



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Toxicologie Fondamentale & Appliquée »

THÈME

Évaluation In-vitro, l'huile essentielle d'une plante médicinale de la famille Cupressacée contre des micro-organismes cliniques comme biocide

Soutenu le : 23/ 06 /2024

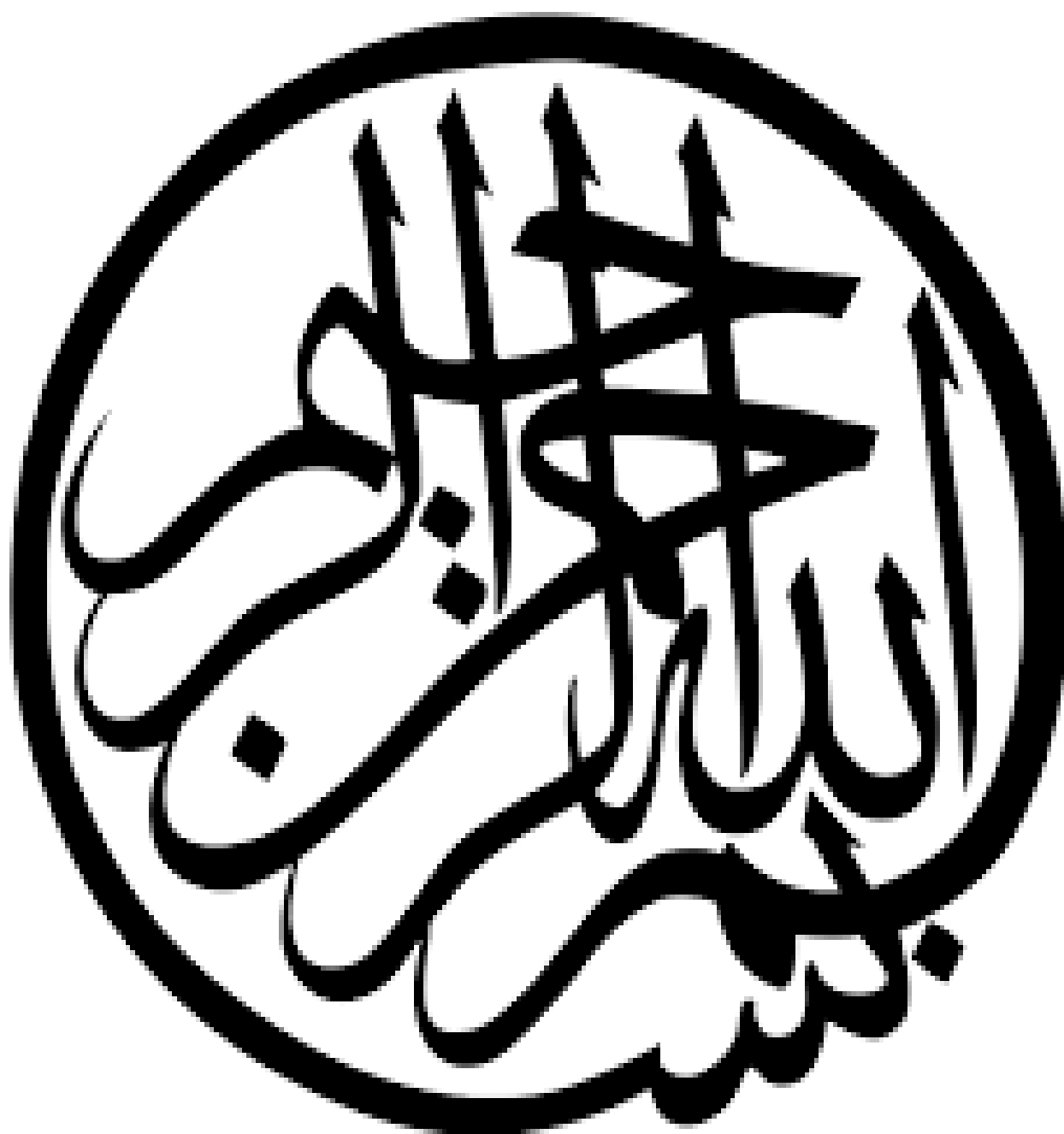
Présenté Par :

- BOUKHEBIZA Chahinez
- GHANES Achouak

Devant le jury composé de :

Pr Djabali Nacira	Pr	Présidente	Université Chadli Bendjedid El-Tarf
Dr Gheid Samira	MCA	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid El-Tarf
Dr Rekioua Naouel	MCB	Promotrice	Université Chadli Bendjedid El-Tarf
Dr Beldi Moncef	MCB	Co-promoteur	Université Chadli Bendjedid El-Tarf

Année universitaire 2023 - 2024





Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la Remerciements force, le courage, la persistance et nous a permis d'accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons d'abord les grands remerciements et notre profonde reconnaissance à **Mme Rekioua Naouel**, qui a encadré et dirigé ce travail depuis les premiers instants. Nous la remercions pour son sérieux et ses efforts afin de nous aider, de nous conseiller et de nous orienter, son ouverture d'esprit et sa vision de la recherche scientifique, ont été importants pour nous que ses connaissances scientifique et ont largement contribué à l'évolution de cette étude.

Nous remercions également l'ensemble des membres de jury d'avoir accepté d'examiner et de juger ce modeste travail à savoir le

Mme Djabali Nacira , Mme Gheid Samira et Mr Beldi Moncef

Mes vifs remerciements vont à tous les membres de l'équipe de laboratoire du Département pour leur accueil, leur sympathie aussi que leur idées. constructives et Merci À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.



Dedicace

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le Symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à
ma belle mère **SACIA**

A mon père **MILOUD**, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mes sœurs : **CHAHRAZED ET CHIRAZ**

A mes neveux : **MAYASSIN ET JAWAD**

mon frère : **AYMEN** qui ont toujours été présents pour moi ;

A mon binôme «**ACHOUAK**» qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail et pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

A toutes mes amis

A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs !

Je vous souhaite à tous longue vie pleine de bonheur et de prospérité.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance et de mon respect.

Merci pour tous les moments formidables qu'on a partagés.

Et tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

CHAHINEZ



Dedicace

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que Je dédie

A Mon très cher père

l'homme le plus parfait dans le monde, le secret de ma réussite et mon grand exemple qui
à rêver toujours de me voir heureuse.

Que Dieu vous protège et vous réserve une longue vie pleine de bonheur et de santé .

A mes sœurs

NOUSA, MAISSA , SALSABI et mon frère : ***CHOUAIB***

Pour leur véritable et sincère amour, pour tout le soutien qu'ils m'apportent. Je les
souhaite, une vie pleine de succès avec beaucoup de Bonheur.

A mes neveux : ***TASNIME , ILINE***

« je vous aime beaucoup »

A mon binôme «***CHAHINEZ*** »

Merci pour votre soutien moral, votre patience et votre sincérité dans ce travail, je vous
dédie le fruit de nos efforts .

A toute ma famille , à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à finaliser ce travail

.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer .

Je vous dis merci .

ACHOUAK

Résumé

Au cours des dernières décennies, les chercheurs se sont concentrés sur les composés secondaires excrétés par les plantes pour des raisons thérapeutiques, tels que la lutte contre les maladies infectieuses. Dans ce contexte, la présente étude a pour objectif d'évaluer in vitro l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la plante médicinale *Juniperus phoenicea* provenant du park nationale d'El-Kala, wilaya d'El-Tarf (Extrême Nord- Est de l'ALGERIE). La récolte a été réalisée au mois de novembre et après séchage des feuilles et les fruits de *Juniperus phoenicea*, nous avons effectué une extraction de l'huile essentielle qui a été l'objet d'étude de cette recherche. La méthode adopté dans cette étude été l'aromatogramme, dont les résultats révèlent une grande sensibilité de *Staphylococcus aureus* et *proteus mirabilis*. De plus, une sensibilité modérée a été notée pour *E.coli* et *Candida albicans*. Tandis que *klebsiella oxytoca* s'est révélée résistante à cette huile essentielle étudiée.

Les valeurs de CMI (1,43 mg/ml ; 1,50 mg/ml ; 1,6 mg/ml ; 3,2 mg/ml ; 6,01 mg/ml) indiquent que les 03 huiles étudiées (feuilles, fruits et combinaison) de *Juniperus phoenicea* présente un pouvoir antimicrobien excellent à l'égard des microorganismes testés. Aussi, nous avons pu démontrer que les huiles essentielles étudiées ont la capacité de bloquer le développement et la croissance momentanée de certains micro-pathogènes (bactéries, levures), effet **bactériostatique**. Et, même tuer d'autres souches pathogènes, effet **bactéricide**.

Mots clés: Huile essentielle ; *Juniperus phoenicea* ; Activité antimicrobienne ; plante médicinale, Park national d'El-Kala.

Abstract

Over the past few decades, researchers have focused on secondary compounds excreted by plants for therapeutic reasons, such as combating infectious diseases. In this context, the present study aims to evaluate the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of the medicinal plant *Juniperus phoenicea* from the *El-Kala* National Park, located in the *El-Tarf* province (Extreme Northeast of ALGERIA). The harvest was carried out in November, and after drying the leaves and fruits of *Juniperus phoenicea*, we extracted the essential oil, which was the subject of this research. The method adopted in this study was the aromatogram, whose results reveal a high sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Proteus mirabilis*. Additionally, moderate sensitivity was noted for *E. coli* and *Candida albicans*, whereas *Klebsiella oxytoca* was found to be resistant to the studied essential oil.

The MIC values (**1.43 mg/ml; 1.50 mg/ml; 1.6 mg/ml; 3.2 mg/ml; 6.01 mg/ml**) indicate that the three studied oils (leaves, fruits, and combination) of *Juniperus phoenicea* exhibit excellent antimicrobial power against the tested microorganisms. Furthermore, we demonstrated that the studied essential oils have the capacity to block the development and momentary growth of certain micro-pathogens (bacteria, yeasts), exhibiting a bacteriostatic effect, and even kill other pathogenic strains, exhibiting a bactericidal effect.

Keywords: Essential oil; *Juniperus phoenicea*; Antimicrobial activity; Medicinal plant; *El-Kala* National Park.

الملخص

خلال العقود الأخيرة، ركز الباحثون على المركبات الثانوية التي تفرزها النباتات لأسباب علاجية، مثل مكافحة الأمراض المعدية. في هذا السياق، تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات في المختبر لزيت النبات الطبي *Juniperus phoenicea*، المستخرج من الحديقة الوطنية بال-قالا، ولاية الطارف (أقصى شمال شرق الجزائر). تم جمع العينات في شهر نوفمبر، وبعد تجفيف أوراق وثمر *Juniperus phoenicea*، قمنا باستخلاص الزيت العطري الذي كان موضوع هذه الدراسة. تم استخدام طريقة الأروماتوغرام في هذه الدراسة، وكشفت النتائج عن حساسية كبيرة لـ *Staphylococcus aureus*، *Proteus mirabilis*. بالإضافة إلى ذلك، لوحظت حساسية معتدلة لـ *E.coli* و *Candida albicans*، بينما كانت *Klebsiella oxytoca* مقاومة لهذا الزيت العطري المدروس.

تشير قيم MIC 1.43 ملجم/مل؛ 1.50 ملجم/مل؛ 1.6 ملجم/مل؛ 3.2 ملجم/مل؛ 6.01 ملجم/مل إلى أن الزيوت الثلاثة المدروسة (الأوراق، الثمار والمزيج) لـ *Juniperus phoenicea* تظهر قدرة مضادة للميكروبات ممتازة تجاه الكائنات الدقيقة المختبرة. علاوة على ذلك، أثبتنا أن الزيوت العطرية المدروسة لديها القدرة على منع تطوير ونمو بعض الميكروبات (البكتيريا، الخمائر) بشكل مؤقت، مما يظهر تأثيراً بأكثريوساتيكياً. ويمكنها أيضاً قتل سلالات مرضية أخرى، مما يظهر تأثيراً بأكثريوسيدياً.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري؛ العرعر فينيقيا. نشاط مضادات الميكروبات؛ نبات طبي، منتزه القالة الوطني

Liste des figures

Figure 1: situation géographique de la région d'El Tarf.....	5
Figure 2: Situation géographique du Parc National d'El-Kala	8
Figure 3: Fleurs et feuilles de la plante j.P	12
Figure 4: Séchage de la plante	21
Figure 5: Broyage du matériel végétal.....	21
Figure 6: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et conservation	22
Figure 7: Repiquage et réactivation des souches bactériennes	24
Figure 8: Préparation du suspensions microbiennes	25
Figure 9: Etapes de l'ensemencement	27
Figure 10: Application des disques.....	27
Figure 11: Les différentes étapes de la CMI.....	28
Figure 12: Résultats de La CMI des différentes dilutions des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	38
Figure 13: Résultats de la CMB.....	38
Figure 14: matériels de laboratoire	59
Figure 15: Préparation des milieux du cultures	60

Liste des tableaux

Tableau I : Position systématique de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L	11
Tableau II: Teneur en composés phénoliques des Parties aériennes de <i>J.phoenicea.L</i>	14
Tableau III: Teneur en Oligo-elements et minéraux des Parties aériennes de <i>J.phoenicea.L</i> ..	14
Tableau IV: Position systématique de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> L.	20
Tableau V: Liste des souches microbiennes utilisées.....	23
Tableau VI: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	28
Tableau VII: Résultats d'analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA II) de l'effet des HEs sur la sensibilité des souches microbiennes testées.	31
Tableau VIII: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle des feuilles de J.P.....	32
Tableau IX: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle des fruits de J.P	33
Tableau X: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle du combinaison de J.P.....	34
Tableau XI: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle.....	35
Tableau XII: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle.....	36
Tableau XIII: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle.....	37

