, communément appelé thuya de Barbarie ou cèdre d'Atlas, est une espèce d'arbres à feuilles persistantes qui fait partie de la famille des Cupressacées. Il est originaire du bassin méditerranéen, notamment du Maroc, de l'Algérie et de l'Espagne. La description botanique de cette espèce est la suivante :

- Les feuilles : petites, écailleuses et disposées en paires opposées le long des tiges. Elles sont de couleur vert foncé et ont une forme d'écailles imbriquées.
- Les tiges : généralement recouvertes d'une écorce brun-rougeâtre et ont une structure cylindrique avec des nœuds distincts.
- Les fleurs : petites et discrètes, souvent regroupées en petites inflorescences. Elles sont généralement monoïques, ce qui signifie qu'une même plante porte à la fois des fleurs mâles et des fleurs femelles.
- Les fruits : des cônes globuleux, de couleur brun-jaunâtre à maturité. Chaque cône contient de petites graines ailées.
- Le port : conique et peut atteindre une hauteur allant jusqu'à 20 mètres dans son habitat naturel.
- Le bois : très léger, tendre et aromatique. Il peut se fendre facilement (**Nichane, 2010**) et résiste bien à la pourriture (**Bouayad Alam, 2015**).

Cette espèce présente une structure simple et homogène appelée : structure homoxylée qui est marqué par la présence de cellules qui soutiennent et conduisent la sève, les trachéides, avec des ponctuations auréolées (**Haddad et al., 2005**).

Elle est particulièrement adaptée aux climats secs et a une résistance remarquable aux conditions arides, ce qui en fait une espèce essentielle dans les écosystèmes méditerranéens. On l'emploie aussi dans l'industrie du bois et dans l'aménagement paysager en raison de sa résistance et de sa beauté.



Figure 01 : Photographie d'un rameau de feuille de *Tetraclinis articulata*

I.2. Classification

Le Thuya de Berbérie appartient à la famille des Cupressaceae et au genre *Tetraclinis* qui ne comprend qu'une seule espèce *Tetraclinis articulata*. Selon (Fralish, 2002 ; Barrero *et al.*, 2003), le Thuya de Berbérie appartient au :

Règne : *plantea*

Embranchement : *Spermatophytes*

Sous embranchement : *Gymnospermes*

Classe : *Pinopsida*

Ordre : *Pinales*

Famille : *Cupressaceae*

Genre : *Tetraclinis*

Espèce : *T. articulata*

I.3. Étymologie

T. articulata porte diverses appellations à travers le monde.

-Arabe

- Aaraar (عرعار بري)
- Sandarus (سنضروس)
- Aaraar Berboush (عرعار بربوش)
- Shajrat El-Hayat (شجرة الحياة)

-Anglais

- Arar tree
- Thyia Sandarac tree
- Sandarac Gum tree,
- Juniper Gum tree,
- Thuya from Berberie

-Français

- Thuya de Berbérie
- Thuya
- Callitris
- Thuia articulé
- Thuia à la sandarque

-Berbère

- Azouka
- Imijad
- Tazout

I.4. Origine et répartition géographique

Le thuya de Berbérie, *T. articulata*, est une espèce endémique de l'Afrique du Nord, notamment des pays du Maghreb (Algérie, Tunisie et Maroc) (Figure 2). Il a été classé dans la catégorie « en danger » sur la liste rouge de l'union internationale pour la conservation de la nature (UICN, 2011).



I.5. Ecologie

I.5.1. Conditions climatiques

Le thuya est une espèce à tendance thermophile et xérophile qui se distingue par sa faible exigence en eau, ne nécessitant que 300 à 500 mm de précipitations annuelles. Écologiquement, elle affectionne les pentes exposées au sud et les climats semi-arides aux variations tempérées, alternant entre douceur, chaleur et périodes très chaudes (**Buhagiar et al., 2000**).

Son développement optimal s'observe en étage subhumide, sur des sols filtrants calcaires, sous des températures chaudes, douces et tempérées. **Quézel (2000)** souligne sa sensibilité aux froids humides et sa préférence pour les expositions ensoleillées.

I.5.2. Conditions lithologiques

En Algérie, le thuya est réparti sur tous les étages, sur le crétacé, dans les régions de l'Ouarsenis et Ténès, sur le jurassique dans celles de Frenda, Saida et Tlemcen et sur le quaternaire et pliocène dans celle de Mostaganem (**Boudy, 1950**).

En Tunisie, le thuya pousse sur le calcaire, la silice et même les terrains gypseux à condition qu'ils soient bien drainés (**El Hamrouni, 1978**), il est nettement exclu des sols halomorphes dans les plaines sublittorales, il est aussi éliminé des terrains lourds, argileux et épais (**Hadjadj-Aoul, 1995**).

I.5.3. Conditions édaphiques

Du point de vue type de sol, le thuya pousse sur ceux peu profonds de type rendzine, reconnus superficiels à horizons peu différenciés ou dégradés (**Fennane, 1987**), appelé aussi un type de sol argilo-calcaire (**Buhagiar et al., 2000**) d'où son intérêt écologique dans la conservation des sols.

I.6. Domaine d'utilisation

Le thuya surnommé au 18^{ème} siècle « arbre de vie » en raison de sa valeur médicinale attribuée à son feuillage et sa résine balsamique dont l'extrait augmente la tension artérielle et baisse la fièvre (**Ayache, 2007**). En effet, différentes parties de thuya sont employées dans plusieurs domaines en raison de ses multiples utilisations :

✓ Artisanale

Le bois de ce Thuya est surtout utilisé dans le secteur artisanal en menuiserie et en ébénisterie ou comme bois de chauffage. Le bois de thuya, spécial et luxueux, est un bois dur reconnaissable par sa couleur rouge foncé moucheté de grappes de petites taches brun foncé et parfois de motifs de veines de couleur dorée. Les qualités relatives à ce bois sont sa dureté, sa rareté, les centaines de textures qu'il présente, le luxe de son apparence, le très beau poli qu'il manifeste après polissage (Son bois, aussi connu sous le nom de citre, est très solide. On l'utilise généralement pour la charpente de maisons traditionnelles (**UICN, 2011**)).

✓ Ecologique

Le thuya joue un rôle écologique très important grâce à sa capacité à la conservation des sols, la partie relative à la régénération du thuya, et sur le rôle que peut jouer son système racinaire serré et pivotant dans la défense et la restauration des sols notamment dans les bassins versant des ouvrages hydrauliques, limitant ainsi les effets de l'érosion (**Ayache, 2007 ; Miloudi, 1996**). Il est parmi les rares conifères qui repoussent après les incendies. Il peut pousser sur des sols pauvres (**UICN, 2011**).

✓ Economique

L'espèce trouve essentiellement sa place dans l'activité artisanale surtout maghrébine qui joue un rôle économique et social crucial. A ce sujet, les forêts de thuya jouent un rôle socio-économique important dans le cadre de la satisfaction des besoins locaux des populations riveraines en matière de parcours (pour le bétail), produits ligneux (bois d'œuvre, bois de feu, bois de service et les loupes), gomme sandaraque, tanin, goudron végétal et la production de miel (**El Mouridi, 2011**).

✓ Médecine traditionnelle

Cette espèce est largement utilisée dans la médication conventionnelle en raison de ses divers effets curatifs. . En réalité, divers morceaux de thuya sont proposés dans le traitement des contaminations intestinales, des maux d'estomac, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension et de la fièvre (**Zahir et Rahmani, 2020**).

- Au Maroc, les populations riveraines utilisent cette essence de bois dans la médication coutumière. Les différentes parties de l'arbre, notamment les feuilles et les rameaux, sont utilisées dans le traitement des maladies intestinales et respiratoires (**Bellakhdar et al., 1997**).

- En Tunisie et dans d'autres pays d'Afrique du Nord, le thuya est utilisé dans la médecine humaine et vétérinaire conventionnelle, en particulier contre les maladies intestinales et respiratoires et contre les contaminations cutanées (**Le Floch, 1983 ; Buhagiar et al., 2000**).

- En Algérie, la population provinciale utilise les feuilles pour la médecine traditionnelle. Les usages suivants ont été mentionnés par Amar (**2001**) :

- Considération dentaire, pour l'expulsion de l'obscureissement et le traitement des caries dentaires. Les feuilles de thuya sont utilisées en décoction en ajoutant quelques gouttes de vinaigre et de sel, en se brossant doucement les dents.

- Mélangées à de la grenadine, elles sont efficaces pour apaiser les douleurs abdominales, les maladies et les troubles respiratoires.

Chapitre II :

Huiles essentielles

De Tetraclinis articulata

Chapitre II : Huiles essentielles de *Tetralinis articulata*

Les plantes produisent naturellement des composés actifs qui les aident à se défendre contre les insectes, les maladies et les agressions extérieures. Parmi ces composés, on retrouve les huiles essentielles.

L'utilisation des huiles essentielles est ancienne et variée, que ce soit en parfumerie, en cuisine avec les herbes aromatiques, en cosmétologie ou en thérapie.

De nos jours, l'utilisation des huiles essentielles est de plus en plus répandue, que ce soit en pharmacie ou dans divers commerces. Elles sont devenues une option thérapeutique complémentaire largement reconnue, favorisant l'harmonisation de la santé physique et mentale (Mayer, 2012).

II.1. Définition et le rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Raynaud, 2006).

Du point de vue chimique, une huile essentielle est un mélange complexe de composés naturels de structures odorantes, dites aromatiques. Elles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée. Il s'agit des terpènes et de leurs dérivés oxygénés (alcool, aldéhyde, ester, éther, cétone, phénols et oxydes) prépondérants dans la plupart des huiles essentielles, et des dérivés du phénylpropane retrouvés en tant que composés majoritaires dans les huiles de quelques espèces (Bouhdid et al, 2012)

II.2. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles synthétisées par les grandes sécrétrices présentes sur pratiquement toutes les parties de la plante, sont produites dans le cytoplasme de certaines cellules ou s'agrègent sous forme de petites gouttelettes, à l'instar de la plupart des substances lipophiles (Gonzalez-trujano et al., 2007). Leur formation et leur stockage sont généralement liés à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent situées à la surface de la plante ou à proximité, telles que les cellules à huiles essentielles des Lauraceae, les poils sécréteurs des Lamiaceae, les poches sécréteurs des Myrtaceae, des Rutaceae et des Lamiaceae, ainsi que les canaux sécréteurs présents dans de nombreuses familles de plantes. Il convient de noter que

les organes d'une même espèce peuvent contenir des huiles essentielles de compositions différentes en fonction de leur localisation dans la plante (**Degryse et al. 2008**).

D'autres structures histologiques spécialisées, souvent situées à proximité de la surface des plantes, participent également à l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures comprennent les poils, les canaux sécréteurs et les poches sécrétrices (**Buneton ,2009**).

II.3. Caractéristique physico-chimique des huiles essentielles

II.3.1. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés naturels, contenant généralement entre 20 et 60 constituants à des concentrations variables. Elles se distinguent par la présence de deux ou trois composants majeurs, présents à des concentrations élevées (20-70%), tandis que d'autres composés sont présents en quantités minimales.

En effet ; les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux groupes conférant aux essences aromatiques leurs propriétés antibactériennes :

- Le groupe des terpénoides (les composés terpéniques) : il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal, ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbones (C5) nommée : isoprène. Ce groupe est subdivisé en deux sous-groupes : les mono terpènes et les sesquiterpènes.
- Le groupe des phénylpropanoïdes (les composés aromatiques) : sont beaucoup moins fréquents que les composés terpéniques. Ils comprennent plusieurs fonctions : alcool, phénols, dérivés méthoxy, composés méthylène dioxy.

En outre, les huiles essentielles peuvent contenir des produits issus de processus de dégradation impliquant des constituants non volatils (**Bouras M., 2018**)

II.3.2. Propriétés physiques

Selon (**Couic-Marinier, 2018**) les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques :

- Les huiles essentielles ne se dissolvent pas dans l'eau. Il faut utiliser un excipient pour leur mise en suspension dans un bain (tel un savon moussant) ou dans une tisane.
- Les huiles essentielles ont, en revanche, une affinité toute particulière avec les graisses de toute nature, ainsi qu'avec l'alcool de titre élevé et la majorité des solvants organiques.

- La couleur des gouttes des huiles essentielles au sortir de leur flacon en verre teinté varie du bleu marine au rouge brunâtre, en passant par le vert et le jaune pâle (la couleur la plus répandue).

II.4. Utilisation des huiles essentielles

D'après Rios (2016), les utilisations des huiles essentielles sont multiples et dépendent grandement de leur origine, de leur qualité et de leur mode d'extraction. Parmi les domaines d'application les plus courants, on trouve :

- ✓ Produits cosmétiques.
- ✓ Médecine et produits pharmaceutiques.
- ✓ Dans l'industrie agroalimentaire.
- ✓ Comme pesticides.

En cosmétique, les huiles essentielles sont utilisées pour conférer un arôme agréable aux produits, masquer l'odeur des principes actifs et permettre une utilisation régulière des produits en raison du plaisir qu'ils procurent.

L'aromathérapie utilise également les huiles essentielles pour la prévention et le soulagement de certains maux ainsi que pour la santé et l'apaisement. De nombreux ouvrages décrivent des préparations à base différentes huiles essentielles utilisées pour soigner de nombreux maux, Cependant, ces recettes n'ont aucune base scientifique stricte, car elles sont également issues de la pratique empirique.

Les huiles essentielles sont également utilisées en dentisterie, l'exemple le plus célèbre étant la Listerine : Inventée au 19^{ème} siècle comme antiseptique chirurgical puissant, elle est également utilisée en soin bucco-dentaire sous forme de bains de bouche (Bouzabata, 2015).

En agroalimentaire, ces substances sont principalement employées afin de substituer les conservateurs chimiques ou synthétiques dangereux pour la santé. De plus, en raison des effets antibactériens et antioxydants de certains ingrédients, elles peuvent améliorer et préserver le goût des aliments.

