

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
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 de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

Graichi Fatima zohra

Mehekak Amina

Meghrebi Soumia

Thème

Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de cade

Soutenu publiquement le 27 /09 /2020

Jury:

- **Président :** Dr Medjebeur Nacira
- **Encadrant:** Dr TABAK Souhila
- **Examineur:** Dr Benbelkacem Idir

Grade

MCB

MCA

MCB

Année universitaire 2019-2020

*R*emerciements

*N*ous tenons à remercier le bon Dieu de nous avoir procuré le courage, la patience et la force
D'accomplir ce travail et de nous avoir permis de réussir nos études.

*N*ous exprimons nos remerciements les plus sincères à notre encadreur Mme TABAK Souhila qui a su nous orienter et nous guider par ses conseils constructifs en nous permettant d'enrichir et d'achever notre travail.

*N*os remerciements s'adressent également à Dr Benbelkacem et Dr Medjebeur d'avoir accepté de juger ce travail et de participer au jury.

*N*os remerciements vont plus particulièrement à nos familles qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.

*T*ous nos remerciements aux enseignants du département.

A toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie avec une immense joie ce travail :

A mes chers parents pour leur énorme sacrifice, leur soutien, leur amour et leur sagesse.

A mon frère et ma sœur qui ont partagés tant de choses avec moi.

A toute ma famille

A tous mes amis et collègues sans préciser les noms afin de n'oublier personne pour leurs encouragements.

Soumia

Dédicace

Je dédie ce travail:

A mes parents pour leurs amoure, sacrifices, soutien, et leurs encouragements durant toute mes années d'étude

A mon mari Bekkar Boualem pour sa sympathie chaleureuse, son appui inestimable et le sourire dans les moments difficiles

A mes frères Abdelmalek et Kamel, vous êtes des beaux frères dans le monde, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

A ma seule sœur Bouchra je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur

A mon petit frère Ibrahim, tu es la joie de notre vie, je t'admire et je t'aime très fort

A toute ma famille paternelle et maternelle

A mes très chères amis je vous dédie ce travail en témoignage de ma grand affection et en souvenir agréables moments passés ensemble, Fatima Zohra, Soumia, Fadhila, Imane, Khadidja, Bachair, Fatiha, Fatima

A tous mes enseignants, depuis mes premières années d'étude.

Amina

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents et j'exprime mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien, l'accompagnement et vos prières tout au long de mon parcours, puisse Dieu vous accorder la santé, le bonheur et une longue vie.

A mes frère Azzedine Youcef et Younes en témoignage de mon affection fraternelle et reconnaissance, que Dieu le tout puissant vous protège.

A ma sœur Khaldia, Je vous souhaite une vie pleine de bonheur

A toute ma famille

A mes meilleures amies : ,Imen, Amina , Soumia, Razika,hadjer et à toute ma promotion.

Fatima

Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction	

Partie bibliographique

Chapitre – I – Généralités sur la plante *Juniperus oxycedrus*

I.1.Systématique.....	2
I.2.Description botanique.....	2
I.3.Répartition géographique.....	3
I.3.1.Dans le monde.....	3
I.3.2. En Algérie.....	3
I.4. Usage thérapeutique de la plante <i>Juniperus oxycedrus</i>	3
I.5. Effets antimicrobiens de la plante <i>Juniperus oxycedrus</i>	4

Chapitre – II – Huiles essentielles

II.1. Historique.....	5
II.2. Définition.....	5
II.3. Répartition et localisation.....	5
II.3.1.Répartition.....	5
II.3.2.Localisation.....	5
II.4. Composition chimique des huiles essentielles.....	6
II.4.1.Les composés terpéniques.....	6
II.4.1.1. Mono terpènes.....	6
II.4.1.2.Sesquiterpènes.....	6

II .4.2.Composés aromatiques dérivés du phenylpropane.....	6
II.4.3. Composés d'origines diverses.....	7
II.5. Propriétés et caractéristiques des huiles essentielles.....	7
II.5.1 Propriétés physicochimique.....	7
II .5.2.Propriétés pharmacologiques et activités biologiques.....	7
• Pouvoir antibactérien.....	7
• Pouvoir antivirale.....	7
• Pouvoir antifongique.....	8
• Pouvoir antiparasitaire.....	8
• Pouvoir antiseptique.....	8
• Pouvoir insecticide.....	8
• Pouvoir anti-inflammatoire.....	9
• Pouvoir antispasmodique.....	9
• Pouvoir calmant, anxiolytique.....	9
• Pouvoir cicatrisant.....	9
II.6.Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	9
II.6.1. Hydro distillation.....	10
II.6.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	10
II.6.3. Hydro diffusion.....	11
II .6.4. Expression à Froid.....	12
II.6.5. Extraction par solvants.....	12
II .6.6. Extraction par micro ondes.....	13

