

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb-Blida

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : **Phytothérapie et santé.**

Thème

Évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles du Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.).

Présenté par :

Maidi Hanane.

Soutenu le : 17/12/2013.

Devant le jury :

M ^{me} OUADAH N.	Maître assistante A	USDB	Présidente
M ^{me} CHEBATA N.	Maître assistante A	USDB	Examinatrice
M ^{me} AMEDJKOUH H.	Maître assistante A	USDB	Examinatrice
M ^{me} FAIDI H.	Maître assistante B	USDB	Promotrice

Promotion : 2012 /2013



Remerciements

*A l'occasion de la présentation de ce mémoire, il m'est un devoir agréable d'exprimer ici
ma reconnaissance et mes remerciements.*

*À Madame FAIDI qui en tant qu'encadreur de projet, s'est toujours
montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour
l'inspiration, l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer et qui a accepté de suivre
l'évolution de mes travaux et de me guider tout au long de cette année, qui m'a
soutenu tout au long de mon travail, et à la direction avisée, fidèle et
exigeante de laquelle ce travail doit beaucoup*

*Je tiens à remercier sincèrement Madame OUADAH N, présidente du jury
pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

Aux membres du jury Madame CHEBATA N et Madame AMEDIKOUH H d'examiner ce travail.

*Je ne saurais oublier tous les enseignants à l'Université Saad Dablel - Blida
qui m'ont formé pendant ces années d'études.*

*Pour terminer, j'ai une pensée noble et pleine de gratitude envers ma famille
je vous promets que je resterai digne de votre sacrifice et votre amour.*

Mes remerciements également sont adressés :

À tous ceux qui ont pris part de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

À tous mes amis et proches qui m'ont soutenu constamment par leur pensée et leurs prières.

AMEL

SARAH

DOUNIA

ABDERRAOUF

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver le mot qu'il faut

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

Ainsi, c'est tout simplement que je dédie mon modeste travail à :

À la mémoire de mes grand-parents et en particulier AICHOUCH pour son éternelle préoccupation.

À Anour, ma maman pour l'amour et le soutien qu'elle me porte.

À Breikit, mon papa pour les sacrifices consentis pour mon instruction et mon bien être

À mes frères, Tayffour, Mohamed, Salem-Eddine, Kacem, Didine, Karim et Walid.

À mes sœurs, Ikram, Meriem, Naïma, Fattoum et Nacera.

À Tous mes neveux et Nièces.

À l'Algérie, mon Pays qui m'a permis d'en arriver là.



Abréviations

- ✓ **DO** : Densité optique.
 - ✓ **IC₅₀** : Concentration correspondant a 50% d'inhibition.
 - ✓ **DPPH** : 1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl.
 - ✓ **LB** : Luria Burtani.
 - ✓ **MH** : Muller Hinton.
 - ✓ **ZI** : Zone d'inhibition.
 - ✓ **HE** : Huile essentielle.
 - ✓ **ECBU** : Examen cyto bactériologique des urines.
 - ✓ **ATCC** : American Type Culture Collection.
-

Liste des figures

Figures	Titres	Pages
01	Aspect de <i>Juniperus phoenicea</i> .	10
02	Feuilles de <i>Juniperus phoenicea</i> .	11
03	Fleurs mâles de <i>Juniperus phoenicea</i> .	11
04	Fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	11
05	Aire de répartition du <i>Juniperus phoenicea</i> en région méditerranéenne.	13
06	Rameaux et fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	16
07	Protocole d'extraction de l'huile essentielle.	19
08	Étapes d'isolement et d'identification des souches bactériennes.	22
09	Protocole de l'aromatogramme, la microatmosphère et l'antibiogramme.	26
10	Effet de l'HE des rameaux de <i>Juniperus phoenicea</i> à différentes concentrations sur le développement de <i>Micrococcus luteus</i> par la méthode de l'aromatogramme.	33
11	Effet de l'HE des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> à différentes concentrations sur le développement de <i>Micrococcus luteus</i> par la méthode de l'aromatogramme.	35
12	Effet synergique des HE des rameaux et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> sur le développement de <i>Micrococcus luteus</i> par la méthode de l'aromatogramme.	36
13	Effet de l'HE des rameaux de <i>Juniperus phoenicea</i> à différentes concentrations sur le développement de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 par la méthode de l'aromatogramme.	38
14	Effet de l'HE des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> à différentes concentrations sur le développement de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 par la méthode de l'aromatogramme.	39
15	Effet synergique des HE des rameaux et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> sur le développement de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 par la méthode de l'aromatogramme.	40
16	Effet de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> sur le développement de <i>Escherichia coli</i> par ma méthode de la microatmosphère.	41
17	Nature de l'effet de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> sur le développement des souches bactériennes isolées et de référence.	42
18	L'antibiogramme de quelques souches bactériennes isolées et de référence.	44
19	Suivie cinétique de la croissance de <i>E.coli</i> ATCC25922 en présence et en absence de l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> à 2% dans le milieu de culture LB liquide.	45
20	Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'HE de <i>Juniperus phoenicea</i> (rameaux et fruits) et par l'acide ascorbique.	46
21	Quelques exemples d'appareil sécréteur.	A01
22	Distillation.	A02

Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
I	Caractéristiques des souches bactériennes de référence.	17
II	Répartition des souches bactériennes isolées à partir des urines.	30
III	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées, en fonction des différentes concentrations en HE des rameaux de <i>Juniperus phoenicea</i> .	32
IV	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées, en fonction des différentes concentrations en HE des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	34
V	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées par le mélange des deux HE des rameaux et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	36
VI	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence, en fonction des différentes concentrations en HE des rameaux de <i>Juniperus phoenicea</i> .	37
VII	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence, en fonction des différentes concentrations en HE des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	39
VIII	Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence par le mélange des deux HE des rameaux et des fruits de <i>Juniperus phoenicea</i> .	40
IX	Nature de l'effet des HE de <i>Juniperus phoenicea</i> sur les souches bactériennes testées.	42
X	Profil de sensibilité des souches bactériennes (isolées et de référence) aux HE et aux antibiotiques.	43
XI	Valeur de la concentration effective qui donne 50% de l'activité de piégeage du radical DPPH (IC ₅₀) des deux HE et l'acide ascorbique.	47
XII	Interprétation des résultats de l'ECBU.	A04
XIII	Antibiogramme des souches isolées.	A05
XIV	Antibiogramme des souches de référence.	A05

Notre travail vise la contribution à la valorisation du Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.) par l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de ses huiles essentielles (HE).

L'hydrodistillation des rameaux et celle des fruits a donné un rendement en HE de 0.273% et 2.577% respectivement.

L'activité antibactérienne des HE (rameaux, fruits et le mélange des deux HE) est évaluée par la méthode de l'aromatogramme et la méthode de la microatmosphère. Les souches testées sont responsables d'infections urinaires, trois souches sont référencées et huit souches sont isolées à partir de 59 échantillons d'urines infectées et identifiées. L'identification révèle une prédominance des Entérobactéries avec une fréquence de 54%, l'espèce fréquemment rencontrée est *E. coli* (49%).

L'évaluation par la méthode de l'aromatogramme sur les souches isolées montre une sensibilité qui dépend de la bactérie cible et le degré de sensibilité varie en fonction des dilutions de l'HE, avec une extrême sensibilité observée chez *Micrococcus luteus* (ZI= 25mm). Seule la souche *E. coli* ATCC 25922 s'est montrée extrêmement sensible indépendamment de la nature de l'HE et des dilutions (ZI= 26mm), par contre *Proteus mirabilis*, *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis* sont résistantes. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 se sont révélées résistantes quelque soit la nature et la concentration de l'HE. La méthode de la microatmosphère révèle que l'HE de *J. phoenicea* ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne pour l'ensemble des souches testées (isolées et de référence).

L'HE de *J. phoenicea* présente un effet bactéricide uniquement sur la souche *E.coli* (isolée et de référence) et un effet bactériostatique sur le reste des souches sensibles. Le suivie cinétique de la croissance bactérienne de *E. coli* en présence et en absence de l'HE montre une régression de plus de 6 fois la charge bactérienne.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a montré que l'HE de *J. phoenicea* présente une activité antioxydante qui reste faible comparée à celle donnée par l'acide ascorbique (IC₅₀= 9.58%). Cette activité parait plus importante dans le cas de l'HE des fruits (IC₅₀= 32.50%) par rapport à l'HE des rameaux (IC₅₀= 39.16%).

Mots clés : *Juniperus phoenicea*, huile essentielle, activité antibactérienne, activité antioxydante, effet bactéricide.

Our work aims at the valorization of red Juniper (*Juniperus phoenicea* L.) by the evaluation of the antibacterial activity and antioxydant of its essential oils (HE).

The hydrodistillation of the branches and that of the fruits gave a HE yield of 0.273% and 2.577% respectively.

The antibacterial activity of HE (branches, fruits and the mixture of both HE) is evaluated by the method of the aromagramme and the method of the microatmosphère. The bacterial strain tested are responsible for urinary infections, three referenced bacterial strain and eight bacterial strain are insulated and identified starting from 59 samples of infected urines. Entérobactéries prevail with a frequency of 54%, the species frequently met is *Escherichia coli* (49%).

The evaluation by the method of the aromagramme on the isolated strain watch that *Proteus mirabilis*, *Streptococcus salivarius* and *Enterococcus faecalis* are resistant, the remainder of the strain reveal a sensitivity which depends on the bacterium targets and the degree of sensitivity varies according to dilutions of HE, with an extreme sensitivity observed at *Micrococcus luteus* (ZI= 25mm). Only the strain *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI= 26mm) was shown extremely sensitive independently of the nature of HE and of dilutions, on the other hand *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 appeared resistant some is the nature and the concentration of HE. The method of the microatmosphère reveals that the HE of *J. phoenicea* does not present any inhibiting effect on the bacterial growth for the unit of the strain tested (isolated and from reference).

The HE of the branches, that of the fruits and the mixture of both HE present a bactericidal effect only on the strain *Escherichia coli* (isolated and of reference) and an effect bacteriostatic on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* and *Micrococcus luteus*. The followed kinetic one of the bacterial growth of *Escherichia coli* in presence and absence of HE shows a regression of more than 6 times the bacterial load.

The study of the antioxydant capacity by the method of DPPH showed that the HE of *J. phoenicea* presents an antioxydant activity which remains weak compared with that given by the ascorbic acid ($IC_{50} = 9.58\%$). This activity appears more important in the case of the HE of the fruits ($IC_{50} = 32.50\%$) compared to the HE of the branches ($IC_{50} = 39.16\%$).

Key words: *Juniperus phoenicea*, essential oil, antibacterial activity, antioxydant activity, bactericidal effect.

هذا البحث يهدف إلى تقييم نبتة العرعار و تثمين خواصه المضادة للبكتيريا و الأكسدة بالزيوت الأساسية المستخلصة . الهيدروديستيليا للأغصان و كذا ثمار أعطت نسبة من الزيوت الأساسية تقدر ب %0,273 و %2,577 علي التوالي. النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية للأغصان ,الثمار و مزيجهما تم تقييمها بتقنية الأروماتوغرام و الميكروأتموسفير. الفصائل البكتيرية التي أنجزت عليها التجارب مسؤولة عن التهابات المسالك البولية و ثلاثة فصائل معروفة و تم عزل و تحديد ثمانية فصائل من 59 عينة من البول. الأمعايات أعطت نسبة تقدر ب%54, أهمها *Escherichia coli* بنسبة 49%.

طريقة التقييم بالأروماتوغرام علي الفصائل المعزولة *Proteus mirabilis, Streptococcus salivarius Enterococcus faecalis* أظهرت أنها مقاومة, أما بقية الفصائل تظهر حساسية باختلاف البكتيريا المستهدفة و درجة الحساسية تختلف باختلاف تخفيفات الزيوت الأساسية مع حساسية مفرطة لدى *Micrococcus luteus* منطقة تثبيط = 25مم. *Escherichia coli* المعروفة هي البكتيريا الوحيدة التي أظهرت حساسية جد مفرطة أعلى منطقة تثبيط = 26مم باختلاف مصدر الزيت الأساسية و التخفيفات التي طرأت عليها, مع عكس البكتيريا المعروفة *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* أثبتت مقاومة شديدة بغض النظر عن مصدر وتركيز الزيوت الأساسية. أما تقنية ميكرو أتموسفير أظهرت أن الزيوت الأساسية للعرعار غير مثبطة للنمو البكتيري سواء علي الفصائل المعزولة والمعروفة.

الزيوت الأساسية للفروع, الثمار و كذا مزيجهما تحمل تأثير جرثومي علي *Escherichia coli* المعزولة و المعروفة, و تأثير شبه جرثومي علي *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter cloacae* و *Micrococcus luteus*. و تم تتبع حركة نمو البكتيريا *Escherichia coli* في غياب و وجود الزيوت الأساسية أظهرت إلى تراجع إلى أكثر من 6 مرات من حجم البكتيريا.

الدراسة المضادة للأكسدة بتقنية DPPH أظهرت أن الزيوت الأساسية للعرعار لديه نشاط ضد الأكسدة يبقي ضعيف مقارنة مع معطيات حمض الأسكوربيك %9,58 = IC₅₀. هذا النشاط يعد الأهم لدي الزيوت الأساسية للثمار بنسبة %32,50 = IC₅₀ و للفروع بنسبة %39,16 = IC₅₀.

المفردات الجوهرية: العرعار, الزيوت الأساسية, مضاد للبكتيريا, مضاد للأكسدة, تأثير جرثومي.

Sommaire

INTRODUCTION	1
---------------------------	---

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I- LES HUILES ESSENTIELLES

I.1 Généralités.....	3
I.2 Localisation et lieu de synthèse	3
I.3 Rôle physiologique.....	4
I.4 Composition chimique	4
I.5 Facteurs de variabilité de la composition chimique	5
I.6 Toxicité des huiles essentielles	5
I.7 Notion de chémotype	5
I.8 Propriétés physiques	6
I.9 Méthodes d'extraction	6
I.10 Activité biologiques	7

II- GENEVRIER ROUGE (*Juniperus phoenicea* L.)

II.1 Généralités	10
II.2 Taxonomie	10
II.3 Principales caractéristiques botaniques	10
II.4 Ecologique et écophysiologie	11
II.5 Importance écologique	12
II.6 Aire de répartition.....	13
II.7 Composition chimique	14
II.8 Activités biologiques.....	14

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I- MATÉRIEL

I.1. Matériel végétal.....	16
I.2. Souches bactériennes.....	16

II- MÉTHODES

II.1. Détermination de la teneur en eau.. ..	17
II.2. Extraction des huiles essentielles	17
II.3. Détermination du rendement de l'extraction.....	20

II.4. Isolement et identification des souches bactériennes.....	20
II.5. L'antibiogramme.....	23
II.6 Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	24
II.7 Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide.....	27
II.8 Évaluation de l'effet des huiles essentielles sur la cinétique de la croissance bactérienne.....	27
II.9 Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	28

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I- RÉSULTATS

I.1 Teneur en eau de la matière végétale.....	30
I.2 Rendement en HE.....	30
I.3 Isolement et identification des souches bactériennes.....	30
I.4 Évaluation de l'activité antibactérienne des HE.....	31
I.5 Évaluation de l'activité antioxydante des HE.....	46

II- DISCUSSION.....	47
----------------------------	-----------

CONCLUSION.....	50
------------------------	-----------

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	52
---	-----------

ANNEXES.

Depuis l'antiquité, et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**SCHAUENBERG et FERDINAND, 2006**).

Dans la lutte perpétuelle contre les infections microbiennes, les antibiotiques, toutes catégories confondues, ont été considérés comme l'arme absolue. Mais le phénomène de transfert de l'antibiorésistance à travers les différents genres et espèces et les effets secondaires des médicaments de synthèse, sous-estimés (parfois volontairement !) ont remis d'actualité la phytofièvre (**SERVICE, 1995 ; MUKHERJEE *et al.*, 2002 ; CAVALEIRO *et al.*, 2006 ; MAZARI *et al.*, 2010**).