II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

II.5.1 Méthodes conventionnelles

➤ **Hydro distillation :**

L'hydrodistillation, une méthode d'extraction simple et efficace, permet d'obtenir des huiles essentielles à partir de végétaux. Elle consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau chaude. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales se gorgent d'eau et éclatent, libérant

les composés aromatiques volatiles qu'elles contiennent. Ces composés, entraînés par la vapeur d'eau, sont ensuite canalisés vers un réfrigérant où ils se condensent et se liquéfient à nouveau. La différence de densité entre l'eau et les huiles essentielles permet ensuite de les séparer en deux phases distinctes : une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique riche en huiles essentielles (Bruneton, 1999 ; Seladji, 2014).

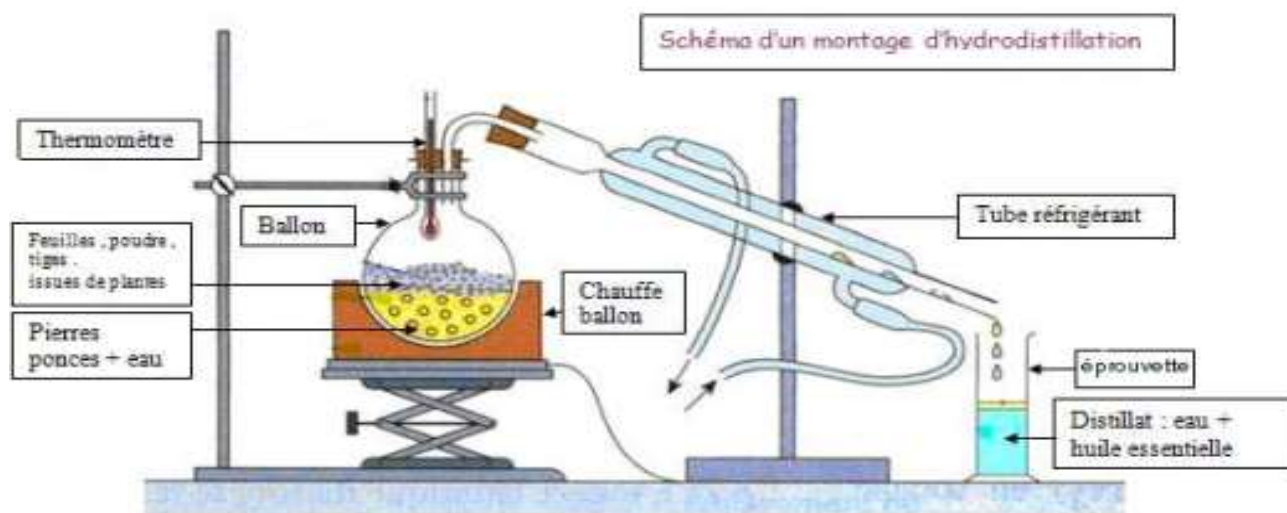


Figure 03 : schéma de principe de la technique de hydro distillation (Lucchesi,2005) .

➤ **Entraînement à la vapeur d'eau :**

L'entraînement à la vapeur d'eau, l'une des méthodes officielles d'extraction des huiles essentielles, se distingue par l'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale. Cette technique utilise de la vapeur d'eau produite par une chaudière, qui traverse la matière végétale disposée sur une grille percée. Au cours de ce passage, les cellules végétales éclatent, libérant l'huile essentielle sous l'effet de la chaleur. Cette huile se vaporise, formant un mélange gazeux avec l'eau. Ce mélange est ensuite conduit vers un condenseur où il se refroidit et se liquéfie. Dans l'essencier, l'huile essentielle, de densité plus faible que l'eau, se sépare naturellement de la phase aqueuse, permettant ainsi sa récupération (Lucchesi, 2006 ; Seladji, 2014).

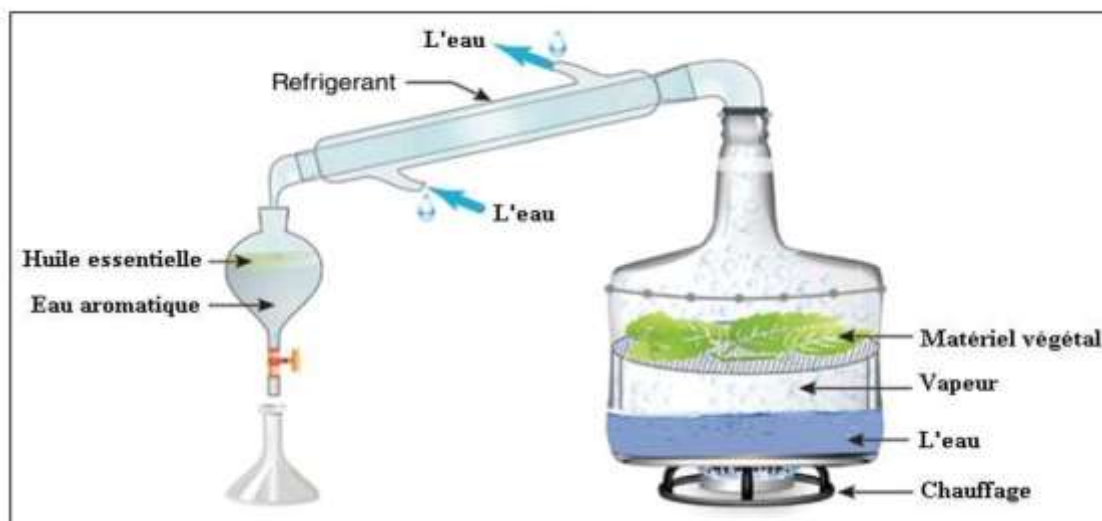


Figure 04 : représentation schématique de distillation à la vapeur (Roohinejad, et al,2018)

➤ **Extraction par solvant :**

La technique d'extraction par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une « absolue ». Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau (Lucchesi,2006 in Seladji, 2014).

➤ **Extraction par sohxlet :**

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules (Lucchesi, 2006 in Seladji, 2014).

➤ **Enfleurage :**

L'enfleurage est une ancienne méthode d'extraction manuelle des essences, complexe et très couteuse, qui n'est plus tellement pratiquée de nos jours. Elle est utilisée essentiellement pour les

végétaux dont l'arôme est trop fragile pour supporter d'autres méthodes d'extractions. C'est le cas du Jasmin, du narcisse et du muguet (**Moro Buronzo ,2008 in Seladji, 2014**).

II.5.2 Les nouvelles méthodes

➤ **Extraction par CO2 supercritique :**

Afin que le CO2 se trouve à l'état supercritique, la température doit être comprise entre 31°C et 55°C et la pression entre 0,5 et 7,4 MPa. Le CO2 refroidi est légèrement comprimé, puis il est fortement comprimé et chauffé. Le CO2, alors à l'état supercritique, traverse la matière première (extractor) et se charge en soluté. L'ensemble est acheminé vers un ou plusieurs séparateurs, où le CO2 est progressivement décompressé, perdant ainsi son pouvoir solvant. Le soluté est « libéré » et le CO2 peut alors être recyclé (**Besombes,2009 in Seladji, 2014**).

➤ **Extraction assistée par micro-ondes :**

- **MAP (Microwave Assisted Process) :** C'est une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes. Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière, végétale, en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation par centrifugation, les échantillons sont directement injectés sur colonne chromatographique (**Meynadier,1997 in Seladji, 2014**).
- **Extraction sans solvant assistée par micro-ondes :** Basée sur un principe relativement simple, l'extraction sans solvant assistée par microondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique (**Lucchesi, 2006 in Seladji, 2014**).

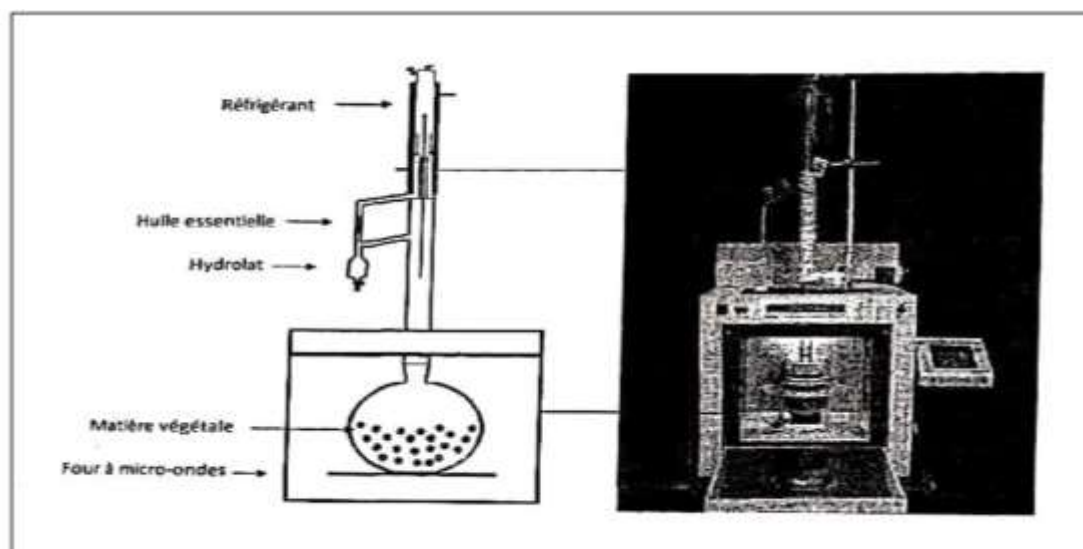


Figure 05 : représentation schématique d'extraction des huiles essentiels par micro onde
(Lucchesi, et al,2007)

II.6. Toxicité des huiles essentielles

L'idée qu'un remède naturel est forcément inoffensif est une erreur répandue. En réalité, la nature recèle des substances parmi les plus toxiques qui soient, comme en témoignent les poisons d'origine végétale. C'est pourquoi il est crucial d'approcher le domaine des traitements naturels avec prudence et discernement (Bekhechi et Abdelouahid, 2010).

La toxicité des huiles essentielles varie considérablement et dépend de leur composition chimique. Certaines d'entre elles, comme les huiles essentielles de thym et de lavande, peuvent s'avérer cytotoxiques, c'est-à-dire qu'elles peuvent tuer des cellules. Cet effet toxique dépend de la phase d'application et a été démontré sur des cellules de hamster chinois. Des études ont également révélées que les huiles essentielles d'origan présentent une forte cytotoxicité sur des cellules humaines cancéreuses (Bouhafs *et al.*, 2014). Certaines HE ont également une action neurotoxique (Huignard *et al.*, 2008).

Compte tenu de la grande diversité des monoterpènes contenus dans les HE, plusieurs études confirment que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité cellulaire (Huignard *et al.*, 2008). En effet, leur nature lipophile permet de s'attaquer à la couche cireuse qui recouvre l'exosquelette des insectes. Cette couche protectrice est essentielle pour limiter la perte d'eau. Sa dégradation par les huiles essentielles entraîne une déshydratation progressive de l'insecte, pouvant le mener à la mort.

II.7. Les activités biologiques des huiles essentielles

Les HE possèdent plusieurs activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les activités : fongicide, insecticide, herbicide, bactéricide, antioxydante etc. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydants, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

L'activité biologique d'une HE est intimement liée à sa composition chimique complexe, riche en une multitude de composés aux propriétés diverses. C'est l'interaction synergique entre ces constituants, et non uniquement les composés majoritaires, qui confère à chaque huile son profil d'action unique.

II.7.1. L'activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des HE est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leur composés volatils majeurs. Jusqu' à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HE. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants ait son propre mécanisme d'action.

Les caractéristiques des HE sont attribuées aux dérivés terpénoides et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées.

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans couche phospholipidique de la membrane de la cellule et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule bactérienne impliquant sa destruction. Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intracytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de l'ATP, et du phosphate inorganique.

D'une manière générale, l'action des HE se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

II.7.2. Activité antifongique

Les HE agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. Plusieurs études ont été menées sur l'effet fongicide et fongistatique des HE sur les champignons pathogènes. Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est dû à la présence de certaines composantes chimiques dans la composition des huiles essentielles.

L'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite de contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure. Par ailleurs, il a été démontré que certains groupes de composés présents dans les HE, tels que les alcools et les lactones sesquiterpéniques, possèdent une activité antifongique particulièrement marquée.

Partie expérimentale

Chapitre III :

Matériel & méthode

Chapitre III : Matériel & Méthode

Cette étude s'inscrit dans le cadre de l'arrêté 1275 en apportant une contribution significative dans le domaine de la microbiologie et de l'hygiène corporelle. Notre objectif est de proposer une solution pratique et économique sous forme de spray désinfectant à base d'huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetradleins articulata*. Ce travail se déroulera en quatre étapes majeures :

1. Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de *Tetradleins articulata*.
2. Test de l'activité antifongique vis-à-vis de trois souches fongiques.
3. Test d'activité antibactérienne vis-à-vis de quatre souches pathogènes bactériennes.
4. Conception d'un spray désinfectant à partir des huiles essentielles extraites.

III.1. Matériel végétal et préparation de la plante

Le matériel végétal utilisé dans notre étude, à savoir les feuilles de *Tetradleins articulata*, a été collecté durant le mois d'avril 2024 dans la région de Zemmora, Wilaya de Relizane, située à l'ouest de l'Algérie (voir figure 06). Cette région est connue pour sa diversité végétale et constitue un lieu propice pour la collecte d'échantillons botaniques. Les feuilles ont été récoltées avec soin afin d'assurer la qualité des échantillons pour notre étude. Il est essentiel de noter que la collecte a été effectuée en respectant les normes environnementales et en obtenant les autorisations nécessaires des autorités locales compétentes.



Figure 06 : Localisation géographique du site d'échantillonnage (Google Earth)

La partie aérienne de la plante *Titeraclinis articulata* a été soigneusement séchée et conservée à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant une période de dix jours afin d'optimiser le rendement en huiles essentielles. Cette méthode de séchage et de conservation permet de préserver la qualité et la pureté des huiles essentielles de la plante, garantissant ainsi que les composés volatils responsables des bienfaits thérapeutiques et des activités biologiques soient préservés de manière optimale.

III.2. Extraction des huiles essentielles

Après le séchage, nous procédons au pesage du poids total des feuilles récoltées. Ensuite, le matériel végétal est divisé en prises d'essai de 100 g, et chacune fera l'objet d'une hydrodistillation.