Liste des annexes

Annexe 1: Matériels de laboratoire	59
Annexe 2: Milieux de culture	60

Liste des abréviations

OMS : Organisation mondiale de la santé

PNEK : Parc national El Kala

HE : Huilles essentielles

MH: Muller Hinton

GN : Gélose Nutritive

MAC : MacConKey Agar

DMSO : Diméthylesulfoxyde

CMI : Concentration Minimale Inhibitrices

CMB : concentration Minimale Bactéricide

ZI : zone d'inhibition

Table des matières

Remerciements	III
Dédicace.....	IV
Résumé	VI
Abstract.....	VII
الملخص.....	VIII
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	X
Liste des annexes	XI
Liste des abréviations.....	XII
Table des matières	XIII
INTRODUCTION	02
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I. Description de la zone d'étude : Parc National d'El Kala.....	5
1. La région d'El Tarf :	5
1.1 Situation géographique :.....	5
2 Approche descriptive du Parc National d'El-Kala :	6
2.1 Un bref historique :	6
2.2 Limites géographiques :	6
2.3 Limites administratives :	7
2.4 Les objectifs du parc national d'El-Kala :	7
CHAPITRE II. Monographique de la plante d'étude.....	09
1 Généralité :	09
2 La Famille des Cupressacées :	09
3 Le genre <i>Juniperus</i> :	09
4 L'espèce de <i>Juniperus phoenicea</i> :	10
4.1 Nomenclature de la plante :	10
4.2 Position systématique:	10
4.3 Caractéristiques de <i>Juniperus phoenicea</i> L :	11

4.4	Répartition géographique :	12
4.5	Habitat :	13
4.6	Compositions chimiques :	13
4.7	Activités biologiques :	14
CHAPITRE III. Les huiles essentielles.....		16
1	Définition	16
2	Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles :	16
2.1	Localisation :	16
2.2	Lieu de synthèse :	16
3	La composition chimique des huiles essentielles :	17
4	Activités biologiques des huiles essentielles :	17
4.1	Antibactérienne :	17
4.2	Antivirale :	17
4.3	Antifongique :	17
4.4	Antiparasitaire :	17
4.5	Antiseptique	17
5	Toxicité des huiles essentielles :	18
6	La conservation des huiles essentielles :	18
MATERIEL ET METHODE		
1	Matériel végétal :	20
1.1	Récolte de la plante :	20
1.2	Séchage de la plante :	21
1.3	Broyage du matériel végétal :	21
1.4	Extraction des huiles essentielles	21
2	Matériel biologique :	23
2.1	Microorganismes utilisés :	23
2.2	Préparation de la préculture:« Réactivation parrepiquage »	24
2.3	Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum) :	24
2.4	Milieu de culture :	25
3	Etude de l'activité antimicrobienne de <i>juniperus phoenicea</i> :	26
3.1	Evaluation qualitative « Aromatogramme »	26

3.2	Détermination des paramètres antimicrobiens CMI et CMB en milieu solide	28
3.2.1	La concentration minimale inhibitrice (CMI)	28
3.2.2	Détermination de la concentration minimale Bactéricide (CMB)	29
4	Analyse statistique	29
RÉSULTATS		30
1	Effet toxique des HEs du <i>Juniperus phoenicea</i> a l'égard des souches microbiennes	31
2	Activité antimicrobienne :	32
2.1	Résultats d'analyse qualitative de l'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> :	32
2.2	Résultats d'analyse quantitative et les paramètres antimicrobiens :	35
DISCUSSION.....		40
CONCLUSION		45
Perspectives de recherche.....		49
Références bibliographiques.....		51
Annexes.....		58

INTRODUCTION

Introduction

La croissance de l'industrie pharmaceutique et le développement incessant de nouveaux produits médicaux synthétiques et biologiques plus efficaces n'ont pas pour autant réduit l'importance de l'utilisation des plantes médicinales. Au contraire, la croissance démographique dans le monde et l'intérêt croissant manifesté au niveau des nations industrialisées ont considérablement augmenté la demande spécifique aux plantes aromatiques et médicinales et à leurs produits dérivés. Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**) estime que la médecine traditionnelle couvre les besoins en soins de santé primaire de 80% de la population mondiale (**OMS, 2013**). Comme c'est le cas sur le continent africain ; il est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (**Kaouane et al., 2017**).

Les maladies infectieuses constituent un sérieux problème. A titre d'exemple, le cas du virus COVID-19 qui a causé plus de sept million de personnes et plus de 402 852 décès dans le monde. Et ce avant la découverte du vaccin (**Idress and Mohamed, 2021**). La découverte des antibiotiques a contribué à réduire considérablement la propagation de ces pathologies. L'efficacité remarquable de ces antibiotiques s'est accompagnée de leur utilisation massive et abusive à l'apparition de résistances bactériennes (**Ben et al., 2005**). Ce qui a poussé à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens, principalement parmi les extraits de plantes à la recherche de nouvelles molécules bioactives naturelles plus efficaces (**AL Hajj et al., 2014**). Ainsi, les plantes médicinales naturelles renferment de nombreux principes actifs qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques.

Depuis longtemps l'utilisation des plantes médicinales était connue pour améliorer et guérir la santé de l'homme. Outre, leur utilisation comme remède direct, on les emploie aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Lazli et al., 2018**). Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques de la plupart des plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des millénaires. De nos jours, malgré le développement de la chimie de synthèse, l'utilisation des plantes médicinales a conservé

une large place du fait de leur efficacité dans diverses procédures thérapeutiques. Elles constituent un groupe numérique vaste et contiennent des composants actifs utilisés dans le traitement de diverses maladies.

L'Algérie est un pays très riche en herbes médicinales diverses en raison de sa grande superficie, de la multiplicité des climats et des sols qui ont un rôle effectif dans la densité de la diversité végétale, ainsi que les plantes sont organisées et dotées de certaines propriétés. Parmi des études, l'Algérie compte au moins 3 500 espèces végétales qui constituent 51 % du couvert végétal. Il existe des formes végétales qui n'apparaissent que dans des endroits limités en Algérie et des espèces qui n'ont pas encore été découvertes. **(Boumediou et al., 2017).**

Plusieurs recherches ont traité différentes plantes en vue d'évaluer leur activités biologiques, d'identifier et d'isoler les principes actifs contenus dans ces plantes pour confirmer l'usage traditionnel. Et à cet égard nous avons choisi de travailler sur *Juniperus phoenicea*. L'absence ou manque de travaux de recherches antérieurs en Algérie sur les activités biologiques des extraits de cette plante nous ont motivé à la sélectionner.

Notre étude consiste à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des feuilles et fruits de la plante *Juniperus phoenicea*. L., qui appartient à la famille cupressacées et récolté dans le Park national d'El -kala, wilaya d'El –Tarf (Extrême nord de l'Algérie).

La présente recherche comporte les parties suivantes :

- Présentation de la zone d'étude
- Monographie de la plante étudiée
- Les huiles essentielles.
- Extraction par hydro-distillation des huiles essentielles
- Exploration *In-vitro* de l'activité microbienne de l'huiles essentielles

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Situation géographique

Elle s'étend sur une superficie d'environ 2 891 Km², au Nord elle est limitée par la mer méditerranée, au Sud et au Sud-Ouest par les wilayas de Souk-Ahras et de Guelma, à l'Ouest par la wilaya d'Annaba et à l'Est par la frontière algéro-tunisienne. (**Bahroun,2003**).

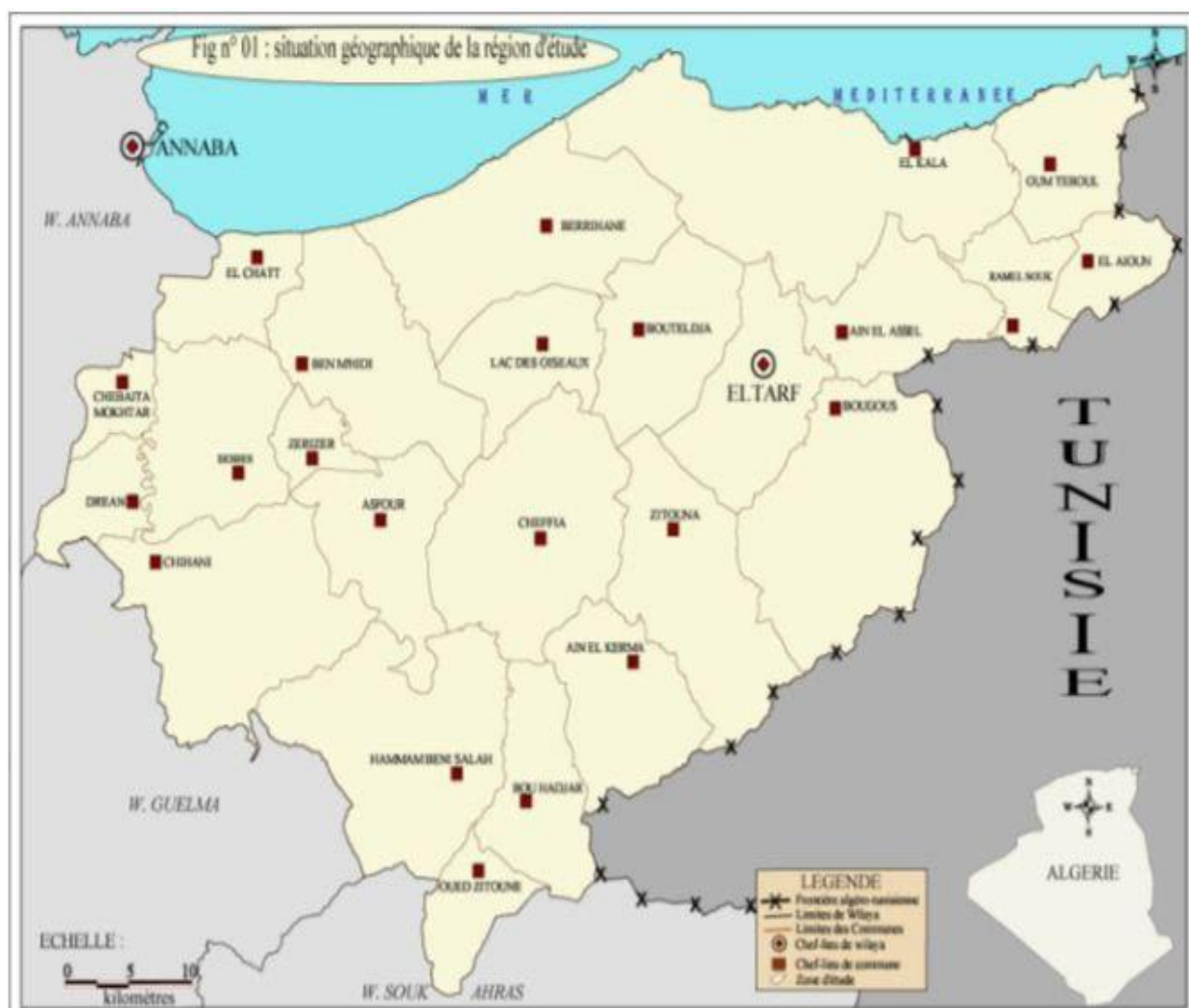


Figure 1: situation géographique de la région d'El Tarf

2 Approche descriptive du Parc National d'El-Kala

2.1 Un bref historique

Le PNEK a été protagoniste d'un long parcours de conservation et gestion. L'urgence de protection de la région d'El Kala a été ressentie depuis les années 1970 mais le site n'a reçu une protection légale qu'avec sa désignation comme Parc National par le décret N° 83-462 du 23 juillet 1983. 335

- 1982 : Deux sites lacustres ont fait l'objet d'inscription sur la liste RAMSAR comme habitat pour la sauvagine, il s'agit de lac Tonga (2600 ha) et lac Oubeira (2200 ha).
- 1990 : Le Parc a été classé comme Réserve de la Biosphère par l'UNESCO avec caractère de patrimoine de l'humanité inclus dans le fichier du système de référence de l'UNESCO pour l'étude et le suivi des modifications qui affectent la planète.
- En 2002 deux autres sites ont été classés sur la liste RAMSAR la Réserve intégrale de la tourbière du lac Noir et les Aulnaies de Ain-Khiar, en 2004 c'est le classement des lac Mellah et lac bleu. **(Zaidi,2018)** .

2.2 Limites géographiques

Le parc national d'El-Kala est situé dans le Nord-Est Algérien à 70 km de l'Est de la ville d'Annaba et environ 80 km au Nord de celle de Souk-Ahras, il s'étend sur une superficie de 76,438 ha **(Sarri, 2002)**.

Il est limité au :

- Au Nord: la Méditerranée.
- Au Sud: les monts de la medjedra
- A l'Est: la frontière algéro-tunisienne.
- A l'Ouest: les plaines d'Annaba.

Ses coordonnées géographiques sont : 36°52 Nord et 8°27 longitudes au niveau de la ville d'El Kala.

2.3 Limites administratives

- Selon le découpage administratif de 1984, El-Kala est incluse dans la wilaya d'El-Tarf qui englobe 07 Dairates: El-Tarf, El-Kala, Ben-Mhidi, Besbes, Drean, Bouteldja et Bouhadjar.
- El-Tarf, Ain El Assel, Bougous et Zitouna, sont les communes qui sont rattachées à la Daira d'El Tarf .
- El-Kala, Souarekh, Rami Souk et El Aioune, sont les communes rattachées à la Daira d'El Kala (**Anonyme, 2003**).