Aujourd'hui les principes actifs des plantes sont des composants essentiels d'une grande partie de nos médicaments et produits de soins (**HANS, 2007**). Malgré les multiples progrès de la médecine moderne, il y a un net regain d'intérêt vis-à-vis de la phytothérapie. Selon l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), plus de 80 % de la population mondiale ont recours à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de la santé (**FARNSWORTH *et al.*, 1986**). En effet, sur les 300 000 espèces végétales recensées sur la planète plus de 200 000 espèces qui vivent dans les pays tropicaux d'Afrique ont des vertus médicinales (**MILLOGO *et al.*, 2005**).

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée dont un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15 % endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années (**SAVONA *et al.*, 1982**). Ces plantes constituent une catégorie à part, par le fait qu'elles élaborent des substances volatiles et odorantes, caractéristiques appelées huiles essentielles (**ISERIN, 2001**). Connues depuis l'antiquité, ces huiles essentielles sont généralement utilisées en médecine traditionnelle comme agents antibactériens et antifongiques (**NEWALL *et al.*, 1996**).

À cet effet, nous nous sommes intéressés à l'une des espèces de la famille des Cupressaceae le Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.) considéré comme une plante ayant des propriétés antimicrobienne et antioxydante (**HAYOUNI *et al.*, 2007 ; BOUZOUITA *et al.*, 2008**), dont les rameaux, les feuilles et les fruits sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques d'usage particulièrement antiseptique attribué à la présence des huiles essentielles (**WATT *et al.*, 1962 ; STASSI *et al.*, 1996 ; MEDINI *et al.*, 2006**). Certaines espèces de *Juniperus*, sont aussi utilisées

en médecine populaire comme antiseptiques (NEWALL *et al.*, 1996). *J. communis* est traditionnellement utilisée pour le traitement des infections urinaires, *J. oxycedrus* est utilisée comme un remède pour les infections dermatologiques (COSENTINO *et al.*, 2003).

En vue de la valorisation de *J. phoenicea* sur le plan aromatique et médicinal nous nous sommes fixés des objectifs suivants :

- Extraire des huiles essentielles à partir des rameaux et des fruits de *J. phoenicea* par la technique de l'hydrodistillation.
- Isoler et identifier les souches bactériennes incriminées dans les infections urinaires.
- Établir un profil de sensibilité des souches isolées et des souches de référence vis-à-vis des antibiotiques couramment utilisés pour une éventuelle comparaison.
- Tester l'activité antibactérienne des huiles essentielles des rameaux et des fruits et le mélange des deux huiles essentielles vis-à-vis des souches bactériennes isolées et de référence, et d'établir par la suite un suivie cinétique de la croissance bactérienne en présence et en absence de l'huile essentielle de *J. phoenicea*.
- Tester l'activité antioxydante des huiles essentielles.

I- LES HUILES ESSENTIELLES

I-1- Généralités

Les huiles essentielles (HE) sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, que l'on extrait de certains végétaux. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'Aromathérapie (**BRUNETON, 1999**).

Contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, les HE ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**ANTON et LOBSTEIN, 2005**).

I-2- Localisation et lieu de synthèse

Les HE n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1 % des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par un grand nombre d'espèces qu'elles regroupent en particulier dans les familles : Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apeaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae (**MOHAMMEDI, 2006**). La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (Annexe 01) :

- Les poils glandulaires épidermiques rencontrés souvent chez les Labiaceae, Geraniaceae, et Rutaceae produisent les essences dites superficielles.

- Les organes sécréteurs sous-cutanés comprenant les cellules et les poches sécrétrices qui sont généralement disséminées au sein du tissu végétal chez les Myrtaceae, Auranthiaceae.

- Les canaux sécréteurs chez les Umbelliferaeae, Apiaceae ou Asteraceae (**BRUNETON, 1999**).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'HE sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des HE ainsi que leur oxydation à l'air (**BRUNETON, 1993 ; ANTON et LOBSTEIN, 2005**). Ces essences peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (Origan), feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), écorces (Cannelier), bois (Bois de rose, Santal), racines (Vétiver), rhizomes (Acore, Gingembre), sève

(Encens, Myrte), bourgeons (Pin), fruit (Badiane) ou graines (Carvi). Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une espèce, voire dans un même organe (**BRUNETON, 1999**).

I-3- Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les HE en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu. Elles peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante à savoir (**BAKKALI, 2008**) :

- Repousser ou attirer les insectes pour favoriser la pollinisation ;
- Faciliter certaines réactions chimiques et source énergétique ;
- Permettre de conserver l'humidité des plantes désertiques ;
- Réduire la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines ;
- Action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables ;
- Protection contre la flore microbienne infectieuse par émission de substances appelées « phytoalexines » (**MANN, 1987**).

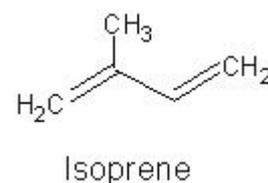
I-4- Composition chimique

Les HE sont des mélanges de structure extrêmement complexe, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à deux grands groupes chimiques en fonction de leur voie de biosynthèse, les terpènes et les composés aromatiques dérivés du phényl propane (**CROTEAU *et al.*, 2000**).

I-4-1- Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en (**HERNANDEZ, 2005**) :

- **Monoterpènes** formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$) ;
- **Sesquiterpènes**, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$) ;
- **Diterpènes**, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$) ;
- **Tétraterpènes** huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes ;
- **Polyterpènes** (C_5H_8)_n ou n peut-être de 9 à 30.



I-4-2- Les Composés aromatiques dérivés de phénylpropane

Ils sont moins abondants que les composés terpéniques, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane, ce sont souvent des allylphenols, quelques fois des

aldéhydes tel l'Eugenol. La Vanilline, l'Anéthole, l'Estragole et bien d'autres. Ils sont plus fréquents dans les HE d'Apiaceae (anis, fenouil, cannelle, basilic) (**ROUX et CATIER, 2007**).

I-4-3- Les composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes ou des acides gras comme les acides linoléiques et les acides linoléiques (**PIOCHON, 2008**).

I-5- Facteurs de variabilité de la composition chimique

Étant formées de mélanges généralement complexes, les HE présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories (**BESOMBES, 2008**):

✓ **Facteurs intrinsèques**, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat...) au degré de maturité du végétal concerné, et au moment de la récolte au cours de la journée ;

✓ **Facteurs extrinsèques**, l'origine géographique de la matière première (**VERZELE et al., 1988**), la méthode d'extraction, le stockage des matières premières avant distillation et le temps du stockage des HE après extraction (**FANTINO, 1990**). Les HE se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître (**CARETTE, 2000**).

I-6- Toxicité des huiles essentielles

En règle générale, les HE d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 (dose létale médiane) supérieures à 5g/kg. Certains auteurs (**FRANCHOMME et al., 1990 ; MAILHEBIAU, 1994**) se basent sur la composition des HE et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent, certaines HE se révèlent cytotoxiques selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande) (**INOUYE, 2003**).

I-7- Notion de chémotype

Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif présent dans l'HE. C'est l'élément qui permet de distinguer des HE extraites d'une même variété botanique, mais d'une composition biochimique différente. Cette classification permet de sélectionner les HE pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus

efficace. Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces : *Thymus vulgaris*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Il est important de noter que les HE à chemotypes différents présentent non seulement des activités différentes, mais aussi des toxicités très variables (PIBIRI, 2005).

I-8- Propriétés physiques

Les HE forment un groupe très homogène (BERNARD *et al.*, 1988 ; BRUNETON, 1993). Les principales caractéristiques sont :

- Une densité faible pour les HE à forte teneur en monoterpènes ;
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés ;
- Très altérables, sensibles à l'oxydation, solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques, mais peu solubles dans l'eau (ROQUEBERT, 2002) ;
- Dotées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques (MEBARKI, 2010) ;
- Volatiles et très rarement colorées (ROUX et CATIER, 2007).

I-9- Méthodes d'extraction

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique, différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales à savoir : la distillation, l'extraction à froid, l'extraction assistée par micro-ondes, l'extraction par solvants organiques et l'extraction par fluides supercritiques, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (GARNERO, 1977).

I-9-1- Distillation

Il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

✓ Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée proposée par GARNIER en 1891. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysate. Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Annexe 02) (LUCCHESI, 2005).

✓ **Distillation par entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques (Annexe 02) (**PIOCHON, 2008**).

✓ **Hydrodiffusion**

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins de dommage pour les composés volatils (**PIOCHON, 2008**).

I-10- Activités biologiques

Les HE par leurs propriétés nombreuses et variées sont utilisées dans différents secteurs : en parfumerie, en cosmétologie, en conserverie et dans les industries pharmaceutiques (**DORMAN et DEANS, 2000 ; LAHLOU, 2004 ; PRABUSEENIVASAN *et al.*, 2006 ; ROTA *et al.*, 2008**).

I-10-1- Industrie alimentaire

Les plantes aromatiques, les épices et leurs HE sont utilisées depuis des siècles dans la préparation alimentaire non seulement pour la flaveur qu'elles apportent, mais aussi comme conservateurs, pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (**MEBARKI, 2010**). Plusieurs travaux ont montré que les HE de Genévrier, de cannelle, de romarin, de clou de girofle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxinogénèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (**VALERO et FRANCES, 2006 ; MEBARKI, 2010**).

I-10-2- Désinfection des locaux

Grâce à leur pouvoir antiseptique, des HE peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou du système de ventilation, notamment dans le milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air et limitant aussi la propagation des germes microbiens (**BILLERBECK, 2007**).

I-10-3- Activité pharmaco-thérapeutique

L'usage des HE en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte des processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables (**OURAINI *et al.*, 2007**). De nombreuses HE se trouvent dans différentes préparations

pharmaceutiques : sirop, gouttes, gélules, elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, thym, menthe et autres (**PRABUSEENIVASAN *et al.*, 2006; DOMARACKY *et al.*, 2007**).

I-10-4- Activité antimicrobienne

En phytothérapie, les HE sont utilisées contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanaliaires ou la microflore vaginale, ou d'origine fongique comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes (**BILLERBECK, 2002**). Elles représentent aussi des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**BILLERBECK, 2007**). Cette activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique (notion de chémotype) et en particulier de leurs composés volatils majeurs (**MEBARKI, 2010**).

I-10-4-1- Activité antibactérienne

La première mise en évidence de l'action des HE contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**BOYLE, 1955**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**BURT, 2004**). Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une HE à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**KALEMBA et KUNICKA, 2003**). Les HE agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**BURT, 2004**). Ainsi, la membrane extérieure des Gram négatifs est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (**CRISTIANI *et al.*, 2007**).

Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram négatifs *Aeromonas hydrophila* (**WAN *et al.*, 1998**) et *Campylobacter jejuni* (**WANNISSORN *et al.*, 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des HE. La bactérie reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins la bactérie Gram négative *Pseudomonas aeruginosa* (**DORMAN et DEANS, 2000**).

La croissance des bactéries, résistantes et multirésistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines HE. Les huiles d'Agurmes, de Lavande, de Menthe, de Genévrier, de l'Arbre à thé, de Thym et d'Eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les Staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (**MAY *et al.*, 2000 ; TOHIDPOUR *et al.*, 2010**) et les Entérocoques résistants à la vancomycine (**FISHER et PHILLIPS, 2009**).

I-10-4-2- Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les HE pourraient également être employées comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**LIS, 2002**).

Le pouvoir antifongique des HE de certaines plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes (**DE BILLERBECK et al., 2002 ; KOBÄ et al., 2004 ; OUSSOU et al., 2004 ; OURAINI et al., 2005**) et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (**TEIXEIRADUARTE, 2005**).

I-10-4-3- Activité antivirale

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des HE telles que les monoterpénols et les monoterpénals. De nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des HE ont montré des améliorations importantes. L'effet antiviral de l'HE de *Mentha piperita* a été étudié « *in vitro* » contre les virus de Herpes Simplex, une inhibition de 50% est obtenue avec des concentrations entre 0,002% et 0,008% (**SCHUHMACHER et REICHLING, 2003**).

II- GENEVRIER ROUGE (*Juniperus phoenicea* L.)

II-1- Généralités

Le genévrier (*Juniperus*) appartient à la famille des Cupressacées où il avoisine les Cupressus (SEIGUE, 1985). Il comprend approximativement 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord (REZZI *et al.*, 2001). Le genre *Juniperus* est divisé en trois sections (ADAMS, 1998) :

- Caryocedrus (une espèce : *Juniperus drupacea*) ;
- Oxycedrus (neuf ou dix espèces) ;
- Sabine (environ 50 espèces) dont *J. phoenicea*, appelé Genévrier rouge, Genévrier de la Phénicie, Genévrier de Lycie et « Ara'ar » en Algérie (VARLET, 2008).

II-2- Taxonomie

J. phoenicea est classé comme suit (TEIBI, 1992) :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Embranchement : Spermaphytes

Sous-Embranchement : Gymnospermes

Classe : Pinopsida

Ordre : Pinales

Famille : Cupessaceae

Genre : *Juniperus*

Espèce : *Juniperus phoenicea* L.

II-3- Principales caractéristiques botaniques

II-3-1- Aspect

Arbuste ou arbre pouvant atteindre 8 m avec un tronc de 60 cm de diamètre, à ramification très dense. Les jeunes rameaux sont cylindriques à écorce brun cannelle et les rameaux âgés et le tronc sont gris brun et écailleux (Figure 01) (MAIRE, 1952), à système racinaire profond (RAMEAU *et al.*, 2008).



Figure 01 : Aspect de *Juniperus phoenicea* (Originale).

II-3-2- Feuilles

Les jeunes feuilles sont semis aciculaires et glauques, les feuilles adultes sont squamiformes, ovales triangulaires de 1 à 2 mm, finement denticulées sur la marge au microscope (Figure 02) (MAIRE, 1952).



Figure 02 : Feuilles de *Juniperus phoenicea* (Originale).

II-3-3- Fleurs et fruits

C'est une espèce monoïque, les fleurs mâles sont terminales sur des ramules allongées (Figure 03) et les fleurs femelles ainsi que les galbules (Fruits) sont sur des ramules courtes. Les galbules sont subglobuleux ou ovoïdes de 8 à 15 mm. À floraison hiver-printemps et fructification dans l'été de l'année suivante, les fruits verts deviennent rouges la deuxième année (Figure 04) (MAIRE, 1952), l'étiquette *phoenicea* viendrait plus de la couleur que du pays lui-même, le rouge phénicien étant un brun rouge puissant (VARLET, 2008).



Figure 03 : Fleurs mâles de *Juniperus phoenicea* (Originale).



Figure 04 : Fruits de *Juniperus phoenicea* (Originale).

II-4- Bioécologique et écophysiologie

La plus part des auteurs ont souligné l'excellent pouvoir d'adaptation du genévrier dans les conditions écologiques difficiles. Comme les autres essences forestières, la croissance du genévrier est quantitativement liée à l'hérédité et aux conditions écologiques : climatiques, édaphiques et actions anthropiques (RAMEAU *et al.*, 2008).

II-4-1- Exigences climatiques

J. phoenicea s'adapte à des contextes climatiques méridionaux variés ; héliophile, se rencontre en station sèche de l'étage thermo méditerranéen à l'étage montagnard ; xérophile. C'est elle qui résiste mieux à l'aridité au froid (**RAMEAU et al., 2008**). Il a un tempérament robuste lui permettant de végéter dans des conditions très sévères et de supporter de graves mutilations. Il résiste moins bien aux incendies et caractérisé par sa résistance au vent (**BOUDY, 1950**). *J. phoenicea* croit dans l'étage bioclimatique semi-aride avec une pluviométrie moyenne annuelle de 250 mm (**BOUDY, 1950**).

