

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun, Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.
Filière : Sciences Biologiques.
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire.

Présentée par :

AIMENE Zohra
CHEHBEL AINE Fatiha
MADHOUI Boutheyna

Evaluation de l'activité antimicrobienne du génévrier *Juniperus oxycedrus*

Soutenu publiquement le 04/07/2018 à 11h00.

Devant les membres de jury :

Président	Dr. MANSOURI D.	MCB
Examinateur	Dr. MEDJEBER N.	MCB
Encadreur	Dr. BOUSSAID M.	MCA
Co-encadreur	Dr. AIT ABDERRAHIM L.	MCB

Année universitaire 2017-2018

Remerciements

Au début, on remercie Dieu le tout puissant pour nous avoir donné la volonté, le courage et l'amour du savoir.

Nos profonds remerciements sont adressés :

- Au président du jury Dr. MANSOURI D. Maître de conférences à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, d'avoir accepté de présider ce jury.*
- Dr. MEDJEBER N. Maître de conférences à l'Université Ibn Khaldoune de Tiaret, d'avoir accepté d'examiner le présent travail.*
- Dr. BOUSSAID M. Maître de conférences & Dr. AIT ABDERRAHIM. L Maître de conférences, nous vous remercions de nous avoir guidé dans la bonne voie, celle du travail, de la patience, et d'avoir consacré votre temps précieux pour encadrer ce mémoire.*

Dédicace

En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :

A mes très chers parents, pour les encouragements, tendresse, amour et soutien durant mes études ; vous trouvez ici le fruit de vos sacrifices et je souhaite que j'ai réalisé l'un de vos rêves par ce modeste travail. Puisse Dieu vous accorder longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mon frère Mohamed, et sa femme Nawal,

A ma sœur Nawal, et la stigmatisation de la famille Malek,

A toute la famille Chehbel aine, Bachir bey

A tous mes chers amis : Soraya, Hamida, Om elkheir, Nacira, Aicha, Cherifa, Alia, Malika, Ahlem, Bochera, Amina Et Ossama, Radhouan, Mohamed.

A mes collaboratrices de travail : Zohra et Boutheyna.

Pour tous ceux qui m'ont appris, de l'école élémentaire au niveau universitaire ils ont tous les remerciements et le respect.

Fatima

Dédicace

*Au nom du Dieu, qui nous a éclairé les chemins du savoir et de la sagesse, je
dédie ce mémoire :*

*A mes très chers parents pour lesquels je dois mon existence et ma réussite
grâce à leurs aides et leurs soutiens, en leur souhaitant une longue et
heureuse vie.*

A mes chers frères.

A mes chères sœurs.

A mon mari.

A toutes mes amies.

A mes collaboratrices de travail

Tous les professeurs qui m'ont éclairés la voie du savoir.

Zohra

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes parents

*Ma mère **MADOUI Aicha**, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père **MADHOUI GHALEM**, qui peut être fier et trouve ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venus de toi.*

*A mes frères **Abderrahim** et **Abd alKarim**, paix à leur âmes*

*Mon frère **Oussama**, et Mes sœurs **Zahia**, **Houda** et **Chaima** ; ses fils **Amine**, **Younes**. Je remercie très spécialement mon mari **Moussa** qui a toujours été là pour moi. Qui m'a soutenu et encouragé durant mes recherches. Sans oublier sa mère **Fatima** et son père **Ben Salem**.*

*A toute la famille **MADHOUI**, **MADOUI**.*

*A mes collaboratrices de travail : **Zohra** Et **Fatiha**.*

*A mes chères copines ; **Nacira**, **Sarah**, **Salima**, **Nawel**, **Fatima zohra**, **Dounia**, **Asma***

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon Affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Boutheyna

الملخص

J. oxycedrus هي نوع من النباتات العطرية و الطبية المعروفة باسم طاق، التي تنتمي لعائلة السرويات المعروفة بفعاليتها كمضاد للبكتيريا و مضاد للفطريات. استهدفت دراستنا إجراء تجارب للمستخلصات الميثانولية الخلل لأجزاء العلوية (الثمار، السيقان، الأوراق) لهذه النبتة. فمردود المستخلصات كان أعلى في الثمار مقارنة بالأوراق و السيقان. بينت دراسة القدرة المضادة للميكروبات أن هذه المستخلصات الميثانولية نشيطة فقط على السلالات البكتيرية موجبة الغرام: المكورات العنقودية الذهبية، سيريوس العنقوية، عصية حساسة. بينما ليست فعالة ضد السلالات البكتيرية سالبة الغرام: الإشريكية القولونية، الزانفة الزنجارية و السلالات الفطرية: المبيضات البيضاء، أسبرجيليس النيجر. عملنا هذا يستهدف البحث عن يدائل للا دوية والمضادات الحيوية التي تكون في متناول الجميع.

الكلمات المفتاحية :

الطاق، المستخلصات الميثانولية، النشاط المضاد للميكروبات.

Résumé

Juniperus oxycedrus L. est une plante aromatique et médicinale, connue par le nom Taga, appartenant à la famille des Cupressaceas et poussant à l'état spontané.

Ce travail est consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques du *J. oxycedrus* sur des espèces microbiennes fréquentes dans les infections communes.

En outre, le rendement le plus élevé en extrait méthanolique a été obtenu avec les glabules en comparaison avec les feuilles et les rameaux.

Par ailleurs, l'étude du pouvoir antimicrobien de ces extraits méthanoliques a montré qu'ils se sont avérés actifs uniquement sur les souches bactériennes à Gram positif testées (*B. cereus*, *B. subtilis* et *S. aureus*). Par contre, ils ne présentent aucune activité sur les souches bactériennes à Gram négatif testées (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et les souches fongiques testées (*C. albicans* et *A. niger*).

Ce travail pourrait servir d'appui pour trouver des alternatives aux médicaments et antibiotiques conventionnels utilisés en thérapeutique.

Les mots clés :

Juniperus oxycedrus L., extrait méthanolique, activité antimicrobienne.

Abstract

Juniperus oxycedrus L. is an aromatic and medicinal plant, known by the name Taga, belonging to the family Cupressaceas and growing spontaneously.

This work aims to study the antimicrobial activity of methanolic extracts of *J. oxycedrus* on microbial species frequent in common infections.

In comparison with leaves and twigsms, the highest yield of methanolic extract hqs been obtained with glabules Thus, the study of the antimicrobial potency of these methanolic extracts showed that they were active only on the gram-positive bacterial strains tested (*B. cereus*, *B. subtilis* and *S. aureus*). On the other hand, they haven t shown any activity on the gram negative bacterial strains tested (*E. coli* and *P. aeruginosa*) and the fungal strains tested (*C. albicans* and *A. niger*).

Thus, this study could serve as support for finding alternatives to conventional drugs and antibiotics used in therapy.

Keywords :

Juniperus oxycedrus L., methanolic extract, antimicrobial activity.

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Synthèse bibliographique		
Figure 1	Parties aériennes du <i>J. oxycedrus</i> a : feuilles, b: glabules, c: rameaux.	03
Figure 2	Aire de répartition des genévriers en région méditerranéenne.	05
Figure 3	Schéma d'un appareil de Soxhlet.	07
Figure 4	Système de distillation à l'entraînement de la vapeur d'eau.	08
Figure 5	Illustration d'une distillation assistée par Micro-ondes.	09
Figure 6	Principe de la technique d'hydrodistillation	09
Partie expérimental		
Figure 7	Parties aériennes du <i>J. oxycedrus</i> (a: feuilles, b: rameaux, c: glabules).	11
Figure 8	Protocole expérimentale.	14
Figure 9	Technique de diffusion à partir des puits pour la détermination de l'activité antimicrobienne des différents extraits.	16
Résultats		
Figure 10	Observation microscopique des souches après coloration simple (e) et de Gram.	17
Figure 11	Extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du <i>J. oxycedrus</i>	18
Figure 12	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 10 % sur les souches microbiennes testées.	19
Figure 13	Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du <i>J. oxycedrus</i> à 10 % sur les souches testées.	19
Figure 14	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 20 % sur les souches microbiennes testées.	20
Figure 15	Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du <i>J. oxycedrus</i> à 20 % sur les souches testées.	20
Figure 16	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 40 % sur les souches microbiennes testées.	21
Figure 17	Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du <i>J. oxycedrus</i> à 40 % sur les souches testées.	21
Figure 18	Zones d'inhibition produites par les antibiotiques testés sur les différentes souches bactériennes et fongiques étudiées.	24

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau 1	Rendements en extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du Genévrier.	17
Tableau 2	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits relatifs aux différentes souches bactériennes et fongiques testées.	22
Tableau 3	Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques aux différentes souches microorganismes testés.	23

Table des matières

المخلص

Résumé	
Abstract	
Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Introduction générale	1

Synthèse bibliographique

I. <i>Juniperus oxycedrus</i>	3
I.1. Généralités	3
I.2. Systématique	4
I.3. Description botanique	4
I.4. Répartition géographique	4
I.4.1. Dans le monde	4
I.4.2. En Algérie	5
I.5. Utilisation	5
I.5.1. Usage thérapeutique local	5
I.6. Substances actives de la plante	6
II. Les différents procédés d'extraction des principes actifs des plantes	6
II.1. Intérêt de l'extraction	7
II.2. Types d'extractions	7
a. Distillation	7
b. L'extraction par solvants chimiques	7
c. Extraction par entraînement à la vapeur	8
d. Extraction par macération	8
e. Extraction par micro-ondes	8
f. Extraction par hydrodistillation	9
g. Extraction à froid	10
III. Activité antimicrobienne	10

Partie expérimentale

1. Objectif	11
2. Matériel et méthodes	11

2.1. Matériel biologique	11
2.1.1. Matériel végétale	11
2.1.2. Microorganismes testés	11
2.1.2.1. Souches testées	11
a. Bactéries à Gram positive	11
b. Bactéries à Gram négative	12
c. Champignons	13
• Les levures	13
• Les moisissures	13
3. Méthodologie	14
3.1. Protocole expérimental	14
3.2. Préparation de l'extrait méthanolique	14
3.2.1. Détermination du rendement en extraits méthanoliques	15
3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne du genévrier	15
3.3.1. Détermination de la sensibilité des microorganismes testés en fonction de la zoned'inhibition	16
Résultats	
4. Résultats	17
4.1. Observation microscopique des souches testées	17
4.2. Rendement en extraits méthanoliques	17
4.3. Activité antimicrobienne des extraits	18
4.4. Test de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques conventionnels	23
Discussion	24
Conclusion et perspectives	28

Introduction

Introduction

Depuis la nuit des temps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes. A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. Aujourd'hui encore, les deux tiers de la pharmacopée ont recours à leurs propriétés curatives (Larousse, 2001). De plus, la recherche médicale atteste de l'efficacité et de l'innocuité de nombreux médicaments phytothérapeutiques (Willker, 2009).

Toutefois, avec le développement de l'industrie chimique et pharmaceutique, les produits de synthèse ont pris le dessus et les produits naturels ont peu à peu été délaissés notamment dans les pays développés. Cependant, avec le temps les médicaments de synthèse ont commencé à exhiber des effets secondaires ce qui a conduit le retour aux produits naturels (Kasilo et Trapsida, 2010). En effet, l'automédication et l'utilisation anarchique des médicaments synthétiques et des antibiotiques a engendré des problèmes de santé inquiétant dont les allergies, la toxicité et la résistance microbienne (Zhang et al. 2015).

Les plantes médicinales constituent une composante fondamentale pour l'avenir du système de santé dans le monde; elles demeurent une source inépuisable de substances actives. Parmi ces molécules, on retrouve les alcaloïdes, acides phénoliques, tannins, saponines, terpènes et flavonoïdes possédant diverses activités biologiques (Aduane, 2016).