2.4 Les objectifs du parc national d'El-Kala

Les objectifs du PNEK sont multiples:

- Maintenir l'aspect naturel de tous les paysages : sites, monuments historiques et préhistoriques et les préserver de toute intervention artificielle incompatible avec le milieu
- Assurer la reproduction et le développement des espèces forestières et animales ;
- Veiller à ce que les exigences touristiques ne portent pas préjudice aux objectifs de conservation du Parc ;
- Initier et développer toute activité de loisir et sportive en rapport avec la nature de l'implantation d'une infrastructure touristique dans la zone périphérique du parc ;
- Promouvoir les activités traditionnelles des habitants de la région conformément à l'équilibre écologique ;
- Associer l'université aux activités de recherches scientifiques dans le Parc.
- La conservation de la faune, de la flore, du sol, du sous-sol, de l'atmosphère, des eaux, des gisements, de minéraux et de fossiles. En général tout milieu naturel présentant un intérêt particulier à préserver.
- L'intégration, la stabilité de la population (habitants et riverains) et l'amélioration de leur niveau de vie grâce à l'inscription de programmes d'équipement et d'écodéveloppement tenant compte de leurs besoins(**Youbi,2008**) .

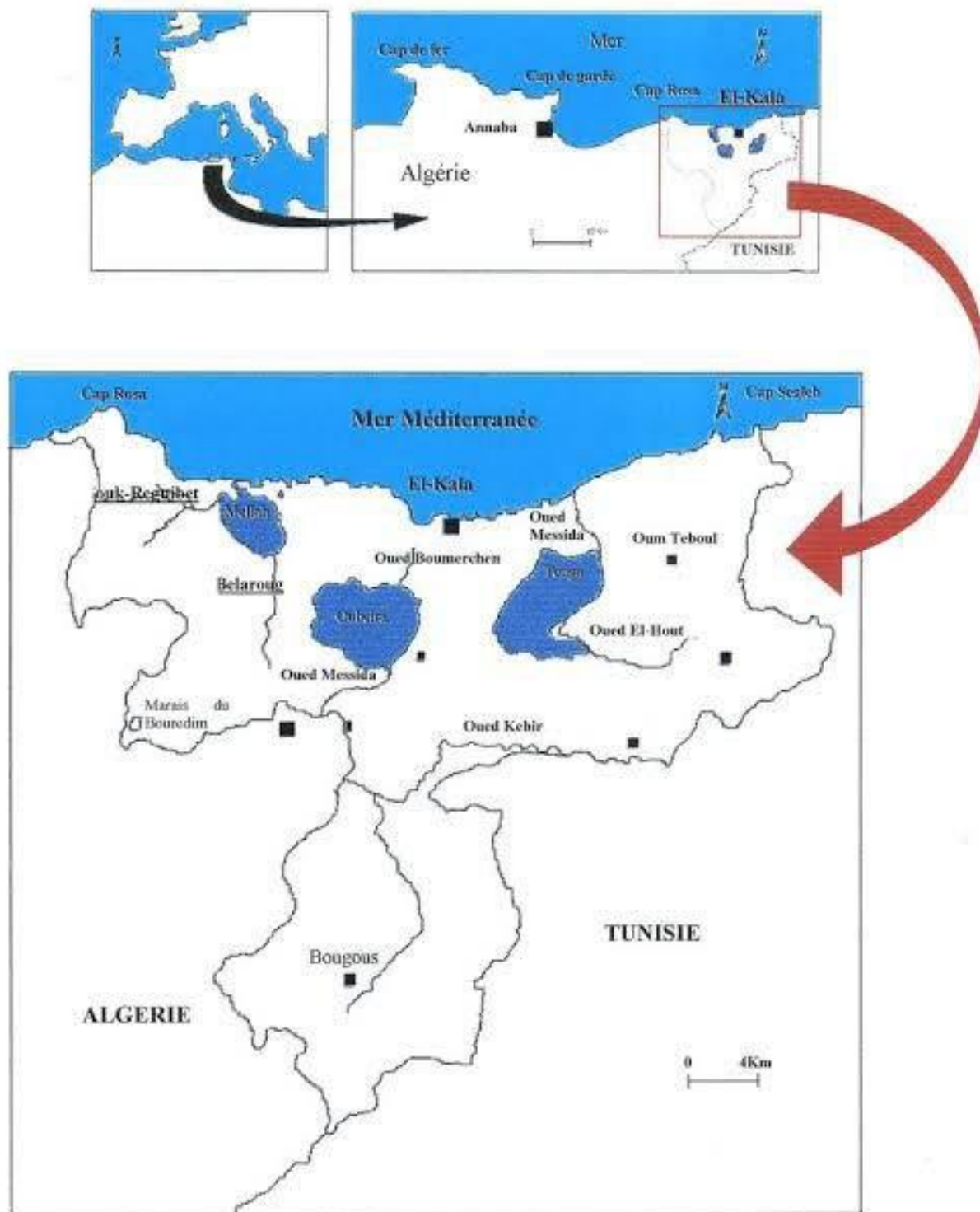


Figure 2: Situation géographique du Parc National d'El-Kala (Ben yaakoub et *al.*,1998)

1 Généralité

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle, et au moins certaines d'entre elles ont une valeur médicinale. Leur effet provient de leurs composés (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés existants (**Sanago, 2006**). Les plantes médicinales est une partie très importante dans l'histoire de l'évolution des civilisations partout dans le monde, selon l'histoire des peuples, ces plantes ont continuellement occupé une place importante en médecine, L'extraction des huiles essentielles de ces ressources naturelles végétales c'est l'étape essentielle dans leurs valorisations (**Bouzouita et al., 2008**). Ces jours l'étude des activités biologiques et biotechnologiques des extraits de plantes médicinales sont d'un grand intérêt (**Bouzouita et al., 2008**) .

2 La Famille des Cupressacées

La famille Cupressaceae, des plantes gymnospermes contient approximativement 135 espèces d'arbres et d'arbustes et 19 genres, le genre comprend jusqu'à 25 espèces (**Rahmani, 2020**), c'est une famille constituer de deux sous-familles, se divisant chacune en trois, tribus, les Cupressoideae et les Callitroideae qui sont principalement et respectivement des hémisphères nord et sud. Elle comporte environ trente genres; les plus importants sont Cupressus L., Juniperus L et Callitris Vent. Il comprend environ 60 espèces réparties dans l'hémisphère Nord (**Bousbia et al., 2021**).

3 Le genre Juniperus

Le genre Juniperus L de la tribu des Junipereae (Koch), sous famille des Cupressoideae , comprend environ 75 espèces (**Admas, 2014**). Il représente le genre le plus diversifié de la famille des Cupressaceae (**Debazac, 1991**). Il a la répartition la plus large par rapport aux autres genres de conifères, mais sa répartition est limitée dans l'hémisphère nord, seulement en Afrique ou certaines espèces traversent l'équateur (**Mao et al., 2010 ; Farjon et al., 2013**).

Les feuilles et les fruits de plusieurs espèces du genre Juniperus sont utilisés en médecine traditionnelle et leurs composés chimiques sont incorporés dans des préparations pharmaceutiques

d'usage particulièrement antiseptique est attribué à la présence d'huiles essentielles (**Medini et al., 2007**).

4 L'espèce de *Juniperus phoenicea*

Le genévrier de Phénicie *Juniperus phoenicea* L. est un arbrisseau ou un petit arbre fréquent dans les régions méditerranéennes, où il pousse dans les lieux rocaillieux, surtout sur le calcaire (**Abdelli, 2017**). Originaire du bassin de la Méditerranée, cet arbuste touffu appartient à la famille des Cupressacées qui comprend une vingtaine d'espèces. Il présente un feuillage écailleux ou épineux avec des feuilles courtes et d'un vert vif (**Bernard, 2019**). Cette espèce est bien représentée en Algérie (**Hafsi et al., 2017**). En Afrique du Nord, il couvre 450.000 hectares dont 290.000 en Algérie (**Menaceur et al., 2013**). Elle est considérée comme une plante médicinale importante largement utilisée dans la médecine traditionnelle (**Abdelli et al., 2018**). La décoction de graines de *Juniperus* est utilisée comme médicament traditionnel pour les maladies du rein et comme diurétique (**Ramdani et al., 2013**).

4.1 Nomenclature de la plante : (Dane, 2015).

NOM VERNACULAIRE: Arârlahmar

NOM ANGLAIS: Phoenician juniper , Phoenician , Cedar, Berry, Bearing Cedar

NOM FRANÇAIS : Genévrier de Phénicie, Genévrier rouge

NOM LATIN: Jupiers phonique

NOM Kabyle taqa (tawriert plus rarement)

4.2 Position systématique: Classification selon (Guezal et Santa., 2000).

Tableau I : Position systématique de la plante *Juniperus phoenicea* L

Règne	Plantes
Sous Règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnosperme
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	Juniperus
Especie	<i>Juniperus phonicea</i> L

4.3 Caractéristiques de *Juniperus phoenicea* L

1. Feuilles

Les feuilles sont toutes ou presque squamiformes (de 0.7 à 1 mm), ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, sillonnées sur le dos, glanduleuses et de couleur vert foncé. Elles sont non articulées, groupées par trois et étroitement imbriquées les unes sur les autres sur 4 ou 6 rangées faisant corps avec le rameau (Zereg, 2011).

2. Les fleurs

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont souvent réunies sur les mêmes pieds (rarement sur des individus différents). Les premières forment de très nombreux petits chatons ovales ou arrondis, munis d'écaillés pédicellées, portés sur de courts pédoncules feuillés et disposés latéralement le long des rameaux. Les fleurs femelles sont beaucoup moins nombreuses, leurs écaillés sont épaisses, aiguës et disposées sur 4 rangs. La floraison s'étend de février à avril et finit par produire de fausses baies sphériques rouge sombre à maturité (Boughanbouz et Soualmia, 2019).

3. Les fruits

Les fruits, improprement qualifiés de baies, sont d'abord de couleur verte virant au brun rouge luisant à maturité (au bout de 2 ans), de forme globuleuse et charnue, d'un diamètre de 7 à 10 mm, à surface irrégulière. Leur chair est ferme, sèche, fibreuse, jaune teinté de vert puis de brun, à odeur forte et contenant de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités aigues avec une enveloppe dure. La période de fructaison a lieu de septembre à décembre (**Boughanbouz et Soualmia, 2019**).

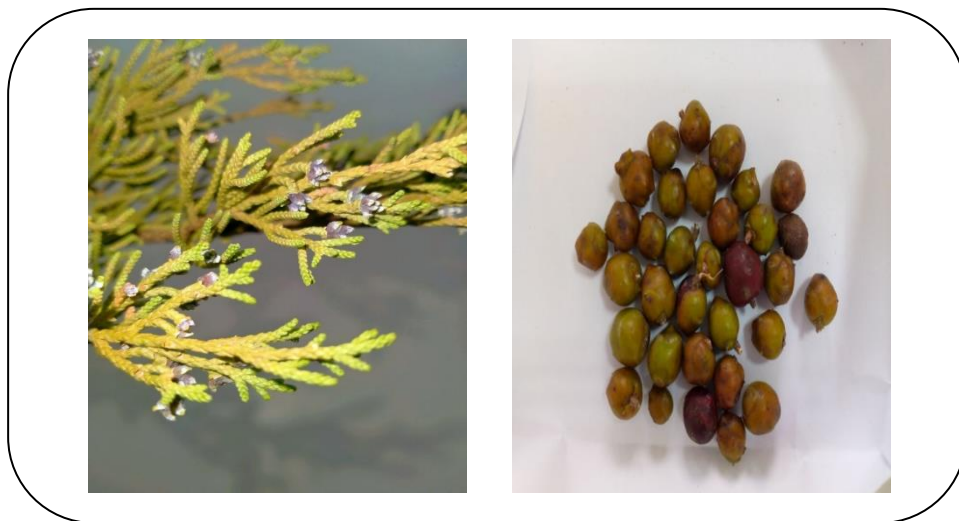


Figure 3: Fleurs et feuilles de la plante j.P (**Achouak et Chahinez, 2024**).

4.4 Répartition géographique

4. Dans le monde

Juniperus Phoenicea est distribué dans toute la région méditerranéenne où il pousse dans les endroits rocaillieux : Algérie, Tunisie, Maroc, Libye, France, Italie, Espagne, Turquie, Grèce, Albanie, Égypte (Sinaï), Chypre, et au Liban. Il pousse également en Roumanie, Portugal, Allemagne, Andorre, Bulgarie, Bosnie-Herzégovine, Croatie, Jordanie, Arabie Saoudite (le long de la mer Rouge), et au Macaronésie (Iles Canaries et de Madère Arquipelago) (**Adams et al., 2002**)

5. En Algérie

En Algérie, le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la surface forestière algérienne. Il est commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranaïs, de l'algérois et du constantinois. Il est assez rare ailleurs, on le trouve surtout sur les dunes littorales, dans les collines, sur les cotes de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif où il occupe une superficie de 1950 ha (**Abdelli, 2017**).

4.5 Habitat

Régions méditerranéennes, littorales, collines et basses montagnes sèches et ensoleillées (espèce héliophile). Peu exigeant, elle s'accroche parfois aux roches et abrupte. Elle peut se développer dans les fissures des roches (**Rameau et al., 2008**).