✓ Procédé et principe d'extraction

L'extraction des huiles essentielles est réalisé par hydrodistillation de la partie aérienne de la plante. Pour ce faire, 100 g des feuilles sèches sont introduits dans un ballon de 1 litre, puis imprégnés d'eau. Ensuite, l'ensemble est porté à ébullition pendant deux heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, où l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Ce processus permet d'obtenir des huiles essentielles pures et de haute qualité.

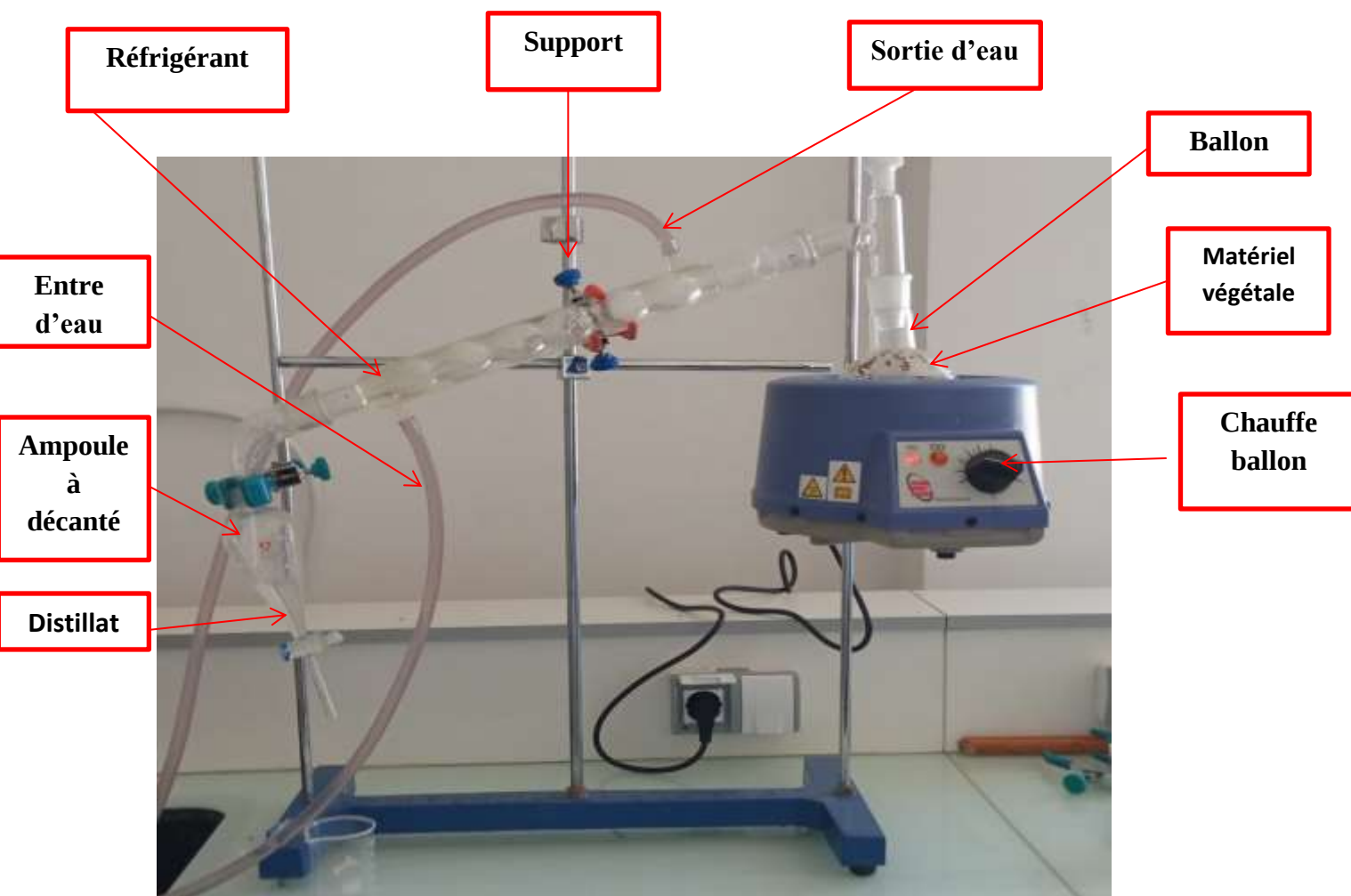


Figure 07 : Schéma du montage d'hydrodistillation

Matériels destinés à l'extraction des huiles essentielles

Ballons d'un litre - Ampoule à décantation - potences-support élévateurs - coudes en verre
Réfrigérant - chauffe ballon - Balance électronique de précision.

III.3. Calcul de rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la plante à partir de laquelle nous avons extrait cette huile. Cette mesure est cruciale pour évaluer l'efficacité du processus d'extraction et pour déterminer la quantité d'huile essentielle produite par la plante.

Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{PH}{PP} \times 100$$

PH : poids de l'huile essentielle extraite en grammes.

PP : poids de la plante traitée en grammes.

III.4. Test de l'activité antifongique

Souches fongiques

Les souches fongiques utilisées et leurs caractéristiques sont consignées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 01. Tableau représente les souches fongiques

Les souches	Caractéristiques
<i>Fusarium sp</i>	Phytopathogènes
<i>Alternaria sp</i>	Phytopathogènes

Matériel et produit utilisés dans le test de l'activité antifongique

❖ Matériel

Bain marie, Plaques chauffantes avec agitateurs, Etuve à 37°C, Réfrigérateur, Autoclave, Boîtes de pétri, Pipette pasteur, Micropipette, Bec Bunsen, Pince, Flacons.

❖ Milieux de culture

Le milieu PDA : a été préparé au laboratoire à base comme suit :

Préparation de l'infusion de pomme de terre

- Laver et éplucher les pommes de terre.
- Couper les pommes de terre en petits morceaux.
- Mettre les morceaux de pomme de terre dans l'eau distillée et porter à ébullition.
- Laisser mijoter pendant 30 minutes.
- Filtrer l'infusion et mesurer 200 mL.

Préparation du milieu

- Dans un erlenmeyer, dissoudre le dextrose et l'agar-agar dans l'infusion de pomme de terre.
- Compléter avec de l'eau distillée jusqu'à obtention d'un volume final de 1 litre.
- Mélanger soigneusement.

Stérilisation

- Autoclaver le milieu PDA à 121°C pendant 15 minutes.

Coulage en boîtes

- Laisser solidifier le milieu à température ambiante.

Nous avons ajouté aseptiquement des volumes croissants de notre huile essentielle dans des flacons contenant chacun 100 mL de milieu PDA stérilisé et en surfusion à 45°C. Les volumes ajoutés étaient respectivement de 100 µL, 250 µL, 500 µL, 750 µL et 1000 µL. Les milieux de culture sont ensuite coulées aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles et laisser solidifier à température ambiante.

Ensemencement

L'ensemencement des milieux de culture se fait comme suit :

Tout d'abord, les souches de *Fusarium sp* et *Alternaria sp* ont été cultivées sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar). Une fois que le mycélium des champignons était bien développé, des disques de 5 mm de diamètre ont été découpés à partir de la bordure des cultures jeunes des isolats puis placées délicatement au centre des boîtes préparées antérieurement à raison de trois répétitions pour chaque concentration en huile essentielle.

Les boîtes de Pétri inoculées sont ensuite incubées dans une étuve à une température de 25°C. Cette période d'incubation a été minutieusement surveillée et s'est étendue sur une période allant de 8 à 10 jours, en fonction de la vitesse de croissance des champignons. Les boîtes de Petri ont été observées pour évaluer la croissance des champignons. Les paramètres mesurés incluaient le diamètre de croissance mycélienne.

Lecture des résultats

L'activité antifongique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a été mise en évidence par le calcul du taux d'inhibition des différentes concentrations par la formule d'Ebbot (Motiejūnaitė et Peičulytė, 2004).

$$\text{Taux d'inhibition (\%)} = \frac{D_t - D_0}{D_t} \times 100$$

D_t : diamètre de la colonie mycélienne du témoin (en cm),

D_0 : diamètre de la colonie mycélienne dans l'expérience (en cm), T : taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage.

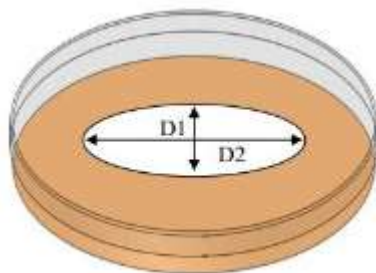


Figure 08. La méthode de mesure des diamètres D1 et D2.

III.5. Test de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Tetralinis articulata* a été testée sur des bactéries pathogènes (voir tableau 03).

Tableau 02 : tableau représente la souche bactérienne :

Les souches bactériennes	Référence
<i>E .coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 12600
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883

Matériel et produits utilisés dans le test de l'activité antibactérienne

❖ Matériel

Bain marie. Plaques chauffantes avec agitateur, Etuve à 37C°, Réfrigérateur, Autoclave, Boîtes de pétri, Tubes à essai, pipette pasteur, Micropipette, Bec Bunsen, portoir de tubes à essais, Ecouvillon, pince, Flacons.

• Produit et milieux de cultures

Eau physiologique

Gélose Nutritive

Le test d'inhibition sur milieu gélose permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une substance. Le principe repose sur la comparaison de la croissance microbienne autour de puits contenant des concentrations croissantes de la substance testée à celle d'un témoin. Une zone d'inhibition de croissance, appelée auréole, autour des puits indique l'activité de la substance testée.

Ensemencement aseptique

Des boîtes de Pétri contenant un milieu gélose stérile sontensemencées aseptiquement avec une suspension bactérienne ou fongique provenant d'une culture jeune. L'ensemencement se fait par étalement à l'aide d'une pipette stérile, d'un étaleur ou d'un écouvillon.

Perforation de la gélose

Une fois la surface du milieu gélose sèche, des puits sont réalisés au centre de la boîte à l'aide d'une pipette Pasteur stérile.

Ajout de l'huile essentielle

L'huile essentielle est ajoutée à des volumes différents dans les puits. De plus, une boîte témoin sans huile est également préparée.

Incubation

Les boîtes sont incubées à une température et une durée appropriées selon le microorganisme testé (37°C, pendant 24 à 48 heures).

Lecture des résultats

Après incubation, il est possible de mesurer le diamètre des zones d'inhibition autour des puits. Un produit est considéré actif si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à un certain seuil prédéfini.

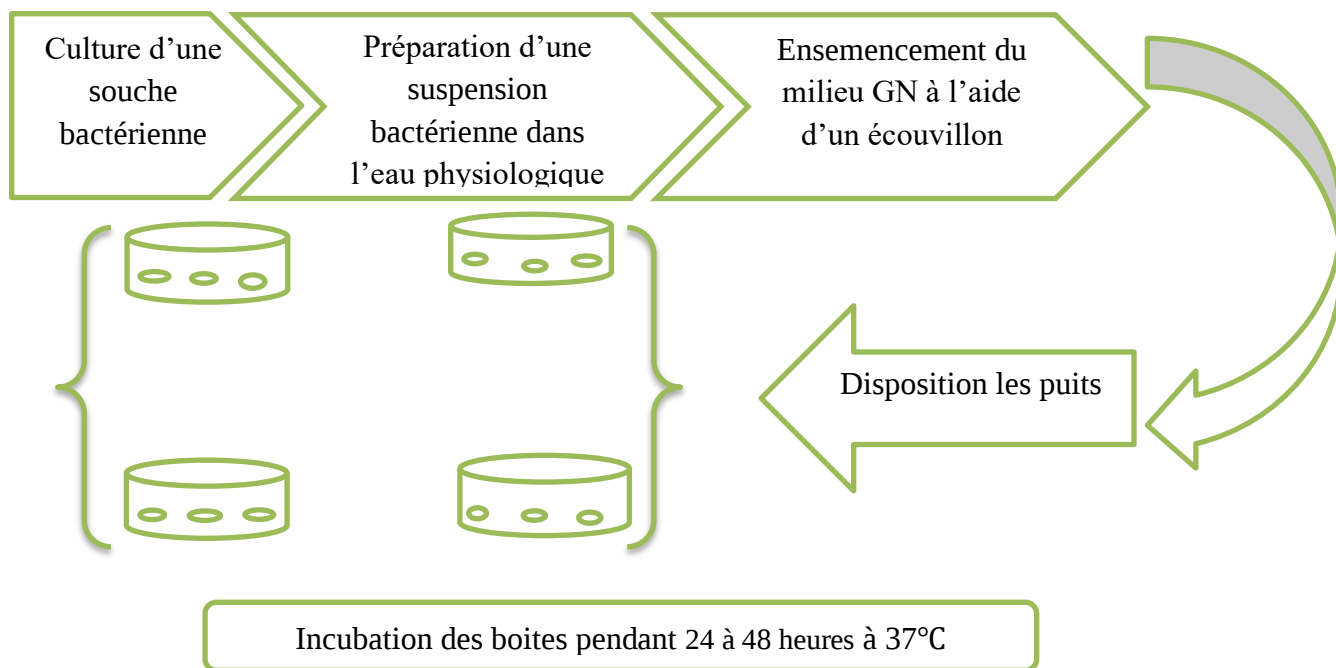


Figure 09. Protocole expérimentale de l'essai de l'activité antibactérienne.

III.6. Conception du spray désinfectant

Pour la préparation d'un spray à base d'huiles essentielles, les étapes suivantes ont été suivies :

- La bouteille spray a été remplie avec de l'eau distillée jusqu'à environ 3/4 de sa capacité.
- Ensuite, 10 à 15 gouttes d'huiles essentielles de choix ont été ajoutées.
- Enfin, la bouteille a été refermée et secouée délicatement afin de mélanger les huiles essentielles avec l'eau.

Le spray à base d'huiles essentielles est désormais prêt à être utilisé. Avant chaque utilisation, il est recommandé d'agiter la bouteille afin d'assurer un bon mélange des ingrédients.

Pour évaluer l'efficacité désinfectante de notre spray, nous avons effectué un test sur une surface. Après application du spray, un prélèvement par écouvillonnage de la surface traitée a été réalisé. L'écouvillon ayant servi à l'échantillonnage a été utilisé pour ensemer une boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive. Cette démarche a également été effectuée sur une surface non traitée, qui servira de témoin. Ces mesures nous permettront d'analyser l'effet du spray désinfectant en comparant la croissance bactérienne entre la surface traitée et la surface non traitée. Les résultats obtenus seront essentiels pour évaluer l'efficacité du produit et pour garantir sa conformité aux normes de sécurité et d'hygiène.