La phytothérapie est une discipline qui tend toujours à se renouveler, car la recherche des nouveaux médicaments est continuelle. Les limites de l'antibiothérapie, vis-à-vis des champignons et des bactéries multi-résistantes ont incité à chercher de nouvelles possibilités, pour lutter contre celles-ci. L'essor actuel de la thérapie par des substances d'origine végétale telles que les extraits offre de nouvelles perspectives thérapeutiques. En effet, depuis quelques années, un intérêt accru est porté sur les extraits végétaux ayant montré des propriétés antibactériennes et antifongiques (Sadou et al. 2015).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à une plante spontanée commune en Algérie; *Juniperus oxycedrus*.

Le Genévrier *Juniperus oxycedrus* L. appelé communément Cade en français ou «*Taga* » en arabe dialectal; est une plante de la famille des Cupressaceae. C'est une espèce très commune dans le sous-bois et les zones dégradées des régions semi-arides en Algérie.

Ce taxon a un rôle écologique considérable du fait qu'il résiste à la sécheresse, surtout dans les régions les plus arides (Hafsi et al. 2017). De plus, cette plante est utilisée en médecine traditionnelles dans le traitement de diverses maladies telles que l'hyperglycémie, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie, l'eczéma, les rhumatismes et la gale (Bensegueni-Tounsi, 2001; Larousse, 2001; Miara et al. 2013).

L'absence ou manque de travaux de recherches antérieurs en Algérie sur les activités biologiques des extraits de cette plante nous ont motivés à la sélectionner afin d'en déterminer l'activité antimicrobienne.

Ce travail a donc pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique des extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du *J. oxycedrus* à savoir ; les feuilles, rameaux et glabules sur quelques souches microbiennes fréquemment rencontrées dans les infections communes.

Synthèse
bibliographique

Synthèse bibliographique

I. *Juniperus oxycedrus*

I.1. Généralités

Le Genévrier *J. oxycedrus* (Fig. 1) est une plante de la famille des Cupressaceae. Le genre *Juniperus* L. est le plus diversifié de cette famille. Il a la répartition la plus large par rapport aux autres genres de conifères. Il comprend environ 75 espèces (Adams et al, 2013), la plupart de leur croissance est dans l'hémisphère nord. L'*oxycèdre* est fréquent en région côtière méditerranéenne (du Maroc à l'Iran), Où il est l'une des plantes caractéristiques des garrigues et des maquis, on le rencontre dans l'ensemble du bassin méditerranéen. Il vit dans les régions du sud de l'Europe (Espagne, France) et il croit jusqu'aux les pays du Moyen-Orient.

En Algérie, Maire (1952) et Quezel et Santa. (1962) ont mentionné que le *Juniperus oxycedrus* est commun dans le secteur des hauts-plateaux (Oranais, Algerois et Constantinois) et aussi dans le secteur de l'Atlas Saharien. Deux sous-espèces ont été décrites sur des bases morphologiques: la *subsp. macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball et la *subsp rufescens* (Link) Asch. & Graebn. Selon Quezel et Santa. (1962), le *Juniperus oxycedrus* subsp *macrocarpa* est commun sur tout le littoral, tandis que le *Juniperus oxycedrus* subsp *rufescens* est très commun dans toute l'Algérie. Il se distingue facilement par ses fruits brun rougeâtres et non bleuâtres et feuilles aiguës (Quezel et Gast, 2017).

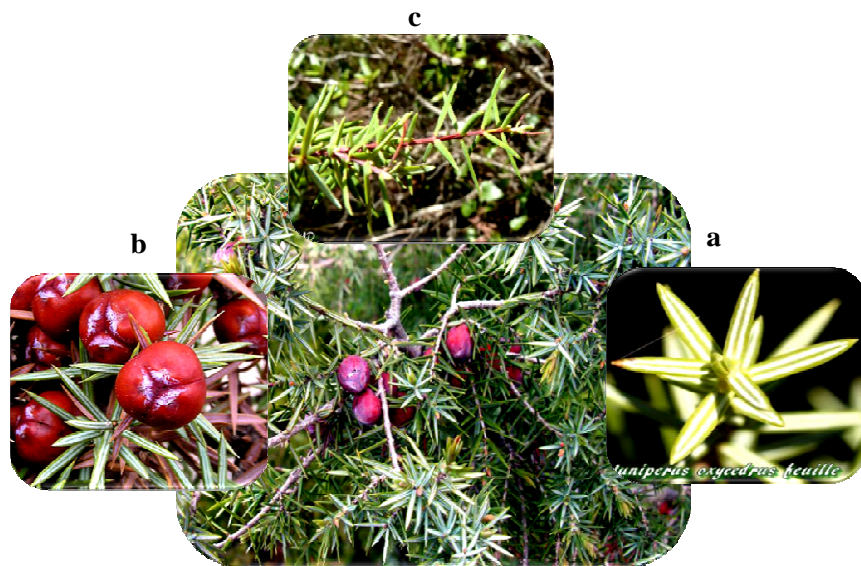


Figure 1. Parties aériennes du *J. oxycedrus*

a : feuilles, b: glabules, c: rameaux.

I.2. Systématique

Embranchement :	Spermaphytes
S. Embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Pinophytes
Ordre :	Pinales
Famille :	Cupressacées
Genre :	<i>Juniperus</i>
Espèce :	<i>Juniperus oxycedrus</i> L. (Tela-botanica, 2017).

Nom français : oxycèdre, Genévrier oxycèdre, cade, cadier, petit cèdre, petit cèdre d'Espagne

Nom arabe: Arar

Nom berbère : Taga ou Tagga (Damerdji et Meniri, 2014).

I.3. Description botanique

C'est un arbuste qui peut atteindre 8 m (mais plus souvent un arbrisseau), à feuillage persistant. Les feuilles, toutes en aiguilles piquantes, sont verticillées par 3 et disposées en 6 rangs le long de la tige. Elles sont un peu glauques et donnent à l'arbuste une teinte grisâtre. Elles présentent 2 raies blanches sur la face supérieure (une seule raie chez *Juniperus communis*) de part et d'autre de la nervure principale. C'est un arbuste dioïque dont la floraison intervient en Avril-Mai. Les fruits sont brun-rouge et luisants à la maturité (au bout de 2 ans), subglobuleux, assez gros (8-10 mm), dépassés ou égalés par les feuilles (Becker et al. 1982; Tela-botanica, 2011; Miara et al. 2013).

I.4. Répartition géographique

I.4.1. Dans le monde

Le genévrier *oxycèdre* est une espèce originaire de la région méditerranéenne (Marongiu et al. 2003). Il atteint dans les montagnes méridionales l'altitude de 1000 mètres.

L'*oxycèdre* est fréquent en région côtière méditerranéenne (du Maroc à l'Iran) (Fig. 2) où il est l'une des plantes caractéristiques des garrigues et des maquis. Il est le plus courant des genévriers méditerranéens, on le rencontre dans l'ensemble du bassin méditerranéen. En Afrique du Nord il couvre 450.000 hectares (Quezel et Medail, 2003).

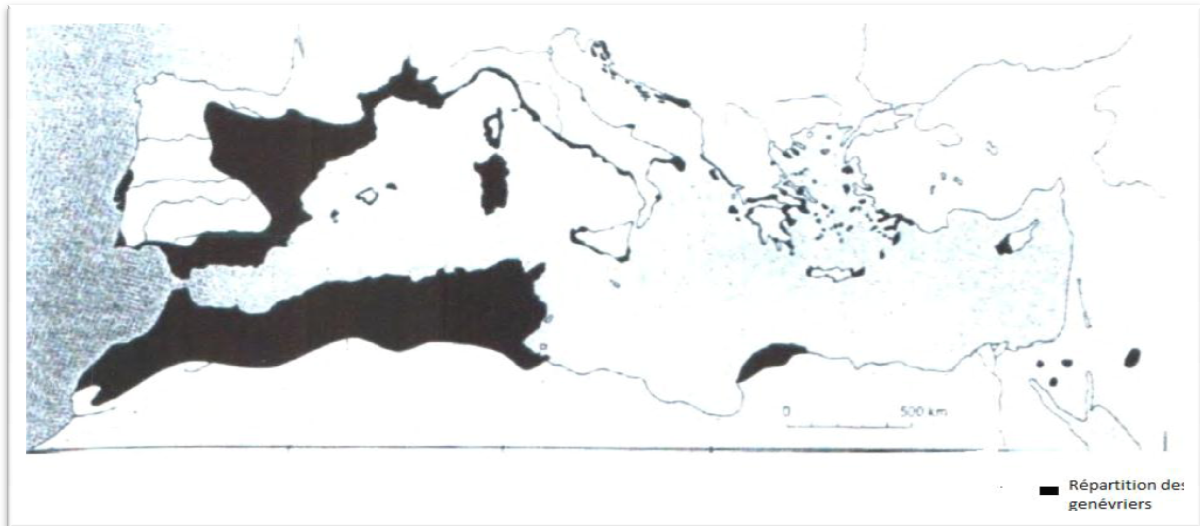


Figure 2. Aire de répartition des genévriers en région méditerranéenne. Source : (Quezel et Medail, 2003).

I.4.2. En Algérie

Le genévrier couvre environ 290.000 hectares en Algérie. Il recule de plus en plus dans l'Atlas Saharien et sur le versant du sud du Grand-Atlas sous l'action du climat désertique ; mais surtout sous celle de l'homme et des troupeaux (Kerbouche, 2010). Avec l'altitude de 0 à 1000 mètres (Franck, 2018), c'est une espèce typique de la région méditerranéenne en bioclimat semi-aride (Quezel et Gast, 2017).

I.5. Utilisation

I.5.1. Usage thérapeutique local

Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle. L'extrait du bois de *J. oxycedrus*, huile de cade, est connu dans tout le Maghreb pour son utilisation ancestrale dans la conservation de l'eau dans les "Outres", une sorte de tannage sur la peau des caprins maintient l'eau de l'outre saine et propre.

L'huile de cade est utilisée par les anciens sous le nom de Cedria contre l'eczéma, l'acné, le psoriasis, l'impétigo, la teigne et la gale.

Utilisée en dermatologie vétérinaire contre l'herpès et les plaies suppurées en association avec des substances synergiques et capables d'atténuer ses effets irritants (Bensegueni-Tounsi, 2001), elle est aussi utilisée contre les diverses affections cutanées (El Hamrouni, 2001).

Remède efficace contre les cystites, il facilite le drainage, mais ne doit pas être employé en cas d'insuffisance rénale.

Le genévrier fortifie le système digestif. Par voie interne ou externe, il se révèle efficace dans le traitement des arthrites chroniques, de la goutte et des rhumatismes.

En application, l'huile essentielle diluée calme les inflammations ; elle est censée favoriser le drainage des tissus sous-cutanés. Il stimule le flux menstruel (Larousse, 2001).

C'est une plante Stimulante, diurétique, tonique de l'estomac antiseptique pulmonaire et dépurative (Miara et al. 2013).

Attention : A éviter en cours de grossesse ou en cas de règles abondantes. Ne pas utiliser en cas d'infection ou d'insuffisance rénale. L'absorption de l'huile essentielle par voie interne est à proscrire hors contrôle médical (Larousse, 2001).

I.6. Substances actives de la plante

Le fractionnement de l'extrait méthanolique du *J. oxycedrus* indique une teneur de la fraction AcOEt (2,66 %), et un rendement de la fraction n-buOH de (14 %).

L'huile essentielle de *J. oxycedrus* est caractérisée par une prédominance en α -pinène (39,32 %) suivi du dgermacrène (8,88 %) (Mazari, 2009).

Salido et al. (2002) (in Mazari, 2009), rapportent que l'huile essentielle des feuilles de *J. oxycedrus* ssp. *badia* récolté en Espagne contient une forte teneur en α -pinène (40-57 %) suivi de l'oxyde de manoylé (5-10 %). D'autres composés chimiques sont présents en quantités modérées tels que les phellandène, p-cymène, myrcène, terpineol et (E)-nerolidol. Par contre, *J. oxycedrus* ssp. *macrocarpa* contient beaucoup de sabinène (26,5 %) et de l' α pinène (22,6 %). Par ailleurs, la composition des huiles essentielles des feuilles de la section *Juniperus* est généralement beaucoup plus simple et dominée par les monoterpènes simples (Bouyahyaoui, 2017).