4.6 Compositions chimiques

Les investigations chimiques réalisées sur *J. Phoenicea* dans différentes régions de part et d'autre du bassin méditerranéen, telles que l'Espagne, le Portugal et la Grèce, la Corse, la Tunisie, l'Égypte et l'Arabie saoudite, la Libye, l'Algérie ont indiqué que le constituant majeur dans ses huiles est le : α -pinène, qui présente plusieurs activités biologiques : il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide, insectifuge, et aromatisant. Suivi des monoterpènes oxygénés tels que, α -terpinyl acétate, δ -3-carène, myrcène, α -phellandrène et β -phellandrène.

Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient également, des acides gras, et des Minéraux, de la résine, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes et des glucides, notamment, trois phenylpropanes glycosides (juniperosides, rosarin et skimmin) et deux dérivés furanones glucosides (psydrin et phoenicéine) (**Telaidji, 2018**).

Tableau II: Teneur en composés phénoliques des Parties aériennes de *J.phoenicea.L* .(Dane *et al.*, 2015) .

Composés phénoliques	Pourcentage %
Catechin	41.97
Myricetin-hexose	11.11
Myricetin-rhamnoside	1.23
Quercetin-3-o-rhamnoside	45.67

Tableau III: Teneur en Oligo-elements et minéraux des Parties aériennes de *J.phoenicea.L* (Nedjimi *et al.*, 2015).

	Elements						
	Ca (%)	Co (mg/g)	Cr (mg/g)	Fe (mg/g)	K (%)	Na (mg/g)	Zn (mg/g)
Valeurs	1.60	0.17	1.13	430	0.67	52.13	15.6

4.7 Activités biologiques

Tout le genre *juniperus* possède les mêmes propriétés pharmacologiques (Hadji, 2013). Il a été démontré que les huiles essentielles des feuilles et des cônes possèdent plusieurs activités biologiques (Benayad, 2008).

6. Activités antimicrobienne

Divers études ont été menées sur le pouvoir antibactérienne de *Juniperus phoenicea.L* (Bousibia *et al.* , 2020).

7. Activités anti –oxydantes

Le *J .phoenicea* a une activité de récupération remarquable des radicaux libres par rapport à la vitamine C .prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaines réactionnelles ou désactiver directement les réactive oxygène espèce réactive d'oxygène (Ros) .Les propriétés insecticides de l'huile de *Juniperus phoenicea* sont testées contre un insecte

des denrées stockées *Tribolium confusum*, cette huile a manifesté un effet anti-appétant intéressant. Une étude préliminaire a montré que cette huile présente une toxicité élevée vis-à-vis de cet insecte (**Ayada et al .,2021**).

1 Définition

Il y a plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait qu'une huile essentielle est définie comme une huile aromatique hautement concentrée d'origine végétale qui est extraite par distillation à la vapeur, hydrodiffusion ou pression (**Manion et al., 2017**). La pharmacopée européenne définit les huiles essentielles comme Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (pharmacopée européenne, 2008) .

En 1998, l'AFNOR par sa norme AFNOR NF T 75-006 définit une huile essentielle comme étant un «Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition comme par exemple, redistillation, aération,... » (**Benazouz ,2011**) .

2 Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles

2.1 Localisation

Tous les organes des végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles surtout fleurs (lavande vraie, sauge officinale), graines (ambrette), racines (vétiver), rhizome (gingembre). fruits (anis, fenouil), bois (santal), feuille (eucalyptus), oléorésines (myrrhe), d'écorces (par exemple, la cannelle), boutons floraux (clou de girofle) (**Franchomme et al., 1990**).

2.2 Lieu de synthèse

La synthèse de ces huiles se fait par l'intermédiaire des structures histologiques spécialisées situées généralement sur la surface de la plante (les poils, les canaux et les poches sécrétrices) (**deschepper, 2017**).

3 La composition chimique des huiles essentielles

Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes. Ce qui explique la polyvalence d'action des huiles essentielles (**Rekioua, 2023**)

4 Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques.

4.1 Antibactérienne

Selon **Benayad (2008)**, les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géraniol), etc.

4.2 Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HE constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Benayad, 2008**).

4.3 Antifongique

Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les HE on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le terrain (**Benayad, 2008**).

4.4 Antiparasitaire

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (**Benayad, 2008**).

4.5 Antiseptique

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes (**Benayad, 2008**).

5 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules ; dont la structure et les propriétés chimiques permettent de dégager des caractéristiques communes (lipophilie, faible poids moléculaire) leur assurant une bonne diffusion dans l'organisme. Malgré le peu d'études sur ces molécules, il faut retenir leur pouvoir toxique. Notamment leur hépatotoxicité, neurotoxicité et toxicité cutanée récemment. Il convient de rester vigilant et de faire évoluer cette idée qu'aujourd'hui, tout produit « naturel » est forcément bon et dénué de toute toxicité (**Lucette Couderc, 2001**).

6 La conservation des huiles essentielles

Les H.E. extraites ou bien approvisionnées de l'extérieur sont conservées dans des flacons en verre. L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles:

- **La température:** obligation de stockage à basse température (entre 04°C et 8°C).
- **La lumière:** stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.
- **L'oxygène:** les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants.
- Dans ces conditions la durée de conservation admise est de 02 à 05 ans. (**LAICHE & MECHERI, 2023**)

MATERIEL ET MÉTHODES

Materiel et méthode

L'ensemble du travail a été réalisé au laboratoire de phytochimie à l'université Chadli-Bendjedid *El-Tarf* pendant une période s'étalant du mois de février au moins Avril 2024. L'objectif de notre travail consiste en premier lieu à extraire l'huile essentielle et par la suite à évaluer son effet antimicrobien, *in-vitro*, sur 13 souches pathogènes par l'aromatogramme, méthode de diffusion sur gélose, qui vise à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricide (CMB).

1 Matériel végétal

Dans ce travail, le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de feuilles et des fruits d'une espèce médicinale, *Juniperus Phoenicea*, de la famille de Cupressaceae. Cet espèce a été choisie, surtout, à cause de leur disponibilité et leur utilisation en médecine traditionnelle.

Tableau IV: Position systématique de la plante *Juniperus phoenicea* L.

Règne	Plantes
Sous Règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Gymnosperme
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espece	<i>Juniperus phoenicea</i> L

1.1 Récolte de la plante

Juniperus Phoenicea a été collectée au mois de février 2024, au niveau de parc national d'El kala, Wilaya d'El Tarf.

1.2 Séchage de la plante

Les feuilles et les fruits de la plante ont été triées et lavées pour éliminer les impuretés puis séchées à l'étuve à température (40 °C), pendant 5 jours .



Figure 4: Séchage de la plante (Achouak et Chahinez, 2024).

1.3 Broyage du matériel végétal

Après séchage de feuilles et fruits et le jour d'extraction les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique, afin d'obtenir une poudre.



Figure 5: Broyage du matériel végétal (Achouak et Chahinez, 2024).

1.4 Extraction des huiles essentielles

➤ Principe

Les huiles essentielles de la plante étudiée a été extraite par hydrodistillation grâce à un appareil du type Clevenger. Cette méthode consiste à immerger directement du matériel végétal

dans l'eau distillée qui est portée à l'ébullition. Les principes volatiles sont alors entraînés par la vapeur d'eau et après condensation du distillat, sont séparés par décantation.

➤ Mode opératoire

L'extraction des huiles essentielles se faisait par hydrodistillation à l'aide d'un appareil Clevenger. Placer la poudre végétale (100g) de plante séchée de *Juniperus phenicea* L. dans un ballon de 1000 ml, Remplissez de 700 ml d'eau distillée. Le ballon avec son contenu a été placé sur le chauffe- ballon.

A l'ébullition l'huile essentielle est transportée par la vapeur d'eau générée Sur le col de cygne qui relie le ballon au refroidisseur. Une fois arrivées dans le refroidisseur, elle se condensent rapidement et se retrouvent dans l'ampoule à décantation qui permet la séparation de l'huile essentielle par sa densité.

Après 3 heures d'extraction, l'HE a été recueillie dans un petit flacon en verre hermétique et recouvert de papier aluminium pour la protéger de la lumière. Les tubes seront conservés au réfrigérateur à 4°C

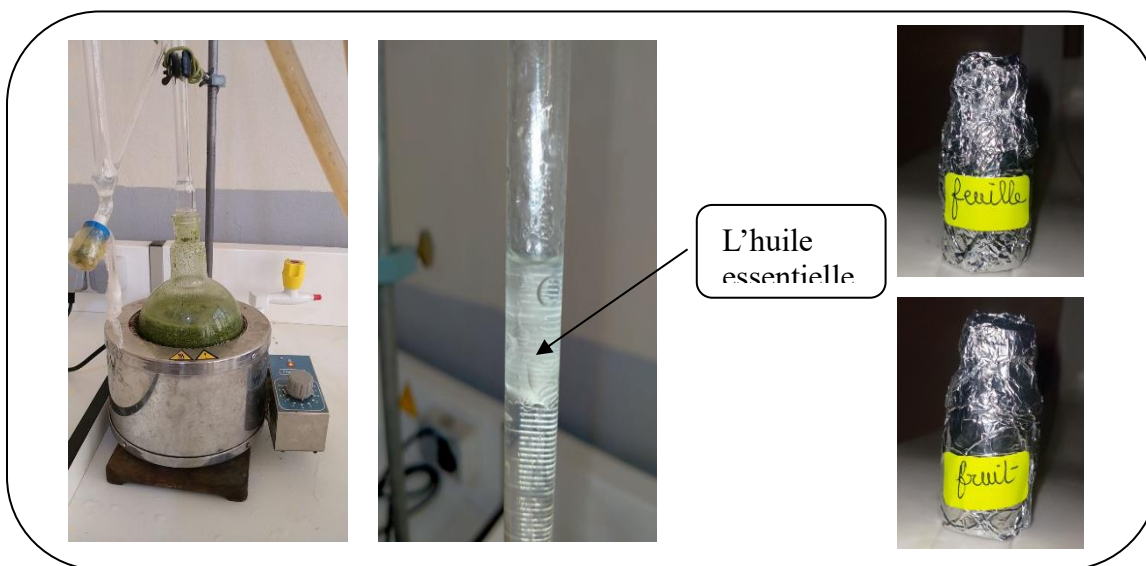


Figure 6: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation et conservation (Achouak et Chahinez, 2024).

2 Matériel biologique

2.1 Microorganismes utilisés

Cette étude a été conduite sur seize (13) microorganismes pathogènes, dont : 07 Gram – , 05 Gram + et 01 champignon non filamenteux (**Tab. IV**). Ces microorganismes cliniques testés proviennent de trois laboratoires publics et privés de la wilaya d'EL-TARF.

Tableau V: Liste des souches microbiennes utilisées

N°	Les souches	Type de Prélèvement
Gram -		
01	<i>Escherichiacoli</i>	Sanguin
02	<i>Escherichia coli</i>	Urine
03	<i>Enterobacter cloacae</i>	Urine
04	<i>Klepsiella oxytoca</i>	Pus
05	<i>Klepsiella oxytoca</i>	Urine
06	<i>Klepsiella pneumoniae</i>	Urine
07	<i>Proteus mirabilis</i>	Urine
Gram +		
08	<i>Staphylococcus aureus</i>	Urine
09	<i>Staphylococcus aureus</i>	Vagin
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Sperme
11	<i>Streptococcusbêta hymolytique du groupe A</i>	Urine
12	Cocci	Urine
Levure		
1	<i>Candidas albicans</i>	Vagin

- Les souches microbiennes collectées ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10 ml de gélose nutritive inclinée.

2.2 Préparation de la préculture:« Réactivation par repiquage »

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées vont servir à préparer l'inoculum.

- L'activité antimicrobienne doit être réalisée sur des souches jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures s'effectue par repiquage.

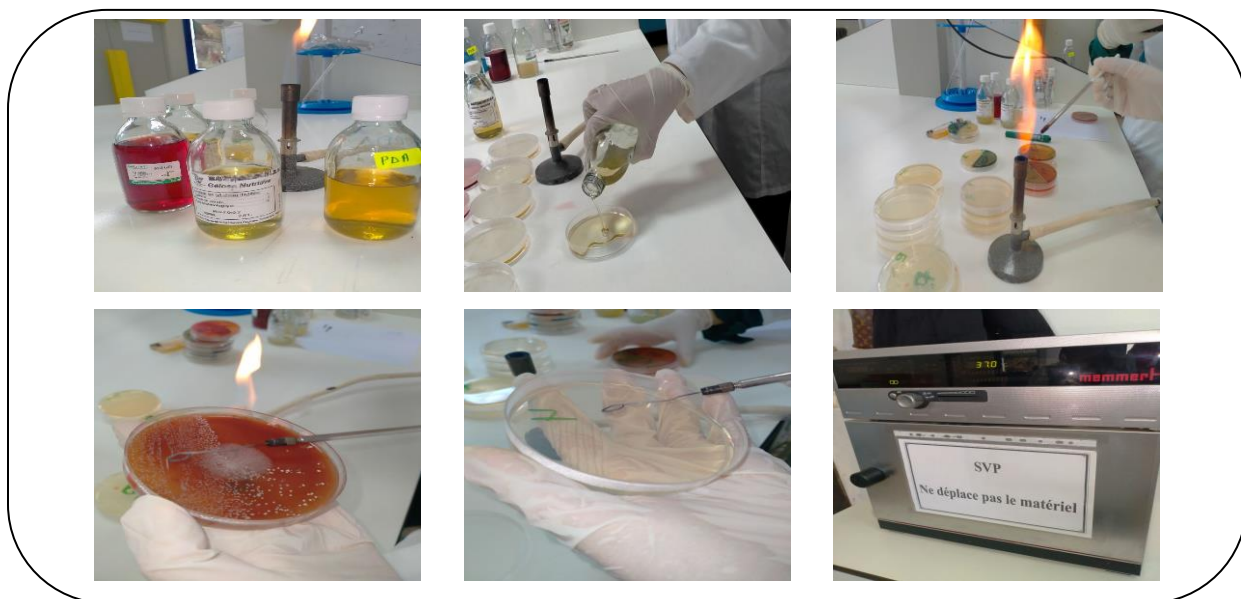


Figure 7: Repiquage et réactivation des souches bactériennes (Achouak et Chahinez, 2024).