Chapitre IV :

Résultats et discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Résultats

I.1 Extraction des huiles essentielles et calcul du rendement

L'hydrodistillation demeure la méthode d'extraction des huiles essentielles la plus communément utilisée de nos jours. Pour évaluer le rendement de la plante, il suffit de calculer le pourcentage à partir du poids de la plante séchée et celui des huiles obtenues.

- Poids des plantes séchés : 2880g
- poids des huiles essentielles : 6g

Donc :
$$R (\%) = \frac{6}{2880} \times 100 = 0.208\%$$

IV.2 activité antimicrobienne

IV.2.1 L'activité antibactérienne

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des HE extraites de *Tetraclinis articulata*, il est essentiel d'adopter une méthode appropriée pour tester et vérifier leur capacité à bloquer la prolifération bactérienne. Dans cette optique, nous avons choisi d'utiliser la méthode de diffusion sur milieu gélose (des puits) afin d'évaluer l'effet des huiles essentielles sur la croissance des souches bactériennes testées. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau et traduits en histogrammes (Figure 10). Il convient de noter que les diamètres des puits (6 mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition.

Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibitions (mm)

Souche microbienne	Nature des substances testées			
	Les concentrations d'HE de <i>T. ariculata</i> (µl)			
	5	10	15	20
<i>E. Coli</i>	9 mm	12 mm	15 mm	16 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	13 mm	17 mm	18 mm	20 mm
<i>Klebsiella pneumonia</i>	11 mm	13 mm	14 mm	15 mm

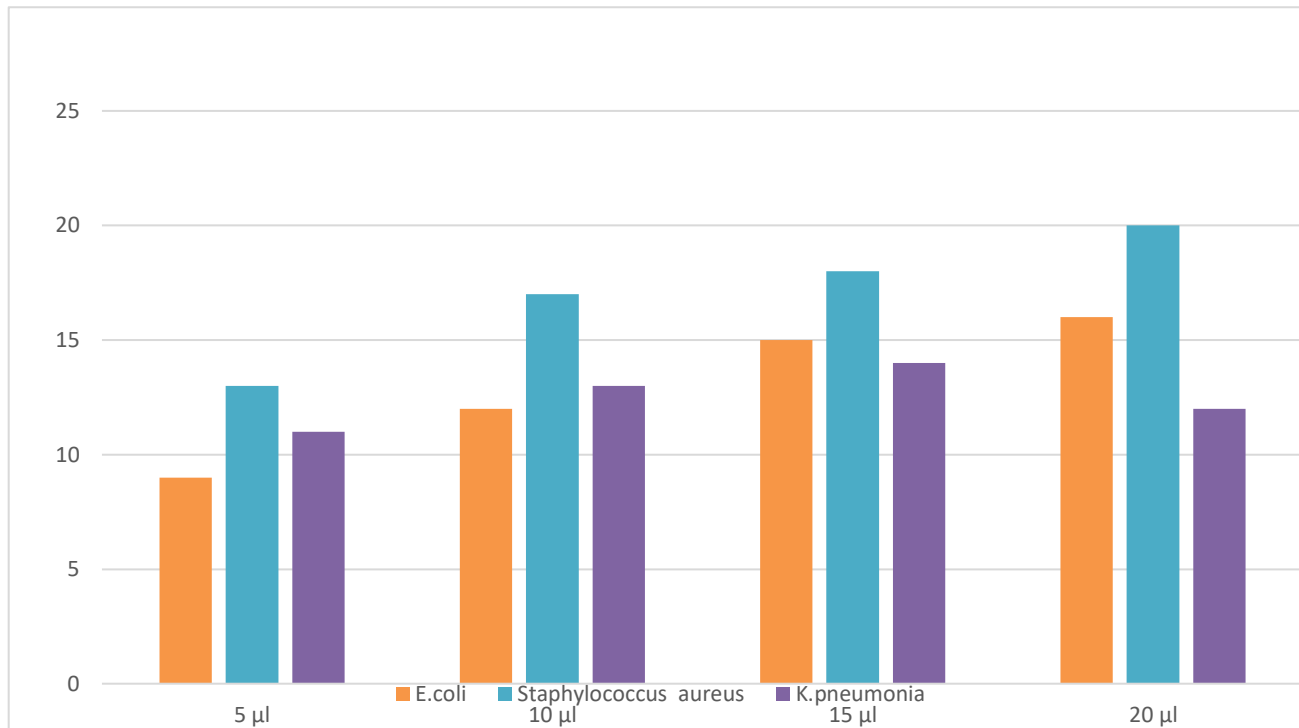


Figure 10 : Histogrammes des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes

Selon Ponce et al (2003) L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et classé comme suit :

- Sensible (+) : dont les diamètres compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

On peut traduire notre tableau des diamètres des zones d'inhibition en (mm) à un tableau présentent les différents types de sensibilité des bactéries suivant la classification de Ponce.

Tableau 04 : Sensibilité des bactéries suivant la classification de Ponce

HE (µl)	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
5	+	+	+
10	+	++	+
15	++	++	+
20	++	+++	++

La planche suivante montre les résultats de l'effet d'HE de *Tetraclinis articulata* sur les trois souches testées.

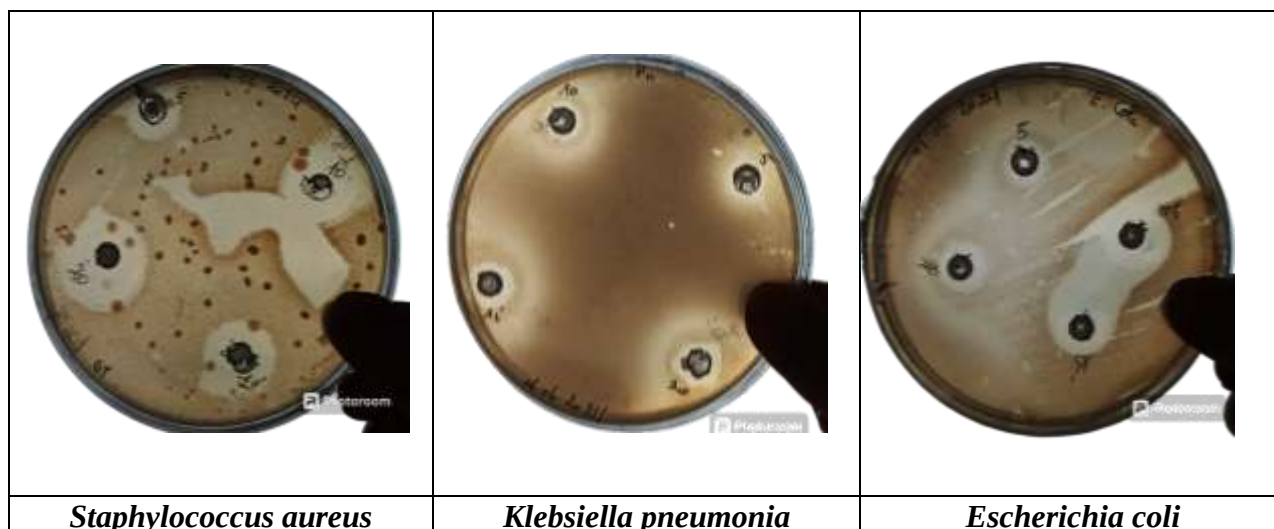


Figure N° 11 : Effet de l'HE de *Tetraclinis articulata* sur les souches bactériennes (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024)

I.2.2 Activité antifongique :

Le test de l'activité antifongique des HE de *T. articulata* a révélé une corrélation positive entre la concentration d'huile essentielle et l'inhibition des souches fongiques. En d'autres termes, plus la concentration de l'HE est élevée, plus son efficacité à ralentir voire à stopper la croissance des souches fongiques est importante (voir figure 13 et 14).

Les taux d'inhibition des souches fongiques en fonction de la concentration des huiles essentielles (HE) et en comparaison avec un témoin (Milieu sans HE) sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05 : Taux d'inhibition en fonction de la concentration de l'HE de *T. articulata*.

HE (µl)	<i>Fusarium sp</i> (%)	<i>Alternaria sp</i> (%)
T	0	0
100	57.79	10.23
250	75.54	76.6
500	100	82.94
750	100	100
1000	100	100

Diamètres des zones de propagation

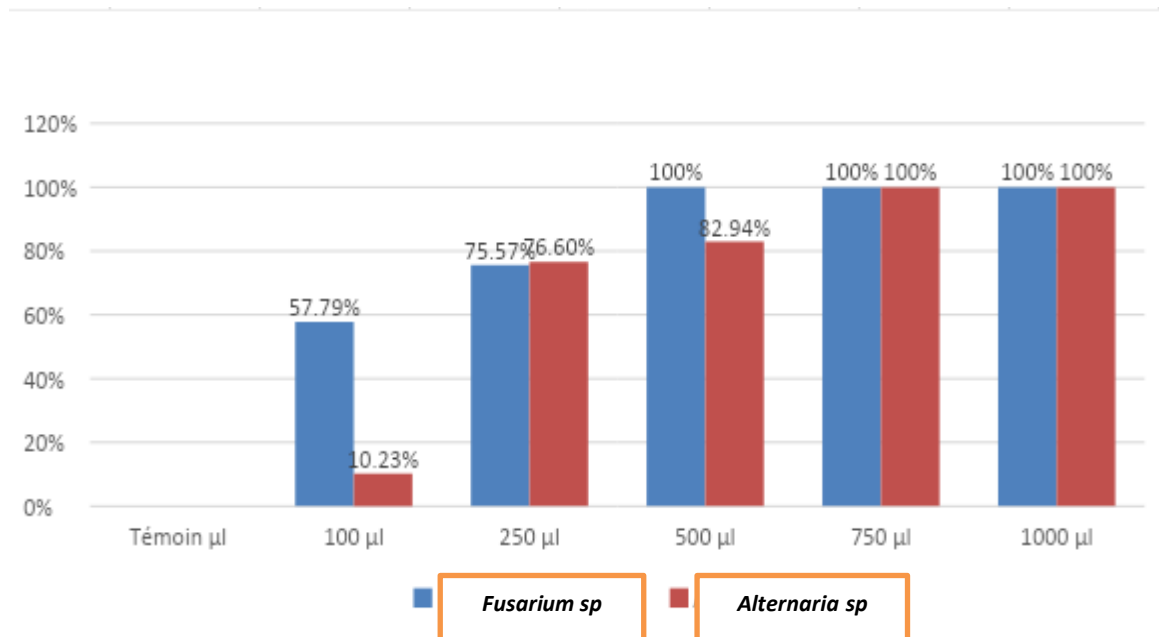
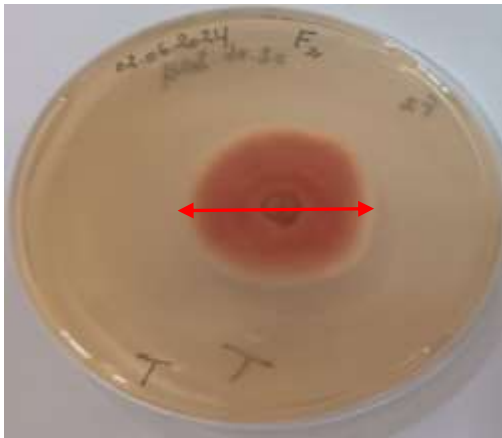
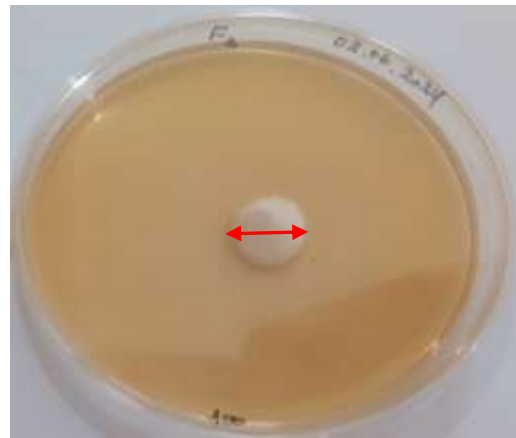


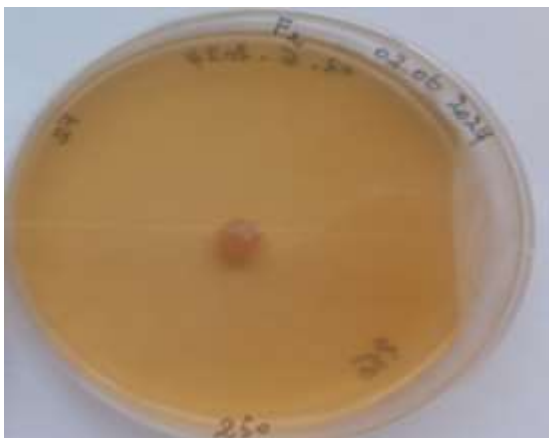
Figure 12 : Histogrammes des diamètres des zones de propagation des souches fongique.