II-4-2- Exigences édaphiques

C'est une espèce indifférente au sol, supporte l'argile, les sables, les sols calcaires, ou dolomitiques, les marnes, les sols volcaniques et même les sols légèrement salés, il paraît se plaire principalement dans les sols meubles et siliceux, et il convient très bien pour la fixation des dunes. Il doit être considéré comme une essence de protection. L'espèce est présente dans des stations très sèches et en plein soleil où les sols sont très rocheux et à pH élevé et elle est capable de se développer dans les fissures des rochers (**BERGER et HEURTEAU, 1985**).

II-4-3- Régénération

SEIGUE (1985) a montré que la germination des graines de *J. phoenicea* est lente et difficile, elle est facilitée par le passage dans le tube digestif des animaux. Les oiseaux jouent un grand rôle dans la dissémination, ainsi là où il n'est pas concurrencé par les autres essences, sa régénération s'effectue par semis naturels. Les graines germent difficilement et restent dans le sol. Pour assurer la régénération par semis, il faudra donc une longue période, 20 à 25 ans au moins (**BOUDY, 1950**).

II-5- Importance écologique

Les formations à *J. phoenicea* s'intercalent entre les formations steppiques de basses altitudes et les formations forestières et pré forestières à chêne vert. Cette position confère au *J. phoenicea* un rôle écologique considérable du fait qu'il se comporte comme un élément de forte résistance à la désertification et à la pression de l'Homme et de ses troupeaux. De nos jours, en montagne et sur les dunes, il doit être considéré comme une essence de protection (**TALEB, 2007**).

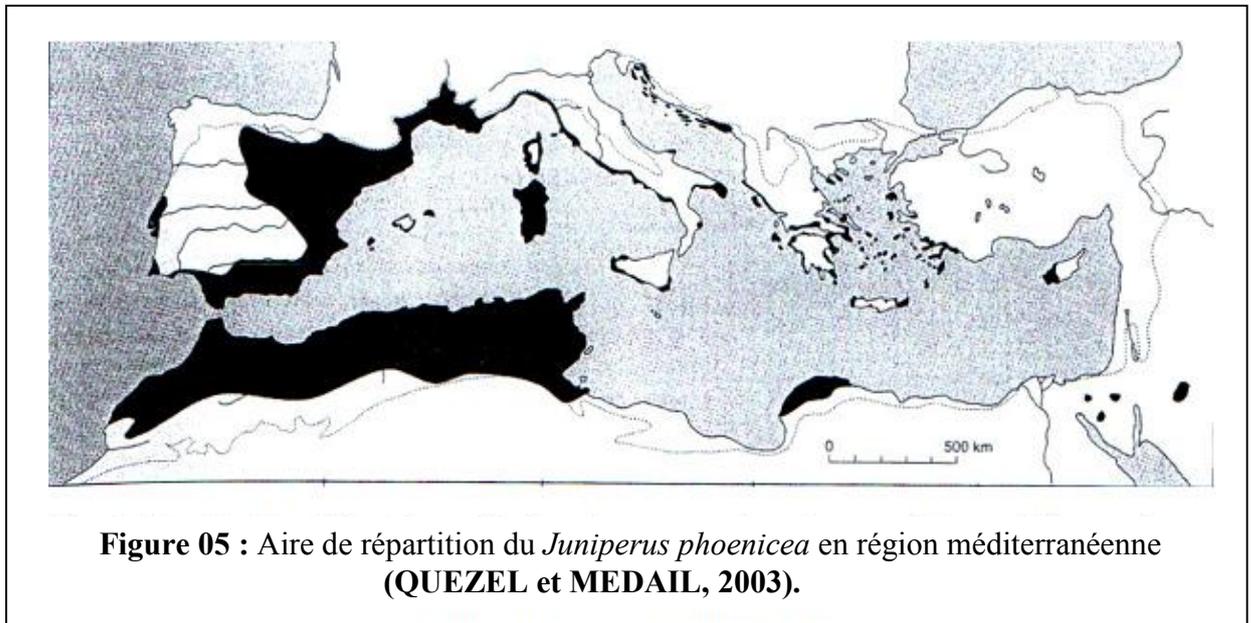
II-6- Aire de répartition

II-6-1- Dans le monde

Le genévrier de Phénicie est une espèce dont l'aire de répartition est circumméditerranéenne, il est représenté en Algérie, au Maroc (en basse montagne, mais dans certaines régions du littoral), en Tunisie et en Libye. On le trouve aussi bien sur les dunes du littoral qu'à l'intérieur dans les collines et les montagnes (Figure 05) (AIT YOUSSEF, 2006).

La superficie occupée par le genévrier de Phénicie est estimée en Afrique du Nord à 450.000 ha, dont 290.000 ha en Algérie, 80.000 ha en Tunisie et 152.000 ha au Maroc.

L'aire de répartition typique méditerranéenne est étendue en sud de l'Europe (France, Espagne), en Afrique du Sud, en Asie Mineure, en Crète ; à Chypre, il s'étend des îles Canaris à l'Arabie et à la Jordanie.



II-6-2- En Algérie

En Algérie, le Genévrier de Phénicie est commun sur l'ensemble du littoral. Il est présent en Kabylie, dans les rochers des hautes montagnes du Djurdjura, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'Oranais, de l'Algérois et du Constantinois (AITE YOUSSEF, 2006). Ainsi que leur abondance sur les côtes de Barbarie. Il est souvent en mélange avec *Pinus halepensis*, mais c'est dans l'Atlas saharien bordant le désert qu'il trouve sa place en grande extension (FRANK, 1986).

Cette cupressacée se rencontre dans le massif de l'Aurès avec une superficie de 1950 ha, elle est intimement mélangée, notamment dans le sud de ce massif (régions de Maafa, Beni Fodhala) et fortement parasité par *Arceuthobium oxycedri* (ABDESSEMED, 1981).

II-7- Composition chimique

La majorité des composants chimiques isolés des feuilles et des cônes (fruits) de *J. phoenicea* sont des huiles volatiles (EL-SAWI *et al.*, 2007). Des études phytochimiques antérieures de cette espèce ont montré que cette plante accumule des terpénoïdes, en particulier des monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes (COMTE *et al.*, 1997). Cette espèce ne comprend que de petites quantités de dérivés phénoliques : Bisflavones et Lignanes (CAIRNES *et al.*, 1980 ; COMTE *et al.*, 2007). La même source a signalé la présence de phenylpropanes glycosides, juniperosides, rosarin et Skimmin et deux dérivés furanones glucosides. Les stérols et les hydrocarbures ont été signalés par ABOULELA *et al.* (2005).

II-8- Activités biologiques

II-8-1- Activité antimicrobienne

Diverses études ont été menées sur le pouvoir antimicrobien de *J. phoenicea*.

II-8-1-1- Activité antibactérienne

La croissance des bactéries, résistantes et multirésistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines HE dont celle du Genévrier qui se révèle particulièrement efficace contre les Staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (MAY *et al.*, 2000) et les Entérocoques résistants à la vancomycine (FISHER et PHILLIPS, 2009). L'activité antibactérienne des HE de *J. phoenicea* a été démontrée par plusieurs travaux, leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, cette activité est par ailleurs variable d'une souche bactérienne à l'autre (KALEMBA et KUNICKA, 2003). L'HE des rameaux inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli* (EL-SAWI *et al.*, 2007 ; MAZARI *et al.*, 2010), *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Streptococcus mutans* (EL-SAWI *et al.*, 2007 ; DERWICH *et al.*, 2010).

II-8-1-2-Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des HE des rameaux de *J. phoenicea* a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes, contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer* (EL-SAWI *et al.*, 2007 ; MAZARI *et al.*, 2010) *Aspergillus niger* (EL-SAWI *et al.*, 2007).

II-8-2- Activité antioxydante

ENNAJER *et al.*(2009) ont montré que les flavonoïdes de *J. phoenicea* présentent une bonne activité antioxydante par test de DPPH et ABTS (acide 2,2'-azino-bis(3éthylbenz-

thiazoline-6-sulfonique)). De même, **BOUZOUITA *et al.* (2008)** ont prouvé qu'une protection contre l'oxydation est assurée en présence d'HE de *J. phoenicea* pour le saindoux (corps gras) et l'huile de soja.

II-8-3- Autres activités

- Activité insecticide de l'HE testée contre un insecte des denrées stockées *Tribolium confusum* (**BOUZOUITA *et al.*, 2008**).
- Rôle protecteur contre l'hépatotoxicité du CCl₄ (tétrachlorure de carbone) (**SANAA *et al.*, 2010**).
- Activité cytotoxique contre les lignées cellulaires tumorales, l'huile des baies possède les plus hautes activités de lutte contre des tumeurs de cerveau, du poumon, du foie et du sein, ainsi une faible activité contre la lignée cellulaire du col de l'utérus (**EL-SAWI *et MOTAWA*, 2008**).

I- RÉSULTATS

I-1- Teneur en eau de la matière végétale

La détermination de la teneur en eau des rameaux et des fruits de *Juniperus phoenicea* L. a révélé un taux de 31,54% et 4,71% respectivement, la teneur en eau des rameaux correspond approximativement à un tiers du poids frais, ce qui signifie que 68.46 % représente le taux de la matière sèche ayant servi réellement à l'extraction des HE. Cette teneur est huit fois plus importante que celle donnée par les fruits. Ce paramètre a une grande importance pour l'extraction, car la présence de l'eau est un élément gênant du rendement en HE.

I-2- Rendement en HE

Le rendement moyen en HE extraite à partir des rameaux et des fruits est respectivement de 0.274 % et 2.577 %. Les résultats montrent que le rendement en HE des fruits est dix fois plus important que celui obtenu à partir des rameaux. Cette variation du rendement peut être expliquée par la teneur en eau importante dans les rameaux par rapport aux fruits.

I-3- Isolement et identification des souches bactériennes

La culture de 100 échantillons d'urine prélevés chez les patients adressés à l'Établissement Hospitalier de Messaad a permis d'isoler 59 germes, tous les germes ont pu être identifiés, leur répartition est représentée dans le tableau II.

Tableau II : Répartition des souches bactériennes isolées à partir des urines.

Espèce	Caractéristiques	Fréquence (%)
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Cocci (G+)	18.64
<i>Staphylococcus epidermidis.</i>	Cocci (G+)	15.25
<i>Escherichia coli.</i>	Bacil (G-)	49.15
<i>Proteus mirabilis.</i>	Bacil (G-)	1.69
<i>Enterobacter cloacae.</i>	Bacil (G-)	3.38
<i>Streptococcus salivarius.</i>	Cocci (G+)	3.38
<i>Micrococcus luteus.</i>	Cocci (G+)	5.08
<i>Enterococcus faecalis.</i>	Cocci (G+)	3.38

L'analyse des résultats du tableau II révèle une prédominance des Entérobactéries (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*) avec une fréquence de 54.32 %. L'espèce fréquemment rencontrée est *Escherichia coli* (49.15 %), suivi par les Staphylocoques (33.89 %) représentés par les deux espèces *Staphylococcus aureus* (18.64 %) et *Staphylococcus epidermidis* (15.25 %). Pour ce qui est des souches *Streptococcus salivarius*, *Micrococcus luteus* et *Enterococcus faecalis*, elles sont représentées par 3.38%, 5.08% et 3.38% respectivement.

I-4- Évaluation de l'activité antibactérienne des HE

Deux méthodes sont retenues pour tester l'effet antibactérien des HE, la méthode de l'aromatogramme et la méthode de la microatmosphère.

I-4-1- Aromatogramme

I-4-1-1- Cas des souches isolées

✓ Essai avec l'HE des rameaux

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes isolées par l'HE des rameaux de *J. phoenicea* sont regroupés dans le tableau III illustrés par la figure 10.

Tableau III : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées, en fonction des différentes concentrations en HE des rameaux de *Juniperus phoenicea*.

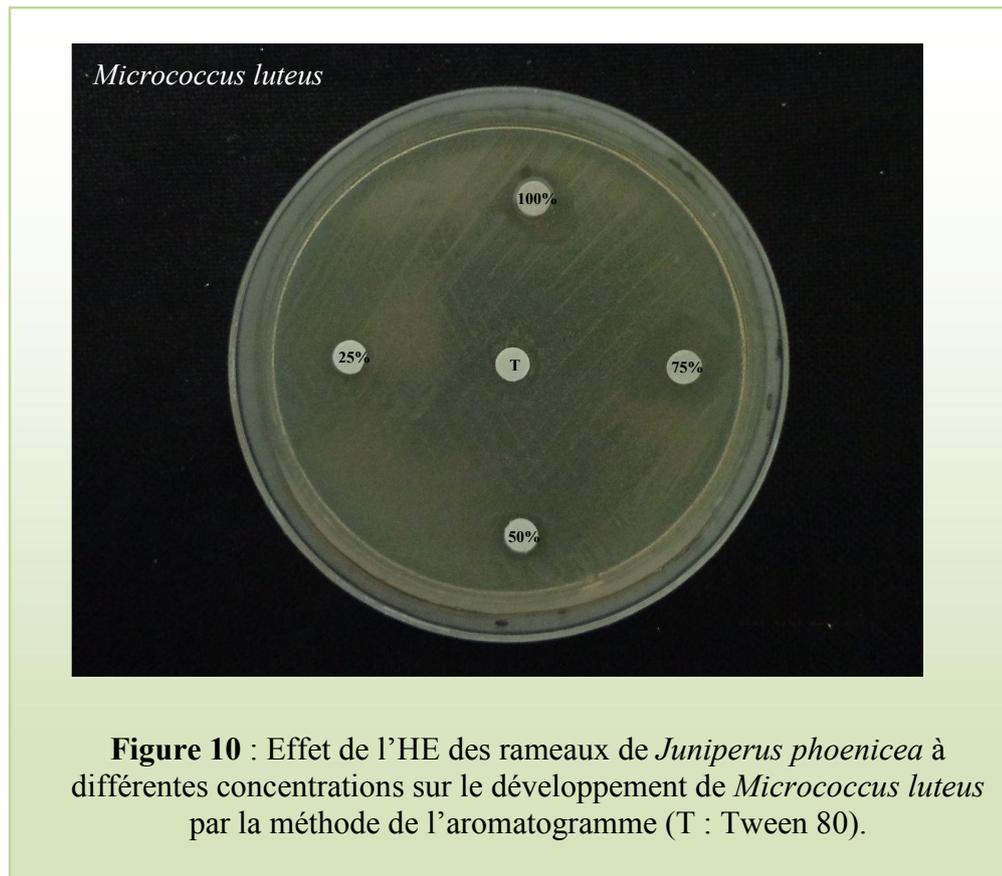
Souches	Dilutions	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%	15mm	++
	75%	13mm	+
	50%	10mm	+
	25%	--	R
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100%	15mm	++
	75%	10mm	+
	50%	9mm	+
	25%	--	R
<i>Escherichia coli</i>	100%	15mm	++
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Proteus mirabilis</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	100%	15mm	++
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Streptococcus salivarius</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Micrococcus luteus</i>	100%	21mm	+++
	75%	23mm	++++
	50%	15mm	++
	25%	9mm	+
<i>Enterococcus faecalis.</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), + (Sensible), ++ (Très sensible), +++ (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.



Les résultats ci-dessus montrent que l'activité antibactérienne de l'HE des rameaux dépend de la bactérie cible. Aucune zone d'inhibition n'est observée pour *Proteus mirabilis*, *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis* pour l'ensemble des dilutions de l'HE utilisées. Ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action antibactérienne de l'HE des rameaux. Au contraire, les souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae* ont manifesté une sensibilité vis-à-vis de cette HE, le degré de sensibilité varie en fonction des dilutions de l'HE. La souche *Micrococcus luteus* s'est montrée extrêmement sensible à notre HE à 75% (ZI= 23 mm) et 100% (ZI= 21 mm). Cette sensibilité reste remarquable même avec l'HE à 25% (ZI= 9 mm).