2.3 Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

A partir d'une culture pure et jeune des souches issues du milieu d'isolement pendant 24h, nous avons raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies isolées et parfaitement identiques. Ensuite, nous avons déchargé ces colonies dans 04 ml d'eau physiologique stérile, la suspension bactérienne doit être bien homogénéisée à l'aide du Vortex. Selon Mc Ferland, on admet une Densité Optique comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10⁷ à 10⁸ germes/ml



Figure 8: Préparation des suspensions microbiennes (Achouak et Chahinez, 2024).

2.4 Milieu de culture

Selon les souches microbiennes disponibles et selon les méthodes utilisées dans ce travail, nous avons utilisé les milieux suivants:

- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents extraits.
- La gélose Nutritif est le milieu le plus utilisé pour l'isolement (repiquage) et la conservation des bactéries. C'est un milieu qui convient aux souches bactériennes
- Sabouraud pour optimiser la croissance de levure.
- Le MacConkey Agar (MAC) est un milieu sélectif et différentiel conçu pour isoler les *E.coli*.

3 Etude de l'activité antimicrobienne de *juniperus phoenicea*

A fin d'évaluer l'activité antimicrobienne des différentes huiles essentielles du *juniperus phoenicea* (feuilles, fruits et combinaison feuilles / fruits) *In vitro*. Nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé, aromatoگرامme. Suivit par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI), ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB).

3.1 Evaluation qualitative « Aromatoگرامme »

1. Définition

L'aromatoگرامme est la méthode adoptée dans cette étude. Basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale décrite par **Vincent (1991)**, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

2. Le principe

L'aromatoگرامme est une évaluation qualitative qui consiste à tester la sensibilité des souches microbiennes par la diffusion de l'HE sur le milieu solide dans une boîte de Petri. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'HE, dont l'apparition de la zone d'inhibition (autour du disque) reflète l'impact de l'HE sur les microorganismes cibles. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes (**Pibiri, 2006 ; Rekioua, 2023**).

3. Mode opératoire

- **Préparation des dilutions de l'huile essentielle** : Une série de dilution d'HE a été réalisée allant de 1/2 à 1/32 avec un solvant organique DMSO (le DiMethyl SulfOxyde n'a aucun effet sur les souches choisies).
- **L'ensemencement** : La gélose de Muller Hinton fondue refroidie à 45°C. Elle a été coulée dans des boîtes pétries à raison de 20 ml. Après solidification, un écouvillon stérile a été imbibé dans la suspension bactérienne (**l'inoculum**). La démarche suivante est d'étaler en frottant l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose de haut en bas en stries serrées, l'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois en tournant l'écouvillon sur lui-même. A la fin de l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, pour avoir une distribution égale de l'inoculum.

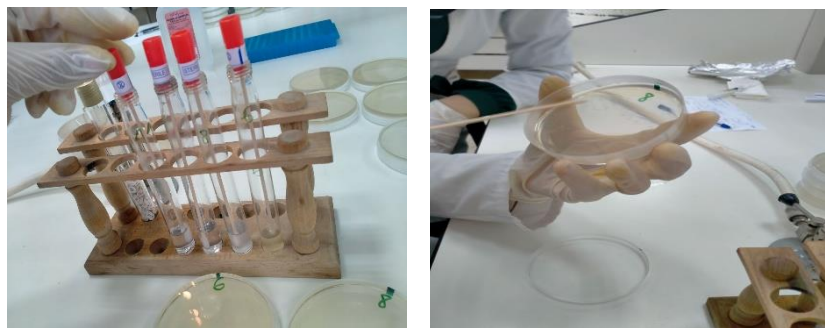


Figure 9: Etapes de l'ensemencement (Achouak et Chahinez, 2024).

- **dépôt des disques** : Des disques de papier Wathman de 6 mm de diamètre stérile imprégné de 20 μ l de Huile essentielle (HE feuilles / HE fruits / HE combinaison) ont été placés à la surface de la boîte de pétri à l'aide d'une pince stérile. Les disques témoins sont imbibés seulement par le DMSO. Les boîtes ensuite ont été incubées pendant 24 h à 37 °C.

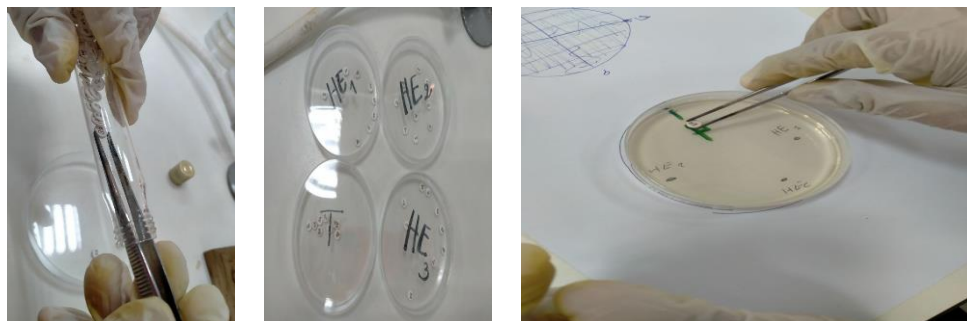


Figure 10: Application des disques (Achouak et Chahinez, 2024).

4. Lecture et interprétation

L'étude qualitative de la catégorie des huiles essentielles a été faite selon **Ponce et al. (2003)** comme le montre le **Tableau V**. Et ce par la mesure de la zone d'inhibition autour de chaque disque.

Tableau VI: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition. Selon (Ponce *et al.*, 2003).

Catégories	Diamètre de la zone inhibitrice (mm)	Présentation
Résistante	≤ 8	–
Sensible	9 – 14	+
Très sensible	15 – 19	++
Extrêmement Sensible	≥ 20	+++

3.2 Détermination des paramètres antimicrobiens CMI et CMB en milieu solide

3.2.1 La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle, aucune croissance visible à l'oeil nu n'est observée (Skandamis et Nycha; 2001). Selon la sensibilité des souches, les résultats de l'aromatogramme nous permettent de préciser la CMI. Le principe de la méthode consiste à incorporer l'huile essentielle (Brut ou diluée) dans un milieu de culture MH avant sa solidification.

Dans la présente étude, une série de dilution d'HE a été réalisée avec le DMSO et dans chaque dilution un volume de 500µl a été incorporé à 20ml de MH. Aussitôt, le mélange a été réparti dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, l'ensemencement a été exécuté par des spots à l'aide d'une pipette Pasteur. Ensuite, les boîtes de pétris ont été incubé 24h à 37C° (Fig.11).

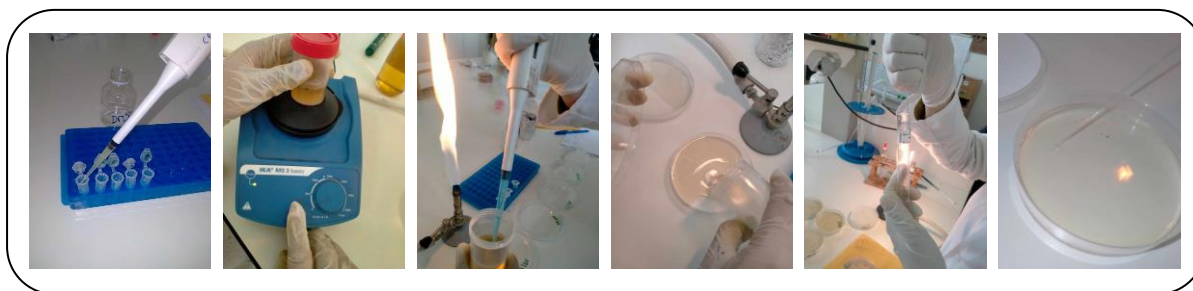


Figure 11: Les différentes étapes de la CMI (Achouak et Chahinez, 2024).

3.2.2 Détermination de la concentration minimaleBactéricide (CMB)

La CMB correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9 %. La mise en évidence de l'effet bactéricide ou bien bactériostatique des HEs ne peut s'établir qu'après la réalisation de l'aromatogramme (**Rekioua,2023**). On distingue que les HEs étudiées exercent deux effets sur les souches microbiennes testées:

- Effet **bactéricide** (Effet létal): absence de croissance bactérienne correspondant à une mortalité totale des bactéries.
- Effet **bactériostatique**: La croissance bactérienne est inhibée suite à l'utilisation des HE.

4 Analyse statistique

Une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA II) a été réalisée sur les diamètres des zones inhibitrices. Un test de Tukey a été appliqué aux moyens au niveau de 0,05% afin de détecter les différences significatives, par le **logiciel IBM SPSS, Statistics 25**. Les données sont présentées dans des tableaux comme des moyennes $\pm$ standard erreurs ($M \pm SE$).

NS Différence non significative $P > 0,05$

* Différence significative $P < 0,05$

** Différence hautement significative $P < 0,01$

*** Différence très hautement significative $P < 0,001$

RESULTATS

RESULTATS

RESULTATS

L'activité antimicrobienne des HEs a été testée *In vitro* par la méthode de l'aromatogramme. Dont, la diffusion des huiles essentielles du *Juniperus phoenicea* sur milieu gélosé nous permet d'évaluer leur efficacité par le comportement des souches testées et leurs catégories (Résistante, sensible, très sensible, extrêmement sensible).

Rappelons que :

- Les disques et les concentrations minimales inhibitrices ont été déterminés en exposant les souches à différentes dilutions d'huile essentielle.
- L'étude statistique a été réalisée par les moyennes des diamètres des zones inhibitrices enregistrées de chaque huile testée.

1 Effet toxique des HEs du *juniperus phoenicea* à l'égard des souches microbiennes

L'analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA II) montre une influence très hautement significative des huiles essentielles étudiées ($F_{2, 78} = 2165,571$; $p \leq 0,001$) et les modèles testées des souches microbiennes ($F_{12, 78} = 2005,518$; $p \leq 0,001$) sur la variation des diamètres prélevés des zones inhibitrices (**Tableau VI**).

Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,998$) montre une corrélation forte et positive entre les facteurs étudiés. Dont les huiles essentielles étudiées prouvent leur toxicité vis-à-vis des souches microbiennes.

Tableau VII: Résultats d'analyse de la variance à deux facteurs (ANOVA II) de l'effet des HEs sur la sensibilité des souches microbiennes testées.

Source	SC	ddl	CM	F. Obs	P	R ²
HEs	3109,538	2	1554,769	2165,571	0,000***	0,998
Souches	17278,308	12	1439,859	2005,518	0,000***	
Souches * HEs	5554,462	24	231,436	322,357	0,000***	
Erreur	56,000	78	125,93			
Total	47606,000	117				

2 Activité antimicrobienne

Dans notre étude, nous avons évalué l'impact des huiles essentielles (feuilles, fruits et la combinaison feuilles / fruits) de *Juniperus phoenicea* L sur 13 souches par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide MH. Plus, nous avons déterminé les paramètres antibactériens : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale Bactéricide (CMB).

2.1 Résultats d'analyse qualitative du l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

➤ Feuilles

D'après les résultats obtenus dans le tableau VII nous constatons que les souches :

- *klebsiella oxytoca* , *klebsiella pneumoniae* , *Proteus mirabilis* , *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , *cocci* , *Streptococcus* , *béta –hémolytique* et *Candida albicans* montrent une **sensibilité** beaucoup plus au brut qu'au huile diluée.

- Alors que, *Enterobacter cloacae* présente une **résistance** à cette huile.

Tableau VIII: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle des feuilles de J.P.

N°	Souches bactériennes	Brut	Dilutions				
			1 / 2	1/4	1/8	1/16	1/32
01	<i>klebsiella oxytoca</i> (pus)	–	+	+	++	+	+
02	<i>klebsiella oxytoca</i> (urine)	–	–	+	+	+	+
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	–	+	+	+	+	+
04	<i>Proteus mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–
05	<i>Escherichia coli</i> (sang)	–	–	–	–	–	–
06	<i>Escherichia coli</i> (urine)	–	–	+	+	+	++
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	++	+	+	+
08	<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	–	+	+	+	++	++
09	<i>Staphylococcus aureus</i> (vagin)	–	+	+	+	+	++
10	<i>Staphylococcus aureus</i> (sperme)	–	–	+	+	+	++
11	<i>cocci</i>	–	–	+	++	+	+
12	<i>Streptococcus</i> , <i>béta –hémolytique</i>	–	+	+	+	+	++
13	<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–	+

+ : developpement- : pas de développement

RESULTATS

➤ Fruits

Suivant les résultats mentionnés sur le tableau **VIII**, on remarque que les souches testées varient leurs comportements de **Résistante**: *klebsiella oxytoca* , *klebsiella pneumoniae* , *Escherichia coli* (urine) , *Enterobacter cloacae* , *Staphylococcus aureus* (urine) , *Staphylococcus aureus* (vagin), *Streptococcus* ,béta –hémolytique à **sensible** : *Proteus mirabilis* , *Escherichia coli* (sang) , *Staphylococcus aureus* (sperme) , cocci , *Candida albicans* .