II. Les différents procédés d'extraction des principes actifs des plantes

À l'intérieur de leurs cellules, les végétaux renferment des essences, c'est -à- dire des sécrétions naturelles que l'on utilise pour obtenir les extraits. Il existe plusieurs méthodes d'extractions, qui se pratiquent en fonction de la partie du végétal choisie. Plusieurs techniques d'extraction peuvent être mises en œuvre pour extraire les principes actifs des plantes, toujours très recherchés pour toutes sortes d'application en alimentaire, nutraceutique, cosmétique et pharmacie, ...

Tout procédé d'extraction est basé sur la différence de solubilité des substances d'un mélange dans un solvant. Le mélange à extraire peut être solide ou liquide et le solvant liquide ou fluide supercritique (Penchev, 2010).

II.1. Intérêt de l'extraction

Le but de l'extraction est d'isoler une ou plusieurs molécules à partir d'un organisme. Ainsi, la découverte de nouveaux médicaments peut passer par l'étude de ces substances naturelles et si une molécule se trouve être performante dans un domaine précis, elle pourra faire l'objet d'une commercialisation sous forme de médicament (Benabdallah, 2016).

II.2. Types d'extractions

Parmi les techniques conventionnelles, on trouve :

a. Distillation

Ce processus nécessite l'emploi de trois cuves reliées par des tubes. Les extraits peuvent alors être séparés de l'eau car, comme elle est plus légère que celle-ci, elle reste en surface. Grâce à cette technique d'extraction, l'extrait garde ses propriétés, et l'eau qui reste après la séparation peut servir à la fabrication des hydrolats (Moro Buronzo, 2009).

b. L'extraction par solvants chimiques

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel et utilise des produits chimiques comme le benzène, un solvant volatil. L'extrait ainsi obtenue peut garder des traces du solvant utilisé dans l'opération (Moro Buronzo, 2009).

L'appareil de Soxhlet (Fig. 3) a été utilisé pour la préparation des extraits méthanoliques car le screening phytochimique a démontré qu'il permettait l'extraction d'un plus grand nombre de molécules. Par contre, pour les extraits éthanoliques la macération est préférable car elle donne les mêmes résultats que l'appareil de Soxhlet tout en étant beaucoup plus facile à réaliser (Akroum, 2011).

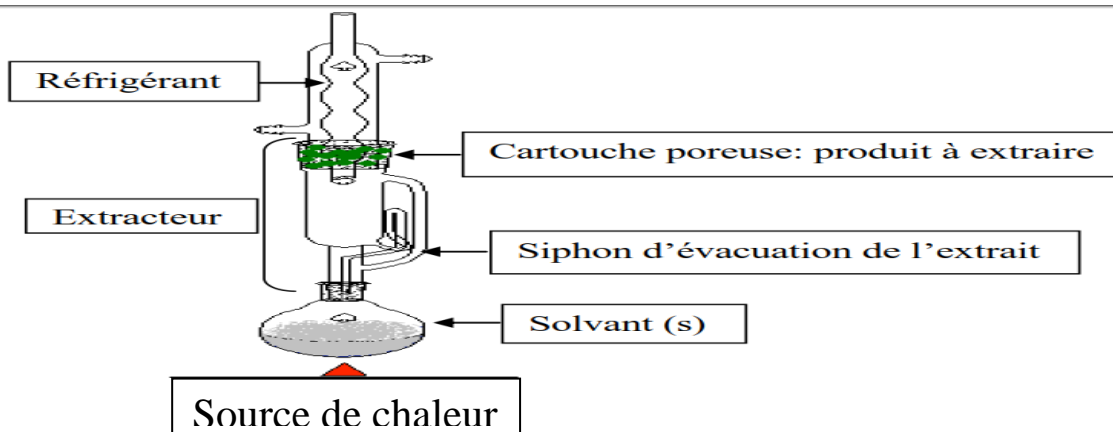


Figure 3. Schéma d'un appareil de Soxhlet (Benabdallah, 2016).

c. Extraction par entraînement à la vapeur

Ce mode a été considéré comme l'un des cas particuliers de la distillation des mélanges liquides dont les constituants sont, soit complètement insolubles ou complètement solubles dans l'eau, soit spécialement solubles (eau contenant des traces d'huile ou huile contenant des traces d'eau). L'entraînement de l'huile essentielle à la vapeur d'eau est un mouvement de transfert des matières beaucoup plus complexes, cette complexité revient au fait que les dépôts des huiles essentielles des plantes sont différents de leur nature et de leur positionnement lorsque le contact entre la vapeur et l'huile est empêché montre un système de distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Fig. 4) (Beddiar, 2016).

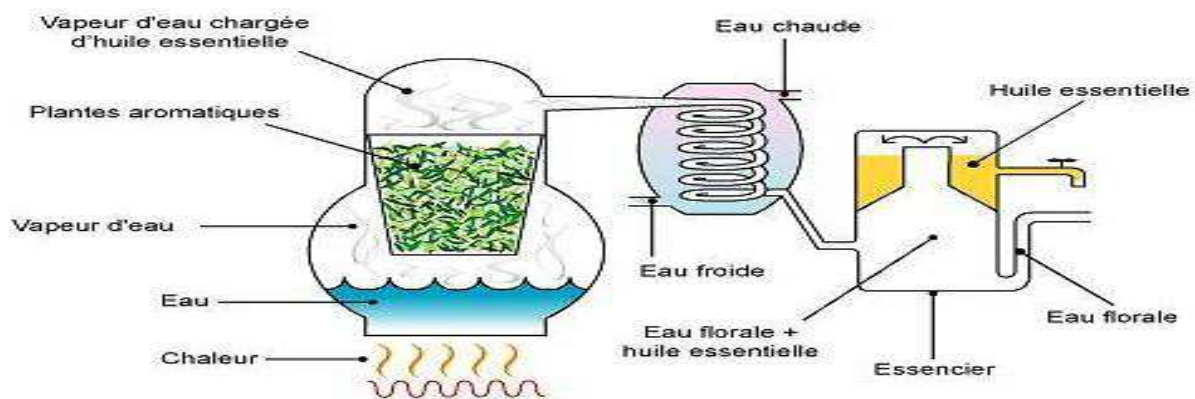


Figure 4. Système de distillation à l'entraînement de la vapeur d'eau (Beddiar, 2016).

d. Extraction par macération

C'est une méthode traditionnelle couramment employée. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction...etc (Khenfer et Medjouel, 2016).

e. Extraction par micro-ondes

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (Fig. 5) (Michel, 2011).

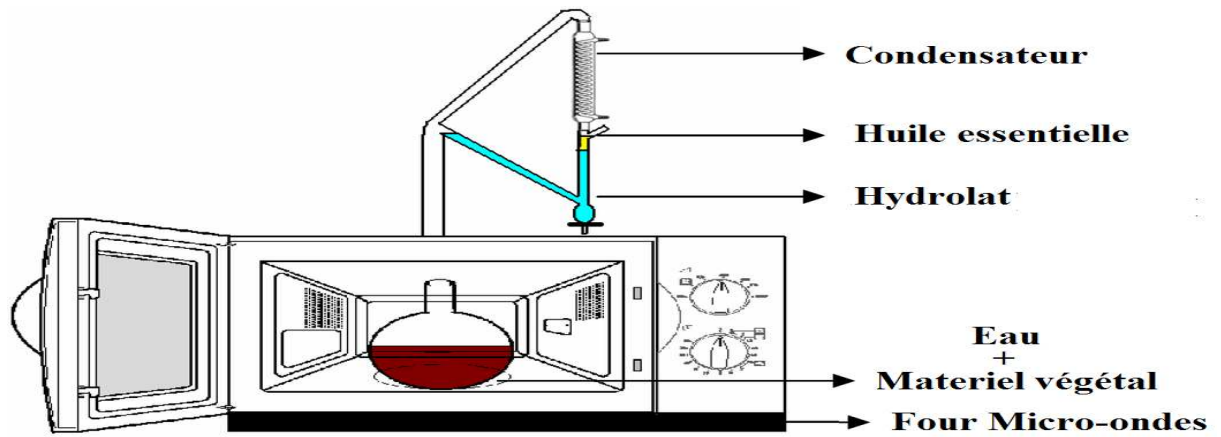


Figure 5. Illustration d'une distillation assistée par Micro-ondes (Beddiar, 2016).

f. Extraction par hydrodistillation

Extraction par hydrodistillation en utilisant un appareil (Fig. 6) de type Clevenger: l'extraction de feuilles sèches dans un ballon avec de l'eau distillée, puis chauffer, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles se séparent de l'eau par différence de densité. L'huile essentielle obtenue est mise dans un flacon à l'abri de la lumière et stockée à 4C° (Djenadi et Farhi, 2011).

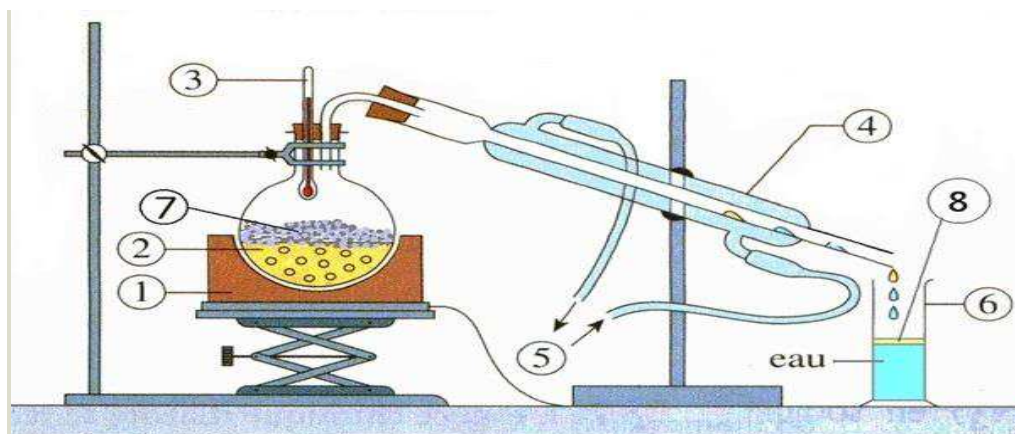


Figure 6. Principe de la technique d'hydrodistillation (Abdelli, 2018).

1. Chauffe ballon; 2. Ballon; 3. Thermomètre; 4. Réfrigérant; 5. Entrée et sortie d'eau; 6. Erlenmeyer ; 7. Matière à extraire l'essence ; 8. Couche d'huile essentielle.

g. Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes. Le principe de ce traitement mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices en essences. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau puis est isolée par décantation (Abdelli, 2018).

III. Activité antimicrobienne

Les extraits possèdent des propriétés antimicrobiennes plus ou moins prononcées. En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et freinent ainsi le métabolisme énergétique. De fortes concentrations en extraits conduisent également à la lyse membranaire et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (Teuscher et al. 2005).

Plusieurs études ont montré que les extraits sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde) (Moro Buronzo, 2009).

Les extraits ont une double- action contre les microbes : Ils peuvent les tuer (effet bactéricide) et ils en arrêtent la prolifération (effet bactériostatiques). Les plus puissants pour cela sont ceux qui contiennent des phénols (Khater, 2011), flavonoïdes (Judd et al. 2002), tannins, Saponines (Manase, 2014) et alcaloïdes (Cecon, 2015); lesquels sont utiles pour lutter contre les infections bactériennes (Moro Buronzo, 2009).

Partie

expérimentale

*Matériels et
méthodes*

1. Objectif

Ce travail a eu pour but l'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du *Juniperus oxycedrus*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Matériel végétale

Le *J. oxycedrus* a été récolté dans la région de Tiaret en Février 2018. Les différentes parties aériennes (feuilles, rameaux et glabules) (Fig.7) ont été utilisées lors de cette étude.



Figure 7. Parties aériennes du *J. oxycedrus* (a: feuilles, b: rameaux, c: glabules).