✓ Essai avec l'HE des fruits

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches bactériennes isolées par l'HE des fruits de *J. phoenicea* sont regroupés dans le tableau IV et illustrés par la figure 11.

Tableau IV : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées, en fonction des différentes concentrations en HE des fruits de *Juniperus phoenicea*.

Souches	Dilutions	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%	15mm	++
	75%	12mm	+
	50%	10mm	+
	25%	--	R
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100%	20mm	+++
	75%	12mm	+
	50%	11mm	+
	25%	--	R
<i>Escherichia coli</i>	100%	15mm	++
	75%	20mm	+++
	50%	9mm	+
	25%	--	R
<i>Proteus mirabilis</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	100%	15mm	++
	75%	10mm	+
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Streptococcus salivarius</i>	100%	15mm	++
	75%	13mm	+
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Micrococcus luteus</i>	100%	25mm	++++
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Enterococcus faecalis.</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), **+** (Sensible), **++** (Très sensible), **+++** (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.

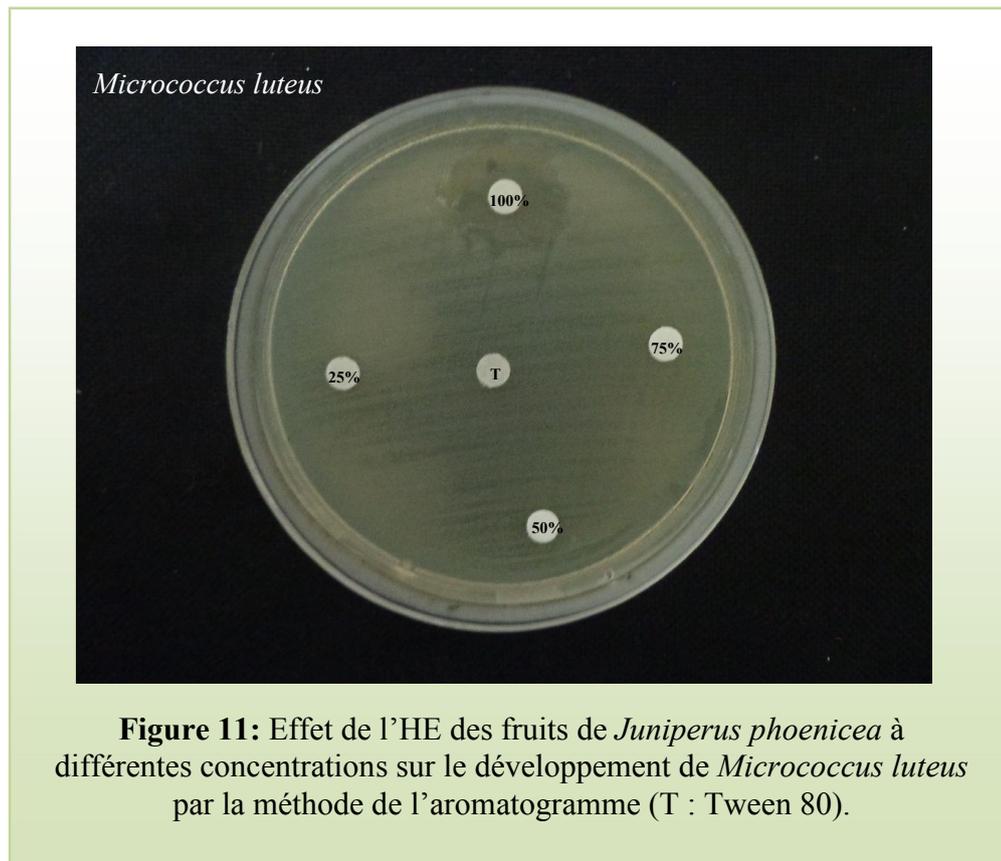


Figure 11: Effet de l'HE des fruits de *Juniperus phoenicea* à différentes concentrations sur le développement de *Micrococcus luteus* par la méthode de l'aromatogramme (T : Tween 80).

L'analyse des résultats montre que la souche *Proteus mirabilis* et *Enterococcus faecalis* restent résistantes même à l'HE des fruits quelque soit la concentration. Le reste des souches isolées se sont révélées très sensibles à notre HE à 100%. Néanmoins, les souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichia coli* ont manifesté une bonne sensibilité vis-à-vis de l'HE même à 75% et 50%.

✓ Essai avec le mélange des deux HE (effet synergique)

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches bactériennes isolées par le mélange des deux HE sont regroupés dans le tableau V et illustrés par la figure 12.

Tableau V : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes isolées par le mélange des deux HE des rameaux et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

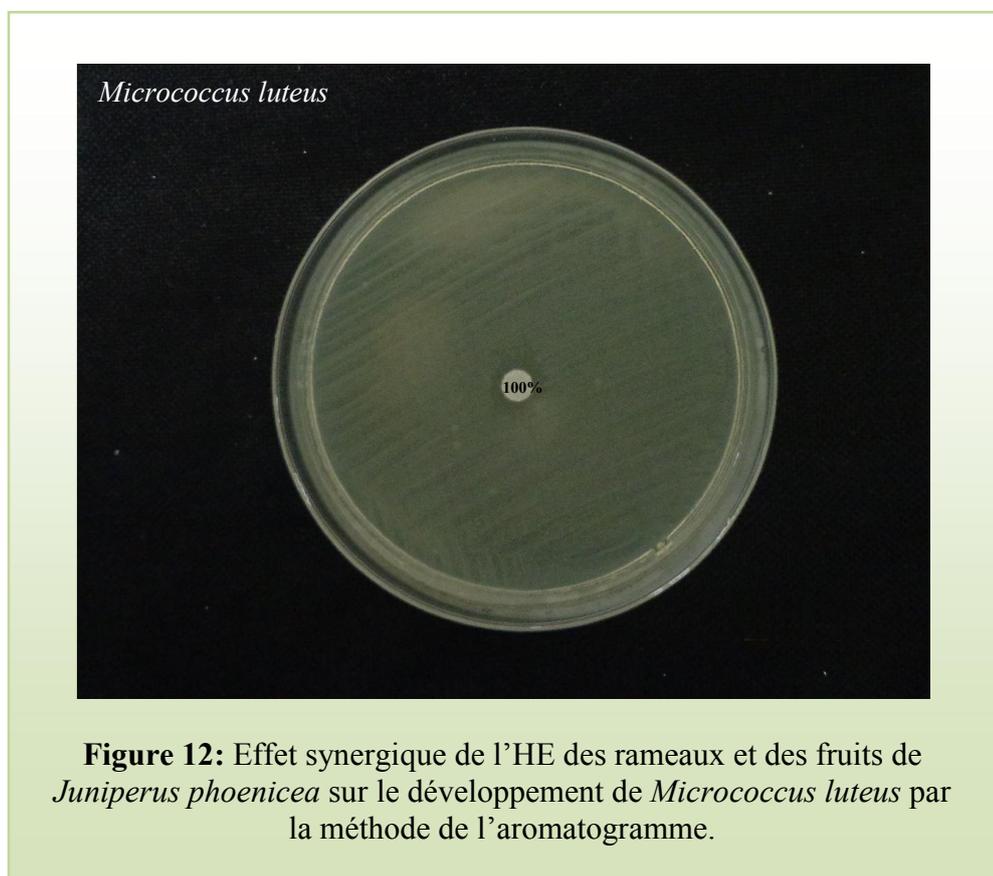
Souches	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	15mm	++
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22mm	++++
<i>Escherichia coli</i>	16mm	++
<i>Proteus mirabilis</i>	--	R
<i>Enterobacter cloacae</i>	15mm	++
<i>Streptococcus salivarius</i>	--	R
<i>Micrococcus luteus</i>	19mm	++
<i>Enterococcus faecalis</i>	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), + (Sensible), ++ (Très sensible), +++ (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.



Les résultats du tableau V montrent que le mélange des deux HE (rameaux et fruits) ne présente aucun effet inhibiteur sur les souches *Proteus mirabilis*, *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis*, par contre nous avons noté une très bonne sensibilité pour les souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Micrococcus luteus*. C'est la souche *Staphylococcus epidermidis* qui s'est montrée extrêmement sensible au mélange des deux HE (ZI = 22mm).

I-4-1-2- Cas des souches de référence

✓ Essai avec l'HE des rameaux

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes de référence par l'HE des rameaux de *J. phoenicea* sont regroupés dans le tableau VI et illustrés par la figure 13.

Tableau VI : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence, en fonction des différentes concentrations en HE des rameaux de *Juniperus phoenicea*.

Souches	Dilutions	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Escherichia coli</i>	100%	24mm	+++++
	75%	26mm	+++++
	50%	22mm	++++
	25%	20mm	+++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), + (Sensible), ++ (Très sensible), +++ (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.

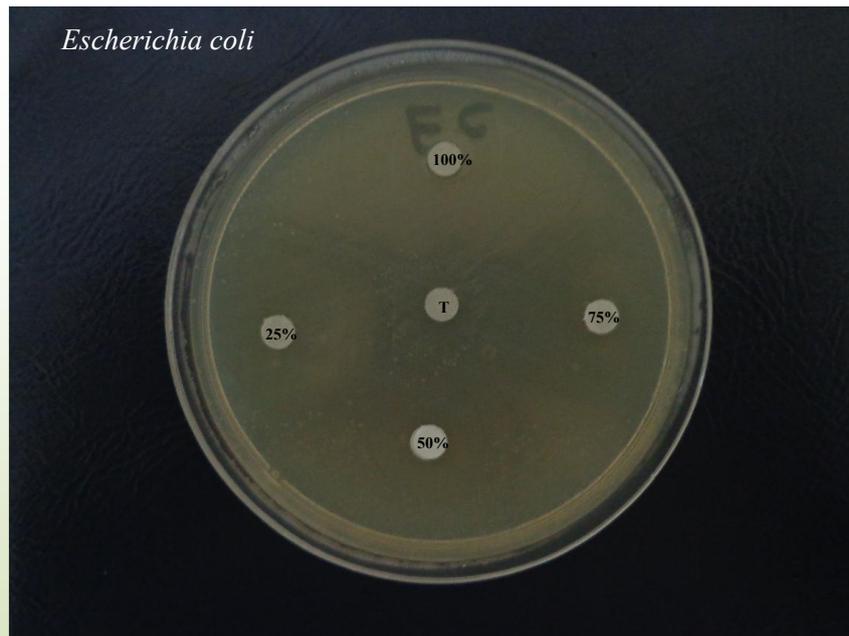


Figure 13: Effet de l'HE des rameaux de *Juniperus phoenicea* à différentes concentrations sur le développement de *Escherichia coli* (ATCC 25922) par la méthode de l'aromatogramme (T : Tween 80).

Nous remarquons que les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont révélées résistantes à l'HE des rameaux quelque soit la concentration. Par contre, la souche *Escherichia coli* s'est montrée extrêmement sensible indépendamment des concentrations en HE avec une grande zone d'inhibition (ZI = 26 mm) à 75%.

✓ Essai avec l'HE des fruits

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des différentes souches bactériennes de référence par l'HE des fruits de *J. phoenicea* sont regroupés dans le tableau VII et illustrés par la figure 14.

Tableau VII : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence, en fonction des différentes concentrations en HE des fruits de *Juniperus phoenicea*.

Souches	Dilutions	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R
<i>Escherichia coli</i>	100%	24mm	+++++
	75%	22mm	++++
	50%	15mm	++
	25%	--	R
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100%	--	R
	75%	--	R
	50%	--	R
	25%	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), **+** (Sensible), **++** (Très sensible), **+++** (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.

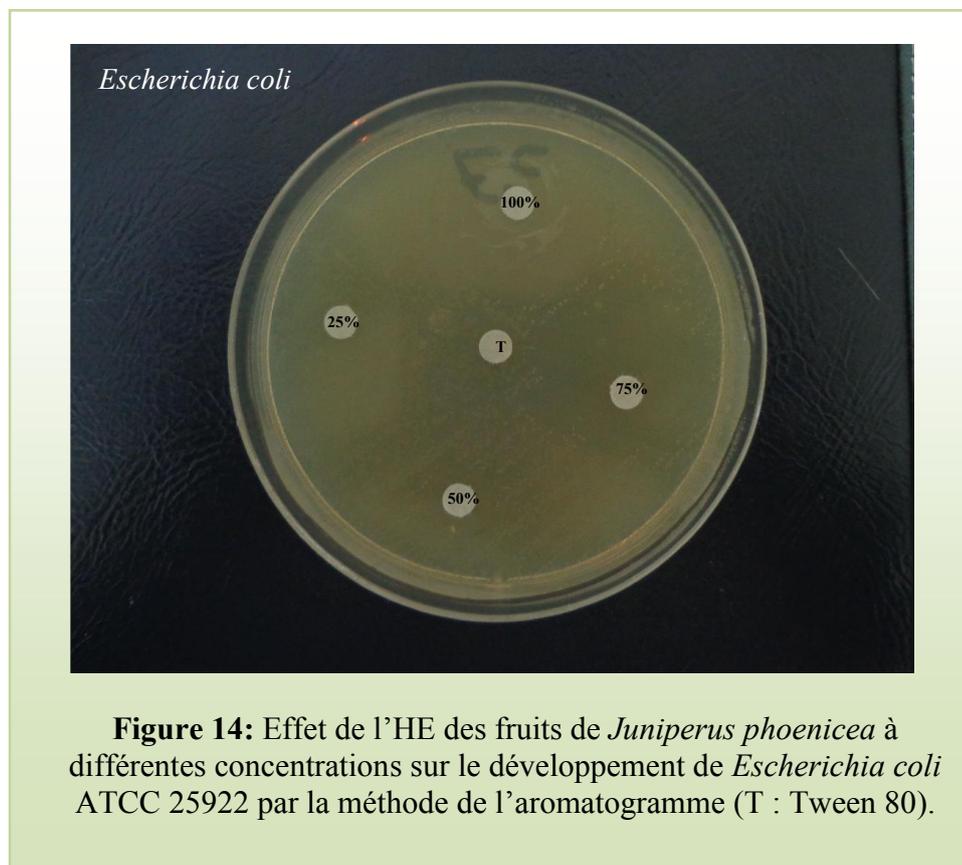


Figure 14: Effet de l'HE des fruits de *Juniperus phoenicea* à différentes concentrations sur le développement de *Escherichia coli* ATCC 25922 par la méthode de l'aromatogramme (T : Tween 80).

Les deux souches *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* restent résistantes même à l'HE des fruits tandis que *Escherichia coli* a manifesté une extrême sensibilité à l'HE à 100% (ZI= 24 mm) et 75% (ZI= 22 mm), néanmoins, cette sensibilité reste inférieure à celle donnée par l'HE des rameaux.

✓ **Essai avec le mélange des HE (effet synergique)**

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition du développement des différentes souches bactériennes de référence par le mélange des deux HE sont regroupés dans le tableau VIII et illustrés par la figure 15.

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibition (ZI) du développement des différentes souches bactériennes de référence par le mélange des deux HE des rameaux et des fruits de *Juniperus phoenicea*.

Souches	Ø ZI	Sensibilité
<i>Staphylococcus aureus</i>	--	R
<i>Escherichia coli</i>	15mm	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	--	R

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des diamètres de la zone d'inhibition

R (Résistant), + (Sensible), ++ (Très sensible), +++ (Extrêmement sensible).

Ø : Diamètre.

ZI : Zone d'inhibition.



Le mélange des deux HE (rameaux et fruits) reste sans aucun effet inhibiteur sur la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre, *Escherichia coli* a manifesté une bonne sensibilité (ZI =15 mm), comparable à l'effet observé chez la souche isolée. Nous pouvons déduire que le mélange des deux HE ne présente pas un effet synergique sur les souches bactériennes testées (isolées et de référence).