Tableau IX: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle des fruits de J.P

N°	Souches bactériennes	Brut	Dilutions				
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
01	<i>klebsiella oxytoca</i> (pus)	+	+	+	+	+	+
02	<i>klebsiella oxytoca</i> (urine)	+	+	+	+	+	+
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	+	+	++	+	++	++
04	<i>Proteus mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–
05	<i>Escherichia coli</i> (sang)	–	–	–	–	–	–
06	<i>Escherichia coli</i> (urine)	+	+	+	+	+	+
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	+	+	+
08	<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	+	+	+	+	+	+
09	<i>Staphylococcus aureus</i> (vagin)	+	+	++	+	+	++
10	<i>Staphylococcus aureus</i> (sperme)	–	+	+	+	+	++
11	cocci	–	+	+	+	+	+
12	<i>Streptococcus</i> ,béta –hémolytique	+	+	+	+	+	++
13	<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	+	+

- : pas de développement + : developpement

RESULTATS

➤ Combinaison (feuilles et fruits)

D'après les résultats obtenus, nous prélevons du tableau **IX**, la **résistance** de 03 souches : *klebsiella oxytoca* (pus) , *klebsiella oxytoca* (urine) , *klebsiella pneumoniae* et la **sensibilité** de 10 souches : *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* , *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* , *cocci* , *Streptococcus* ,bêta –hémolytique , *Candida albicans*. A l'état brut de l'HE de la combinaison du genévrier phénicien.

Tableau X: Sensibilité microbienne au brut et aux différentes dilutions de l'huile essentielle du combinaison de J.P

N°	Souches bactériennes	Brut	Dilutions				
			1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
01	<i>klebsiella oxytoca</i> (pus)	+	++	+	+	+	+
02	<i>klebsiella oxytoca</i> (urine)	+	+	+	+	+	+
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+
04	<i>Proteus mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–
05	<i>Escherichia coli</i> (sang)	–	–	–	+	–	–
06	<i>Escherichia coli</i> (urine)	–	+	+	+	+	+
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	–	+	+	+	+	+
08	<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	–	+	+	+	+	+
09	<i>Staphylococcus aureus</i> (vagin)	–	+	+	+	+	+
10	<i>Staphylococcus aureus</i> (sperme)	–	+	+	+	+	+
11	<i>cocci</i>	–	–	+	+	+	++
12	<i>Streptococcus</i> ,bêta –hémolytique	–	+	+	+	+	+
13	<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	+	++

- : pas de développement

+ : developpement

- ❖ D'une manière générale, les souches testées semblent avoir une sensibilité importante a l'état brut d'HE de *juniperus phoenicea* qu'a l'état dilué.

RESULTATS

2.2 Résultats d'analyse quantitative et les paramètres antimicrobiens

➤ Huile essentielle des feuilles de *J. p* :

Selon le tableau X, les diamètres d'inhibition enregistrés varient de 11 mm (*S. Bêta hémolytique du groupe A*), 12 mm (*k. pneumoniae*), 13 mm (*S. aureus*), 14 mm (*C. albicans*), 15 mm (*E. coli*), 16 mm (*E. cloacea*), 19 mm (*cocci + et S. aureus*), 22 mm (*P. mirabilis*) à 59 mm pour *S. aureus*. uniquement *k. oxytoca* qui montre une résistance à l'HE des feuilles de *Juniperus phoenicea*.

- ❖ le HE aussi présente un pouvoir antimicrobien moyen voir faible vu les CMI enregistrés chez *cocci klebsiella oxytoca/pus - klebsiella pneumoniae - Staphylococcus aureus/urine - Staphylococcus aureus/vagin - Streptococcus, bêta - hémolytique - klebsiella oxytoca/urine - Escherichia coli/urine* et *Staphylococcus aureus/sperme*.
- ❖ un pouvoir antimicrobien puissant chez : *Proteus mirabilis - Escherichia coli /sang et Candida albicans*.

Tableau XI: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle des feuilles de *J.p*

N°	Souches bactériennes	20 µl HE	CMI (mg/ml)	Type d'activité
01	<i>klebsiella oxytoca (pus)</i>	R	49.89	Bactériostatique
02	<i>klebsiella oxytoca (urine)</i>	15	25.59	Bactéricide
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	12	49.89	Bactériostatique
04	<i>Proteus mirabilis</i>	22	1.6	Bactéricide
05	<i>Escherichia coli (sang)</i>	16	1.6	Bactériostatique
06	<i>Escherichia coli (urine)</i>	15	25.59	Bactéricide
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	16	ND	
08	<i>Staphylococcus aureus (urine)</i>	56	49.89	
09	<i>Staphylococcus aureus (vagin)</i>	13	49.89	
10	<i>Staphylococcus aureus (sperme)</i>	19	25.59	
11	<i>cocci</i>	19	25.59	
12	<i>Streptococcus, bêta - hémolytique</i>	11	49.89	
13	<i>Candida albicans</i>	14	3.2	

ND : Non définie - R : Résistante

- ❖ Nous pouvons déduire, que le HE des feuilles de *J.P* prouve une activité **bactériostatique** sur *klebsiella oxytoca (pus)*, *klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli (sang)* et une activité **Bactéricide** sur *klebsiella oxytoca (urine)*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli (urine)*,

RESULTATS

Enterobacter cloacae , Staphylococcus aureus , cocci , Streptococcus ,bêta –hémolytique , Candida albicans.

➤ Huile essentielle des fruits de *j. p* :

Concernant l'HE des fruits, les diamètres d'inhibition enregistrés des souches : *S. bêta hémolytique*, *cocci* + , *P.mirabilis* , *E.coli* et *S.aureus*, sont 9 mm,15 mm , 16 mm, 17 mm et 25 mm respectivement. Contrairement à (*K. oxytoca*/pus , *k. oxytoca* /urine, *S. aureus* , *K.pneumoniae* , *C.albicans* , *E. coli* , *E. cloacae*) qui sont résistantes

- L'HE possède un pouvoir antimicrobien puissant avec une CMI de **1.43 mg/ml**chez *E.coli* /sang, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*.
- Et un pouvoir antimicrobien puissant avec une CMI enregistré de **44.75mg/ml**chez *Staphylococcus aureus*/sperme et *cocci*.

Tableau XII: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle des fruits de *j.p*

N°	Souches bactériennes	20 µl HE	CMI (mg/ml)	Type d'activité
01	<i>klebsiella oxytoca</i> (pus)	R	ND	Bactériostatique
02	<i>klebsiella oxytoca</i> (urine)	R	ND	
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	R	ND	
04	<i>Proteus mirabilis</i>	16	1.43	
05	<i>Escherichia coli</i> (sang)	17	1.43	
06	<i>Escherichia coli</i> (urine)	R	ND	Bactéricide
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	R	ND	Bactériostatique
08	<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	25	ND	Bactéricide
09	<i>Staphylococcus aureus</i> (vagin)	R	ND	Bactériostatique
10	<i>Staphylococcus aureus</i> (sperme)	R	44.75	
11	<i>cocci</i>	15	44.75	Bactéricide
12	<i>Streptococcus</i> ,bêta –hémolytique	9	ND	
13	<i>Candida albicans</i>	R	1.43	

ND : Non définie - R : Résistante

- ❖ Du tableau **XI**, nous constatons que, l'HE des fruits de *J.P* prouve une activité **bactériostatique** sur: *klebsiella oxytoca* , *klebsiella pneumoniae* , *Proteus mirabilis* ,*Escherichia coli*/sang , *Enterobacter cloacae* , *Staphylococcus aureus*/vagin , *Staphylococcus aureus* (sperme).
- ❖ Et une activité **Bactéricide**sur : *Escherichia coli*/urine, *Staphylococcus aureus*/urine, *cocci*, *Streptococcus* et *Candida albicans*.

RESULTATS

➤ Huile essentielle de la combinaison de *j. p* :

L'assemblage de deux huiles essentielles (50% HE feuilles +50% HE fruits) de *juniperus phonecea* révèle d'après le tableau XX une variation du comportement des souches vu les diamètres des zones inhibitrices. L'HE de la combinaison de J.P ne provoque **aucune influence** sur *klebsiella oxytoca*.

- ❖ Avec une CMI élevée de **24.05 mg/ml** à **46.89 mg/ml**, la combinaison des HEs semble moins puissante sur ces micro-organismes : *Streptococcus*, *béta –hémolytique* - *klebsiella pneumoniae* - *Escherichia coli*/urine - *Enterobacter cloacae* - *Staphylococcus aureus*/urine - *Staphylococcus aureus*/vagin et *Staphylococcus aureus*/sperme.
- ❖ Par contre, avec une CMI de **6.01 mg/ml** à **1.50 mg/ml**, la combinaison des HEs semble avoir une activité puissante sur : *Proteus mirabilis* - *Escherichia coli* /sang et *Candida albicans*.

Tableau XIII: Diamètres des zones d'inhibitions en mm, la concentration minimale inhibitrice et le type d'activité de l'huile essentielle de la combinaison de *j.p*

N°	Souches bactériennes	20 µl HE	CMI (mg/ml)	Type d'activité
01	<i>klebsiella oxytoca</i> (pus)	R	ND	Bactériostatique
02	<i>klebsiella oxytoca</i> (urine)	R	ND	
03	<i>klebsiella pneumoniae</i>	9	46.89	
04	<i>Proteus mirabilis</i>	62	1.50	Bactéricide
05	<i>Escherichia coli</i> (sang)	9	1.50	
06	<i>Escherichia coli</i> (urine)	12	46.89	
07	<i>Enterobacter cloacae</i>	11	46.89	
08	<i>Staphylococcus aureus</i> (urine)	59	46.89	
09	<i>Staphylococcus aureus</i> (vagin)	9	46.89	Bactériostatique
10	<i>Staphylococcus aureus</i> (sperme)	13	46.89	Bactéricide
11	<i>cocci</i>	14	24.05	
12	<i>Streptococcus</i> , <i>béta –hémolytique</i>	11	46.89	
13	<i>Candida albicans</i>	11	6.01	

ND : Non définie - R : Résistante

- ❖ Nous avons noté que l'huile essentielle de la combinaison de J.P possède également une activité **bactériostatique** sur : *klebsiella oxytoca* , *klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* (vagin) et une activité **Bactéricide** sur : *Proteus mirabilis* , *Escherichia coli* , *Enterobacter cloacae* , *Staphylococcus aureus* (urine) , *Staphylococcus aureus* (sperme) , *cocci* , *Streptococcus*, *béta –hémolytique* , *Candida albicans* .

RESULTATS

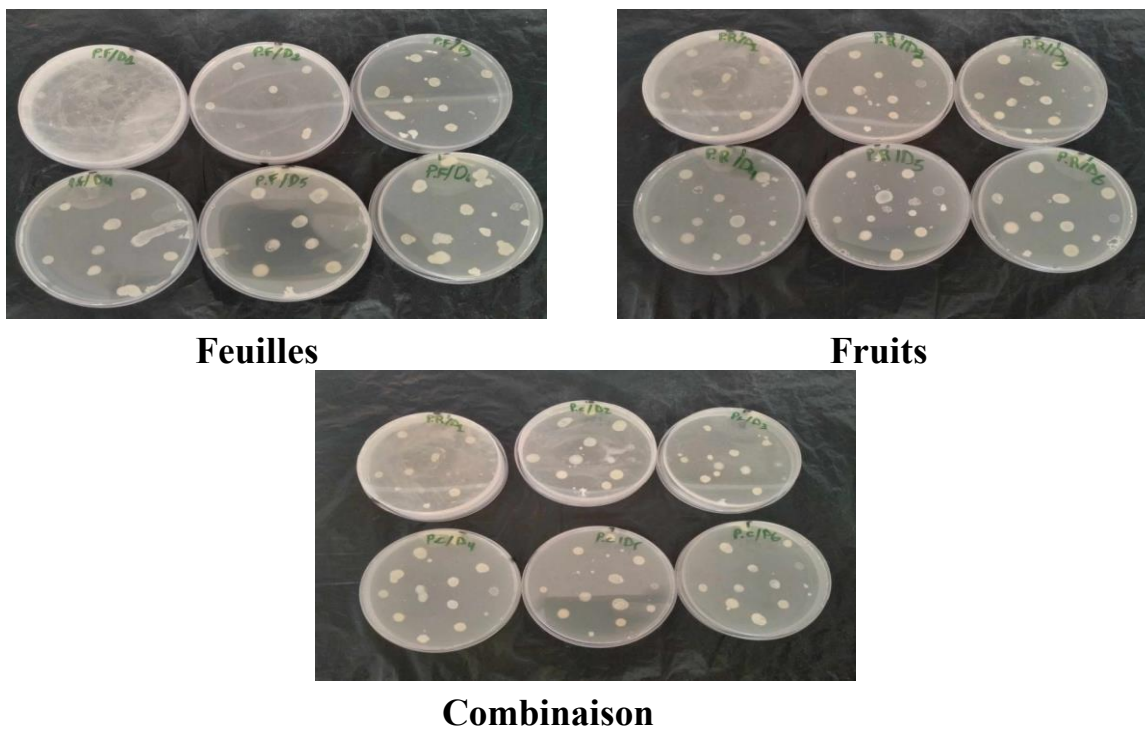


Figure 12: Résultats de La CMI des différentes dilutions des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L (Achouak et Chahinez, 2024).