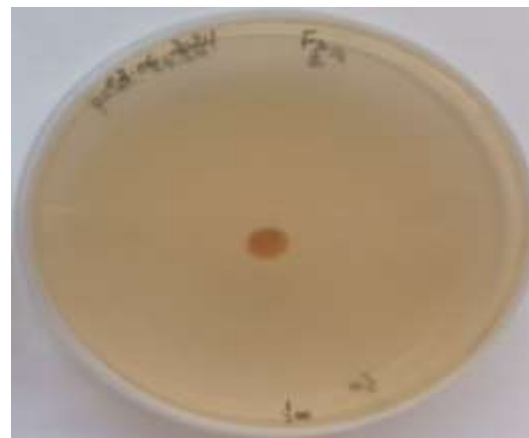
Témoin



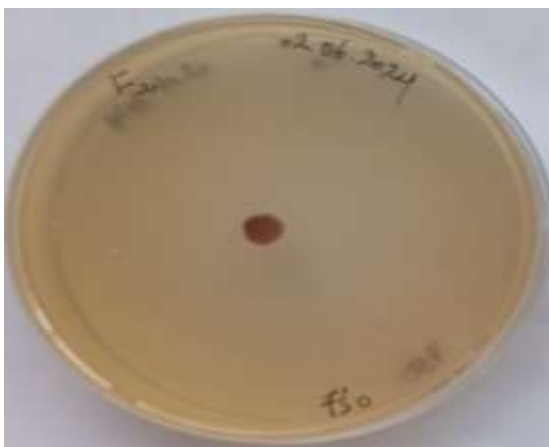
Concentration HEs (100µl)



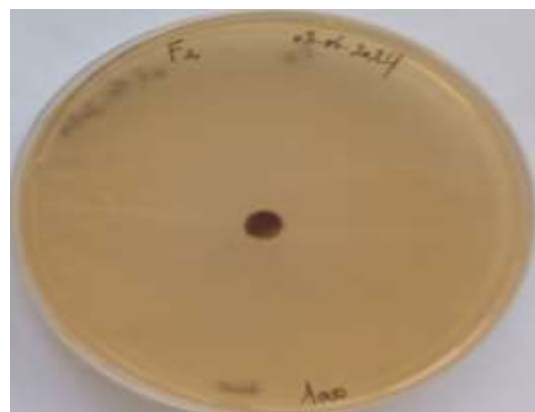
Concentration HEs (250µl)



Concentration HEs (500µl)

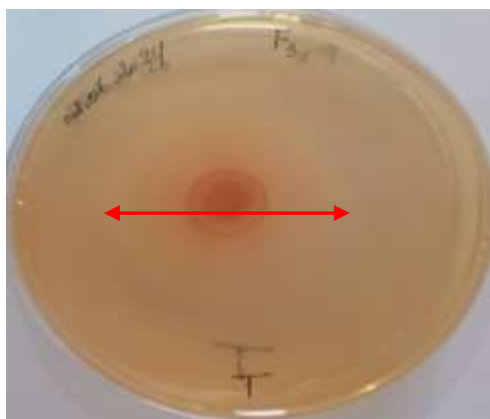


Concentration HEs (750µl)

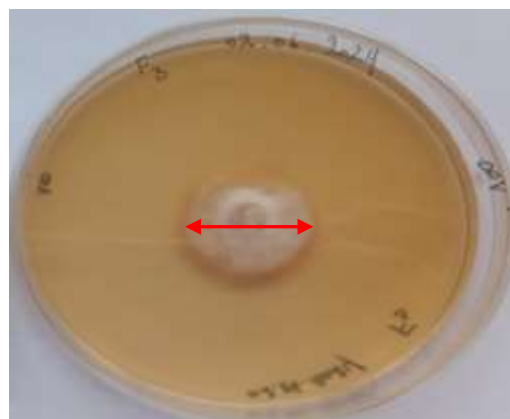


Concentration HEs (1000µl)

Figure 13 : effet de l'H.E de *Tetraclinis articulata* sur les souches fongiques : cas de *Fusarium sp* . (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024)



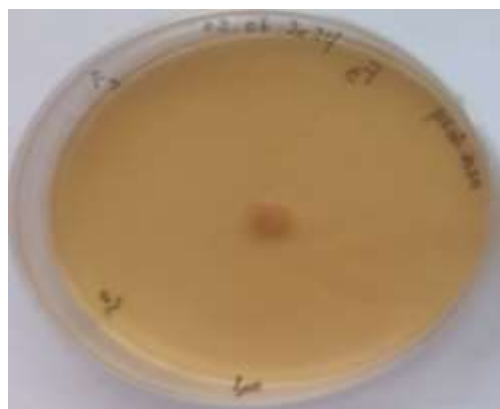
Témoin



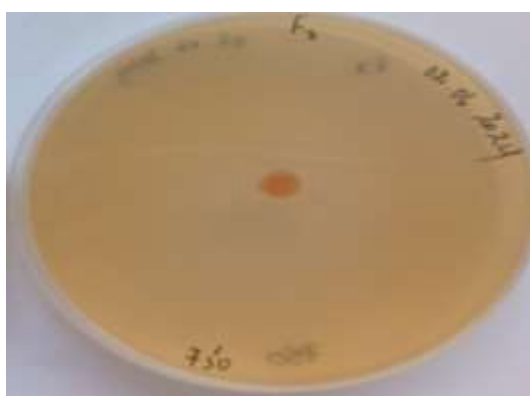
Concentration HEs (100µl)



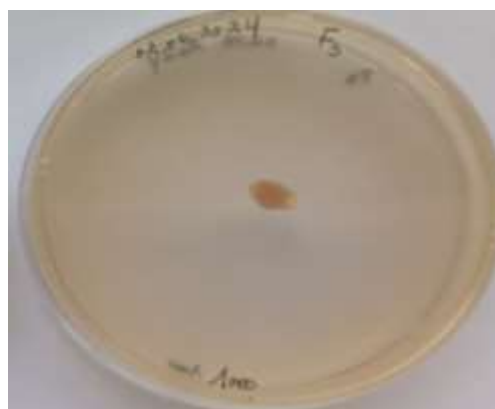
Concentration HEs (250µl)



Concentration HEs (500µl)



Concentration HEs (750µl)



Concentration HEs (1000µl)

Figure 14 : Effet de l'H.E de *Tetraclinis articulata* sur les souches fongiques : cas de *Alternaria* sp (Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024)

IV.2. Discussion générale

IV.2.1. Huile essentielle

Cette technique a permis d'obtenir une huile essentielle d'une coloration jaune claire (**voir figure 15**). Avec ce rendement, la quantité d'huile essentielle obtenue pour notre espèce *Tetraclinis articulata* est largement satisfaisante, ce qui nous permettra de mener à bien notre étude. En pratique, les quantités d'huiles essentielles nécessaires sont généralement de l'ordre des microlitres, ce qui convient parfaitement à nos besoins. Cette quantité nous permettra de réaliser nos analyses et expériences dans des conditions adéquates, assurant ainsi la fiabilité des résultats obtenus. Ce résultat est conforme avec les normes AFNOR., la variation du rendement peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux ; origine de la plante, la nature du sol, la période de la récolte, le régime d'irrigation, la durée de séchage, le mode d'extraction, les propriétés génétiques, les changements climatiques, et la variété (**Waniar et al., 2021**). **Diniz et al., 2020**, a montré que l'irrigation a un effet positif sur la croissance végétative. Ainsi que l'insuffisance ou l'excès de l'eau a un effet négatif sur le rendement en HE.



Figure 15 : Photo de l'HEs du *Tetraclinis articulata* . (**Bensaida et Ghoulimi et Grine ,2024**)

IV.2.2. Activité antimicrobienne

A. Activité antibactérienne

L'étude de la sensibilité des souches testées, a montré que l'HE agit de manière différente sur ces microorganismes. En effet, un composé peut avoir un impact considérable sur un germe, comme c'est le cas pour la sensibilité de *S. aureus*, ou un effet moindre sur d'autres, tels que *K. pneumonia*. Il est intéressant de noter que l'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à

un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Essawi et Srou, 2022**).

D'après **Zhou et al. (2021)**, il semble que les bactéries Gram positif soient plus sensibles que les bactéries Gram négatif. Cette sensibilité peut être attribuée à la différence dans les couches externes des bactéries Gram négatif et Gram positif. En effet, les bactéries Gram négatif possèdent une couche externe supplémentaire, composée de phospholipides, de protéines et de lipopolysaccharides, qui les rend imperméables à la plupart des molécules. Ces résultats corroborent nos propres observations concernant *S. aureus*.

Cependant, il a été rapporté que la croissance des bactéries Gram négatif peut être inhibée, en particulier en combinaison avec des facteurs perturbant l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, comme c'est le cas pour *E. coli*. La résistance de la souche peut également être liée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (**Dharriwali et al., 2019**), ainsi qu'à la méthode de diffusion en milieu gélosé (**Zhou et al., 2021**).

Il a été également établi que le principal mode d'action des huiles essentielles réside dans la lyse de la paroi bactérienne en raison de leurs propriétés lipophiles (**Souza et al., 2020**).

Une étude menée par **Belaiche (2021)** a démontré que la perte de composés volatils d'huile essentielle lors de l'extraction influence son efficacité contre les bactéries. Par conséquent, il serait judicieux d'explorer d'autres méthodes d'extraction afin d'obtenir des huiles essentielles efficaces du point de vue de leur activité antibactérienne. La faible efficacité observée pourrait également être attribuée à l'évaporation de certains composants volatils de l'huile pendant la période d'incubation dans les milieux de culture, entraînant ainsi une diminution de sa concentration et, par conséquent, de son activité antibactérienne.

Nos résultats mettent en évidence l'activité antimicrobienne significative de l'huile essentielle de *T. articulata* sur les bactéries testées. Cette observation est particulièrement intéressante car elle suggère que cette huile essentielle pourrait également être efficace contre d'autres souches bactériennes.

Cette activité peut s'expliquer par un mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes, impliquant des interactions non spécifiques telles que la formation de ponts d'hydrogène avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métalliques, l'inhibition du métabolisme bactérien, ou encore la séquestration de substances nécessaires à la croissance des bactéries (**Karou et al., 2005**).

Par conséquent, il est envisageable d'utiliser l'huile essentielle de *T. articulata* pour élaborer un spray désinfectant efficace. Son activité antimicrobienne pourrait en effet en faire un

ingrédient précieux dans le développement de produits désinfectants destinés à lutter contre la propagation des infections bactériennes.

B. activité antifongique

De ces résultats il en ressort que l'huile essentielle de *T. articulata* a considérablement réduit la croissance mycélienne des souches fongiques testées. En effet, l'ajout d'une dose allant de 100 µL à 1000 µL dans le milieu de culture PDA a permis d'inhiber totalement le développement des champignons après 7 jours d'incubation à 25°C, par rapport au témoin où une croissance normale a été observée. Les résultats de cette étude confirment une fois de plus le potentiel antifongique remarquable de l'huile essentielle de *T. articulata*. Ces résultats s'inscrivent dans la continuité des études antérieures, qui ont également mis en évidence l'activité antifongique puissante de cette HE contre divers champignons. Cette constatation souligne l'intérêt d'explorer pleinement le potentiel antifongique de l'HE de *T. articulata* et d'envisager son exploitation sous forme de spray désinfectant.

L'effet antifongique de l'huile essentielle de *T. articulata* repose sur plusieurs mécanismes d'action qui perturbent la membrane cellulaire fongique. Les principaux composants de l'HE, tels que le camphre, le thymol et le carvacrol, altèrent la structure et la perméabilité de la membrane cellulaire fongique, entraînant une fuite d'ions et de composés essentiels. Cette perturbation de l'homéostasie fongique conduit à la mort cellulaire (Aeschbach *et al.*, 1994 ; Alam *et al.*, 2014). De plus, l'HE inhibe l'activité d'enzymes impliquées dans la respiration, la synthèse de l'ADN et la production d'énergie. Les composés actifs de l'HE induisent également un stress oxydatif important dans les cellules fongiques, provoquant des dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides. Ces dommages contribuent à la mort cellulaire et à l'inhibition de la croissance fongique (Ait Oussakour *et al.*, 2017).

Cependant, des études récentes ont suggéré que l'effet antifongique de l'HE de *T. articulata* peut s'estomper avec le temps. En effet, il a été observé une reprise de la croissance des souches testées au-delà des 7 jours d'incubation. Cette diminution d'efficacité est due à l'évaporation de certains composés volatiles présents dans l'huile, tels que le camphre réduisant ainsi l'activité antifongique de l'HE. Cela peut se produire en raison de divers facteurs tels que la chaleur, l'exposition à l'air ou la durée de stockage. Il est donc essentiel de conserver l'HE dans des conditions appropriées afin de préserver son efficacité (Cheurfa *et al.*, 2016).

Toutefois, il est possible de négliger cette limite de l'effet antifongique dans la mesure où notre objectif principal est d'observer l'effet spontané de notre HE une fois qu'elle sera incorporée dans le spray. En effet, comprendre le comportement spontané de l'HE dans cette formulation est crucial pour évaluer son potentiel applicatif en conditions réelles. Cette

observation permettra de déterminer si l'huile essentielle conserve ses propriétés antifongiques et d'autres propriétés bénéfiques lorsqu'elle est utilisée dans le spray, et d'identifier les éventuels facteurs qui influencent son activité.

Conclusion

Conclusion

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la recherche des produits naturels qui peuvent substituer les produits chimiques utilisés comme des produits désinfectant contre les microorganismes. Vu sa grande superficie et la présence de fortes altitudes, l'Algérie abrite une flore médicinale et aromatique importante qui est essentiellement recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire les besoins en soins de santé primaires et l'évolution des esprits et le refus du "tout chimique" qui se manifeste de plus en plus, ouvrent un peu plus la porte au "retour au naturel".

Dans cette optique où le *T. articulata*, l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde dans la médecine traditionnelle, ce travail a pour objectif de faire une contribution à l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des HE de *T. articulata*.

Les HE sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antibactériennes et antifongiques très intéressantes, le rendement en HE de *T. articulata*, est acceptable et peut être rentable à l'échelle industrielle en vue de l'utiliser sous forme de spray désinfectant.

L'HE de *T. articulata* a montrée qu'elle est dotée d'une bonne activité antimicrobienne ce qui laisse entrevoir des perspectives d'application dans les domaines de l'industrie d'hygiène corporelle. Les résultats de cette étude pourraient contribuer à la valorisation de cette plante aromatique et médicinale algérienne et suivant nos résultats, nous pouvons prédire que notre HE étudiée est un agent antimicrobien naturel efficace et peuvent être une source très importante de désinfectant vis-à-vis des germes.

Enfin, il est souhaitable que ce travail soit poursuivi par d'autres études pour explorer pleinement le potentiel de ces huiles essentielles et les traduire en applications concrètes bénéfiques pour la santé humaine. Connaître la composition chimique de ces HE en vue de déterminer le principe majeur, étudier bien les mécanismes de cette activité, élargir cette étude en testant d'autres souches bactériennes et fongiques ouvriront la voie à de nombreuses applications prometteuses visant à :

La réduction de l'impact environnemental : les produits chimiques phytosanitaires peuvent polluer les sols et les eaux, nuire à la biodiversité et à la santé humaine. L'HE de *T. articulata*, étant un produit naturel, offre une solution plus écologique.

La conception de nouveaux agents désinfectants naturels : les HE, ou leurs principes actifs, pourraient être exploitées pour développer de nouveaux désinfectants plus efficaces et moins toxiques que ceux disponibles actuellement.