I-4-2- Microatmosphère

L'HE des rameaux, celle des fruits et le mélange des deux HE ne présentent aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne de l'ensemble des souches testées (isolées et de référence) (figure 16). L'absence des zones d'inhibition peut s'expliquer par le fait que la diffusion de notre HE ne se fait pas dans la phase gazeuse ou encore, les souches bactériennes testées restent résistantes à la fraction volatile de notre HE.



I-4-3- Effet bactéricide et bactériostatique

À la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des HE sur les microorganismes une activité létale (bactéricidie) et une inhibition de la croissance (bactériostase). La différenciation des effets inhibiteurs des HE testées sur les souches bactériennes sensibles (isolées et référenciées) est représentée dans le tableau IX et illustrée par la figure 17.

Tableau IX : Nature de l'effet des HE de *J. phoenicea* sur les souches bactériennes testées.

Souches	Effet
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactériostatique
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bactériostatique
<i>Escherichia coli</i> (isolée)	Bactéricide
<i>Enterobacter cloacae</i>	Bactériostatique
<i>Micrococcus luteus</i>	Bactériostatique
<i>Escherichia coli</i> (référénciée)	Bactéricide

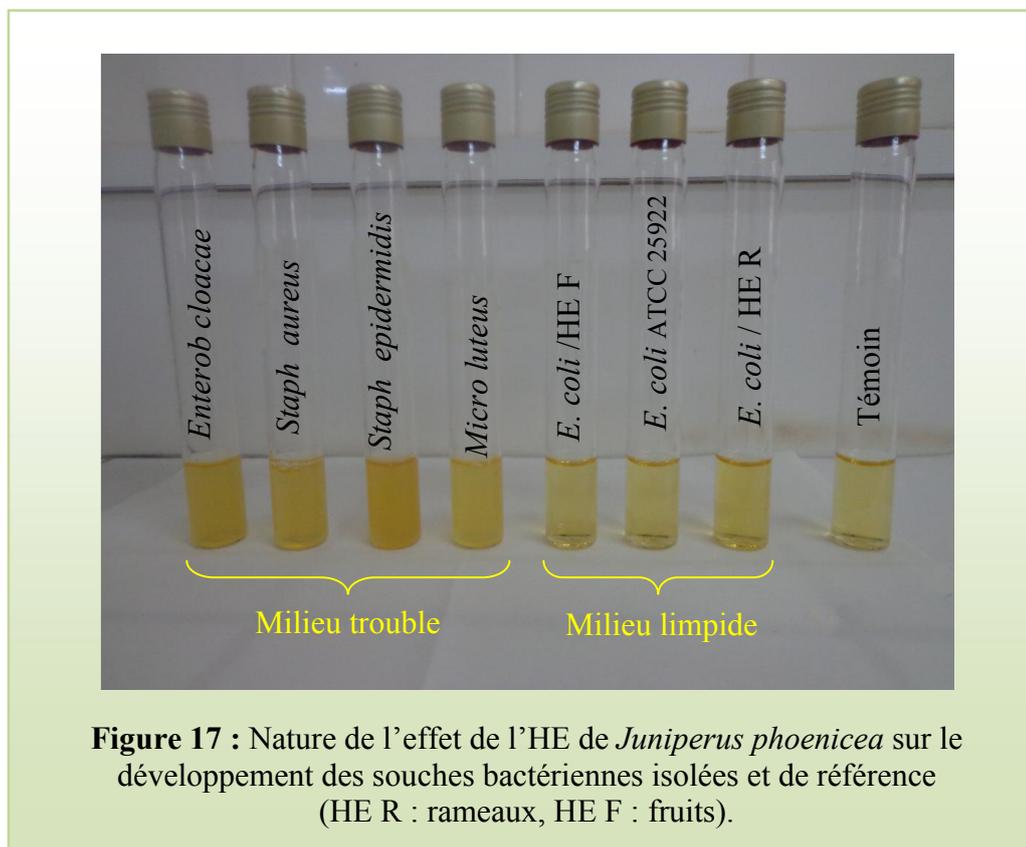


Figure 17 : Nature de l'effet de l'HE de *Juniperus phoenicea* sur le développement des souches bactériennes isolées et de référence (HE R : rameaux, HE F : fruits).

Les résultats montrent que l'HE de *J. phoenicea* présente un effet bactéricide uniquement sur la souche *Escherichia coli* (isolée et de référence) et un effet bactériostatique sur les souches *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* et *Micrococcus luteus*.

I-4-4- Comparaison entre l'effet des antibiotiques et l'effet des HE

Dans le but de comparer la sensibilité des souches bactériennes aux divers antibiotiques et aux HE, nous avons testé une gamme d'antibiotiques sur les souches bactériennes isolées et les souches bactériennes de référence.

Le résultat global du test de sensibilité des souches bactériennes (isolées et de référence) vis-à-vis des 19 antibiotiques testés est représenté en annexe 05. Trois antibiotiques, les plus efficaces, ont été retenus pour la comparaison avec l'action des HE. Il s'agit de l'Ofloxacine, le Chloramphénicol et le Triméthoprime Sulfaméthoxazole.

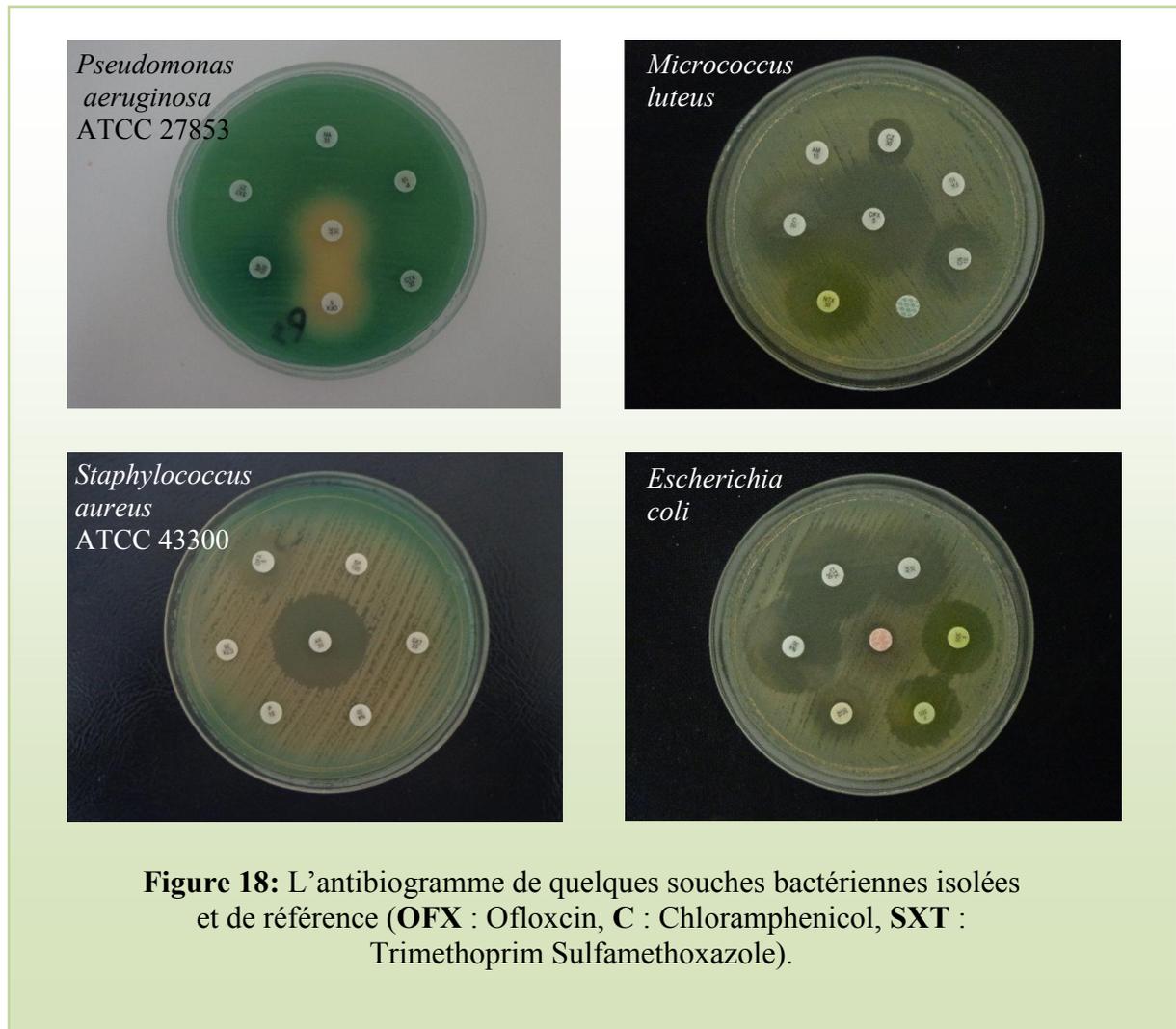
Le tableau suivant regroupe le profil de sensibilité des souches bactériennes isolées et de référence aux trois antibiotiques les plus efficaces (figure 18) et aux HE de *J. phoenicea*.

Tableau X : Profil de sensibilité des souches bactériennes (isolées et de référence) aux HE et aux antibiotiques.

Souches		Ø Zone d'inhibition					
		HE R (5µl)	HE F (5µl)	HE M (5µl)	OFX (5µg)	C (30µg)	SXT (1.25/23.75µg)
Souches isolées	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	15	15	28	29	23
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15	20	22	25	29	32
	<i>Escherichia coli</i>	15	15	16	25	22	19
	<i>Proteus mirabilis</i>	--	--	--	20	22	24
	<i>Enterobacter cloacae</i>	15	15	15	32	26	27
	<i>Streptococcus salivarius</i>	--	15	--	24	22	26
	<i>Micrococcus luteus</i>	21	25	19	30	34	32
	<i>Enterococcus faecalis</i>	--	--	--	29	28	29
Souches de référence	<i>Staphylococcus aureus</i>	--	--	--	15	R	R
	<i>Escherichia coli</i>	24	24	15	26	29	32
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	--	--	--	20	15	R

HE R : huile essentielle des rameaux ; HE F : huile essentielle des fruits ; HE M : mélange des deux HE.

OFX: Ofloxacine ; C: Chloramphénicol ; SXT: Triméthoprime Sulfaméthoxazole ; Ø : Diamètre.



L'analyse du tableau comparatif montre que les zones d'inhibition provoquées par l'HE des rameaux, des fruits et du mélange des deux HE même à 100% sont plus faibles que celles données par les antibiotiques. En effet, ces derniers montrent une très forte inhibition du développement des bactéries même à faible concentration.

I-4-5- Effet des HE sur la cinétique de la croissance bactérienne

Le suivi cinétique de la croissance bactérienne est testé sur la souche *Escherichia coli* fréquemment retrouvée chez les patients présentant une infection urinaire et sur laquelle l'HE a montré un effet inhibiteur bactéricide. Les résultats sont représentés comme étant l'évolution de la charge bactérienne par le suivi du Log_{10} de la DO_{600} en fonction du temps (min) en absence et en présence de l'HE à 2%. Les courbes sont tracées à l'aide d'une fonction SGompertz (**Figure 19**).

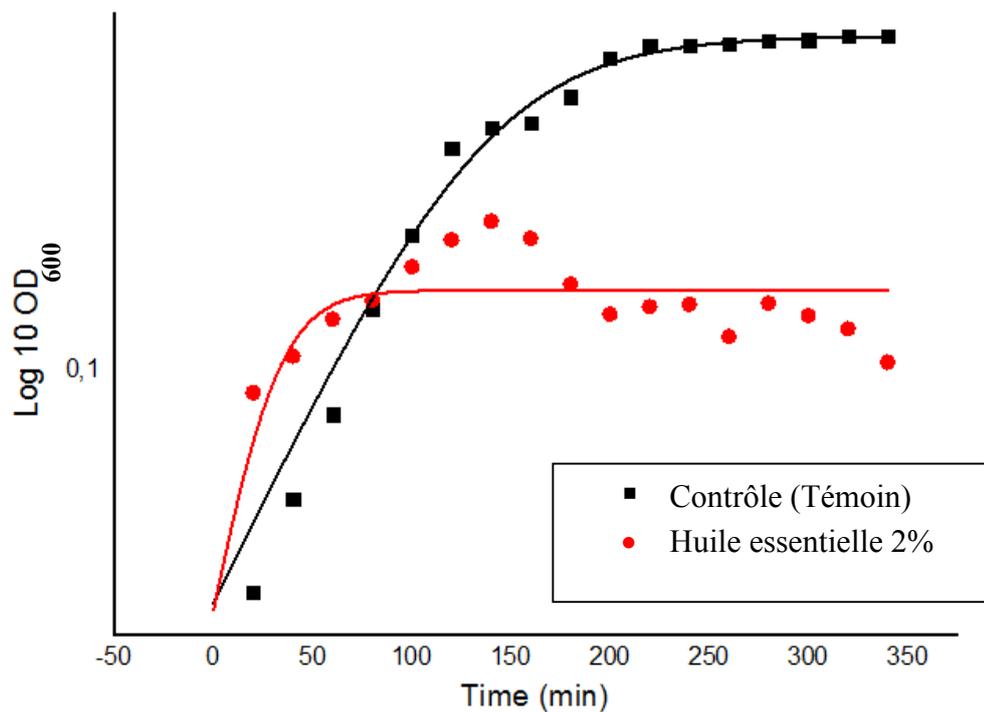


Figure 19: Suivie cinétique de la croissance de *E.coli* ATCC25922 en présence et en absence de l'HE de *J. phoenicea* à 2% dans le milieu de culture LB liquide.

La croissance de *E.coli* passe par trois phases, une phase de croissance exponentielle (rapide), une phase de décélération (ralentissement) et une phase stationnaire (ou phase de stabilisation). La culture sans HE (Témoin) a augmenté en fonction du temps jusqu'à la 125^{ème} minute puis a entamé une phase de ralentissement à la 125^{ème} jusqu'à la 225^{ème} min, et enfin une phase stationnaire est atteinte après ce temps, avec une charge maximale correspond au log₁₀ DO de 0.77903. La culture avec l'HE a connue une régression comparée au témoin, en effet sa croissance ralentit aux alentours de la 50^{ème} min puis se stabilise après 70 min et atteint une charge maximale correspond au log₁₀ DO de 0.16466. La différence de la croissance maximale entre les deux suspensions est de 0.614, ce qui représente une régression de plus de 6 fois la charge bactérienne et confirme l'effet inhibiteur de notre HE pour la croissance de la souche *E.coli*. Par ailleurs, nous remarquons un raccourcissement des phases de croissance avec une phase exponentielle plus courte et une phase de ralentissement et phase stationnaire précoce.

I-5- Évaluation de l'activité antioxydante des HE

I-5-1- Détermination du pourcentage d'inhibition

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les deux HE de *J. phoenicea* sont illustrés par la figure 20.