Chapitre – III Huile de Cade

III.1. Description et caractéristiques de l'huile de cade.....	14
III.2.Procédés d'extraction de l'huile de cade.....	14
III .2.1. Distillation sèche.....	14

III.2.2. Hydro distillation.....	15
III.3.Composition chimique de l'huile de cade.....	16
III .4.Utilisation de l'huile de cade.....	17
III .4.1. Utilisation cosmétique.....	17
III.4.2. Utilisation en médecine humaine.....	17
III.4.3. Utilisation en médecine vétérinaire.....	18
III.4.4. Utilisation en pharmacologie.....	18
III.5.Toxicité	19

Partie expérimentale

Chapitre – IV –Matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes.....	20
IV.1.Objectif, lieu et durée du travail.....	20
IV .1.1. Objectif.....	20
IV .2. Matériel.....	20
IV.2.1Matériel végétal.....	20
IV .2.2.Matériel biologique.....	20
IV .2.3Matériel du laboratoire.....	20
IV .3. Méthodes.....	22
IV .3.1.Protocole expérimental.....	22
IV .3.2.Extraction de l'huile essentielle.....	24
IV .3.2.1. Extraction par hydro distillation.....	24
IV.3.3.Purification et identification bactérienne.....	24
IV.3.4.Tests d'activité antibactérienne.....	25
IV.3.4.1. Aromatogramme.....	26
IV.3.4.2. Méthode de diffusion sur agar (Technique des disques).....	26
IV.3.4.3.Détermination des concentrations minimales inhibitrice (CMI)	26

Chapitre – V – Résultats

V.1. Résultats.....	28
V.1.1. Rendement de l'huile essentielle.....	28
V.1.2. Identification bactériologique et biochimique.....	28
V .1.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	32
V .1.3.1. Méthode de diffusion sur agar (technique des disques).....	32
V .1.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices(CMI)...	33
Conclusion	35
Références bibliographique.....	36
Annexe	44
Résumé.....	46

Liste des figures

Figure 1 : <i>Juniperus oxycedrus L.</i>	2
Figure 2 : Montage d'extraction par Hydro distillation.....	10
Figure 3: Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.	11
Figure 4 : Montage d'extraction par hydro diffusion	11
Figure 5 : Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid	12
Figure 6 : Différents types d'extraction par solvants volatils	13
Figure 7 : Extraction assisté par micro-ondes	13
Figure 8 : Distillation per descensum.....	15
Figure 9 : Distillation per ascensum.....	15
Figure 10: Structure de β -cadinène (à gauche) et cadinol(à droite).....	16
Figure 11: les principales étapes de notre étude expérimentale.....	23
Figure 12: Aspect macroscopique d'une entérobactérieensemencée.....	28
Figure 13 : Observation microscopique d'une entérobactérie après.....	29
Figure 14 : la galerie biochimique API 20 E	29
Figure 15 : Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> ensemencé sur milieu Chapman	30
Figure 16 : Observation microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> après une coloration de Gram ($\times 100$)	30
Figure 17: La galerie biochimique API Staphylococcus.....	31
Figure 18 : Test de pouvoir antimicrobien de l'huile de cade.....	33

Liste des tableaux

Tableau 1: Composants l'huile de cade	17
Tableau 2: les produits et les milieux de culture utilisés.	21
Tableau 3: Verreries et appareillages utilisés dans notre étude.	22
Tableau 4: Différents rendements de l'huile essentielle de genévrier oxycèdre	28
Tableau 5: Différents D.Z.I des souches testées sous l'effet des antibiotiques.	31
Tableau 6: Diamètres d'inhibition en (mm) de l'huile de cade	32
Tableau 7: Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile de cade sur milieu gélose	34

Liste des abréviations

A.T.C.C: American Type Culture Collection

CMI: Concentration minimale inhibitrice

DMSO: Diméthylsulfoxyde

DZI: Diamètre de zone d'inhibition

E. coli: *Escherichia coli*

HE: Huile essentielle

HD: Hydro distillation

M-H: Mueller Hinton

OMS: Organisation Mondiale de la Sante

Rdt: Rendement

S. aureus: *Staphylococcus aureus*

UFC: Unité Format Colonie



Introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistance. Elles sont utilisées comme traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines depuis des milliers d'années et considéré comme principale source de médicaments .Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé. (**Salhi et al., 2010**).

les huiles essentielles sont des liquides hydrophobes concentrés contenant des composés volatiles de la plante, leur utilisation est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Elles trouvent application dans divers domaines incluant la cosmétologie comme base de fabrication de parfum et de produit dermatologique, la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes, en agroalimentaire pour rehausser le gout parfumé et la préservation des aliments contre l'oxydation comme remèdes contre les infections. (**Hesham et al., 2016**).