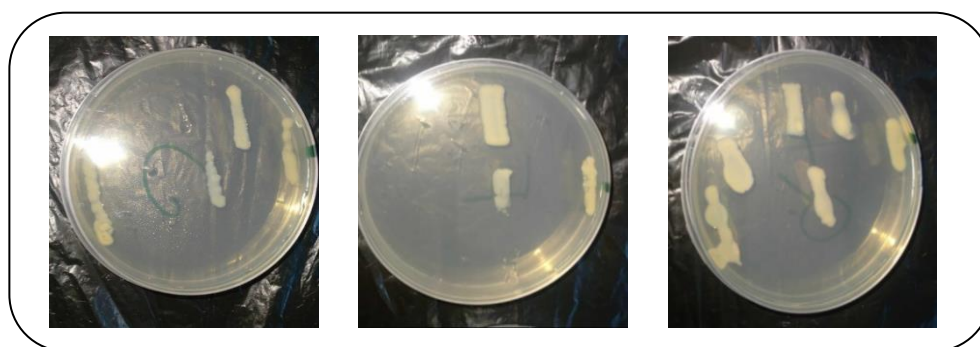


Figure 13: Résultats de la CMB (Achouak et Chahinez, 2024).

DISCUSSION

DISCUSSION

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur 13 souches pathogènes, a fin de valoriser la flore local de la région d'El-Tarf.

Les résultats montrent que les huiles essentielles agissent de manière différente sur la croissance des microorganismes, induisant divers diamètres d'inhibition dans la zone de croissance. Plus la concentration d'huile essentielle diminue, plus les microorganismes perdent leur sensibilité et deviennent résistante. C'est l'effet d'inhibition **dose-dépendant**, ce qui est similaire a **Rekioua (2023)**.

➤ *klebsiella oxytoca* :

La souche *Klebsiella oxytoca* est **très sensible** à l'huile essentielle de feuilles, mais **résistante** à l'huile essentielle de fruits et à leurs combinaisons récoltées dans la région d'El Tarf. Un **effet inhibiteur** a été observé à partir d'une concentration de 2,5 % (v/v) de cette même huile essentielle. évalués avec **bouzouita et al,(2008)**

➤ *klebsiella pneumonia*

La souche *Klebsiella pneumonia* **était résistante** à l'huile essentielle de fruits et **sensible** à l'huile essentielle de feuilles et de combinaisons (feuilles/ fruits) (12 mm ,9 mm) respectivement. Selon l'étude de **Rekioua (2023)**, cette souche a montré **une sensibilité modérée** à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* avec une zone d'inhibition de 14 mm. En revanche, *Klebsiella pneumoniae* devienne résistante devant l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* **Rekioua (2023)** et l'HE d'*Helichrysum italicum* (**Bouزيد, 2018**).

➤ *Proteus mirabilis*

cette souche était **sensible** à 03 huiles utilisées feuilles , fruits et combinaison avec une zone d'inhibition (22 mm,16 mm , 62 mm) respectivement , par contre Selon l'étude de **El amri et al .(2014)** cette souche est **résistante** à l'huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silène vulgaris*.

DISCUSSION

➤ *Enterobacter cloacae*

la souche *Enterobacter cloacae* était **résistante** à l'huile essentielle de fruits de J.P et **sensible** à l'huile essentielle de feuilles et la combinaison avec des diamètres d'inhibition qui varient de 16mm et 11mm respectivement. Par contre, selon l'étude de **Benhammou et al. (2007)** cette souche est **résistante** à l'huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* L

➤ *Escherichia coli*

Les résultats obtenus pour *E. coli* montrent des zones d'inhibition relativement importantes pour les huiles essentielles de feuilles et de fruits individuellement, avec 16 mm et 17 mm respectivement. Cependant, la combinaison de (feuilles/ fruits) a conduit à une diminution significative de l'efficacité antimicrobienne, avec une zone d'inhibition réduite à 9 mm. Selon l'étude de **Mouas et al. (2017)** montre que l'huile essentielle de romarin de l'écotype Blida a une activité antimicrobienne presque égale à celle de l'écotype Djelfa contre *Escherichia coli*, avec des diamètres d'inhibition **de 9,25 mm et 9,5 mm** respectivement. De plus, *E.coli* est légèrement sensible aux HEs des feuilles de *L nobilis*, présentant une zone d'inhibition de 12mm (**Caputo et al. (2017)**).

➤ *Staphylococcus aureus*

La souche *S. aureus* était **extrêmement sensible** à 03 huiles utilisées feuilles, fruits et combinaison de HE de J.P avec une zone d'inhibition (25 mm, 56mm , 62mm) respectivement . Toutefois, cette **sensibilité** semble supérieure en comparaison avec les résultats obtenus par **Rekioua (2022)** lors de l'expérimentation avec deux différentes espèces végétales, soit l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus avec un diamètre d'inhibition **de 17,43 mm**, tandis que l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis avec un diamètre d'inhibition de **12,93 mm**. Les huiles essentielles de *J.P* des sembles **très efficaces** contre *Staphylococcus aureus*.

➤ *Cocci et streptococcus bêta hymolytique du groupe A :*

Les zones d'inhibitions enregistrées (**9 mm, 11 mm, 14 mm, 15 mm et 19 mm**) indiquent **la sensibilité** des deux souches, Cocci et SGA, à l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L. Ce qui corrobore avec **Bouchenak et al. (2020)** qui ont révélé que cette huile essentielle est efficace contre toutes les souches testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa*, qui s'est montrée **résistante**.

➤ *Candidat albicans*

Le comportement de *Candida albicans* à l'égard de l'huile essentielle des fruits et la combinaison de *Juniperus phoenicea* se traduit par l'enregistrement des zones d'inhibition de **14 mm et 11 mm** respectivement et ce corroborent avec ceux de **Bouchenak et al. (2020)**. De plus, nos résultats de diamètres des zones d'inhibition sont supérieurs à celles traitées par l'HE de *Pistacia lentiscus* L (**8 mm et 8,6 mm**) d'après **Benhamou et al. (2007)**.

Les Résultats d'analyse quantitative démontrent que les huiles essentielles de J.P (feuilles, fruits et combinaison) présentent une large gamme d'activités antimicrobiennes, à la fois **bactériostatiques** et **bactéricides**, contre divers agents pathogènes.

Les huiles essentielles (HE) des feuilles, des fruits et de la combinaison de J.P démontrent une gamme étendue d'activités antimicrobiennes.

- ✓ Les HE des feuilles montrent une activité **bactériostatique** contre *Klebsiella oxytoca* (pus), *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* (sang), et une activité **bactéricide** contre *Klebsiella oxytoca* (urine), *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* (urine), *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, cocci, *Streptococcus* β -hémolytique et *Candida albicans*.
- ✓ Les HE des fruits présentent une activité **bactériostatique** contre *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* (sang), *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (vagin) et *Staphylococcus aureus* (sperme), et une activité **bactéricide** contre *Escherichia coli* (urine), *Staphylococcus aureus* (urine), cocci, *Streptococcus* et *Candida albicans*.
- ✓ Quant aux HE de la combinaison, elles affichent une activité **bactériostatique** contre *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* (vagin), et une activité **bactéricide** contre *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (urine), *Staphylococcus aureus* (sperme), cocci, *Streptococcus* β -hémolytique et *Candida albicans*.

À partir de cette étude, nous avons pu démontrer que les huiles essentielles étudiées ont la capacité de bloquer le développement et la croissance momentanée des micro-pathogènes (bactéries, levures), effet **bactériostatique**. Et, même tuer la souche pathogène, effet **bactéricide**. Cette propriété antimicrobienne permet son utilisation dans de nombreuses applications

DISCUSSION

thérapeutiques et pratiques, notamment dans le traitement des infections cutanées et des maladies respiratoires, en raison de sa capacité à inhiber la croissance de nombreuses bactéries pathogènes. En outre, cette huile essentielle on peut la intégrer dans la fabrication de produits de soins pour la peau, tels que les crèmes et les lotions, pour prévenir et traiter les infections cutanées mineures.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les plantes médicinales restent toujours une source fiable de principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Avec la prévalence des microorganismes pathogènes résistants aux antibiotiques, nous notons un regain d'intérêt pour les molécules naturelles extraites à partir de plantes. L'Algérie par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse.

Dans notre démarche de valorisation des ressources en plantes médicinales de la région d'El Tarf, et à la recherche de nouvelles biomolécules comme des alternatives thérapeutiques pour éliminer les bactéries multirésistantes nous avons concentré nos efforts sur la plante *Juniperus Phoenicea*, .

Les analyses qualitative et quantitative de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* révèle une activité antimicrobienne significative, tant dans ses composants issus des feuilles que des fruits. Les souches testées montrent une sensibilité marquée à l'huile essentielle brute par rapport à son état dilué, avec des variations selon les types de souches. L'huile essentielle étudiée a montré un effet d'inhibition dose-dépendant .

Les résultats qualitatifs montrent que les souches *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, cocci, *Streptococcus bêta-hémolytique* et *Candida albicans* sont plus **sensibles** à l'huile essentielle brute des feuilles qu'à l'huile diluée, tandis qu'*Enterobacter cloacae* présente une **résistance**. Pour les fruits, les souches testées varient : *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* (urine), *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus* (urine), *Staphylococcus aureus* (vagin), et *Streptococcus bêta-hémolytique* sont **résistants**, alors que *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* (sang), *Staphylococcus aureus* (sperme), cocci, et *Candida albicans* sont **sensibles**. La combinaison des huiles des feuilles et des fruits montre que *Klebsiella oxytoca* (pus), *Klebsiella oxytoca* (urine), et *Klebsiella pneumoniae* sont **résistants**, tandis que *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, cocci, *Streptococcus bêta-hémolytique*, et *Candida albicans* sont sensibles.

Les Résultats Quantitatifs et les Paramètres Antimicrobiens de l'Huile Essentielle de *Juniperus phoenicea* montre que :

CONCLUSION

L'HE des feuilles de J.P présente un pouvoir antimicrobien puissant chez : *Proteus mirabilis* - *Escherichia coli* /sang et *Candida albicans* vu les valeur de CMI suivants : (**1.6mg/ml** , **1.6mg/ml** , **3.2mg/ml**) respectivement , et un pouvoir antimicrobien moyen voir faible vu le CMI de **49.89 mg/ml** chez *klebsiella oxytoca*/pus *klebsiella pneumoniae* _ *Staphylococcus aureus*/urine - *Staphylococcus aureus*/vagin _*Streptococcus* ,bêta –hémolytique et le CMI de **25.59 mg/ml** Chez - *klebsiella oxytoca*/urine - *Escherichia coli*/urine et *Staphylococcus aureus*/sperme et cocci . aussi cette huile démontre une activité bactériostatique contre *K. oxytoca* (pus), *K. pneumoniae*, et *E. coli* (sang), et une activité bactéricide sur plusieurs autres souches.

Cependant , sous l'effet de l'HE des fruits qui possède un pouvoir antimicrobien puissant avec une CMI de **1.43 mg/ml** chez *E.coli* /sang, *Proteus mirabilis* et *Candida albicans*, et un pouvoir antimicrobien moyen voir faible avec une CMI enregistré de **44.75mg/ml** chez *Staphylococcus aureus*/sperme et cocci . l'HE des fruits montrent Un effet bactériostatique sur plusieurs bactéries Gram- et un effet bactéricide sur la levure (*candida albicans*) et *Streptococcus* ,bêta –hémolytique .cocci , *S. aureus*/urine , *E coli* /urine

De plus , l'HE de combinaison semble avoir une activité puissante sur : *Proteus mirabilis* - *Escherichia coli* /sang avec une CMI de **1.50 mg/ml** et sur *Candida albicans* avec une CMI de **6.01 mg/ml**, Avec une CMI élevé de **24.05 mg/ml** chez cocci a **46.89 mg/ml** chez *Streptococcus* ,bêta –hémolytique- *klebsiella pneumoniae* – *E.coli*/urine - *Enterobacter cloacae* - *Staphylococcus aureus*/urine - *Staphylococcus aureus*/vagin et *Staphylococcus aureus*/sperme la combinaison des HEs semble moins puissante , cette huile démontre une activitébactériostatique sur *S aureus*/vagin , *K pneumoniae* , *K. oxytoca*/pus , *k. oxytoca* /urine et un effet bactéricide sur les restes souches testées .

A partir des ces comparaisons entre les trois huiles on peut dire que L'huile essentielle de **Juniperus phoenicea** démontre un pouvoir antimicrobien excelent contre la variété de bactéries et de champignons testés dans ce travail, avec des différences significatives selon les parties de la plante utilisées (feuilles, fruits) et les combinaisons des huiles. Globalement, les huiles essentielles des feuilles montrent une efficacité supérieure par rapport aux fruits, mais la combinaison des deux tend à offrir une activité plus large.

Cette opportunité ouvre la voie vers la mise en valeurs de cette plante et ces dérivés dans le développement économique durable et dans la création de la richesse renouvelable dans notre pays.