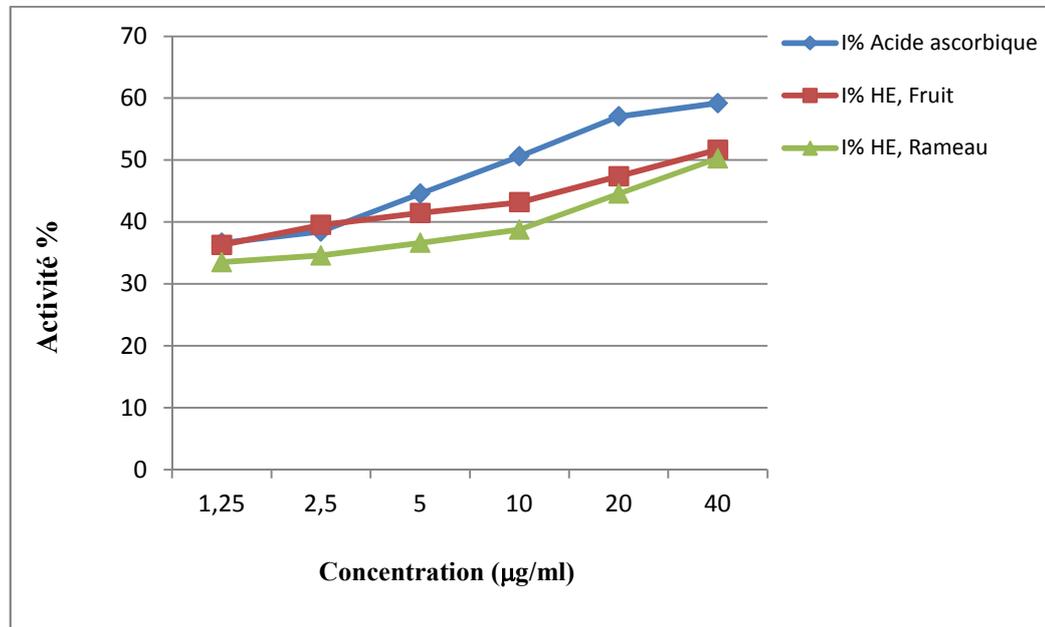


Figure 20: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'HE de *J. phoenicea* (rameaux et fruits) et par l'acide ascorbique.

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH (activité antioxydante) augmente avec l'augmentation de la concentration, aussi bien pour l'acide ascorbique que pour les HE (rameaux et fruits). Néanmoins le pourcentage d'inhibition pour les deux HE reste inférieur à celui de l'acide ascorbique quelque soit la concentration.

I-5-2- Détermination de la IC_{50}

La concentration correspondant à 50 % d'inhibition (IC_{50}) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Le tableau suivant regroupe les valeurs de IC_{50} des échantillons testés.

Tableau XI : Valeur de la concentration effective qui donne 50% de l'activité de piégeage du radical DPPH (IC₅₀) des deux HE et de l'acide ascorbique.

Echantillon	IC ₅₀ (µg/ml)
Acide ascorbique	9.583
HE des rameaux	39.167
HE des fruits	32.50

L'HE des rameaux et celle des fruits pouvaient ramener le radical libre stable DPPH au diphenylpicrylhydrazine avec une IC₅₀ de 39.16 µg/ml et 32.50 µg/ml respectivement. Il semble que l'HE de *J. phoenicea* présente une activité antioxydante qui reste faible comparée à celle de l'antioxydant de référence qui est l'acide ascorbique avec une IC₅₀ de 9.58 µg/ml.

II- DISCUSSION

L'hydrodistillation des rameaux et des fruits de *J. phoenicea* a donné des rendements moyens en HE de 0.2737% et 2.5774% respectivement. Le rendement en HE des rameaux est similaire que celui de Grèce (0,21%) (ADAMS *et al.*, 1996) plus faible que celui du Portugal (0.41%) (ADAMS *et al.*, 1996), de Tunisie (0.5%) (BOUZOUITA *et al.*, 2008), d'Espagne (0.66%) (ADAMS *et al.*, 1996), du Maroc (1.62%) (DERWICH *et al.*, 2011) et de l'Égypte (0.36%) (EL-SAWI *et al.*, 2007). Le rendement en HE des fruits est plus élevé que celui d'Égypte (0.96%) (EL-SAWI *et al.*, 2007) et du Maroc (1.02%) (MANSOURI *et al.*, 2011). En effet, le rendement en HE varie selon la méthode employée, les produits et réactifs utilisés pendant l'extraction, l'environnement, le génotype de la plante, son origine géographique, la période de récolte, le degré de séchage, les conditions de séchage, la présence de parasites, de virus et des mauvaises herbes (BAJPAI *et al.*, 2008; KELEN *et al.*, 2008).

Afin de tester le pouvoir antibactérien des HE de *J. phoenicea* sur les germes responsables des infections urinaires, nous avons isolé et identifié 59 germes à partir de 100 échantillons d'urine prélevés, nos résultats ont révélé une prédominance des Entérobactéries (54%) essentiellement la souche *Escherichia coli* (49%), ces résultats sont en accord avec BRISSET JM *et al.* (1974), AFORCOPIBIO (1995), SOULA *et al.* (1990) et FOUAD (2004) qui ont noté que les Entérobactéries, particulièrement *E. coli*, représentaient plus de 80% des germes responsables des infections urinaires.

L'activité antibactérienne de l'HE de *J. phoenicea* évaluée par la méthode de l'aromatogramme sur les souches bactériennes isolées montre une généralisation de l'action de

cette HE contre les bactéries à Gram(+) et à Gram(-). En effet, **KALEMBA et KUNICKA (2003)**, **BOUZOUITA et al.(2008)** affirment que l'HE de *J. phoenicea* agit sur une large gamme de micro-organismes indépendamment de leur Gram et de leurs morphologies.

Proteus mirabilis, *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis* isolées sont résistantes à l'HE, ces résultats concordent avec ceux de **MANSOURI et al. (2011)** qui ont montré que ces bactéries sont résistantes aux HE des rameaux du genévrier rouge.

Une grande sensibilité est observée chez *Micrococcus luteus* et les Staphylocoques. Ces résultats sont en accord avec ceux de **MANSOURI et al. (2011)** qui ont testé l'activité de l'HE des rameaux. **MAY et al. (2000)**, **TOHIDPOUR et al. (2010)** rapportent que la croissance des bactéries, résistantes et multirésistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines HE, dont l'HE de genévrier qui se révèle particulièrement efficace contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline. De même **DERWICH et al. (2010)** enregistrent la meilleure sensibilité chez la souche *Staphylococcus aureus*.

En ce qui concerne les souches bactériennes de référence, seule la souche *Escherichia coli* s'est manifestée extrêmement sensible indépendamment de la nature de l'HE et des concentrations, les mêmes résultats sont obtenus par **DERWICH et al. (2010)**. De même **KEITA (2002)**, **HARKATI (2011)** rapportent que l'activité antimicrobienne des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Parmi les bactéries, *Escherichia coli* a été la plus étudiée. *Staphylococcus aureus*, contrairement à la souche isolée, s'est montrée résistante à l'HE de *J. phoenicea* de même que *Pseudomonas aeruginosa*. En effet, **DORMAN et DEANS (2000)**, **MAZARI et al. (2010)** rapportent que *Pseudomonas aeruginosa* résistait aux extraits de *J. phoenicea*, de même **LOMOVSKAYA et al. (2007)** révèlent que *Pseudomonas aeruginosa* fait partie des germes les plus difficiles à traiter cliniquement, sa résistance intrinsèque aux antibiotiques la rend peu vulnérable à l'action de la plupart des agents antibactériens d'origine naturelle ou synthétique, les extraits naturels de plantes sont reconnus pour être 1000 fois moins efficaces sur cette bactérie.

La sensibilité des souches bactériennes à l'HE des rameaux, des fruits et du mélange des deux HE est comparable, néanmoins les travaux d'**ANGIONI et al. (2003)**, **EL-SAWI et al. (2007)** montrent que l'activité antimicrobienne de l'HE des rameaux est plus importante que celle des fruits.

L'activité antibactérienne évaluée par la méthode de la microatmosphère montre que l'HE de *J. phoenicea* ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne pour l'ensemble des souches testées (isolées et de référence). Nos résultats sont en accord avec ceux publiés par **MAZARI et al. (2010)**. D'après **PIBIRI (2006)**, l'absence des zones d'inhibition s'explique probablement par le fait que la diffusion de notre HE ne se fait pas dans la phase gazeuse ou les souches bactériennes testées restent résistantes à la fraction volatile de notre HE.

L'HE de *J. phoenicea* présente un effet bactéricide uniquement sur la souche *Escherichia coli* (isolée et de référence). Le suivie cinétique de la croissance de *Escherichia coli* ATCC 25922 en présence et en absence de l'HE de *J. phoenicea* montre une régression de plus de 6 fois la charge bactérienne et confirme l'effet inhibiteur de notre HE. Pour le reste des souches sensibles (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* et *Micrococcus luteus*), l'HE présente un effet bactériostatique. En effet, **SKANDAMIS et al. (2001)**, **OKOGUN et al. (2003)**, **MAILLARD et al. (2003)** démontrent que l'activité des HE est souvent assimilée à une activité bactériostatique, néanmoins, certains constituants chimiques des HE ont des propriétés bactéricides.

Les résultats de la sensibilité des souches bactériennes aux divers antibiotiques (Antibiogramme) et aux HE (Aromatogramme) montrent que les zones d'inhibition provoquées par l'HE de *J. phoenicea* sont plus faibles que celles des antibiotiques, qui ont montré une inhibition très forte de la croissance bactérienne, ceci a été démontré par plusieurs auteurs notamment **MAZARI et al. (2010)**. D'après **DJENADI, (2011)**, divers paramètres contribuent à expliquer cette différence d'efficacité entre les antibiotiques et les HE à savoir : la concentration, le degré de pureté et la toxicité elle-même.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a montré que l'HE de *J. phoenicea* est dotée d'une activité antioxydante qui reste relativement faible comparée à celle de l'antioxydant de référence (acide ascorbique). **BOUZOUITA et al. (2008)** ont prouvé qu'une protection contre l'oxydation est assurée en présence d'HE de *J. phoenicea* pour le saindoux (corps gras) et l'huile de soja. Par ailleurs, plusieurs travaux ont relaté l'importante activité antioxydante de certaines plantes du même genre, **LOIZZO et al. (2007)** ont trouvé que l'huile essentielle des fruits de *J. oxycedrus* de Liban présente une bonne action antioxydante, de même **MANSOURI et al. (2011)** démontrent que l'HE de *J. communis* du Maroc a bien réduit le DPPH.

Notre travail a été mené dans le cadre de la valorisation du Genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.).

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation a donné un rendement des fruits dix fois plus important que celui obtenu à partir des rameaux.

La culture de 100 échantillons d'urine prélevés chez les patients adressés à l'Établissement Hospitalier de Messaad a permis d'isoler 59 germes incriminés dans les infections urinaires appartenant à huit espèces, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus salivarius*, *Micrococcus luteus* et *Enterococcus faecalis*. Les résultats révèlent une prédominance des Entérobactéries (54%), l'espèce fréquemment rencontrée est *Escherichia coli* (49%).

L'étude de l'effet antibactérien des HE de *J. Phoenicea* sur les souches bactériennes isolées par la méthode de l'aromatogramme montre que *Proteus mirabilis*, *Streptococcus salivarius* et *Enterococcus faecalis* sont résistantes à l'HE, le reste des souches révèlent une sensibilité relative aux dilutions utilisées, avec une extrême sensibilité observée chez la souche *Micrococcus luteus* (ZI= 25mm). Concernant les souches de référence, seule *Escherichia coli* s'est manifestée extrêmement sensible (ZI= 26mm), *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont révélées résistantes aux HE et au mélange des deux HE quelque soit la concentration.

L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de la microatmosphère a montré que l'HE de *J. phoenicea* ne présente aucun effet inhibiteur sur la croissance de l'ensemble des souches testées (isolées et de référence).

L'HE de *J. phoenicea* présente un effet bactéricide uniquement sur la souche *Escherichia coli* (isolée et de référence) et un effet bactériostatique sur les souches sensibles, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter cloacae* et *Micrococcus luteus*. Le suivie cinétique de la croissance bactérienne testé sur la souche *Escherichia coli* en présence et en absence de l'HE montre une régression de plus de 6 fois la charge bactérienne et confirme l'effet inhibiteur de l'HE pour la croissance de cette souche.

Les résultats de la sensibilité des souches bactériennes aux divers antibiotiques (Antibiogramme) et aux HE (Aromatogramme) montrent que les diamètres des zones d'inhibition provoquées par l'HE de *J. phoenicea* sont toujours plus faibles que ceux donnés par les antibiotiques. Ces derniers ont montré une très forte inhibition de la croissance bactérienne même à faible concentration.

L'HE de *J. phoenicea* présente une activité antioxydante qui reste faible comparée à celle donnée par l'acide ascorbique, l'activité antioxydante de l'HE des fruits est légèrement supérieure à celle des rameaux.

Les résultats obtenus sont encourageants et le travail mérite d'être poursuivi pour la confirmation de l'action des HE *in vivo* contre les infections urinaires. De plus, les germes testés positifs justifient l'usage populaire du Genévrier rouge et confirme son activité thérapeutique contre les infections urinaires et antidiarrhéique contre les souches souvent impliquées dans les toxi-infections alimentaires (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*). Il serait intéressant de continuer ce travail notamment sur d'autres souches bactériennes pathogènes. Une étude plus poussée par la caractérisation de ces HE et l'identification des molécules responsables de l'activité antibactérienne sont nécessaires pour une éventuelle application dans les domaines de l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

- ABDESSEMED K. (1981)** - Le Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M.) dans les massifs de l'Aurès et de Belezma : Etude phytosociologique et problèmes de conservation et d'aménagement. Thèse de docteur- ingénieur. Faculté des sciences et techniques ST Jérôme. Marseille. 149p.
- ABOUL-ELA, M., EL-SHAER N. et EL-AZIM TA. (2005)** - Chemical constituents and antihepatotoxic effect of the berries of *Juniperus Phoenicea* Part II. *Natural Produc. Sciences*. 11(4), pp:240-247.
- ADAMS R.P., BARRERO A.F. et LARAA. (1996)** - Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea sub sp. eu-mediterranea* Lebr. et Thiv. and *J. phoenicea var. turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res.*,8, pp: 367-371.
- ADAMS RP. (1998)** - the Leaf Essential Oils and Chemotaxonomy Of *Juniperus* Sect. *Juniperus*. . *Biochemical systematics and Ecology*. 26, pp : 637- 645
- AFNOR (1986)** - Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.
- AFORCOPIBIO, DE MOUY D., LEPARGNEUR J. P., AURIOL J. C., BANDLER H.,LARRIBET G., DECLERCQ G. et ARMENGAUD M. (1995)** - Evolution des fréquences d'isolement et de la résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées d'infections urinaires en pratique de ville de 1986 à 1993. *Méd. Mal. Infect.*, numéro spécial, pp : 539-42.
- AGESTE M. (1960)** - La flore forestière "les végétaux ligneux qui croissent spontanément en France et des essences importants de l'Algérie. 170ème édition ancienne maison Griblot et Cie, N, Grosjean, Successeur. 353p
- AIT YOUSSEF M. (2006)** - Plantes médicinales de Kabylie. Ibis Press, Paris.177-179
- ANGIONI A., BARRA A., RUSSO M.T., CORONEO V., DESSI S. et CABRAS P. (2003)** - Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J Agric Food Chem*. 51(10), pp : 3073-3078.
- ANTON R. et LOBSTEIN A. (2005)** - Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 522p
- BAJPAI V.K., RAHMAN A. et KANG S.C. (2008)** - Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb. to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 125, pp : 117-122
- BAKKALI F., AVERBECK S., AVERBECK D. et IDAOMAR M. (2008)** - Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. 46, pp : 446-475
- BALENTINE C.W., CRANDALL P.G., O'BRYAN C.A., DUONG D.Q. et POHLMAN F.W. (2006)** - The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science*, 73, pp : 413-421.
- BARTOSZ G. (2003)** - Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*. 9, pp : 5-21.
- BERGER A. et HEURTEAU P. (1985)** - Response of *Juniperus phoenicea* on sandy dunes in the Camargue (France) to water and saline constraint in summer, Vol 62, Issue 1-3, pp : 327-333.
- BERNARD T., PERIAU F., BRAV O., DELMAS M. et GASET A. (1988)** - Extraction des huiles essentielles. *Chimie et Technologie*. Information chimie.