2.1.2. Microorganismes testés

Sept souches microbiennes fréquemment rencontrées dans les infections communes ont été utilisées lors de cette étude (tableau 1). Il s'agit de souches de collection internationale ATCC (American Type Culture Collection) fournies gracieusement par les laboratoires du CHU Mostapha Pacha d'Alger excepté *Candida albicans* qui est un isolat clinique. Une observation au microscope, après coloration simple pour les champignons et de Gram pour les bactéries ont été effectuées afin de vérifier la pureté des souches.

2.1.2.1. Souches testées

a. Bactéries à Gram positif

- *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est une bactérie Gram positive, aéro-anaérobie facultatif et capable de produire des spores dans des conditions défavorables de croissance. C'est un micro-organisme

mobile, en forme de bacille de grande taille ($> 1.0 \mu\text{m}$), parfois en chaînette et aux colonies à l'aspect cireux et opaque sur milieux gélosés (Le Lay, 2014).

Il est responsable de toxi-infection alimentaire (riz, les légumes, les pommes de terre et les épices) avec soit syndrome diarrhéique soit syndrome émétique après l'ingestion.

Il cause aussi des infections de plaie traumatique souillée par de la terre, infection osseuse, infection sur brûlure et infection oculaire (Clave, 2014).

- *Bacillus subtilis*

Connu aussi comme le bacille du foin ou le bacille de l'herbe, est une bactérie Gram-positif, catalase-positif, c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4 μm et sa largeur de 0,5 à 2 μm . Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40 °C. Peut former une endospore dure protectrice. Cette bactérie peut être responsable de l'intoxication alimentaire (Bouzerouata, 2017).

- *Staphylococcus aureus*

C'est une bactérie Gram-positif, opportuniste, commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et de nombreuses espèces animales. Dans une moindre mesure, elle peut coloniser également le périnée et les muqueuses vaginales et les aisselles (Lays, 2012).

Les staphylocoques sont disposés de fa manière de grappes de raisin. Sur gélose, ils forment des colonies plus grosses que les streptocoques et poussent en aérobiose (Bourhy et al. 1999).

Elle est responsable d'infections cutané-muqueuses, infections ostéo-articulaires, pleuro-pneumonies, sépticémies, toxi-infections alimentaire, choc toxinique et infections sur corps étrangers (Barbier, 2008).

b. Bactéries à Gram négatif

- *Pseudomonas aeruginosa*

Appelé aussi bacille pyocyanique, est une bactérie Gram négatif, très répandu dans l'environnement, pathogène opportuniste, parfois commensal de sujets sains, fréquemment résistant aux biocides et aux antibiotiques (Leclerc, 2002).

Il est responsable d'infection pulmonaire (Elmeskini, 1978). C'est un pathogène opportuniste responsable de nombreuses infections chez les patients immunodéprimés comme

les brûlés, et les cancéreux. Il peut causer des infections urinaires et les infections nosocomiales (Bourhy et al. 1999).

- *Escherichia coli*

C'est un bacille à coloration de Gram négatif, aérobie-anaérobie facultatif. C'est une bactérie immobile ou mobile et non-sporulée (Baliere, 2016).

Elle est responsable de gastro-entérites, infections urinaires et de méningites chez le nouveau né (Moualkia et Ansar, 2014).

c. Champignons

- Les levures

- *Candida albicans*

C'est une levure non capsulée, non pigmentée et aérobie. Cette levure diploïde forme des colonies blanches crémeuses, elle peut mesurer de 3 à 15 µm. *C. albicans* peut aussi former des chlamydospores, qui sont des structures terminales (Lagane, 2007). Elle est responsable de tropisme particulier pour les reins et l'œil (El Jouhari, 2008). Elle est aussi l'agent d'une mycose de la peau ou des muqueuses (muguet buccal, vulvovaginite...) et d'autres affections (Delarras, 2007).

- Les moisissures

- *Aspergillus niger*

C'est l'une des espèces les plus communes dans l'environnement et représente 5 % des isolats aspergillaires en laboratoire (Metahni, 2012). L'aspergille noire, est un champignon filamenteux ascomycète de l'ordre des eurotiales. C'est une des espèces les plus communes du genre aspergillus qui apparaît sous forme d'une moisissure de couleur noire sur les fruits et légumes. La température de développement est de 25°C et peut être inhibé à 37°C (Guillaume, 2006).

Le premier cas répertorié d'infection fongique humaine est attribué à Bennett (1842). L'auteur décrit la présence de champignons dans les crachats, les cavernes et les masses tuberculeuses pulmonaires d'un patient (Thierry, 2011).

Il s'agit du principal agent des otomycoses (affections de l'oreille dues à un champignon). Il est également responsable d'aspergilloses et est la troisième espèce retrouvée dans l'aspergillose invasive. Il est responsable de la dégradation de certains fruits et légumes (Metahni, 2012).

3. Méthodologie

3.1. Protocole expérimentale

Les étapes suivies dans la présente étude sont décrites dans la figure :

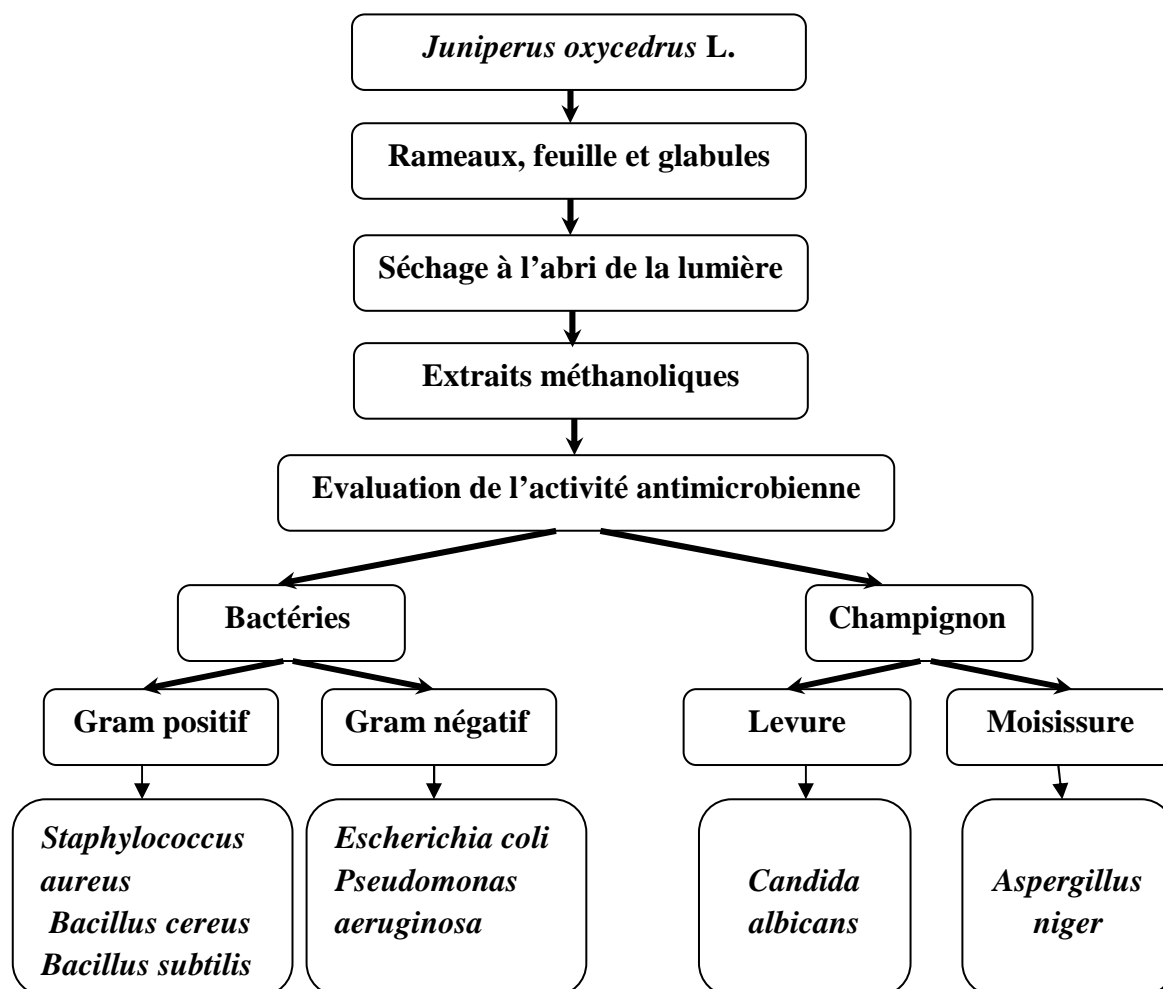


Figure 8. Protocole expérimental.

3.2. Préparation de l'extrait méthanolique

Après la récolte de la plante, les parties aériennes (feuilles, rameaux et glabules) sont isolées et séchées à l'ombre dans une étuve à une température de 40°C. Ensuite, elles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique en poudre fine. La méthode d'extraction utilisée est celle décrite par Satirathkul et Leela (2011) avec quelques modifications. Brièvement, 50 g de matériel végétal broyé est macéré dans 500 ml de méthanol aqueux (70 %) puis soumis à une agitation continue durant 24 heures. La solution obtenue est filtrée et le filtrat récupéré est mis à l'étuve à 40°C afin d'évaporer le méthanol. L'extrait sec ainsi obtenu est conservé à 4°C à l'abri de la lumière.

3.2.1. Détermination du rendement en extraits méthanoliques

Le rendement en extrait brut est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait brut sec et la masse du matériel végétal broyé à traiter. Il est calculé selon la formule suivante : $R = (M1/M2) \times 100$

R : Rendement en extrait brut sec exprimé en %.

M1 : Masse en grammes de l'extrait brut sec.

M2 : Masse en grammes du matériel végétal broyé à traiter.

3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne du genévrier

Afin d'évaluer l'action antimicrobienne des extraits des différentes parties du genévrier, différentes concentrations de chaque extraits ont été préparées dans du DMSO à 50 %. Des suspensions microbiennes sont préparées dans l'eau distillée stérile à partir de cultures jeunes de 24 h puis ajustées au standard de turbidité 0.5 MacFarland pour obtenir une concentration microbienne de 10^8 cellules/ml.

La technique de diffusion sur gélose à partir des puits a été utilisée (Balouiri et al. 2016). Brièvement, des boîtes de Pétri contenant de la gélose Mueller Hinton sont ensemencées par étalement à l'aide d'un écouvillon à partir de la suspension microbienne standardisée sur toute la surface de la gélose. Par la suite, la gélose est perforée à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur (6 mm de diamètre) formant des puits. Les cavités ainsi formées sont remplies de 20 μ L de l'une des concentrations des extraits à tester. Les boîtes sont mises à incuber dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et la levure *C. albicans* et à 25°C pendant une semaine pour la moisissure *A. niger*.

L'activité antimicrobienne est évaluée en mesurant, à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, le diamètre de la zone d'inhibition induite par les extraits ou les antibiotiques (Yala et al. 2016). Tous les essais sont répétés trois fois.

En parallèle, des antibiotiques de référence ont été testés sur les mêmes souches en étude afin de comparer les résultats, ceux-ci sont : la céphalotine 30 μ g (contre les bactéries à Gram positif et négatif) (Archambaud, 2009), la ceftazidime 30 μ g (contre les bactéries à Gram positif et négatif) (Ferry et Richard, 2013), l'acide uynalidixique 30 μ g (contre les bactéries à Gram négatif principalement les entérobactéries), (Muylaert et Maini, 2013), la novobiocine 30 μ g (antibiotique bactériostatique à spectre étroit, active principalement sur les bactéries à Gram positif, en particulier sur les staphylocoques et les streptocoques ainsi que sur certains cocci et bacilles à Gram négatif : *Proteus*, *Haemophilus* et *Pasteurella*), (Delarras,

2014), l'oxacilline 1 μg (contre les bactéries à Gram positif principalement les staphylocoques) (Wolffe et Timsit, 2001), la colistine 10 μg (contre les bactéries à Gram négatif) (Ferry et Richard, 2013).



Figure 9. Technique de diffusion à partir des puits pour la détermination de l'activité antimicrobienne des différents extraits.