CONCLUSION

Elle permet aussi la mise en valeur de l'exploitation des HEs dans les domaines pharmaceutiques (antibiotiques) et cosmétiques (Gel et lotion nettoyants) et et alimentaires (désinfectants). en raison de leur composition chimique.

PERSPECTIVES

PERSPECTIVES

L'ensemble des résultats obtenus au cours de notre investigation, constitue une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, il serait intéressant d'étaler ce travail en:

- Extrayant différents extraits d'autres parties de la plante et les étudier.
- réaliser d'autres activités biologiques in vitro telles que l'activité antifongique, antiviral, antibactérienne sur d'autres souches.
- utiliser d'autres tests supplémentaires plus avancées tels que l'étude de l'activité antibactérienne in vivo
- A la fin, nous pensons qu'il serait intéressant de mener d'autres études de valorisation, et de caractérisation sur d'autres plantes cultivées et spontanées, dans le domaine médicinale, pharmaceutique et industrielle.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **Abdelli,W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. thèse de doctorat, p 24-25.
2. **Adams R-P., Pandey N., Rezzi S., Casanova J. (2002).** Geographic variation in the Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) of *Juniperus phoenicea*, *J. p. var. canariensis*, *J. p. subsp. eumediterranea*, and *J. p. var. turbinata*. *Biochemical Systematic Ecology*, Vol. 30: pp. 223-229.
3. **Adams, R.P.(2014).** *Junipers of the World: the genus Juniperus*. Trafford Publishing Co., Bloomington.p12.
4. **Al-Hajj N.Q.M., Wang H.X. Ma., Lou C., Bashari M. 2014.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of aromatic medicinal plants (*Pulicaria inuloides*-Asteraceae and *Ocimum forskolei*-Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (8): 1287-1293.
5. **ANONYME, 2003** – Monographie de la wilaya d’El-Tarf 2002. Direction de la planification et d’aménagement du territoire de la wilaya d’El-Tarf. 31 p.
6. **Ayada, I., & Aymen, A. (2021).** Etude bibliographique sur l’utilisation de Genévrier dans la conservation des aliments.

B

7. **BAHROUN, S. (2003).** IMPACT DES EAUX USEES URBAINES ET INDUSTRIELLES SUR LES EAUX NATURELLES DANS LA REGION D’EL TARF
8. **Ben F, Romdan CH, Bougerra O, Sahnoun CH, Loussaies V, Kacem M, Mastouri R, Tavka-Stanbouli M, Chakroun V, Bouzouaïa N. 2005.** Les bactéries multi résistantes isolées chez les malades hospitalisés dans un service de maladies infectieuses. *Tin Infectiol*, 1(4): 12-15.
9. **Benayad N. 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires 38 stockées.Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair.Département de Chimie.faculté des sciences de Rabat
10. **Benazouz M.A,(2011),**les huiles essentielles,importance et potentialités :mise a jour bibliographique des derniers recherches sur leurs emplois et toxicité et analyse de la

composition des huiles essentielles de quinze plants des plus consommées au Maroc, UNIVERSITE MOHAMMED V-SOUISSI p:6.

- 11. Benhammou, N., & Bekkara, F. (2007).** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). Actes du congrès international des, 22-24
- 12. BENYACOU B S., BENHOUBOU S., BOULAHBEL R., CHABI Y., LOUANCHI A., ROUAG R., 1998** – Plan de gestion du P.N.E.K. et du complexe des zones humides. Projet J.Ef-B.M., 210 p.
- 13. Bernard, (2019).** Genévrier de Phénicie: plantation, entretien, prix, culture.
- 14. Bouchenak , O., Yahiaoui , K., Laoufi, R., Benhabyles ,N., El Haddad, D., and Arab, K.(2020).**Caractérisation phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* .Revue Agriculture, 11(1) , 51 – 57. <http://revue-agro.univ-setif.dz/>
- 15. Boughanbouz, I., & Soualmia, D. (2019).** Caractérisation ethnopharmacologique et antioxydante de quelques plantes médicinales utilisées traditionnellement à Tébessa pour le traitement des troubles gastro-intestinaux [Université laarbi tebessi tebessa]. P.19
- 16. Boumediou A ., Addoun S. (2017).** étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques, en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen (Algérie).12,119.
- 17. BOUSBIA BRAHIM, D., & SOUACI, W. (2020).** Enquête ethnobotanique et étude phytochimique de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Juniperus phoenicea*) dans la région d'Oued Souf.
- 18. Bousbia, D., Souaci, W. (2021).** Enquête ethnobotanique et étude phytochimique de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Juniperus phoenicea*) dans la région d'Oued Souf. Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED. Mémoire de fin d'étude. 151P.
- 19. Bouzid, D. (2018).** Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. [Thèse de doctorat, Université de Ferhat Abbas]. p : 105.
- 20. Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. Journal de la Société Chimique de Tunisie, 10 :119-125.

C

21. **Caputo L., Nazzaro F., Souza L.F., Aliberti L., De Martino L., Fratianni F., Coppola Fet De Feo V. 2017.** Laurus nobilis: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. Multidisciplinary Digital Publishing Institute. 22:1-11.

D

22. **Dane, Y.; Mouhouche, F.; Canela-Garayoa, R.; Delpino-Rius,.(2015).A.** Phytochemical analysis of methanolic extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L. and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892 (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. Arab. J. Sci. Eng
23. **-Debazac E.F. (1991).** Manuel des conifères. 2ème édition. Ecole nationale de Génie Rural, des eaux et des forêts. Nancy, Paris : 137-141
24. **Deschepper R, 2017.**Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Univ aix marseille .,p(14-110).

E

25. **El Amri, J., Elbadaoui, K. H. A. L. I. D., Zair, T., Bouharb, H. A. Y. A. T. E., Chakir, S. A. Ĩ. D., & Alaoui, T. I. (2014).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Teucrium capitatum* L et l'extrait de *Silene vulgaris* sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences*, 82, 7481-7492.

F

26. **Farjon, A., Filer., D.(2013).** An atlas of the world's conifers: An analysis of their distribution, biogeography, diversity and conservation status.
27. **Franchomme, P., Péroël, D ., 1990.** “L'Aromathérapie Exactement” fondements démonstration illustration et applications d'une science médicale naturelle, édition Roger Jollois, n.d.

K

28. Kaouane Amina, Chabane Fairouz ;(2017). Contribution à l'étude des activités antibactérienn et antioxydante de l'huile essentielle de l'Armoise bl anche (*Artemesia herba alba*).11p

L

29. LAICHE, C. e., & MECHERI, M. (2023). EXTRACTION DES HUILE ESSENTIELLES ET HYDROLATS

30. Lazli.A, Beldi.M, Ghouri.L, Nouri.N, 2018 - Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous (Parc National d'El Kala,- Nord-est algérien) Laboratoire d'écologie fonctionnelle et évolutive, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf. Algérie, Université Chadli Bendjedid d'El Tarf, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 23p.43

31. lucette couderc V(2001),Toxicite des huiles essentielles,l'université paul-sabatier de toulouse, p :3-55

M

32. Manion, C.R., Widder, R.M., 2017. Essentials of essential oils. Am. J. Health. Syst. Pharm. 74, e153–e162. <https://doi.org/10.2146/ajhp151043>

33. Mao, K., Hao G., Liu, J., Adams, R.P. Amp Milne, R.I.,(2010). Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. New Phytol., 188: 254- 272.

34. Medini, H., Elaissi, A., Chraief, I., Bannour, F., Farhat, F., Ben Salah, M., Khoudja, M .and Chemli, R. (2007). Composition and variability of the essential oils of the leaves from *Juniperus phoenicea* L. from Tunisia. Revue des region arides. 1: 185-189

35. Mouas, Y., Benrebiha, F. Z. & Chaouia, C. (2017). Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. Revue Agrobiologia, 7(1), 363-370.

O

36. OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 2013, Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. ISBN 978 92 4 250609 9, Genève, Suisse, 72p

P

37. **Pharmacopée européenne.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps). 2008.
38. **Pibiri, M.C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles [Thèse de doctorat, Université de Lausanne, EPFL]. p : 19-55 <https://doi.org/10.5075/epfl-thesis-3311>
39. **Ponce, A.G., Fritz, R., Delvalle, C. & Roura, S.I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic*, (36), pp. 679-684.

R

40. **Rahmani, Z. (2020).** Contribution à l'étude phytochimique, Electrochimique et biologique des extraits de *Cupressus sempervirens* (L) (Doctoral dissertation, Université Kasdi Merbah-Ouargla).156P.
41. **Ramdani, M., Lograda, T., Silini, H., Zeraib, A., Chalard, P., Figueredo, G., ... & Zerrar, S. (2013).** Antibacterial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(11), 22.
42. **Rameau, J-C., Mansion, D. et Dumé, G. (2008)** .Flore forestière française: Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier. P 2426
43. **Rekioua , N., (2023).** Contribution à l'étude de quelques activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales de la région D'EL tarf.[Thèse de doctorat non publié]. Université Chadli ben djedid

S

44. **Sanago, R. (2006, 06 – 10 juin).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle [Conférence] 10ème école d'été de l'IEPF et du SIFEE. Développement, Environnement et Santé. p : 53..
45. **Sarri, 2002.** Etude de la végétation du P.N.E.K. forêt domaniale du Djebel El Ghorra (Algérie). Thèse de magister, FSN, Sétif, 119p+ annexe

T

46. Telaidji, A. N. (2018). Caractérisation chimique et activités biologiques (in vitro et in vivo) de l'extrait méthanolique de *Juniperus phoenicea*.l. Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire.

V

47. Vincent, M.C. (1991). L'aromatogramme. Encyclopédie de médecine naturelle, phytothérapie, aromathérapie. 4 (9), p : 6.

Y

48. Youbi, A. (2008). POLITIQUES PUBLIQUES ET AIRES PROTEGEES PAYSAGE – PATRIMOINE,OUTILS DE GESTION DU PARC NATIONAL D'EL KALA ? 277. Département d'Architecture. Annaba, Annaba.

Z

49. Zaidi, S. (2018). VALORISATION DES PRODUITS FORESTIERS NON LIGNEUX DES SUBERAIES DE LA REGION D'EL KALA

50. Zereg, S. (2011). Diagnostic écologique, mise en valeur et conservation des Junipéraies de *Juniperus phoenicea* de la région de Djerma (nord_est du parc national de Belezma), Thèse de doctorat en pharmacie, Batna, p 5.6

Annexes

Annexe 1 : Matériels de laboratoire



Etuve



Vortex



hawne



Balance



micro pipette



ecouvillon



Boite de petrie



autoclave



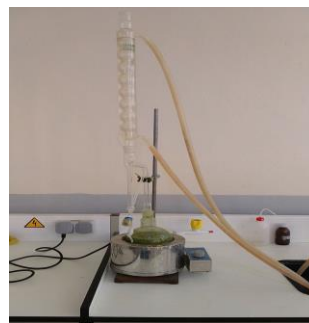
broyeur



Bicher



Ballon



hydrodistillateur



Disques



Agitateur



anse de platine et bec bunsen

Figure 14: matériels de laboratoire (Achouak et Chahinez, 2024).

Annexe 2: Milieux de culture

1. Préparation de milieu gélose nutritive:

- ✓ La gélose Nutritif est le milieu le plus utilisé pour l'isolement (repiquage) et la conservation des bactéries. C'est un milieu qui convient aux souches bactériennes
- ✓ Peser 14 g de poudre de GN dans 490 d'eau distillée.
- ✓ Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- ✓ Stériliser par l'autoclave à une pression de 121°C pendant 15 min.

2. Préparation de milieu MacConkey Agar :

- ✓ Le MacConkey Agar (MAC) est un milieu sélectif et différentiel conçu pour isoler les *E.coli*.
- ✓ Peser 25 g de poudre de GN dans 490 d'eau distillée.
- ✓ Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- ✓ Stériliser par l'autoclave à une pression de 121°C pendant 15 min

3. Préparation de milieu Sabouraud CAF Agar :

- ✓ Sabouraud pour optimiser la croissance de levure.
- ✓ Peser 32.5 g de poudre de GN dans 490 d'eau distillée.
- ✓ Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- ✓ Stériliser par l'autoclave à une pression de 121 pendant 15 min



Figure 15: Préparation des milieux du cultures (Achouak et Chahinez, 2024).



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ CHADLI BENDJEDID EL-TARF
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
1^{ER} SÉMINAIRE NATIONAL DE BIODIVERSITÉ, RISQUES ENVIRONNEMENTAUX
ET SANTÉ PUBLIQUE (SNBRESP 24)



ATTESTATION DE PARTICIPATION

Mme/Mlle/Mr. BELDI Moncef

A présenté une Communication Affichée intitulée : L'INFLUENCE D'APPLICATION, IN-VITRO, DU L'EXTRAIT DE *Juniperus phoenicea* SUR QUELQUES MICRO-ORGANISMES CLINIQUES COMME BIOCIDES.

Co-auteurs : REKIOUA Naouel, BOUKHEBZA Chahinez, GHANES Achouak, AMAMRA Sabrina, FELLAH Imene & DJABALI Nacira.

Lors du 1^{er} Séminaire National De Biodiversité, Risques Environnementaux Et Santé Publique (SNBRESP 24), Qui S'est tenu les 23 Et 24 Avril 2024, À L'Université Chadli Bendjedid El-Tarf.

Université Chadli Bendjedid el Tarf
Faculté Des Sciences De la Nature et De la Vie
Présidente Dr GHEID SAMIRA
1^{er} Séminaire National de Biodiversité
Risques Environnementaux et santé
publique