- BESOMBES C. (2008)** - Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle, pp : 41-45.
- BILLERBECK V.G. (2002)** - Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles ; *Hygiènes*, pp : 248- 251.
- BILLERBECK V.G. (2007)** - Huiles essentielles et bactérie résistantes aux antibiotiques. *Phytotéropi*, 5, pp : 249-253.
- BOUDY P. (1950)** - Guide du forestier en Afrique du nord. La Maison Rustique Tome IV, Paris, pp : 274-278.
- BOUZOUITA N., KACHOURI F., BEN HALIMA M. et CHAABOUNI M.M. (2008)** - Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Société Chimique de Tunisie*. 10, pp : 119 - 125.
- BOYLE W. (1955)** - Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfurmer Essent. Oil Rev.* 66, pp : 25-28.
- BRISSET J.M. et al. (1974)** - Examen cyto bactériologique des urines. *Rev .Prat*, 19, pp : 1689-1697.
- BRUNETON J. (1993)** - Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 915p.
- BRUNETON J. (1999)** - Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3e Ed : Lavoisier ; Paris, 1120 p.
- BURITS M. et BUCAR F. (2000)** - Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, pp : 323–328.
- BURT S.A. (2004)** - Des huiles essentielles, leurs propriétés antibactériennes et applications dans les aliments, *J. Inter. de Microbiologie des Aliments*, 94, pp : 223-253.
- CAIRNES D., EKUNDAYO O. et KINGSTON D. (1980)** - Plant anticancer agents. X. Lignans from *Juniperus phoenicea*. *J. Nat. Prod.* 43, pp : 495-497.
- CARETTE A.S. (2000)** - La lavande et son huile essentielle. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 100 p.
- CARSON C.F. et RILEY T. V. (1995)** - Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, pp : 264-269.
- CAVALEIRO C., PINTO E., GONCALVES M.J. et SALGUEIRO L. (2006)** - Antifungal activity of *Juniperus essential* oils against dermatophyte, *Aspergillus* and *Candida* strains, *Journal of Applied Microbiology* ISSN, 100, pp : 130-133.
- CHAMPETIER D. (1998)** - Infections de l'appareil urinaire. *Impact Internat.* pp:139-141.
- CHEN C.N., WENG M. S., WU C. L. et LIN J. K. (2004)** - Comparison of radical scavenging activity, cytotoxic effects and apoptosis induction in human melanoma cells by taiwanese propolis from different sources, *Evid. Based Complement Alternat. Med. J.*, 1, pp : 175-185.

- CHYSSAVGI G., VASSILIKI P., ATHANASIOS M., KIBOURIS T. et MICHAEL K. (2008)** - Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, *Food Chemistry*, 107, pp : 1120-1130.
- COMTE G., VEKCAUTEREN J., CHULIA A.J., ALLAIS D.P. et DELAGE C. (1997)** - Phenylpropanoids From Leaves of *Juniperus phoenicea* . *Phytochemistry*. 8, pp :1679-1682.
- COSENTINO S., BARRA A., PISANO B., CABISA M., PIRISI F. et PALMAS, M. (2003)** - Composition and antimicrobial proprieties of Sardinian *Juniperus* essential oils against food borne pathogens and spoilage microorganisms. *J Food Prot* .66, pp : 1288-1291.
- CRISTIANI M., D'ARRIGO M., MANDALARI G., CASTELLI F., SARPIETRO M.G. et MICIELI D. (2007)** - Interaction of four monotérpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, pp: 6300-6308.
- CROTEAU R., KUTCHAN T.M. et LEWIS N.G. (2000)** - Natural products (secondary metabolites). American Society of Plant Physiologists, pp : 1250-1268.
- DAPKEVICIUS A., VENSKUTONIS R., VANBEEK T.A. et LINSSEN J.P.H. (1998)** - Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. of Science Food and Agriculture*. 77, pp: 140-146.
- DE BILLERBECK V.G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P. (2002)** - Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huile essentielle. *Hygiène*, 10, pp : 248-251.
- DERWICH E., BENZIANE Z. et BOUKIR A. (2010)** - Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int. J. Agric. Biol.*, 12, pp : 199-204.
- DERWICH E. et CHABIR R. (2011)** - Identification of the volatile constituents of the essential oil of *juniperus oxycedrus* (cupressaceae) from the north centre region of morocco, *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 4, Suppl 1, pp : 50-54.
- DJENADI F. (2011)** - Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du Genevrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénoliques, mémoire de Master, option biochimie appliquée. Université A Mira de Béjaia Algérie.
- DOMARACKY M., REHAK P., JUHAS S. et KOPPEL J. (2007)** - Effets of selected plant essential oils on the Growth and development of Mouse preimplantation Embryos *in vitro* *Physiol.Res*. 56, pp : 97-104.
- DORMAN H.J.D. et DEANS S.G. (2000)** - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*. 88, pp : 308-316.
- EL- SAWI S.A. et MOTAWAE H.M. (2008)** - Labdane, Pimarane And Abietane Diterpenes From The Fruits Of *Juniperus Phoenicea* L. Grown In Egypt And Their Activities Against Human liver Carcinoma. *Canadian Journal Of Pure And Applied Sciences*, 2, pp : 115-122.
- EL-SAWI S.A., MOTAWAE H.M. et AMAL M.A.(2007)** - Chemical Composition, Cytotoxic Activity and Antimicrobial Activity of Essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea*. Grown in Egypt. *African J.of Traditional, Compleme ntary and Alternative Medicines*, 4, pp : 417-426.

- ENNAJAR M., BOUAJILA J., LEBRIHI A., MATHIEU F., ABDERRABA M., RAIES A. et ROMDHANE M. (2009)** - Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils and Various Extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *Journal of Food Science*, 74, pp : 364-371.
- FANTINO N.S. (1990)** - Etude du polymorphisme d'une population de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.)- Détermination de critères précoces de sélection. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, pp : 41-45.
- FARNSWORTH N. R., AKERELE O., BINGEL A. S. et SOEJARTO D. GUO Z. (1986)** - Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé. 64, pp : 159-164.
- FAVIER A. (2003)** - Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, pp : 108-115.
- FISHER K. et PHILLIPS C. (2009)**. Potentiel antimicrobial uses of essential oils in food, *Trends in Food Science and Technology*, 19, pp : 156-164.
- FOUAD M. (2004)** - Intérêt du test de leucocyte estérase et de la nitrate réductase dans le management des suspectés d'une infection urinaire à abidjan. Thèse Méd. Abidjan.
- FRANCHOMME P., PENOEL D. et REVERDY M.E. (1990)** - Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information. L'aromathérapie exactement. *R.J. Editeur. Limoges*, 2, pp : 73-227.
- FRANK P. (1986)** - La végétation d'Afrique, IRD, 169 p.
- GARNERO J. (1977)**. L'évolution des méthodes et techniques d'analyse dans l'étude de la composition chimique des huiles essentielles. *Labo-pharma Problèmes et Techniques*, 277 p.
- HANS W. K. (2007)** - 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition, pp : 6-7.
- HARKATI B. (2011)** - Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille asteraceae: *Scorzonera undulata*, doctorat en sciences, spécialité: chimie organique option: phytochimie, 129 p.
- HAYES A. et MARKOVIC B. (2002)** - Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity. *Food Chem Toxicol.* 40, pp: 535-543.
- HAYOUNI E.A, ABEDRABBA M., BOUIX M. et HAMDY M. (2007)** - The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chem.*
- HEMWIMON S., PAVASANT P. et SHOTIPRUX A. (2007)** - Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*, 54, pp : 44-50.
- HERNANDEZ R. et OCHOA L. (2005)** - Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat- l'institut national polytechnique de Toulouse, France, pp : 32-225.

- INOUYE S. (2003)** - Laboratory évaluation of gaseous essential oils (part 1). *International journal of Aromatherapy*. 45, pp : 22-35.
- ISERIN P. (2001)** - Encyclopedie des plantes medicinales. Ed : Larousse Bourdasse .Paris, 335 p.
- KALEMBA D. et KUNICKA A. (2003)** - Antibacterial and antifungal proerties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, pp : 813-829.
- KEITA R. M. (2002)** - Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de 14 plantes utilisées dans le traitement des I.S.T. Thèse de pharmacie, Bamako, 130 p.
- KELEN M. et TEPE B. (2008)** - Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*. 99, pp : 4096-4104.
- KIM N.S. et LEE D.S. (2002)** - Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatographymass spectrometry. *Journal of Chromatography* . 98, pp: 31-47.
- KOBA K., SANDA K., RAYNAUD C., NENONENE Y.A., MILLET J. et CHAUMONT J.P. (2004)** - Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon sp.* Vis-à-vis des germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 148, pp : 202-206.
- KOUADIO K. (1992)** - Infections urinaires nosocomiales : études prospectives sur un an dans un service de réanimation du CHU de Treichville. Thèse Med : Abidjan, 1381p.
- KOUAKOU K. (1984)** - Etudes sur les uroculture réalisées à Abidjan de 1978 à 1982 : les germes rencontres et leur sensibilité aux antibiotiques .Th .Med : Abidjan, 513 p.
- KUNLE O. et OKOGUN J. (2003)** – Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract, *Phytomedicine* 10, pp : 59-61.
- LAHLOU M. (2004)** - Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, pp: 435-448.
- LAMBERT R.J. et SKANDAMIS P.N. (2001)** - A study of the minimum concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol . *Journal of applied Microbiology* . 91, pp : 453- 462.
- LEGRAND G. (1993)** - Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris.
- LIS-BALCHIN M. (2002)** - Lavender: the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London, pp: 155-200.
- LOIZZO M.R., TUNDIS R., CONFORTI F., SAAB A.M., STATTI G.A. et MENICHINI F. (2007)** - Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus ssp. oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon, *Food Chemistry*, 105, pp :572-578.
- LOMOVSKAYA O., ZGURSKAYA H., TOTROV M. et WATKINS W.J. (2007)** - Waltzing transporters and 'the dance macabre' between humans and bacteria. *Nat. Rev. Drug Discov.* 6, pp : 56-65.

- 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.
- MAIHEBIAU P. (1994)** - La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne, 635 p.
- MAILLARD J.Y. et WALSH S. (2003)** - Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria, *J. of Applied Microbiology* 94, pp : 240-247.
- MAIRE R. (1952)** – Flore de l'Afrique du Nord, vol. 1, Paul Lechevalier, 366 p.
- MANN J. (1987)** - Secondary metabolism. *Clarendon Press*, Oxford, 374 p.
- MANSOURI N., SATRANI B., GHANMI M., EL-GHADRAOUI L. et AAFI A.R. (2011)** - Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea ssp. Lycia* et *Juniperus phoenicea ssp. Turbinata* du Maroc, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15, pp : 415-424.
- MATTINGLY R.F. et BORKOF H.L. (1978)** - Clinical Implications of uterine reflex in pregnancy *.clin Obstet Gynecol*, 21, pp : 863-73.
- MAY J., CHAN C.H., KING A., WILLIAMS L. et FRENCH G.L. (2000)** – Time kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother*, 45, pp : 639-643.
- MAZARI K., BENDINERAD N., BENKHECHI C.H. et FERNANDEZ X. (2010)** - Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*. 4, pp : 959-964.
- MEBARKI N. (2010)** - Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesi* application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Thèse magister. Université de Boumerdes, 124 p.
- MEDINI H et al., (2006)** - Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. Acte du séminaire international « Les plantes à parfum, aromatiques et médicinales », SIPAM, Tunisie.
- MILLOGO H., GUISSON I. P., NACOULMA O. et TRAORE A. S. (2005)** - Savoir traditionnel et médicaments traditionnels améliorés. Colloque du 9 décembre. Centre européen de santé humanitaire. Lyon
- MOHAMMEDI Z. (2006)** - Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Option: Produits naturels, activité biologique et synthèse. Faculté des Sciences. Université ABB. Tlemcen. Algérie.
- MOINARD D. (1987)** - Examen cyto bactériologique des urines. Bactériologie médicale technique usuelle, Paris : Simep, pp : 53-9.
- MORENO-ROOHIGUEZ J.F. et SOTOMENDIVIL E.A. (2006)** - Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *T. Vulgaris* against *Alternaria citri*. *Z.Gnosis*.
- MUKHERJEE P.K., SARITHA G.S. et SURESH B. (2002)** - Antimicrobial potential of two different *Hypericum* species available in India. *Phytother. Res.* 16, pp : 692-695.

- NEWALL C., ANDERSON L. et PHILLIPSON J. (1996)** - Herbal Medicines. A Guide for Health Care Professionals. London, *The Pharmaceutical Press*.
- OURAINI D., AGOUMIL A., ISMAILI-ALAOUI M., ALAOUI K., CHERRAH Y., AMRANI M. et BELLABAS M.A. (2005)** - Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 4, pp : 147-157.
- OURAINI D., AGOUNI A., ALAOUI MI., ALAOUI K., ALAOUI M. et BELABBAS M. (2007)** - Activité antifongique de l'acide oleique et des huiles essentielles de *thymus saturjoides* L. et de *Mentha puleguim* L. comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques. *Phytothérapie*.
- OUSSOU K.R., COFFI K., NATHALIE G., SERIYOLOU, GERARD K., MIREILLE D., YAO T.N., GILLES F. et JEAN-CLAUDE C.H. (2004)** - Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus de Chimie*, 7, pp : 1081-1086.
- PIBIRI M.C. (2005)** - Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorale. Ecole polytechnique fédérale, EPFL. Lausanne (Suisse). 161 p.
- PIOCHON M. (2008)** - Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- PONCE A.G., FRITZ R., DEL VALLE C. et ROURA S.I. (2003)** - Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. 36, pp : 679-684.
- POURRUT B. (2008)** - Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de Doctorat à l'Institut National Polytechnique de l'Université de Toulouse spécialité : Ecotoxicologie. France.
- PRABUSEENINIVASAN S., JAJACUMAR M. et IIGNACIMUTHUS S. (2006)** - *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oil. *Biomed central complémentart and Alternative Medecine*.
- QUEZEL P. et MEDAIL F. (2003)** - Ecologie et biogéographie de la forêt du bassin méditerranéen. Edition scientifiques et médicales Elsevier SAS .Paris, pp : 28-125,571.
- RAMEAU J.C., MANSION D. et DUME G. (2008)** - Flore forestière française .Volume 3.Paris, 2421 p.
- REZZI S., CAVALEIRO C., SALGUEIRO L., BIGHELLI A., CASANOVA J. et PROENÇA DA CUNCHA A. (2001)** - Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea subsp . turbinata* from Corsica . *Biochemical systematics and Ecology*. 29, pp : 179- 188.
- ROQUEBERT M.F. (2002)** - Les contaminants biologiques des biens culturels. Edition Elsevier. Paris. 419 p.
- ROTA M., HERREA A. et MARTINEZ C. (2008)** - Antibacterial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*.*T.zygis* and *T.lymolis* essential oils. *Food.control*.19, pp : 681- 687.
- ROUX D. (2008)** - Conseil en aromathérapie. 2ème édition, Pro-Officina., 187 p.