Conclusion

La valorisation du patrimoine naturel algérien : l'exploitation de cette plante médicinale pour ses propriétés phytosanitaires permettrait de valoriser la richesse de la flore algérienne et de contribuer au développement économique local.

Référence Bibliographiques

Référence Bibliographiques

- Abuja P.M et Albertini R. 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. Clinica Chimica Acta 306. p : 6. Cité in (Arnout, 2014).
- Aeschbach, R., J. Loliger, B.C. Scott, A. Murcia, J. Butler, B. Halliwell and O.I. Aruoma., 1994. Antioxidant action of thymol,carvacrol,6-gingerol,zingerone and hydroxytyrosol. Food and Chemical Toxicology, 32: 31-36.
- Ait Oussakour, M., Zaouali, M., Hassani, A., & Lahoucine, M. (2017). **Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Tetralinis articulata* against *Candida albicans*.** Journal of Applied Microbiology, 123(4), 996
- Alam, S.B., Benyelles, N.G., Dib, M.E., Djabou, N., Tabti, L., Paolini, J., Muselli, A., & Costa, J. (2014). Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algérie against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill). Journal of applied botany and food quality, 87, 56-61.
- Arnout B., Chirouf., Salah H. 2014. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de deux plantes médicinales (*Béta vulgaris* « var . cicla » et *Ruta chalepensis*). Mémoire de master. Université 8 Mai 1945 de Guelma.
- Ayache, F. 2007. Les résineux dans la région de Tlemcen (aspect écologiqueet cartographie). 2007,
- Baba Aissa, F (2000) : Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algerie et du Maghreb, substance végétales, d'Orient et d'occident), EDAS-Librairie Modernes- Rouiba, Algérie. 45p.
- Barrero AF, Quilez-del Moral JF,lucas R,Paya M,Akssira M,Akaad S,Mellouki F.2003. Diterpenoides from tetralinis articulata that inhibit various human leuckocyte functions. s.l. : J.Nat.Prod, 2003. 60, pp. 844-850.
- Baser, K.H.C. and G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications. 2015: CRC press.
- Bekhechi, C. Abdelouahid, D., 2010.les huiles essentielles. Office des publications universitaires p 55.
- Belaiche, Y., Khelef, A., Laouini, S. E., Bouafia, A., Tedjani, M. L., & Barhoum, A. (2021). Green synthesis and characterization of silver/silver oxide nanoparticles using aqueous leaves extract of *Artemisia herba-alba* as reducing and capping agents. Revista Romana de Materiale, 51(3), 342-352.
- Bouayad Alam (2015) : Activités antimicrobiennes et insecticides de *Thymus capitatus*, *Daucus*
- Boudy, P El hamrouni, A. 1978. Etude phytosociologique et problème d'utilisation et

Référence Bibliographiques

- d'aménagement dans les forêts de pind'Alep de la région de Kasserine (Tunisie centrale).. [Thèse 3ème cycle]. 1978.
- Boudy, P. 1950. Economie forestière Nord Africaine. Tome II : Monographies et traitement des essences forestières, Fasc. 2 : Monographie et traitement du thuya de berbérie. s.l., paris : Larousse, 1950. pp. 707-739.
- Bouhafs M., Hamlaoui A., Bouassid S., 2014. Etude l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes. Mémoire licence académique. El-Oued. 45p.
- Bouhdid S, Abrini J, Baudoux D, Manresa A et Zhiri A. 2012. les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. 2012. pp. 141-8.
- Bouras, M. (2018) Thèse de Doctorat : Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Université Badji mokhtar-annaba. Algérie.
- Bouzabata A. (2015) Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus communis* L. Thèse doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba.
- Bruneton J., 2009, Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales, 4e Ed, Lavoisier, Paris, p. 1269.
- Buhagiar J, Camilleri Podestà M. T, Cioni P. L, Flamini G et Morelli L., 2000. Essential Oil Composition of Different Parts of *Tetraclinis articulata*. s.l., Faculty of Medicine and Surgery University of Malta; Dipartimento di Chimica Bioorganica, Università di Pisa, Via Bonanno 33, 56126, Pisa, Italy : Journal of Essential Oil Research, 2000, pp. 29-32.
- Chargui I., Lasmar K., Touahmia K., 2012: Evaluation de l'activité antifongique et antioxydant des huiles essentielles extraites de *Mentha pulegium* L et *Juniperus phoeniceal*. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945-Guelma. p: 55.
- Cheurfa, M., et al. (2016). High antifungal capacity of the essential oils of *Thymus vulgaris* and *Tetraclinis articulata*. Phytotherapy Research, 30(12), 2008-2013.
- Chiasson H et Beloin N., 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides Nouveau genre". Bull. Soc. entomo du Québec, Antennae vol 14, n°1, pp: 3-6.
- Couic-Marinier, F. 2018. Les huiles essentielles en pratique, administration et précaution d'emploi. 2018. pp. 26-28.
- Courvalin, P., et al., Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques. 1990: p. 110.
- Cox, S., et al., The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of applied microbiology, 2000. 88(1): p. 170-175.
- Crinitus et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse *Tuta absoluta* (Meyrick) et la microflore

Référence Bibliographiques

- pathogène de la tomate *Lycopersicum esculentum*. Thèse. Doc. Univ. Tlemcen. 13 Annexes.
- Daroui-Mokaddem H., Etude phytochimique et biologique des espèces : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniololus* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). 2011. Thèse de doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba
- Degryse A., Delapal., Voinier M. 2008. Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du génie sanitaire, Atelier Santé-Environnement des Ingénieurs du Génie sanitaire. EHESP., 2008, 94 p., ann., réf. 7p., FR
- Dellile L, (2007) : Plante médicinale d'Algérie. Édition : BERTI. P 409, pp 5-11.
- DEMIRCI F., GUVEN K., DEMIRCI B., DADANDI M.Y., BASER K.H.C. (2008). Antibacterial activity of two phlomis essential oils against food pathogens. *Food Control*. 19, 1159-1164
- Dhaliwal, J. S., Rahman, N. A., Knights, J., Ghani, H., & de Albuquerque Junior, R. F. (2019). The effect of different surface topographies of titanium implants on bacterial biofilm: a systematic review. *SN Applied Sciences* 1, 1-16.
- Duarte, M.C.T., et al., Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, 2005. 97(2): p. 305-311.
- Essential Oil Composition of Different Parts of *Tetradlea articulata*. s.l., Faculty of Medicine and Surgery University of Malta ; Dipartimento di Chimica Bioorganica ,
- Fernandez X. et Chemat F., 2012 : La chimie des huiles essentielles. Ed. Vuibert . p : 274.
- Fralish. 2002. taxonomy and ecology of woody plants in north american forests: (Excluding Mexico and Subtropical Florida). New York : John Wiley & Sons, ed, 2002.
- González-Trujano ME, Peña El, Martinez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga-Campos M, López-Muñoz FJ. 2007. Évaluation of antinociceptive effect of *Romarin officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J theropharmacol*. 111 : 476-482.
- Guinoiseau, E., Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. 2010, Thèse de doctorat. Université de Corse.
- Hadjadj K., Letreuch Belarouci A., (2017) : Synthèse bibliographique sur le thuya de berbérie [*Tetradlea articulata* (Vahl) Mast.]. *Geo-Eco-Trop*. 41 (1): 13-27.
- Herzi N., Bouajila J., Camy S., Romdhane M., Condoret J. 2013. Comparison of different methods for extraction from *Tetradlea articulata*: Yield, chemical composition and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 141 (4) : 3537-3545.
- Huignard J., Lapied B., Dugravot., Magnin -Robert M et Ketoh G, K, 2008. Modes d'action neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risque liés à leur utilisation in Biopesticide d'origine Végétale. Ed. Lavoisier, TEC & DOC, Paris, pp : 219-

Référence Bibliographiques

230.

Kalembe D. et Kunicka A. (2003). Propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles. Chimie médicale actuelle.

Karaman, S., et al., Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. Journal of Ethnopharmacology, 2001. 76(2): p. 183-186.

Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpore, J., ... & Traore, A. S. (2006). Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. African journal of biotechnology, 5(2), 195-200.

Lahlou, M., Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 2004. 18(6): p. 435-448.

LUCCHESI M.E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro- ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., &Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. Journal of Food Engineering, 79(3), 1079–1086.

Miloudi, A. 1996. La régénération du thuya de Berberie (*Tetraclinis articulata*Vahl.Master) dans la forêt de Fergoug (Mascara). These. Mag Foresterie.I.N.A.,El Harrach. 1996. p. 104.

Mohammedi Z. 2006. Etude du pouvoirs Antimicrobien et Antioxydant des huiles essentielles et Flavanoïdes de quelques plantes de la region de Hemcen. Thèse pour l'obtention du diplôme de magirtère en biologie. Université Abon Bakr Belkaid Tlemcen. p : 155.

PONCE A.G, FRITZ R, DEL VALLE C. & ROURA S.1. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologic, 36, 675-664

Quézel, P. 2000. Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb Méditerranéen. s.l., Paris : Ibis Press, 2000. p. 117.

Raynaud, Jean. 2006. Prescription et conseil en aromathérapie. s.L: TEC& DOC lavoisier, 2006.

Ríos J. (2016) Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In « Essential oils in food preservation, flavor and safety».Edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 3-9.

Roohine jad Shahin; Mohamed Koubaa; Francisco J. Barba; Sze Ying Leong; Anissa Khelfa; Ralf Greiner and FaridChemat (2018) Extraction Methods of Essential Oils From Herbs and Spices. In «Essential Oils in Food Processing». EditedbySeyed Mohammad BagherHashemi;

Référence Bibliographiques

- Amin MousaviKhaneghahand Anderson de Souza Sant'Ana. John Wiley & Sons Ltd.pp: 21-55.
- ROTA R.M., HERRERA A., MARTÍNEZ R.M., SOTOMAYOR J.A., JORDÁN M.J. (2008). Action antimicrobienne et composition chimique des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* et *Thymus hyemalis*. *Contrôle alimentaire*. 19, 681-687
- Sacchetti, G., et al., Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Journal of Food chemistry*, 2005. 91(4): p. 621-632.
- Seladji D, 2014. Compositions chimiques, propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes des huiles essentielles des racines de trois pinaceae d'Algérie. Mémoire Master en chimie.Univ abou bekr belkaïd Tlemcen., p (10- 17).
- Sousa, S., Hespanhol, J. T., Nicastro, G. G., Matsuyama, B. Y., Mesnage, S., Patel, A., ... & Bayer-Santos, E. (2020). A family of T6SS antibacterial effectors related to l, d-transpeptidases targets the peptidoglycan. *Cell reports*, 31(12).
- Souza, E.L., et al., Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Rev. Bras. Farm*, 2006. 87(1): p. 22-25.
- Tsuchiya, H., et al., Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*, 1996. 50(1): p. 27-34.
- UICN. 2011. Le Thuya de Berbérie « Découvre la biodiversité du Parc National d'Al Hoceima ». s.l., Gland, Suisse etMalaga, Espagne : UICN, 2011. p. 16.
- Universita di Pisa , Via Bonanno 33, 56126, Pisa, Italy : *Journal of Essential Oil Research*, 2000, pp
- Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi, Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, 1995. 58(3): p. 280-283.
- Zahir I., Rahmani A .(2020). Premier cas clinique d'eczéma de contact causé par *Tetralinis articulata*. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 28 (2) : 342346 .
- Zhou G., Qiu X., Wu X., Lu S. (2021). Horizontal gene transfer is a key determinant of antibiotic resistance genes profiles during chicken manure composting with the addition of biochar and zeolite. *J. Hazard Mater* 408, 124883.

Annexe

(BMC, Axes Du Project Start-Up)

1. BMC

Pour une meilleure compréhension de notre modèle économique, nous avons inclus dans cette annexe une présentation détaillée des cases du Business Model Canvas (BMC). Le BMC est un outil largement utilisé pour analyser et décrire les différents aspects d'un modèle économique. En partageant notre BMC, nous souhaitons fournir une vue d'ensemble clair et I concis de la façon dont notre entreprise crée, livre et capture de la valeur. Chaque case du BMC a été soigneusement remplie pour refléter notre stratégie et notre approche commerciale:



Figure 16 : BMC

Axes du projet Start-up

Premier axe

Présentation du projet

2. Axes du projet Start-up

2.1 Premier axe : Présentation du projet

2.1.1 L'idée de projet (la solution proposée)

Les désinfectants traditionnels reposent sur des produits chimiques puissants, tels que l'alcool industriel et les conservateurs synthétiques qui peuvent irriter et dessécher la peau surtout en cas d'utilisation fréquente. Ces substances ne constituent pas seulement une menace pour la santé de la peau, mais peuvent également avoir des effets négatifs sur l'environnement. Avec l'augmentation de l'intérêt pour la santé de la peau et la préservation d'un environnement propre, le besoin des solutions naturelles efficaces et sûres s'est accru.

Après avoir effectué des recherches approfondies et pris la décision de lancer le projet, il est estimé que notre idée est fiable. Le produit « BioFIN » un spray désinfectant naturel à base des huiles essentielles de *Tetralin* *articulata* est un choix excellent en raison de ses propriétés antibactériennes et antifongique et antioxydant en le mélangeant avec d'autres ingrédients, nous prouvons produire un spray désinfectant efficace et sûr pour la peau.

Cette solution offre non seulement une protection efficace contre les germes, mais elle assure également la santé et la douceur de la peau, tout en offrant une alternative écologique plus durable. L'utilisation des huiles essentielles confère au spray un parfum frais et naturel, le rendant adapté à une utilisation quotidienne.

2.1.2 Les Valeurs suggérées

- **Expertise** : Forts de nos recherches approfondies et de nos connaissances en matière de plantes médicinales, nous apportons une expertise solide pour développer un produit de qualité.
- **Efficacité** : Le produit « BioFIN » apporte une efficacité grâce à ses propriétés antibactérienne et antifongique et antioxydant.
- **Authenticité** : En utilisant une plante médicinale algérienne, nous mettons en avant l'authenticité de notre produit et valorisons les ressources naturelles de la région.
- **Qualité** : Nous nous engageons à offrir un produit de haute qualité qui répond aux normes les plus strictes en matière de sécurité et d'efficacité, nous nous assurons donc de respecter les normes de sécurité tout au long du processus de production et de distribution de notre spray désinfectant.