Ainsi, Le genre *Juniperus* est considéré comme une plante médicinale importante largement utilisée en médecine traditionnelle utilisé pour préparer une huile empyreumatique (huile de cade) par distillation destructive des branches et du bois de la plante. L'huile de cade est une huile sombre et aromatique avec une forte odeur de fumée. Elle est connue pour ses vertus thérapeutiques, largement utilisée en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et d'autres maladies de la peau. (**Abdellah et al., 2018**).

L'huile de cade rectifiée, utilisée comme composant de parfum dans les savons, les détergents, les crèmes, les lotions et les parfums. (**Karaman et al., 2002**).

Notre travail s'intéresse d'étudier l'activité antibactérienne de l'huile de cade et de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*

En fin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Partie bibliographique





Chapitre – I

Généralités sur
Juniperus oxycedrus

I.1. Systématique

Le genre *Juniperus* appartenant à la famille de cupressacées, comprend un grand nombre d'espèces avec des variétés rigides aux aiguilles piquantes et des variétés souples aux feuillages en écailles (Mansouri et al., 2011).

Selon Quezel et Santa (1962), la classification de *Juniperus oxycedrus* L. est la suivante:

Nom vernaculaire: Taga - Arar (Cheriti, 1995).

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Gymnospermes
Classe	Conifères
Ordre	Coniférales
Famille	Cupressacées
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus oxycedrus</i> L.

I.2. Description botanique

Juniperus oxycedrus, ou Genévrier de cade est un arbre ou arbuste dressé, dont la taille varie de 1 à 8 m, à ramures obtusément triangulaires, écorce grise ou rougeâtre. (Voir Fig 1).

Les feuilles sont formées d'aiguilles étalées à pointe fine et piquante, disposées en verticilles de trois sur six rangs, leur face supérieur marquée de deux sillons blanchâtres séparées par la nervure médiane en dessous, avec carène obtuse non sillonnées en dessous (Jamaledine, 2010 ; Djebaili, 2013).



Figure 1 : *Juniperus oxycedrus* L. (Achour et al., 2011).

Le Genévrier de cade est un arbrisseau dioïque, les fleurs forment des cônes qui se trouvent dans des pieds différents, les femelles sont petites et globuleuses, formées d'écailles verticillées par trois, les males sont jaunâtres, ovoïdes et petits. Les graines sont dépourvues d'ailes (**Oumri et Bensattalah, 2017; Bensegueni-tounsi, 2001**).

I.3.Répartition géographique

I.3.1. Dans le monde

C'est une espèce typique de la région méditerranéenne surtout en milieu forestier dégradé, commune en Afrique du Nord, depuis le bord de la mer jusque vers 2000-2200 m d'altitude, et dans les espaces fraîches et brûlés du sud de l'Europe à l' Iran, on peut associer au chêne vert, et chêne liège, et surtout sur les massifs montagneux où il est partout présent et souvent abondant dans les chênaies (**Quezel et Gast, 1998; Djebaili, 2013**).

I.3.2. En Algérie

Le Genévrier de cade est très commune dans le sous-bois et les zones dégradées des régions semi-arides, il occupe une superficie de 112000 ha, depuis les dunes littorales jusqu'aux limites du grand Sahara (**Hafsi et al., 2017**).

I.4. Usage thérapeutique de la plante *Juniperus oxycedrus*

Différentes espèces de *Juniperus* ont été utilisées en médecine traditionnelle depuis des siècles comme essences (**Medini et al., 2009**). Le Genévrier de cade considéré comme un bon remède traditionnel contre des maladies inflammatoires, infectieuses telles que, la bronchite, le rhume, la toux, les infections fongiques, les plaies...etc.

Les feuilles de cette plante sont utilisées contre le diabète sous forme de décoction, la diarrhée et le rhumatisme, il y'a aussi l'extrait de fruit bouilli, il est utilisé comme un traitement des troubles gastro-intestinaux, et diurétique.

L'utilisation principale de *Juniperus oxycedrus* est d'extraire l'huile de cade par distillation destructive des branches et du bois de la plante. Cette huile a été largement utilisée en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et d'autres maladies de la peau.