- SANAA A., MAHA Z., NABAWIA A., MOHGA S., HAYAT M. et MAGDA M. (2010)** - Protective role of *Juniperus phoenicea* and *Cupressus sempervirens* against CCl₄. *World J Gastrointest Pharmacol.* 1, pp : 123-131.
- SAVONA G., PIOZZI F., RODRIGUEZ B. et SERVETTAZ O. (1982)** - Galangustin, a new flavone from *Galeopsis angustifolia*. *Heterocycles*, 19.
- SCHAUENBERG P. et FERDINAND P. (2006)** - Guide des plantes médicinales. Ed : Detachaux et Niestlé, p : 8.
- SCHUHMACHER A. et REICHLING P. (2003)** - Virucidal effect of Peppermint oil on the enveloped viruses Herpes Simplex Virus type 1 and type 2 *in vitro*. *Phytomedicine*, 10, pp :504-510.
- SEINGUE A. (1985)** - la forêt circumméditerranéenne et ses problèmes, éditions maison neuve et la rose, deuxième version, Paris, pp : 215-221.
- SERVICE RF. (1995)** - Antibiotic that resists resistance. *Science*. 270, pp : 724- 727.
- SHARIFIFAR F., MOSHAFI M.H., MANSOURI S.H., KHODASHENAS M. et KHOSHNOODI M. (2007)** - *In vitro* evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18, pp : 800–805.
- SOULA G.H., PICHARDE, SOULA V.G. et KODIO A. (1990)** - Etude bactériologique des infections urinaires à Bamako: orientation Pratique. *Méd. Afr. Noire*, 37, pp : 243-249.
- STASSI V., HAVALA., LOUKIS A ., PHILIANOS S. et VERYKAKIDOU, (1996)** - The antimicrobial activity of the essential oils of four *Juniperus* species growing wild in Greece *flavour and fragrance*, 11, pp : 71-74.
- TALAB S. (2007)** - Biodiversité et dynamique des formations à *Juniperus thurifera*, *Juniperus phoenicea* et *Juniperus commun* au Maroc, Centre de recherche forestière, 13^{ème} journées nationales de biodiversité, Maroc.
- TEIBI M. (1992)** - Contribution à l'étude de l'estimation de biomasse aérienne d'un taillis de chêne vert (*Quercus ilex*) et de deux Genévriers: Genévrier oxycédre, Genévrier de Phénicie dans la région de Kasserou. Mém. Ing. Agro. Uni. Batna, 80 p.
- TOHIDPOUR A., SATTARI M., OMIDBAIGI R., YADEGAR A. et NAZEMI J. (2010)** - Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Phytomedicine*. 17, pp : 142-145.
- TWIDWELL E.K., WAGNER J. J. et THIEX NANCY J. (2002)** - Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages, pp :77-88.
- VALERO M. et FRANCES E. (2006)**- Synergistic bactericidal effect of carvacrol cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food Microbiology*, 23, pp : 68-73.
- VARLET E. (2008)** - Description des espèces. Découvrez les fruits sauvages. Ed : Elleboresang de la terre. Paris, 254 p.
- VERZELE L., MOUDACHIROU S. et RAMANOELINA G. (1988)** - Perfumer and flavorist, *flavour and fragrance journal*, 13, pp: 61-67.

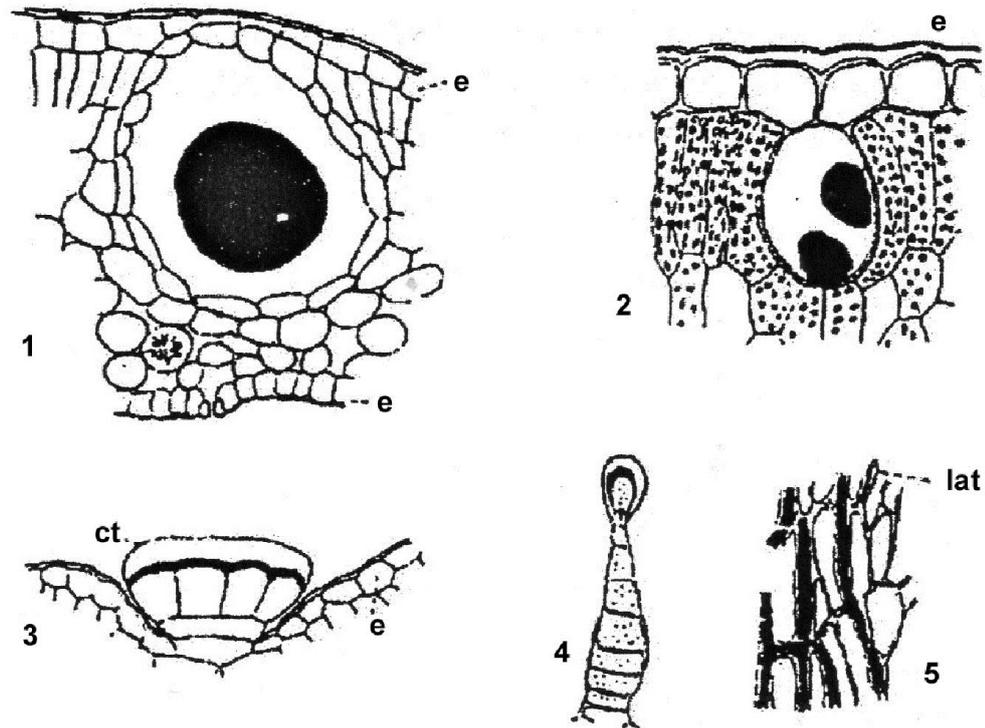
VILJOEN A., VAN VUUREN S., ERNST E., KLEPSE M., DEMIRCI B., BASER H. et VAN WYK B.E. (2003) - *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae), the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *J. Ethnopharmacol.* 88, pp : 137-143.

WANNISSORN B., JARIKASEM S., SIRIWANGCHAI T. et THUBTHIMTHED S. (2005) - Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia.* 76, pp : 233-236.

WATT O. et BREYER-BRANDWIJK M. (1962) - The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. E.S. Livingstone LTD. Edinburgh and London, 841 p.

ANNEXE 01

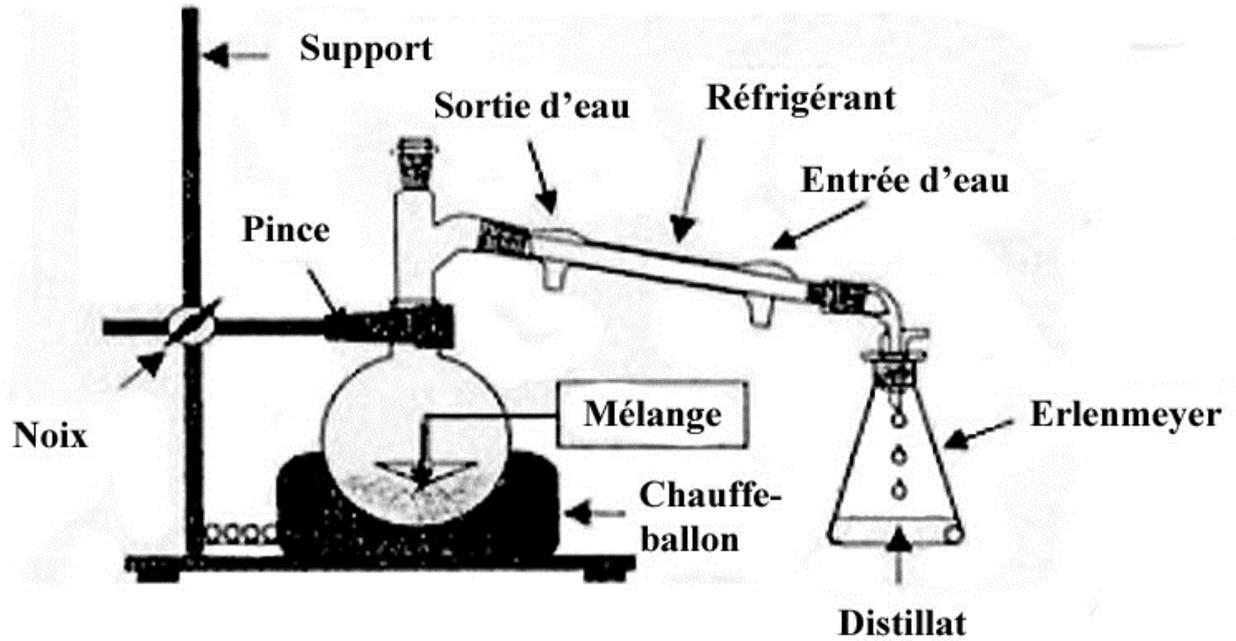
Figure 21 : Quelques exemples d'appareil sécréteur.



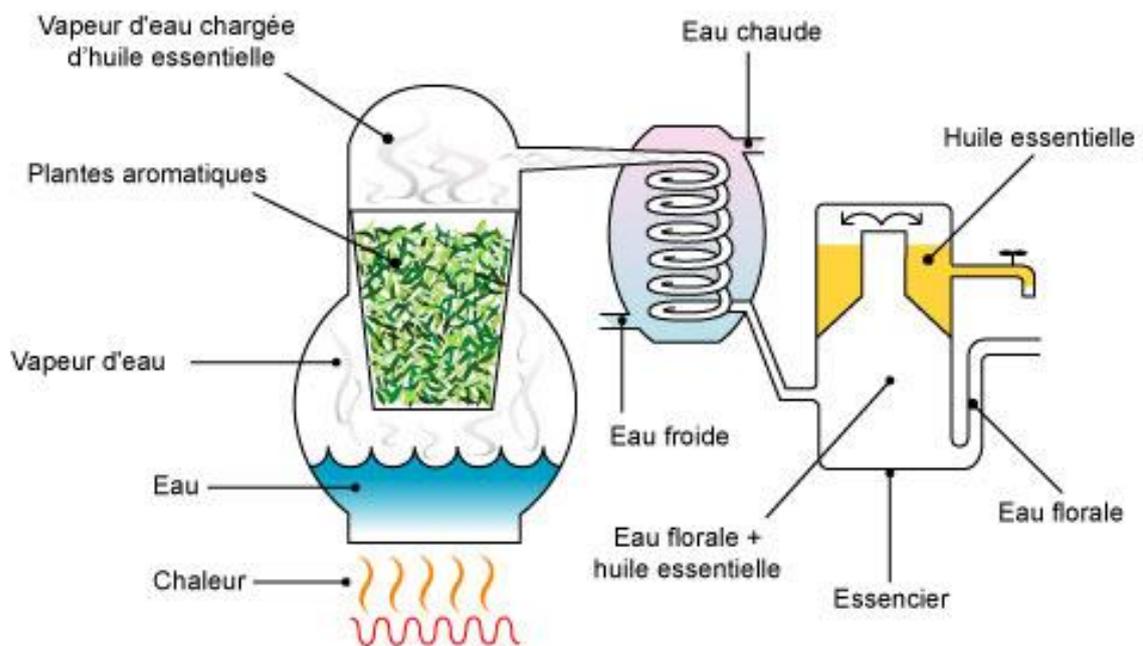
1, poche sécrétrice dans une feuille d'*Eucalyptus globulus* (Myrtacées) ; 2, cellule isolée située sous l'épiderme, e, de la feuille de *Sassafras officinale* (Lauracées) ; 3, poil de Menthe poivrée (*Mentha piperita*, Lamiacées) : l'essence (en noir) s'accumule sous la cuticule, ct, très épaisse ; 4, poil de Patchouli (*Pogostemon*, Lamiacées) ; 5, laticifères, lat, dans la racine d'un Salsifis (Astéracées).

ANNEXE 02

Figure 22 : Distillation.



Hydrodistillation.



Entrainement à la vapeur d'eau.

ANNEXE 03

Techniques d'identification des souches bactériennes.

Coloration de Gram

1. **Étalement** : Doit se faire en couche mince, sur une lame dégraissée.
2. **Dessiccation** : Laisser sécher à l'air.
3. **Fixation** : Passer trois fois rapidement dans la flamme du bec Bunsen la face de la lame opposée à l'étalement.
4. **Coloration de Gram** :
 1. Déposer quelques gouttes de Violet.
 2. Laisser agir 4 à 6 secondes.
 3. Égoutter sans rincer.
 4. Déposer quelques gouttes de Lugol.
 5. Laisser agir 4 à 6 secondes.
 6. Égoutter et recommencer avec Lugol.
 7. Egoutter.
 8. Faire couler sur la lame l'Alcool jusqu'à la disparition du Violet.
 9. Laisser agir quelques gouttes de Fuscine 25 secondes.
 10. Laver.
 11. Sécher.

Recherche de l'oxydase

Sur une lame de verre, on dépose un carré de papier buvard que l'on imbibe de substrat. On prélève des colonies avec une pipette pasteur avec laquelle on les écrase sur la lame de verre.

- ✓ Si le papier présente une tache violette : le substrat a été oxydé, la bactérie possède une oxydase
- ✓ Si le papier reste incolore : il n'y a pas eu de réaction, la bactérie ne possède pas l'enzyme

Recherche de la catalase

Sur une lame de verre propre, déposer une goutte de H_2O_2 , puis la mettre en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette pasteur à usage unique :

- ✓ Si des bulles se forment, la bactérie possède la catalase.
- ✓ Si rien n'est observable, la bactérie ne possède pas l'enzyme.

Test galerie API

Les galeries API utilisent plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'une enzyme. Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré de pH.

Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48h.

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée

ANNEXE 04

Tableau XII : Interprétation des résultats de l'ECBU.

Leucocytes par ml	Bactéries par ml	Culture	Interprétation
Inférieur ou égal à 10 000	Interprétation à 1000	Négative	Urines normales
Supérieur à 10 000	Supérieur ou égale à 100000	Positive	Infection urinaire certaine
Supérieur à 10 000	Supérieur ou égale 1000 et inférieur à 100 000	Positive	Infection urinaire possible à recontrôler (urétrite, prostatite chronique)
Supérieur à 10 000	Inférieur à 1000	Négative	Infection urinaire décapitée par antibiotique. Penser à la tuberculose, la bilharziose, une néphropathie interstitielle chronique, une urétrite, tumeur urothéliale, lithiase, germes exigeants
Inférieur ou égal à 10 000	Supérieur à 1000	Positive	Souillure surtout si les espèces appartiennent à des germes multiples. se fait au bout de 24 heures d'incubation à 37° C. En fonction du diamètre. Recontrôler l'ECBU

ANNEXE 05

Tableau XIII : Antibiogramme des souches isolées.

Germes Antibiotique	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>S.</i> <i>epidermidis</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>P.</i> <i>mirabilis</i>	<i>E.</i> <i>cloacae</i>	<i>S.</i> <i>salivarius</i>	<i>M.</i> <i>luteus</i>	<i>E.</i> <i>faecalis</i>
OX : Oxacillin	R	R	R	R	R	R	R	R
AM : Ampicillin	R	R	R	R	R	R	R	R
CZ : Cefazolin	++	R	+	R	R	+	++	R
SXT : Trimethoprim Sulfamethoxazole	+++	++++	++	++++	++++	++++	+++	+++++
FA : Fusidicacid	+	R	R	R	+++	R	+++	R
C : Chloramphenicol	++++	++++	+++	+++	++++	+++	++++	+++++
TE : Tetracycline	+++	R	++	++	++++	+++	+++	++++
SP : Spiramycine	++	R	+	R	R	R	+	+
CL : Cephalexin	++	R	+	R	R	+	+++	R
NA : Nalidixicacid	++	R	++	++	+++	++	R	++++
CN : Gentamicin	+++	+	++	++	++	++	++	+++
AMC : Amoxiclavulan	R	R	R	R	R	R	++	R
NTX : Nitroxoline	+++	+	++	++	+++	++	+++	+
F : Nitrofuranoïn	+++	+	+++	+	++	++	++++	+
OFX : Ofloxcin	++++	+++	++++	+++	+++++	+++	+++	+++++
CTX : Colistin	++	+	+++	++	+++	++	+	++++
CT : Amikacin	R	R	+	+	+	+	R	+
AK : Amikacin	+++	+	+++	+	+++	++	++	R
P : Penicillin G	R	++	R	R	R	R	++	R

Tableau XIV : Antibiogramme des souches de référence.

Germes Antibiotique	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus.</i>	<i>Escherichia</i> <i>coli.</i>	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa.</i>
OX : Oxacillin	R	R	R
AM : Ampicillin	R	R	R
CZ : Cefazolin	R	+++	R
SXT : Trimethoprim Sulfamethoxazole	R	+++++	R
FA : Fusidicacid	R	++++	R
C : Chloramphenicol	R	++++	++
TE : Tetracycline	R	++++	R
SP : Spiramycine	R	++++	R
CL : Cephalexin	R	++++	R
NA : Nalidixicacid	R	+++	R
CN : Gentamicin	++	++	++
AMC : Amoxiclavulan	R	++++	R
NTX : Nitroxoline	R	++++	+
F : Nitrofuranoïn	R	++++	R
OFX : Ofloxacin	++	+++	+++
CTX : Colistin	R	+++	R
CT : Amikacin	+	+	+
AK : Amikacin	+++	+++	+++
P : Penicillin G	R	+++++	R