- **Accessibilité** : Nous souhaitons rendre le produit « BioFIN » accessible à un large public, en proposant des prix compétitifs tout en maintenant sa qualité et son efficacité.
- **Durabilité** : Nous nous efforçons de minimiser notre impact sur l'environnement en utilisant des pratiques durables dans la production de notre spray désinfectant.
- **Confiance** : Nous inspirons la confiance en garantissant la transparence, la traçabilité des ingrédients utilisés et en communiquant de manière claire sur les avantages et les résultats attendus du produit.
- **Innovation** : Nous restons à l'avant-garde de la recherche et de la technologie pour continuer à améliorer notre produit et proposer des solutions innovantes.

2.1.3. Équipe de travail

On repose sur une équipe composée de trois étudiantes ayant suivi une formation dans le domaine des sciences biologiques ; spécialité microbiologie et contrôle de qualité.

L'équipe du projet est composée des membres suivants :

-**Étudiant 1** : Bensaida Imane Nassrine, M2 microbiologie et contrôle de qualité. Consiste à diriger le projet, assurer une gestion adéquate, fournir la matière première, contribuer à identifier les plans de travail et superviser la production.

-**Étudiant 2** : Goulimi Ikram, M2 microbiologie et contrôle de qualité. Se concentre sur l'étude du marché et le marketing de l'entreprise.

-**Étudiant 3**: Grine Fatima Zohra, M2 microbiologie et contrôle de qualité. Chargé de la gestion du budget.

Les modes d'interaction et de communication au sein de notre équipe sont les suivants :

- Réunions régulières : Nous organisons des réunions périodiques pour discuter de l'avancement du projet, partager les informations importantes et prendre des décisions collectives.
- Communication directe : Nous favorisons une communication ouverte et directe entre les membres de l'équipe, ce qui facilite l'échange d'idées, la résolution des problèmes et la coordination des activités.
- Outils de communication : Nous utilisons des outils de communication tels que les e-mails, les appels téléphoniques et les messageries instantanées pour rester en contact et partager les informations rapidement et efficacement.

Annexe (BMC, Axes Du Project Start-Up)

En combinant les compétences des trois étudiantes, notre équipe travaille en étroite collaboration pour assurer le succès de notre projet de développement du le spray désinfectant « BoiFIN »

2.1.4 Les Objectifs du projet

Nous visons à répondre à une demande croissante pour des produits naturels de qualité et à devenir la référence incontournable dans notre domaine. Nous mettrons également en place des stratégies marketing efficaces pour promouvoir le spray désinfectant « BoiFIN », en ciblant les professionnels de la santé, les pharmacies et les consommateurs soucieux de leur bien-être. Avec notre engagement envers l'excellence, l'innovation et la satisfaction du client.

2.1.5 Le planning de réalisation du projet

			mois ou année						
			1	2	3	4	5	6	7
TRAVAUX	1	Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires	✓						
	2	Commande des équipements		✓	✓				
	3	Construction d'un siège de production (usine)		✓	✓	✓			
	...	Installation des équipements			✓	✓	✓		
	n	Achat de matières premières						✓	
	...	Réalisation du prototype							✓

Deuxième axe

Aspects innovants

2.2 Deuxième axe : Aspects innovants

2.2.1 La nature des innovations

Spray désinfectant naturel repose sur l'utilisation d'ingrédients naturels au lieu des substances chimiques synthétiques traditionnelles. Ce type de désinfectant présente plusieurs aspects distinctifs :

- Ingrédients naturels : Il utilise des huiles essentielles qui possèdent des propriétés antibactériennes et antifongiques et antioxydant.
- Action désinfectante : Il est conçu pour éliminer les germes, les bactéries et les virus des surfaces avec la même efficacité que les désinfectants chimiques traditionnels.
- Durabilité : L'utilisation d'ingrédients naturels dans le désinfectant contribue à la durabilité environnementale, car ces ingrédients se dégradent facilement dans l'environnement après usage.
- Parfum naturel : Le désinfectant naturel dégage un parfum naturel distinct qui renforce une atmosphère de pureté et de fraîcheur, le rendant ainsi apprécié pour une utilisation dans les maisons et les espaces publics.

2.2.2 Les domaines d'innovation

- ✓ Développement de formulations innovantes utilisant des combinaisons spécifiques d'huiles essentielles pour maximiser micro-organismes tout en offrant des avantages supplémentaires comme des propriétés antifongiques, antibactérienne et antioxydants.
- ✓ Utilisation de matières premières durables et de procédés de fabrication respectueux de l'environnement pour réduire l'empreinte écologique du produit tout au long de son cycle de vie.
- ✓ Conception de produits sûrs et conformes aux normes sanitaires internationales, avec des tests rigoureux pour garantir l'innocuité d'utilisation pour les utilisateurs et l'environnement.
- ✓ Investissement dans les recherches continue pour explorer de nouveaux produits des huiles essentielles dans le domaine de la désinfection, y compris leur efficacité contre de nouveaux types de pathogènes ou dans des environnements spécifiques comme les hôpitaux ou les établissements de soins.

Troisième axe

Analyse stratégique du marché

2.3 Troisième axe : Analyse stratégique du marché

2.3.1 Le segment du marché :

- Ce segment inclut les consommateurs qui préfèrent les produits écologiques et durables, évitant les produits chimiques agressifs au profit d'option plus naturelle.
- Les personnes allergiques ou sensibles aux produits chimiques préfèrent souvent les désinfectants naturels à base d'huiles essentielles, car ils sont moins susceptibles de déclencher des réactions allergiques ou des irritations.
- Les hôpitaux, les cliniques et autres établissements de soins de santé sont intéressés par des solutions de désinfection efficaces qui respectent les normes sanitaires tout en étant sûres pour les patients et le personnel médical.

En analysant ce marché potentiel, nous avons identifié un marché cible spécifique pour notre spray désinfectant « BoiFIN ». Il s'agit des individus soucieux de leur bien-être, des professionnels de la santé, des pharmacies et des centres de soins médicaux qui sont à la recherche de solutions cicatrisantes efficaces et naturelles. Nous avons choisi ce marché cible en raison de son besoin avéré pour des produits de qualité et de confiance. Nous croyons que notre spray désinfectant «BioFIN» répondra à leurs attentes en termes d'efficacité, de sécurité et de naturalité.

2.3.2 La mesure de l'intensité de la concurrence

Pour mesurer l'intensité de la concurrence pour notre spray désinfectant «BioFIN», nous devons prendre en compte les éléments suivants :

2.3.2.1 Concurrents directs et indirects

Nous avons identifié plusieurs concurrents directs et indirects dans le marché des en Algérie. Parmi les concurrents directs, nous retrouvons des marques de spray désinfectant déjà établies sur le marché. Il peut s'agir de marques proposant des produits similaires à notre spray désinfectant telles que « Puressentiel ». Les concurrents indirects incluent d'autres solutions.

2.3.2.2 Forces et faiblesses des concurrents :

- Certains concurrents peuvent bénéficier d'une forte reconnaissance de marque, ce qui leur donne un avantage en termes de confiance et de fidélité des consommateurs.

- Les entreprises ayant une large distribution et une présence sur plusieurs marchés peuvent atteindre plus facilement les consommateurs, augmentant ainsi leur part de marché.
- Les concurrents qui adoptent des pratiques durables dans la chaîne d’approvisionnement et la fabrication peuvent attirer les consommateurs soucieux de l’environnement.

2.3.3 La stratégie marketing

Dans notre stratégie de commercialisation, nous mettons l'accent sur des prix compétitifs en optimisant nos coûts grâce à l'utilisation de technologies de pointe. De plus, nous allons mis en place un site web qui joue un rôle clé dans la distribution de nos produits et la gestion des commandes.

Grâce à notre site web, nous offrons à nos clients une plateforme conviviale où ils peuvent facilement passer leurs commandes en ligne. Le site permet également de recueillir les doléances et les réclamations des clients, ce qui nous permet de réagir rapidement et de résoudre les problèmes éventuels. Nous accordons une grande importance à la satisfaction de nos clients et nous nous efforçons de leur offrir un service de qualité.

En utilisant la technologie de pointe, nous optimisons nos processus de distribution et de gestion des commandes, ce qui nous permet d'assurer une livraison rapide et efficace de nos produits. Nous visons à offrir une expérience client agréable, en mettant à leur disposition un système en ligne fiable et sécurisé.

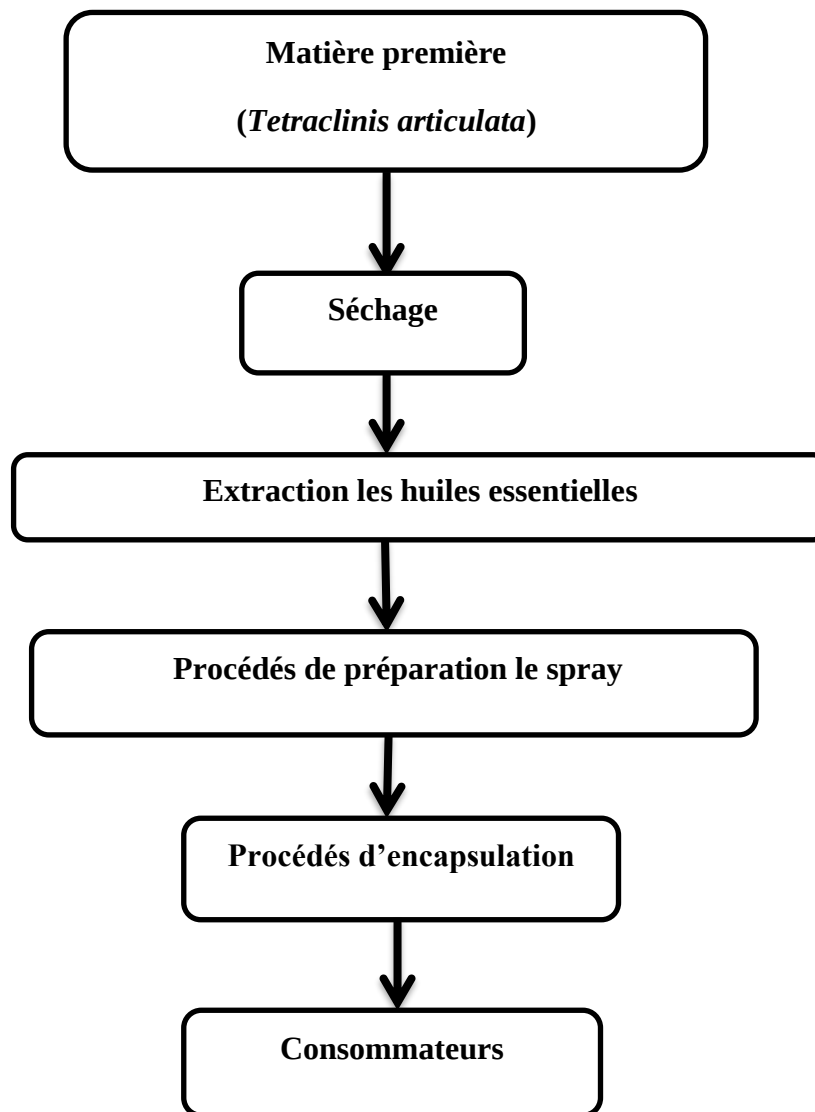
Quatrième axe

Plan de production et organisation

2.4 Quatrième axe : Plan de production et organisation

2.4.1 Le processus de production

Nous utilisons le schéma ci-dessous, qui explique les étapes du processus de production:



2.4.2 L'approvisionnement

Pour assurer une gestion efficace des approvisionnements, basée sur les données précédentes, nous avons élaboré les éléments suivants :

- **Politique d'achat** : Notre politique d'achat repose sur l'acquisition de matières premières de haute qualité, de matériaux et de fournitures conformes à nos exigences. Nous privilégions les fournisseurs qui partagent nos valeurs en termes de durabilité et de respect de l'environnement.

Cette politique garantit que nos produits sont fabriqués avec des composants fiables et respectueux des normes de qualité.

- **Les fournisseurs clés :** Dans le processus d'achat des produits et des équipements, nous communiquons directement les fournisseurs. En ce qui concerne le matériel végétal, les plantes vont être collectées de son milieu d'origine pour les plantes ce qui est un avantage concurrentiel pour notre projet.

2.4.3 La main d'œuvre

-Notre projet offre de nombreuses opportunités d'emploi ainsi que d'autres postes liés à la gestion du travail à distance et à la communication avec des clients hors Algérie.

-Notre projet a besoin de personnes avec des spécialisations biologiques précises, ainsi que de techniciens, d'ingénieurs et de comptables expérimentés pour gérer le plan financier.

2.4.4 Les principaux partenaires

Nous identifions plusieurs principaux partenaires qui peuvent contribuer à la réalisation du projet et apporter un soutien essentiel tels que les fournisseurs de matières premières de qualité pour la production de notre spray désinfectant, les autorités locales et les organismes gouvernementaux peuvent aussi fournir des incitations fiscales, des subventions ou des conseils réglementaires pour faciliter la mise en place de l'entreprise et assurer sa conformité aux lois et règlements en vigueur. La collaboration avec des laboratoires de recherche et de développement peut apporter une expertise scientifique, des ressources techniques et des connaissances approfondies dans les domaines de la formulation, de la microbiologie et des tests de sécurité. Leur contribution peut contribuer à améliorer l'efficacité de notre spray désinfectant.

Les partenaires financiers tels que les banques et les institutions de financement peuvent fournir des ressources financières nécessaires pour le démarrage et la croissance du projet. Ils peuvent offrir des prêts, des lignes de crédit ou des investissements pour soutenir nos opérations, l'achat d'équipements et le développement de notre infrastructure.

Les programmes d'incubation et d'accélération d'entreprises peuvent offrir un soutien précieux en termes de mentorat, de formation, de réseautage et de conseils stratégiques. En collaborant avec ces acteurs, nous pouvons bénéficier de leur expertise et de leur réseau pour accélérer la croissance et le succès de notre projet.

Cinquième axe

Plan financier

2.5 Cinquième axe : Plan financier

2.5.1 Les coûts et les charges

Sources d'obtention de financement :

- L'investissement personnel.
- Faire partie d'un incubateur d'entreprise.
- Aides gouvernementales.