3.3.1. Détermination de la sensibilité des microorganismes testés en fonction de la zone d'inhibition

La sensibilité des bactéries cibles envers les différents extraits est classée selon les diamètres des halos d'inhibition déterminés par (Alem et Arbaoui, 2017).

0 à 8 mm : bactérie non sensible ou résistante ;

- 9 à 14 mm : bactérie sensible ou intermédiaire ;
- 15 à 19 mm : bactérie très sensible ;
- ≥ 20 mm : bactérie extrêmement sensible.

Résultats

Résultats

4.1. Observation microscopique des souches testées

L'observation microscopique des caractéristiques morphologiques des souches testées a confirmé qu'il s'agissait bien des souches citées (Fig. 10).

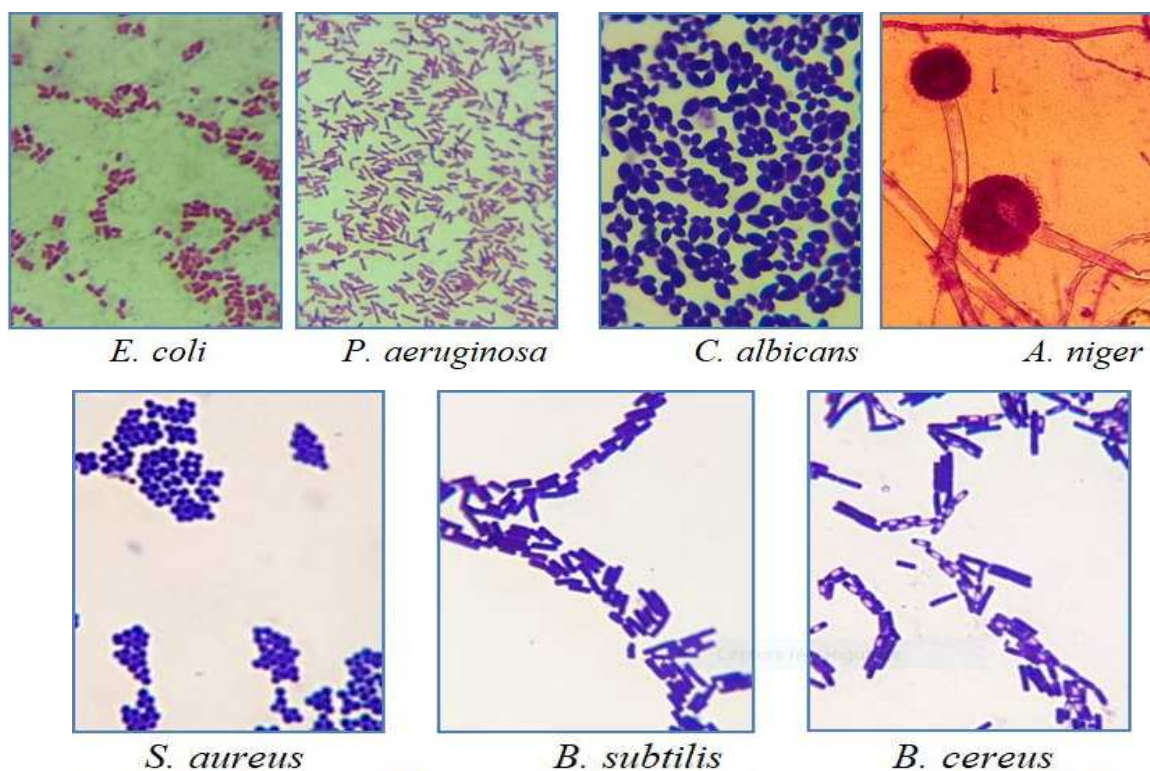


Figure 10. Observation microscopique des souches après coloration simple (e) et de Gram.

4.2. Rendement en extraits méthanoliques

Les rendements en extraits méthanoliques obtenus à partir des différentes parties aériennes du *J. oxycedrus* sont cités dans le tableau 1.

Tableau 1. Rendements en extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du Genévrier.

Parties	Feuilles	Rameaux	Glabules
Rendement (%)	23.56	11.56	30

On remarque que le rendement en extrait des glabules est le plus élevé (30 %) suivi par celui de feuilles (23,56 %) alors que les rameaux présentent le rendement le plus faible (11,56 %).



Figure 11. Extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du *J. oxycedrus*.

4.3. Activité antimicrobienne des extraits

Les diamètres des zones d'inhibition des extraits des différentes parties aériennes du *J. oxycedrus* aux différentes concentrations sont spécifiques à chacun des microorganismes testés, les résultats sont illustrés dans les figures 12, 13, 14, 15, 16 et 17 ainsi que le tableau 2.

Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Kabichat, 2013).

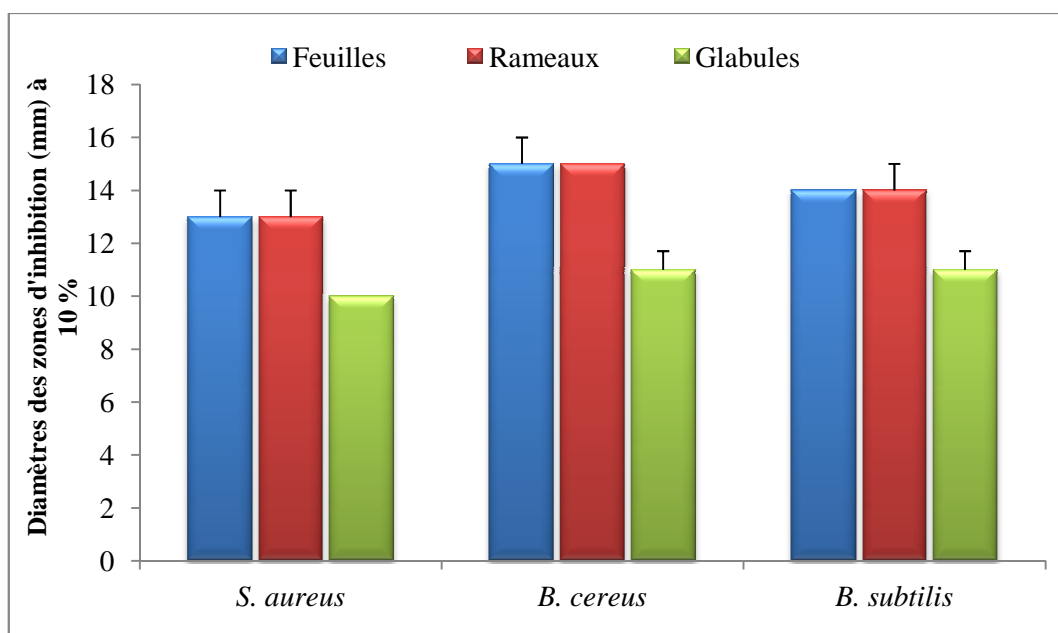


Figure 12. Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 10 % sur les souches microbiennes testées.

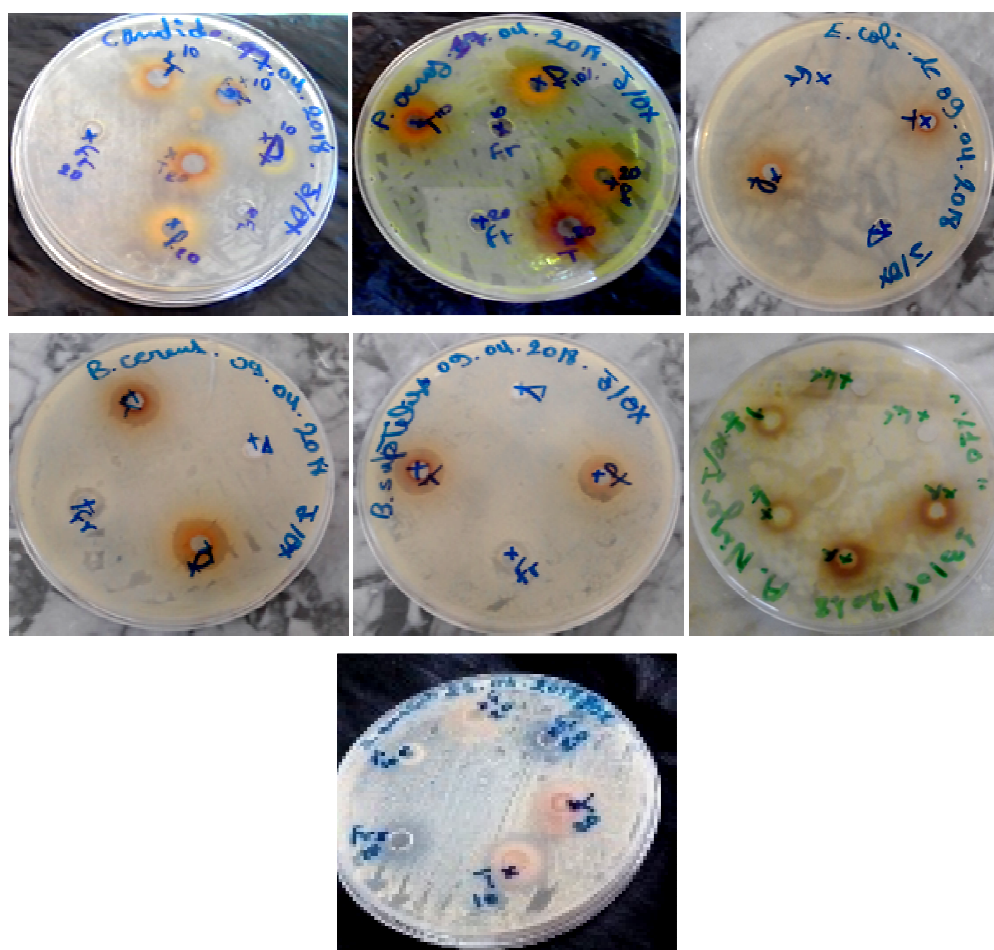


Figure 13. Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du *J. oxycedrus* à 10 % sur les souches testées.

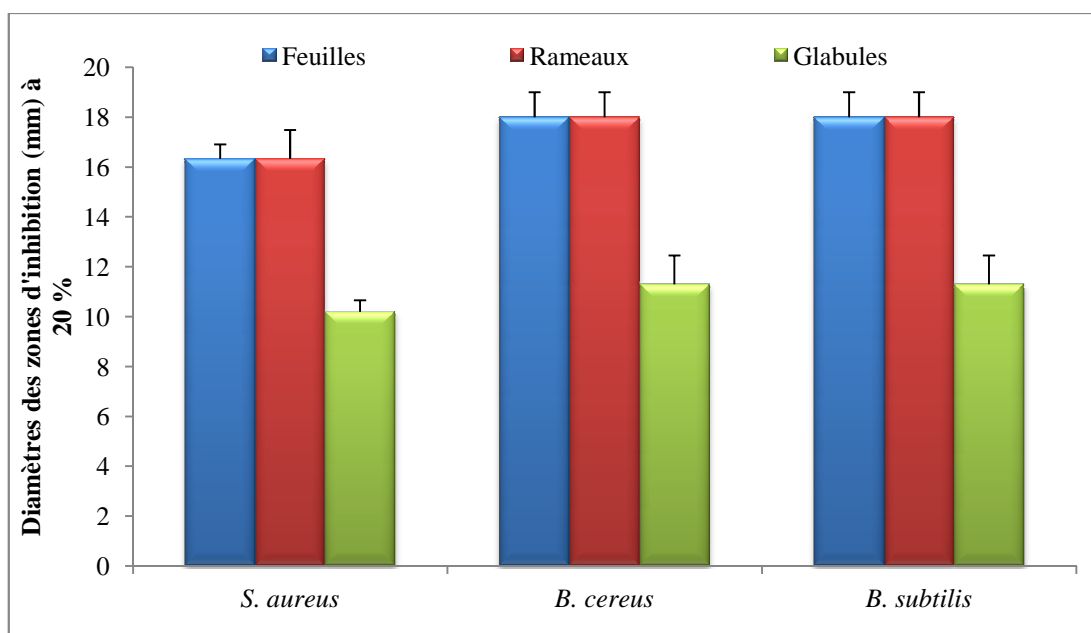


Figure 14. Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 20 % sur les souches microbiennes testées.

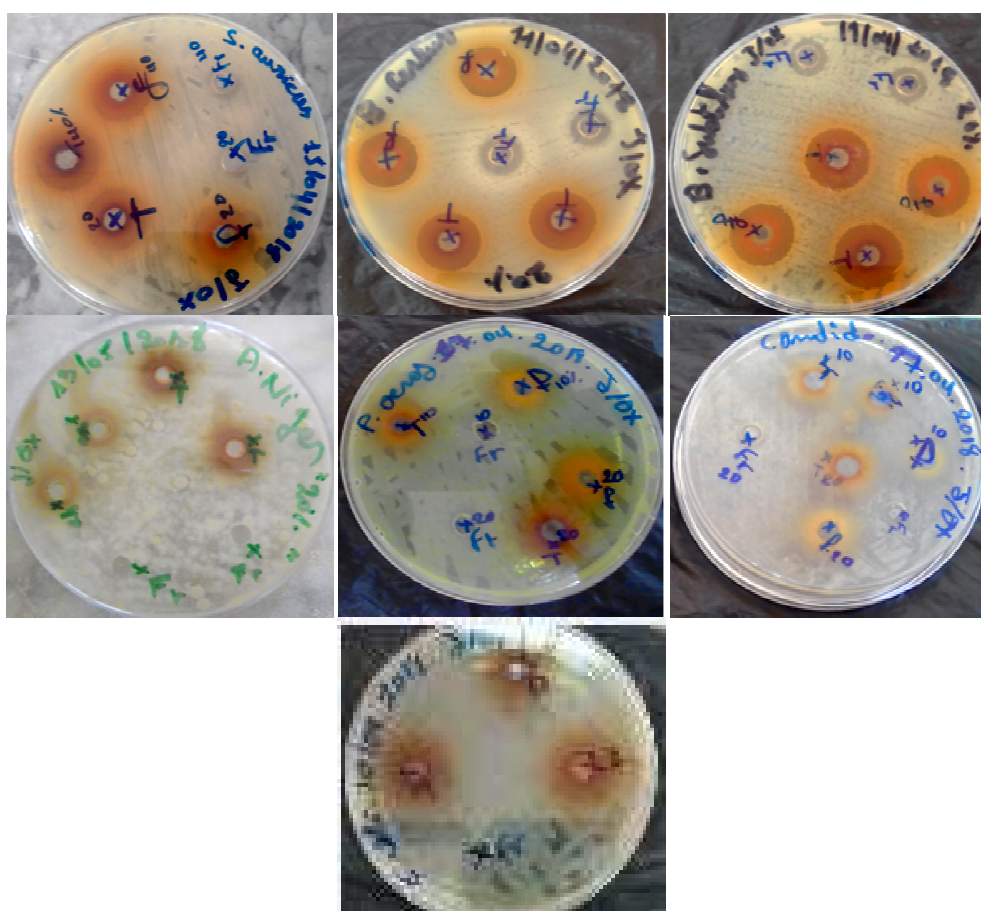


Figure 15. Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du *J. oxycedrus* à 20 % sur les souches testées.

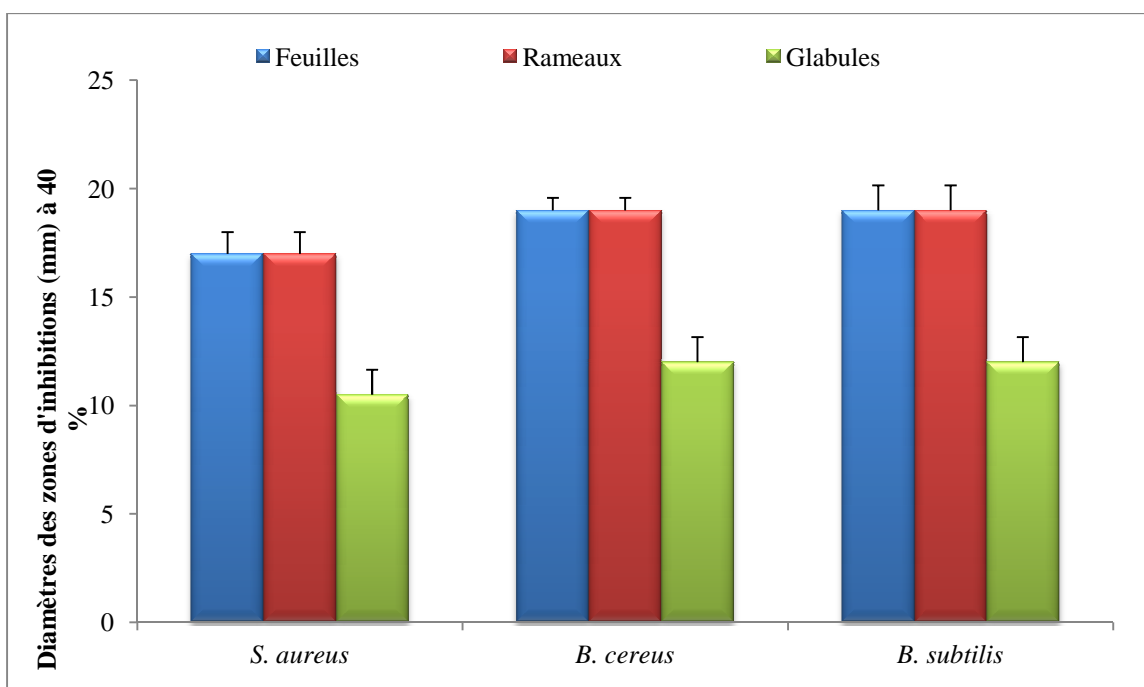


Figure 16. Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits méthanoliques à 40 % sur les souches microbiennes testées.

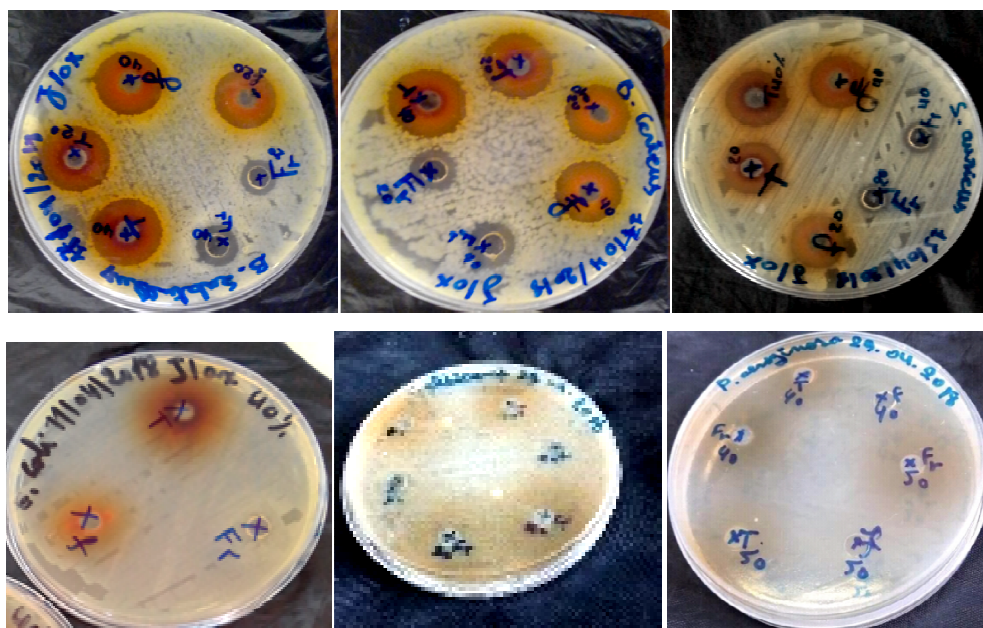


Figure 17. Zones d'inhibition produites par les extraits méthanoliques du *J. oxycedrus* à 40 % sur les souches testées.

On note que les trois extraits des parties aériennes du *J. oxycedrus* ont exhibé une activité inhibitrice seulement contre les trois souches bactériennes à Gram positif alors qu'aucune inhibition n'a été observée sur les bactéries à Gram négatif ainsi que sur les deux champignons testés (tableau 2). *B. cereus* et *B. subtilis* sont les souches les plus sensibles avec une zone d'inhibition maximale de $19 \pm 1,15$ mm suivie de *S. aureus* avec 17 ± 1 mm à une concentration de 40 % pour les feuilles et les rameaux alors qu'à 10 %, les mêmes souches ont présentées des zones d'inhibition de 14 ± 0 mm, 15 ± 1 mm et 13 ± 1 mm de diamètre respectivement pour les mêmes extraits.

L'extrait des glabules, quant à lui, a présenté les zones d'inhibition les plus faibles par rapport aux autres extraits avec des diamètres de $12 \pm 1,15$ mm pour *B. cereus* et *B. subtilis* et $10,5 \pm 1,15$ mm pour *S. aureus*, ceci pour une concentration de 40 %.

Tableau 2. Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des extraits relatifs aux différentes souches bactériennes et fongiques testées.

Souches Concentration %		Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (mm)						
		<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
10 %	DMSO	00	00	00	00	00	00	00
	Feuilles	13 ± 1	15 ± 1	14 ± 0	00	00	00	00
	Rameaux	13 ± 1	15 ± 0	14 ± 1	00	00	00	00
20 %	Glabules	10 ± 0	11 ± 1	11 ± 1	00	00	00	00
	Feuilles	$16,3 \pm 0,57$	18 ± 1	18 ± 1	00	00	00	00
	Rameaux	$16,3 \pm 1,15$	18 ± 1	18 ± 1	00	00	00	00
40 %	Glabules	$10,2 \pm 0,46$	$11,3 \pm 1,15$	$11,3 \pm 1,15$	00	00	00	00
	Feuilles	17 ± 1	$19 \pm 0,57$	$19 \pm 1,15$	00	00	00	NT
	Rameaux	17 ± 1	$19 \pm 0,57$	$19 \pm 1,15$	00	00	00	NT
50 %	Glabules	$10,5 \pm 1,15$	$12 \pm 1,15$	$12 \pm 1,15$	00	00	00	NT
	Feuilles	NT	NT	NT	00	00	00	NT
	Rameaux	NT	NT	NT	00	00	00	NT
	Glabules	NT	NT	NT	00	00	00	NT

NT: Non Testée.

4.4. Test de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques conventionnels

Les résultats du test de sensibilité des souches microbiennes testées vis-à-vis de quelques antibiotiques (tableau 3, Fig. 18) a révélé que de manière générale celles-ci sont plus sensibles à la novobiocine et à l'acide nalidixique excepté *P. aeruginosa* et *C. albicans* qui n'ont présenté de sensibilité à aucun des antibiotiques testés ce qui démontre une forte résistance de la part de ces deux souches. Cependant *S. aureus* s'est révélée la plus sensible par rapport aux autres souches testées, suivie de *B. cereus* et *B. subtilis*.

Tableau 3. Diamètres moyens des zones d'inhibition (mm) des antibiotiques relatifs aux microorganismes testés.

Souches Antibiotiques	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
Ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0
Céphalotine	0	33	8	11	0	0	9
Acide nalidixique	25	17	25	24	0	0	25
Novobiocine	35	37	26	24	0	0	27
Oxacilline	0	17	0	0	0	0	0
Colistine	NT	NT	0	NT	NT	NT	NT

NT: Non testée

- 0 à 8 mm : bactérie non sensible ou résistante ;..... R
- 9 à 14 mm : bactérie sensible ou intermédiaire ;.....S
- 15 à 19 mm : bactérie très sensible ;.....TS
- ≥ 20 mm : bactérie extrêmement sensible.....ES (Alem et Arbaoui, 2017).