2.5.2 Le chiffre d'affaires

Tableau 06 : Chiffre d'affaire.

DETAIL CHIFFRE D'AFFAIRE

Produit A ET B destine client	REALISATION			PREVISION				
	N-2	N-1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Qantite produit A	2000	5500	49500	5500	61000	69000	73000	80000
Prix HT produit A	780	780	780	800	830	860	900	1000
Ventes produit A	1560000	4290000	38610000	44000000	50630000	5934000	65700000	80000000
CHIFFRE D'AFFAIRES GLOBAL	1560000	4290000	38610000	44000000	50630000	5934000	65700000	80000000

Annexe (BMC, Axes Du Project Start-Up)

	REALISATION			PREVISION				
En Millions DZD	N -2	N -1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Vente et produits annexes	22364178	29818904	37273630	39235400,00	67173720,00	124870068,00	149844081,60	187305102,00
Variation des stocks produits finis et en cours	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production immobilisée	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Subvention d'exploitation	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Production de l'exercice	22364178	29818904	37273630	39235400,00	67173720,00	124870068,00	149844081,60	187305102,00
Achats consommés	4814284,98	6419046,64	8023808,3	8446114,00	14306005,20	26463809,88	31756571,86	39695714,82
Services Extérieurs et autres consommations	26106	34808	43510	45800,00	405800,00	405800,00	486960,00	608700,00
Consommation de l'exercice	4840390,98	6453854,64	8067318,3	8491914,00	14711805,20	26869609,88	32243531,86	40304414,82
Valeur ajoutée d'exploitation	17523787,02	23365049,36	29206311,7	30743486,00	52461914,80	98000458,12	117600549,74	147000687,18
Charges de personnel	1222992	1630656	2038320	2145600,00	2360160,00	28322192,00	3398630,40	4248288,00
Impôts et taxes et versement assimilés	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Excédent Brut d'Exploitation	16300795,02	21734393,36	27167991,7	28597886,00	50101754,80	95168266,12	114201919,34	142752399,18
Autres produits opérationnels	0	0	0	0,00	0,00	10000,00	12000,00	15000,00
Autres charges opérationnelles	0	0	0	0,00	0,00	15000,00	18000,00	22500,00
Dotations aux amortissements, Provisions	197220	262960	328700	346000,00	28000,00	28000,00	33600,00	42000,00
Reprise sur pertes de valeurs et provisions	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Résultat opérationnel	16103575,02	21471433,36	26839291,7	28251886,00	50073754,80	95135266,12	114162319,34	142702899,18
Produits Financiers	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Charges financières	40796,09084	54394,78779	67993,48474	71572,09	53825,96	34221,57	41065,89	51332,36
Résultat financier	40796,09084	54394,78779	67993,48474	71572,09	53825,96-	34221,57-	41065,89-	51332,36-
Résultat Ordinaire avant impôt	16144371,11	21525828,15	26907285,18	28323458,09	50019928,84	95101044,55	114121253,46	142651566,82
Impôt exigible sur résultat ordinaire	4036092,778	5381457,037	6726821,296	7080864,52	12504982,21	23775261,14	28530313,36	35662891,71
Impôt différé (variation) sur résultat ordinaire	0	0	0	0,00	0,00		0,00	0,00
TOTAL DES PRODUITS DES ACTIVITES ORDINAIRES	22364178	29818904	37273630	39235400,00	67173720,00	124880068,00	149856081,60	187320102,00
TOTAL DES CHARGES DES ACTIVITES ORDINAIRES	10337491,85	13783322,46	17229153,08	18135950,61	29658773,37	53554284,59	64265141,51	80331426,88
RESULTA NET DES ACTIVITES ORDINAIRES	12026686,15	16035581,54	20044476,92	21099449,39	37514946,63	71325783,41	85590940,09	106988675,12
Eléments extraordinaire (produits)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Eléments extraordinaire (charges)	0	0	0			0,00	0,00	0,00
Résultat extraordinaire	0	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
RESULTAT NET DE L'EXERCICE	12026686,15	16035581,54	20044476,92	21099449,39	37514946,63	71325783,41	85590940,09	106988675,12

Tableau 07 : Plans de trésorerie.

Budget prévisionnel de trésorerie													
Année 1													
	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5	Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	TOTAL
Apports	0												0
Emprunts	792 000												792 000
Subventions	0												0
Autres financements	0												0
Encaissements clients (Ventes)	702 000	936 000	1 404 000	1 794 000	2 340 000	2 730 000	3 120 000	3 666 000	4 134 000	5 148 000	569 400	6 942 000	33 485 400
Encaissements clients (Services)	320 000	240 000	360 000	380 000	200 000	550 000	620 000	800 000	720 000	610 000	570 000	380 000	5 750 000
Chiffre d'affaires	1 022 000	1 176 000	1 764 000	2 174 000	2 540 000	3 280 000	3 740 000	4 466 000	4 854 000	5 758 000	1 139 400	7 322 000	39 235 400
Investissements incorporels	150 000												150 000
Investissements corporels	308 000												308 000
Autres Frais immobilisés	0												0
Immobilisations	458 000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	458 000
Acquisition stocks départ													0
Remboursement capital Emprunt	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	14 123	169 474
Paiements fournisseurs	0	258 960	388 440	475 540	543 400	716 300	816 400	977 860	1 055 340	1 239 680	267 774	1 556 620	8 296 314
Charges externes	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	3 817	45 800
Impôts et taxes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salaire employés	100 000	110 000	110 000	120 000	120 000	120 000	126 000	130 000	130 000	130 000	134 000	134 000	1 464 000
Charges sociales employés	15 000	16 500	16 500	18 000	18 000	18 000	18 900	19 500	19 500	19 500	20 100	20 100	219 600
Prélèvement dirigeant	0	0	10 000	20 000	30 000	40 000	50 000	50 000	50 000	55 000	55 000	60 000	420 000
Charges sociales dirigeant	0	0	1 000	2 000	3 000	4 000	5 000	5 000	5 000	5 500	5 500	6 000	42 000
Total charges de personnel	115 000	126 500	137 500	160 000	171 000	182 000	199 900	204 500	204 500	210 000	214 600	220 100	2 145 600
Intérêts emprunts	6 600	6 488	6 374	6 260	6 145	6 029	5 911	5 793	5 674	5 554	5 433	5 311	71 572
Total des décaissements	597 539	409 887	550 254	659 739	738 484	922 268	1 040 151	1 206 093	1 283 454	1 473 174	505 746	1 799 970	11 186 760
Total des encaissements	1 814 000	1 176 000	1 764 000	2 174 000	2 540 000	3 280 000	3 740 000	4 466 000	4 854 000	5 758 000	1 139 400	7 322 000	40 027 400
Solde précédent	0	1 216 461	1 982 573	3 196 320	4 710 580	6 512 096	8 869 828	11 569 677	14 829 584	18 400 130	22 684 957	23 318 610	
Solde du mois	1 216 461	766 113	1 213 746	1 514 261	1 801 516	2 357 732	2 699 849	3 259 907	3 570 546	4 284 826	633 654	5 522 030	
Solde de trésorerie	1 216 461	1 982 573	3 196 320	4 710 580	6 512 096	8 869 828	11 569 677	14 829 584	18 400 130	22 684 957	23 318 610	28 840 640	

Annexe (BMC, Axes Du Project Start-Up)

COMPTE DE RUSULTAT PREVISIONNEL DE STARTUP								
	REALISATION			PREVISION				
En Milliers DZD	N-2	N-1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Vente Et produits annexes	1 560 000,00	4 290 000,00	38 610 000,00	44 000 000,00	50 630 000,00	5 934 000,00	65 700 000,00	80 000 000,00
Variation des stocks produits finis et en cours								
Production immobilisée								
Subvention d'exploitation								
I-production de l'exercice	1 560 000,00	4 290 000,00	38 610 000,00	44 000 000,00	50 630 000,00	5 934 000,00	65 700 000,00	80 000 000,00
Achats consommés	21 384 000,00	22 572 000,00	23 760 000,00	26 136 000,00	30 056 400,00	36 067 680,00	39 674 448,00	43 641 892,80
Services Extérieurs et autres consommations	9 504 000,00	10 032 000,00	10 560 000,00	11 088 000,00	12 751 200,00	15 301 440,00	16 831 584,00	18 514 742,40
Consommation de l'exercice	30 888 000,00	32 604 000,00	34 320 000,00	37 224 000,00	42 807 600,00	51 369 120,00	56 506 032,00	62 156 635,20
Valeur ajoutée d'exploitation	-29 328 000,00	-28 314 000,00	4 290 000,00	6 776 000,00	7 822 400,00	-45 435 120,00	9 193 968,00	17 843 364,80
Charges de personnel	6 531 840,00	6 894 720,00	7 257 600,00	7 620 480,00	8 382 528,00	9 220 780,80	10 142 858,88	11 157 144,77
Impôts, taxes et versements assimilés								
IV-Excédent brut d'exploitation	-35 859 840,00	-35 208 720,00	-2 967 600,00	-844 480,00	-560 128,00	-54 655 900,80	-948 890,88	6 686 220,03
Autres produits opérationnels								
Autres charges opérationnels								
Dotation aux amortissements	680 000,00	680 000,00	680 000,00	680 000,00	680 000,00	680 000,00	680 000,00	680 000,00
Reprise sur Pertes de valeurs et provisions	1 800 000,00	1 900 000,00	2 000 000,00	2 100 000,00	2 310 000,00	2 541 000,00	2 795 100,00	3 074 610,00
V-Résultat opérationnel	-38 339 840,00	-37 788 720,00	-5 647 600,00	-3 624 480,00	-3 550 128,00	-57 876 900,80	-4 423 990,88	2 931 610,03
Produits financiers								
Charges financières								
VI-résultat financier								
Résultat Ordinaire avant impôts	-38 339 840,00	-37 788 720,00	-5 647 600,00	-3 624 480,00	-3 550 128,00	-57 876 900,80	-4 423 990,88	2 931 610,03
Impôts exigible sur Résultats ordinaires								
Impôts différés sur Résultats ordinaires	-7 284 569,60	-7 179 856,80	-1 073 044,00	-688 651,20	-674 524,32	-10 996 611,15	-840 558,27	557 005,91
RÉSULTAT NET DES ACTIVITES ORDINAIRES	-31 055 270,40	-30 608 863,20	-4 574 556,00	-2 935 828,80	-2 875 603,68	-46 880 289,65	-3 583 432,61	2 374 604,13
Eléments extraordinaire (produits)								
Eléments extraordinaire (charges)								
Résultat extraordinaire								
RESULTAT NET DE L'EXERCICE	-31 055 270,40	-30 608 863,20	-4 574 556,00	-2 935 828,80	-2 875 603,68	-46 880 289,65	-3 583 432,61	2 374 604,13
BILANS DE STARTUP								
ACTIF								
	REALISATION			PREVISION				
En Milliers DZD	N-2	N-1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Immobilisations incorporelles								
Immobilisations corporelles								
Terrains								
Bâtiments								
Autres immobilisations corporelles	6 120 000	5 440 000	4 760 000	4 080 000	3 400 000	2 720 000	2 040 000	1 360 000
Immobilisations en concessions								
Immobilisations en cours								
Immobilisations financières								
Titres mis en équivalence								
Autres participations et créances rattachées								
Autres titres immobilisées								
Prêt et autres actifs financiers courants								
Impôts différés actif								
ACTIF NON COURANT	6 120 000	5 440 000	4 760 000	4 080 000	3 400 000	2 720 000	2 040 000	1 360 000
Stocks et en cours	5 000 000	5 500 000	6 000 000	6 500 000	7 000 000	9 000 000	1 000 000	12 000 000
Créances et emplois assimilés								
Clients	12 000 000	14 000 000	26 000 000	30 000 000	42 000 000	45 000 000	52 000 000	60 000 000
Autres débiteurs								
Impôts et assimilés								
Autres créances et emplois assimilés								
Disponibilités et assimilés								
Placements et autres actifs financiers courants								
Trésorerie	13 147 050	50 376 566	61 976 861	79 325 595	86 839 868	98 491 107	118 049 538	121 494 652
ACTIF COURANT	30 147 050	69 876 566	93 976 861	115 825 595	135 839 868	152 491 107	171 049 538	193 494 652
TOTAL ACTIF	36 267 050	75 316 566	98 736 861	119 905 595	139 239 868	155 211 107	173 089 538	194 854 652
PASSIF								
	REALISATION			PREVISION				
En Milliers DZD	N-2	N-1	N	N+1	N+2	N+3	N+4	N+5
Capitaux propres								
Capital émis	10 000 000	10 000 000	10 000 000	10 000 000	10 000 000	10 000 000	10 000 000	10 000 000
Capital non appelé								
Ecart de réévaluation								
Primes et réserves- réserves consolidées								
Résultat net-résultat net part du groupe	26 267 050	39 049 517	49 687 344	60 218 251	69 021 616	76 189 490	86 900 047	97 954 604
Autres capitaux propres report à nouveau		26 267 050	39 049 517	49 687 344	60 218 251	69 021 616	76 189 490	86 900 047
Part de la société consolidante (1)								
CAPITAUX PROPRES	36 267 050	75 316 566	98 736 861	119 905 595	139 239 868	155 211 107	173 089 538	194 854 652
PASSIFS NON COURANTS								
Emprunts et dettes financières								
Impôts différés								
Autres dettes non courantes								
Provision et produits constatés d'avance								
PASSIFS NON-COURANT	0	0	0	0	0			
PASSIFS COURANTS								
Fournisseurs et comptes rattachés								
Impôts								
Autres dettes								
Trésorerie passif								
PASSIFS COURANTS								
TOTAL PASSIF	36 267 050	75 316 566	98 736 861	119 905 595	139 239 868	155 211 107	173 089 538	194 854 652
Vérification de l'équilibre Actif/Passif								
	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 08 : Tableau de comptes des résultats.

Sixième axe

Prototype expérimental

2.6 Sixième axe : Prototype expérimental

Nom et logo de l'entreprise et du produit

Nous avons choisi le nom « BioFIN » pour l'entreprise pour le produit avec le logo:



Le produit final



Figure 17 : Prototype primaire du produit.