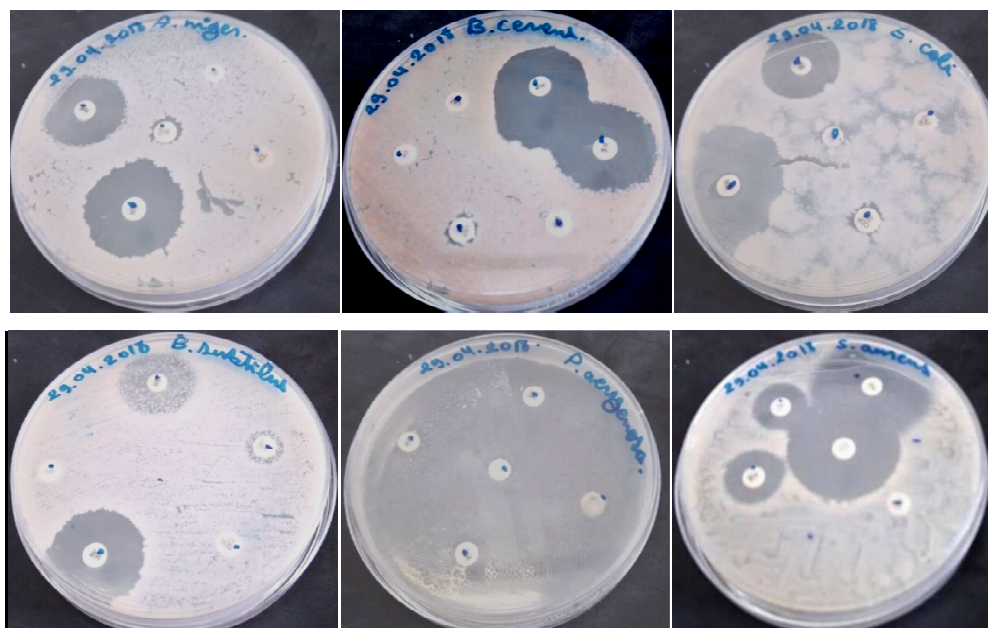


Figure 18. Zones d'inhibition produites par les antibiotiques testés sur les différentes souches bactériennes et fongiques étudiées.

Discussion

Discussion

Cette étude a eu pour objectif l'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits méthanoliques des parties aériennes (feuilles, rameaux et glabules) du *J. oxycedrus*.

La différence observée entre les rendements des différentes parties aériennes de la plante à savoir les feuilles (23.56 %), les rameaux (11.56 %) et les glabules (30 %); peut être expliquée par le fait que la quantité du soluté stocké varie d'un tissu végétal à l'autre. En effet, les composés bioactifs en particulier les composés phénoliques peuvent être présents dans une large variété de plantes mais avec des teneurs variables entre les différentes espèces et dans les différents tissus (Luczaj et al. 2014). De plus, la méthode d'extraction influe sur la quantité et la qualité de l'extrait obtenu. En effet, le phénomène de transfert de soluté dans le matériel végétal n'est pas affecté seulement par le facteur caractérisant la matière végétale (micro-texture et complexité de la structure du tissu végétal). Le soluté lui-même peut influencer le processus de diffusion et, par conséquent, le rendement de par sa structure moléculaire, sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés (Baazi et Ghecil 2017). Etant donné que presque tous les éléments identifiés à partir de plantes et qui sont actifs contre les micro-organismes sont des composés aromatiques ou composés organiques saturés, ils sont le plus souvent obtenus par extraction éthanolique ou méthanolique. Les solvants alcooliques peuvent augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires de moyenne et de faible polarité. Les rendements les plus élevés sont habituellement obtenus avec de l'éthanol et du méthanol et leurs mélanges avec de l'eau. Le méthanol et l'éthanol sont signalés comme solvants d'extraction efficaces pour les saponines et les stérols, les alcaloïdes, les polyphénols et les terpénoïdes (Ait Abderrahim, 2018).

On remarque d'après les résultats obtenus que les extraits méthanoliques des différentes parties du *J. oxycedrus* n'ont aucune activité antimicrobienne contre les bactéries testées à Gram négatif (*E. coli* et *P. aeruginosa*) et aucune activité antifongique contre la moisissure et la levure testées (*A. niger* et *C. albicans* respectivement) quelque soit la concentration utilisée. En revanche, une inhibition de la croissance des bactéries testées à Gram positif à savoir *S. aureus*, *B. cereus* et *B. subtilis* a été notée.

Il est à noter que *S. aureus* s'est révélée la plus sensible vis-à-vis des antibiotiques conventionnels testés suivie de *B. cereus* et *B. subtilis*. Alors que *P. aeruginosa* et *C. albicans*

n'ont présenté aucune sensibilité vis-à-vis de ceux –ci. Ce qui concorde parfaitement avec les résultats obtenus avec les différents extraits méthanoliques du genévrier.

Cependant les travaux de Mansouri et al. (2011) ont démontré que l'huile essentielle du Genévrier était efficace contre certaines bactéries à Gram négatif dont *E. coli* et *P. aeruginosa* et sur les moisissures dont *A. niger*, *Penicillium expansum* et *Penicillium digitatum* et les moisissures causant la pourriture du bois (*G. trabeum*, *P. placenta*, *C. puteana*, *C. versicolor*). Ce qui n'est pas le cas avec les extraits méthanoliques testés du *J. oxycedrus*.

En effet, l'action des molécules antimicrobiennes dépend essentiellement de la nature et la composition de la substance utilisée et du génotype de la souche microbiennes. En outre, la différence de sensibilité aux agents antimicrobiens peut s'expliquer par la perméabilité, la composition et la charge des structures extérieures des microorganismes. Elle peut aussi être due à la variation dans le taux de pénétration des extraits de produits naturels à travers la paroi cellulaire et les structures de la membrane cellulaire (Ait abderrahim, 2018). Plusieurs études ont démontré la sensibilité des bactéries à Gram positif vis-à-vis des agents antimicrobiens par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cette différence d'activité pourrait s'expliquer par la différence de la composition pariétale des deux types de bactéries. Effectivement, les bactéries à Gram positif composées d'une paroi exclusivement de peptidoglycane épais semblent être plus favorables à la pénétration des phytomolécules qui atteindraient facilement leurs cibles intracellulaires. A l'opposé, les bactéries à Gram négatif avec leur membrane externe composée des phospholipides qui interfèrerait avec les molécules, rend leur passage à travers la paroi difficile surtout les composés hydrophobes (Tian et al. 2009; Soundararajan et al. 2012). La résistance de ces dernières est due à la présence des lipopolysaccharides (LPS) dans la face externe de leurs membranes formant ainsi une barrière contre la pénétration des molécules bioactives. Le mécanisme exact par lequel ces LPS interviennent reste méconnu à l'heure actuelle (Baazi et Ghecil, 2017). Les parois des champignons quant à elles sont composées en majeure partie de polysaccharides. Ainsi, en plus de la génétique des microorganismes, la teneur de la paroi en polysaccharides et lipides affecte significativement la perméabilité des différentes molécules antimicrobiennes et la réponse des microorganismes vis-à-vis de celles-ci (Ait Abderrahim, 2018).

On note une variabilité dans l'activité antibactérienne des extraits des différentes parties aériennes du *J. oxycedrus*. En effet, les extraits des feuilles et des tiges présentent une activité antibactérienne plus élevée par rapport à ceux des glabules. Ceci a été observé aussi par d'autres auteurs comme El-sawi et al. (2007) au cours de leurs travaux sur l'activité antimicrobienne des extraits des rameaux et des fruits du genévrier d'Égypte. Ces résultats

sont aussi en concordance avec les résultats d'Angioni et al. (2003) qui ont étudié l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des rameaux et des fruits de quelques espèces de Genévrier sur un certain nombre de micro-organismes.

Les travaux de Merghache et al. (2012) sur les molécules phytochimiques de cette plante, ont révélé notamment la présence des alcaloïdes, des dérivés phénoliques, des flavonoïdes et des terpénoïdes; qui sont connus pour leurs innombrables propriétés biologiques dont les propriétés antimicrobiennes.

Plusieurs travaux ont rapportés l'action antimicrobienne des polyphénols. Les mécanismes d'action des polyphénols sur les microorganismes sont très complexes; parmi les hypothèses les plus avancées figurent leur action sur les acides nucléiques, les enveloppes cellulaires et sur le métabolisme microbien tel que l'inhibition de la phosphorylation oxydative. Ainsi, ils inhibent les fonctions de la membrane cytoplasmique, interagissent avec les protéines et enzymes extracellulaires de la paroi microbienne, séquestrent le substrat nécessaire à la croissance microbienne et dénaturent les protéines agissant comme des agents tensioactifs (Ait Abderrahim, 2018).

En ce qui est des alcaloïdes les mécanismes d'action proposés sont l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques, inhibition des pompes à efflux, perturbation de l'équilibre homéostatique, perturbation de la membrane externe et de l'intégrité de la membrane cytoplasmique, fuite du contenu cytoplasmique...etc. (Cushnie et al. 2014). En outre, les saponines possèdent des propriétés ressemblant à celles des détergents et peuvent augmenter la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes sans les détruire (Soetan et al. 2006).

En outre, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *J. phoenicea* et *J. oxycedrus* de l'Algérie pourrait être associée à la quantité des terpènes et de leurs composés majoritaires (par exemple α -pinène, myrcène, β -pinène, linalol, myrcène, β -phellandrene et germacrene D). Ces composés possèdent une forte activité antimicrobienne, en s'attaquant à la membrane plasmique, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité et la perte de constituants cellulaires. De surcroît, il a été rapporté que l' α -pinène, qui est le composé majoritaire, présente plusieurs activités biologiques: il est antibactérien, anti-inflammatoire, antiviral, expectorant, sédatif, herbicide et insectifuge (Bouyahyaoui, 2017).

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Malgré le développement de l'industrie des médicaments d'origine chimique, la phytothérapie traditionnelle constitue actuellement une source de remède par excellence. Cette dernière connaît une large répartition chez les populations ayant confiance en usage médical populaire et n'ayant pas les moyens de supporter les frais de la médecine moderne.

En effet, la phytothérapie joue un rôle très important dans le domaine thérapeutique moderne, en constituant une base de données à travers l'étude ethnobotanique. Cette dernière est riche en connaissances empiriques résultant des expériences des hommes.

L'utilisation des plantes spontanées médicinales domine celle des plantes cultivées et la plupart de ces plantes sont récoltées manuellement surtout au Printemps.

Dans le cadre de valorisation des ressources naturelles végétales locales, cette étude a permis de démontrer l'efficacité, quoique restreinte aux bactéries à Gram positif, des extraits méthanoliques des différentes parties aériennes du *Juniperus oxycedrus* L. Ce qui n'a pas été fait auparavant car les travaux réalisés jusque-la concernent essentiellement les huiles essentielles de cette plante.

Ce travail pourrait servir d'appui pour trouver des alternatives aux médicaments et antibiotiques conventionnels utilisés en thérapeutique.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdelli W. 2018. Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem, Algérie.
- Adams R.P, Demeke. T et Abulfatih. H.A. 1993. Rapd DNA fingerprints and terpenoids: clues to past migrations of *Juniperus* in Arabia and east Africa. *Theoretical and Applied Genetics* 87, 22–26.
- Adouane S. 2016. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurés. Mémoire de Magistère. Université Mohamed Khider. Biskr, Algérie.
- Ait Abderrahim L. 2018. Etude de l'activité biologique (antioxydante antimicrobiennes cicatrisante) de quelques préparations thérapeutiques à base de miel et de plantes médicinales. Thèse de Doctorat. Université Ibn Khaldoun. Tiaret, Algérie.
- Akroum S. 2011. Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de Doctorat. Université Mentouri. Constantine, Algérie.
- Alem A. et Arbaoui M. 2017 Caractérisation de l'activité biologique des huiles essentielles de quelques espèces des cuprèssaceae (*Juniperus phoenicea* et *Cupressus sempervirens* L). Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Algérie.
- Angioni A. 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: 3073-3078.
- Archambaud M. 2009. Les antibiotiques contre les bactéries à Gram positif et négatif. Cour. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Ranguel Toulouse.
- Baazi N. et Ghecil B. 2017. Caractérisation et valorisation de l'activité antimicrobienne de quelques plantes autochtones du genre *Quercus*, *Chamaerops* et *Ampelodesma*. Mémoire de Master. Université d'Ibn Khaldoun. Tiaret, Algérie.
- Baliere CH. 2016. Les *Escherichia coli* potentiellement pathogène l'environnement littoral : cas des stec et des epec. Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Occidentale. Bretagne.
- Barbier F. 2018. *Staphylocoques à coagulase négative*, cour, E.D. Bactériologie DCEM1.

- Beddiar H. 2016. Etude De «*Juniperus phoenicea* L» de la région de Tébessa : composition chimique, activités antioxydantes, et activité microbiologiques. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi- Tébessa, Algérie.
- Benabdallah H. 2016. Techniques d'extraction, de purification et conservation. Cours Master I. Université Ferhat Abbas de Sétif, Algérie.
- Bensegueni-Tounsi L. 2001. Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique à *Viscosa lawsonia inermis-asphodelus microcarpus-aloe vera_juniperus oxycedrus*. Mémoire de Magister. Université de Constantine, Algérie.
- Bourhy H. Dhote R. et Paugam A. 1999. Microbiologie et pathologies infectieuse. Bruxelles, Paris. p281.
- Bouyahyaoui A. 2017. Contribution à la valorisation des substances naturelles : étude des huiles essentielles des cupressacées de la région de L'Atlas Algérien. Thèse Doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.
- Bouzerouata A. 2017. Application de *Bacillus* spp. mésophile dans la lutte biologique, Mémoire de Master. Université Abou Bakr Belkaid – Tlemcen, Algérie.
- Ceccon J. 2015. Synthèse Totale d'Alcaloïdes Polyhydroxylés : la (-)-Swa (+)Épicastanospermine, la (+)-Castanospermine et la (-)-Détoxine Chimie Organique. These le grade de Docteur de L'Université Joseph Fourier. Université Joseph Fourier – GRENOBLE 1, France.
- Clave D. 2014. Fiche technique : *Bacillus cereus*. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. Expert biologiste –Bactériol chu toulouse Fiche technique _ Bactériologie 143 EN.FTBAC. 31-08-17.01.
- Cushnie TPT. Cushnie B and Lamb AJ. 2014. Alkaloids. An overview of their antibacterial. Antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 44: 377-386.
- Damerdji A et Meniri R. 2014. Contribution à l'étude écologique des Gastéropodes dans les stations à *Juniperus oxycedrus*L. (Cupressacées) dans les Monts de Tlemcen (Algérie nord-occidentale), d'Ecologieet Environnement. Faculté S.N.V/S.T.U, Université de Tlemcen, Algérie, Afrique SCIENCE 10(2) (2014) 382 – 393, Algérie.
- Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Tec et Doc, Paris. p 332.

- Delarras C. 2014. Pratique en microbiologie de laboratoire. Tec et Doc, Paris. P 415.
- Djenadi F et Farhi. N.2011. Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénoliques. Mémoire de Master. Université A Mira de Béjaia. Algérie
- El Hamrouni A. 2001. Conservation des Zones Humides Littorales et des Ecosystèmes côtiers du cap-bon. Agence de protection et d'aménagement du littoral. République Tunisienne.
- El jouhari F. 2008. Particularisme Des champignons dits « émergents » en pathologie humaine. Thèse Doctorat. Université Mohammed V, Algérie.
- Elmeskini K. 2011. Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse Doctorat. Université Mohammed V. Algérie.
- El-Sawi S. Motawae H et Ali A. 2007. Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L grown in Egypt. Afr. J. Tradit. Complementary Altern. Med. 4(4): 417- 426.
- Ferry T. Ritchard JC. 2013. Traitement systématique des infections à bacilles Gram négatif producteurs de carbapénémases.
- Franck Le Driant. 2018. [pulsatille.com/flore Alpes.com-2018](http://pulsatille.com/flore/Alpes.com-2018).
- Gauquelin TH. Chondroyannis P. Boukhdoud N et al. Le Genévrier thurifère. 2012. espèce partagée au Nord et au Sud de la Méditerranée, forêt méditerranéenne t. XXXIII, n° 3.
- Guillaume V. 2006. Auto-évaluation Manipulation, Bruxelles, Pris. 36P.
- Hafsi Z. Belhadj S. Derridj A. Mevy J. Notonnier R. Tonetto A et Gauquelin TH. 2017. Etude De La Variabilité Morphologique (Aiguilles, Galbules) Du Complexe Spécifique *Juniperus Oxycedrus* L, le genévrier *oxycèdre*, A Sein De Sept Populations D'Algérie, Revue d'Ecologie (Terre et Vie), Vol 72 (4) : 353-373.
- Judd W S. Christopher S. Campbell Elizabeth. Kellogg A. Peter Stevens. 2002. Botanique systématique, Bruxelles, Paris. p87.
- Julve Ph. 2011. www.tela-botanica.org. 28.02.2018.
- Julve Ph. 2017. [http//www. tela-botanica. Org](http://www.tela-botanica.org). 17.03.2018.

- Kabichat A. 2013. Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongiques des cendre de bois du chêne vert« kourriche ou ballout» (*Quercus ilex*). Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie.
- Kasilo ssy MJ. and Trapsida JM. 2010. Regulation of traditional medicine in the WHO African region. *The African Heath monitor*. 13:25-31.
- Karbouche L. 2010. Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles labiacées et de cupressacées. Mémoire de Magister, Ecole nationale supérieure agronomique-El-Harrach-Alger, Algérie.
- Khater F. 2011. Identification et validation fonctionnelle de nouveaux gènes potentiellement impliqués dans la biosynthèse des composés phénoliques. Thèse de Docteur du centre international d'études supérieures en sciences agronomiques.
- Khenfer S. Medjouel M. 2016. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région du Sahara Algérien. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.
- Lagane C. 2007. Rôle de l'il-13 et des ligands de ppar- γ dans la réponse anti-infectieuse des macrophages murins et des monocytes humains vis-à-vis de *candida albicans*. Implication de ppar- γ , Université Toulouse iii – Paul Sabatier u.f.r. Thèse grade de Docteur de l'université Toulouse.
- Larousse. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparations. Soins. ISBN : 2-03-560252-1.
- LAYS C. 2006. ARN régulateurs de *Staphylococcus aureus* : Rôle de RsaA dans la formation du biofilm et de la capsule. Niveaux d'expression des ARN dans les prélèvements cliniques. Thèse Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, France.
- Le Lay J. 2014. Compréhension des mécanismes impliqués dans l'activité réductrice et dans les adaptations métaboliques à pH acide de *Bacillus cereus* : implication des thiols exofaciaux. Thèse Doctorat. Université d'Avignon, Vaucluse.
- Leclerc H. 2002. Bactériologie de *Pseudomonas Aeruginosa*, Service de bactériologie. Centre hospitalier de Lille. *Presse therm climat*. 139: 9-13. Librairie Larousse. 151-152 et 194-195.

- Luczaj L. MBile k. and Stawarczyk K. 2014. Sugar content in the sap of Birches, Horbeams and Maples in Southeasten Poland. Central European Journal of Biolog. Doi: 10.2478/s11535-013-0284-8.
- MAIRE R. 1952, *Flore de l'Afrique du Nord*. Encyclopédie biologique. Volume 1. Éd. Paul Le Chevalier, Paris.
- Manase M. 2013. Etude chimique et biologique de saponines isolées de trois espèces malgaches appartenant aux familles des Caryophyllaceae, Pittosporaceae et Solanacées. Thèse grade de Docteur de l'université de Bourgogne. Université de Bourgogne Ecole Doctorale ES, France.
- Mansouri N. Satrani B. Ghanmi M. El Ghadraoui L. et Aaf A. 2011. Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea ssp. lycia* et *Juniperus phoenicea ssp. turbinata* du Maroc. Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15(3): 415-424.
- Marongiu B. Porcedda S. Caredda A. De Gioannis B. Vargiu L. La Colla. P (2003): Extraction of *Juniperus oxycedrus ssp. Oxycedrus*. Essential oil by supercritical carbon dioxide: Influence of some process parameters and biological activity. Flavour Frag J 18: 390–397.
- Mazari. KH. 2009. Etude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *juniperus phoenicea L. juniperus oxycedrus L. et cupressus sempervirens L.* De la région Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou Belkaid Tlemcen, Algérie.
- Merghache D. Boucherit-Atmani Z. Boucherit K. 2012. Evaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*). Phytothérapie. 10 (4):215-221. doi: 10.1007/s10298-012-0718-x.
- Metahni A. 2012. Déposition et réenvol de spores fongiques : contribution à la compréhension du risque nosocomial aérotransmis, Thèse de Docteur de l'École Normale Supérieure de Lyon. Université de Lyon, France.
- Miara1 MD. Ait Hammou M. Hadjadj S. 2013. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie), Phytothérapie (2013) 11:206-218 © Springer-Verlag France DOI 10.1007/s10298-013-0789-3. Tiaret, Algérie.

- Michel T. 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Thèse de Docteur de l'université d'Orléans. Université D'Orléans, France.
- Moro Buronzo. 2009. Huiles essentielles. Santé beauté bien-être. Rotolito. Italie, p 21-22.
- Moualkia H et Ansar K. 2015. Pathogénicité chez *Escherichia coli*. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie.
- Muyllaert A et Mainil JG. 2013. Résistances aux fluorouinolones : la situation actuelle. *Am. Méd. Vét.* 157 :15-26. N 20
- Penchev PI. 2010. Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.
- Quézel P et Médail F. 2003. Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. –Elsevier. Paris. Sous presse.
- Quezel. P et Gast. M. 2017. Genévrier. In Gabriel Camps (dir.), *20 / Gauda – Girrei*, Aix-en-Provence. Edisud
- Quezel. P et Santa. S. 1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 34-36.
- Sadou N. Seridi R. Djahoudi A et Hadeff Y. 2015. Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill, Du Nord est Algérien. *Rev. Sci. Technol. Synthèses* 30: 33-39.
- Satirapathkul C and Leela T. 2011. Growth inhibition of pathogenic bacteria by extract of *Quercus infectoria* galls. *International journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*.1(1) :26-31.
- Soetan KO. Oyekunle MA. Aiyelaagbe OO. And Fafunso. MA. 2006. Evaluation of the antimicrobial activity of saponins extract of *Sorghum Bicolor* L. Moench. *African Journal of Biotechnology*. 5(23): 2405-2407.
- Soundararajan. V, Zuraini. Z, Yeng. C, Lachimanan. YL, Jagat. RK, Sreenivasan. S, 2012, The Antimicrobial Efficacy of *Elaeis guineensis*: Characterization, in Vitro and in Vivo Studies. *Molecules* 17:4860-4877.

- Teuscher E. Anton R et Lobstien A. 2005. Palantes aromatiques. Epices. Aromates. condiments et huiles essentielles. Tec Et Doc. Paris. p 19.
- Thierry S. 2011. Etude de la diversité génétique d'*Aspergillus fumigatus* et de *Chlamydomphila psittaci* chez les oiseaux et mise au point de modèles expérimentaux aviaires. Thèse Doctorat. Ecole ABLES, France.
- Tian F. Li B. Ji B. Yang J. Zhang G. Chen Y. Luo Y. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*:The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry* 113 (1):173-179.
- Walker A. 2009. Plantes médicinales. 2.01.4267. Paris.
- Wolff M. Timsit J.F. 2001. L'antibiothérapie des infections à cocci à Gram positif : un exercice de plus en plus difficile. Service de réanimation des maladies infectieuses. Hôpital Bichat-Claude-Bernard. 46. Rue Henri-Huchard. 75877 Paris cedex18, France.
- Yala J. Ntsameso-mve-mba V. Azzizet issembe Y. Lepengue N. Souza A. 2016. Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville, *Journal of Applied Biosciences* 103:9886 – 9893 ISSN 1997–5902, France.
- Zhang L. Xu SG. Di yy. Lan HH. Yang Y. Wang ww. Luo YY. Wang HZ. 2015. Antibacterial activity and mode of action of *Mentha arvensis ethanol* extract against multidrug – resistant *Acinetobacter baumannii*, *tropical journal of pharmaceutical research*, 14 :2099-2106.