L'huile de cade distillée est utilisée comme parfum pour les savons, les détergents, les crèmes, et les lotions (**Medini et al., 2009; Zouaoui, 2016**).

I.5. Effets antimicrobiens de la plante *Juniperus oxycedrus*

De nombreux chercheurs représentent une activité antimicrobienne de *Juniperus oxycedrus*.

Selon **Digrak et al (1999)**. Qui ont étudié le pouvoir antimicrobien et antifongique de l'extrait de différentes organes de cette plante (feuilles, fruits, écorce, résine). Ils ont constaté que ces extraits ont la capacité d'inhibés la croissance de plusieurs bactéries.

Selon **Marino et al (2010)**. Qui ont étudié l'effet in vitro d'extrait de branches d'espèces de *Juniperus* de Turquie sur le biofilm de *Staphylococcus aureus*, l'extrait de branche de cette dernière a montré une bonne activité antibactérienne sur les deux souches de *S. aureus* qui ont étudiée.

L'étude de l'activité anti oxydante et antimicrobienne de l'extrait des branches de cinq espèces de *Juniperus* de Turquie. On a utilisé les souches suivantes comme indicateur pour tester l'activité antibactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermodis*, *Entérocoques hirae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*), cette étude montre un effet inhibiteur contre les bactéries Gram positif (**Taviano et al., 2011**).



Chapitre – II

Huiles essentielles

II.1. Historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (**Baser et Buchbauer, 2010**). Les huiles essentielles sont des substances naturelles connues depuis des millénaires pour leur action bénéfique sur l'homme. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Bazizi, 2017**).

II.2. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires, lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides issues et produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes (**Kalembe et Kunicka, 2003 ; Lahlou, 2004**).

Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (**1965**), les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. » (**Bruneton, 2009**).

II.3. Répartition et localisation

II.3.1. Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs. Il y a 17500 espèces aromatiques. Les espèces capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité de familles ex : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Zingiberaceae (**Bruneton, 2009**).

Les huiles essentielles peuvent être présentées dans différents organes végétaux, comme celles des fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle), le bois (bois de rose), écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade). Pour certaines HE comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée (**Boukhatem, 2019**).

II.3.2. Localisation

Les huiles essentielles sont contenues dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante :

- Les cellules à huiles essentielles : chez les Lauracées et les Zingibéracées
- Les poils sécréteurs : chez les Lamiacées
- Les poches sécrétrices : chez les Myrtacées et les Rutacées
- Les canaux sécréteurs : chez les Apiécées et les Astéracées (**Mehani, 2015**).

II.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques présentent des structures et des fonctions chimiques diverses (**Lahlou, 2004**). Elles renferment majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et/ou des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane et parfois des composés d'origines diverses (**Couic-Marinier ;Lobstein, 2013**).

II.4.1. Les composés terpéniques

Il s'agit d'une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Ils sont formés à partir de combinaison de 5 atomes de carbone (C_5) appelée isoprène, ils peuvent être subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en deux sous-groupes principales représentent la majorité des composés terpéniques : mono-terpènes et sesquiterpènes (**Bakkali, 2008**).

II.4.1.1. Mono terpènes

Ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques (C_{10}) et constituent parfois plus de 90% des huiles essentielles avec une grande diversité de structures, Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bi cycliques (**Bakkali, 2008**).

II.4.1.2.Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont formés de l'assemblage de trois unités d'isoprène (C_{15}). Leur structure et leur fonction sont identiques à celles des mono terpènes (**Bakkali, 2008**).

II.4.2.Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les terpénoïdes, Ce sont très souvent des allyles et des propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle, ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) étant au moins pour les plus simples d'entre elles entraînables par la vapeur d'eau (**Bruneton, 2009**).

II.4.3. Composé d'origine diverse

Ce sont des produits de faible poids moléculaires entraînés lors d'hydro distillation (les carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters) (**Bourrain, 2013**).

II.5. Propriétés et caractéristiques des huiles essentielles

II.5.1. Propriétés physicochimiques

Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (sauf les huiles essentielles de girofle, cannelle). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée, solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, l'éther, elles sont liposolubles. Leur point d'ébullition varie de 160 °C à 240 °C. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau ; elles peuvent conférer leur odeur à l'eau (eau distillée florale). Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation.

II.5.2 Propriétés pharmacologiques et activités biologiques

- **Pouvoir antibactérien**

L'activité antibactérienne est due à la richesse des huiles essentielles en substances inhibitrices (les phénols) qui ont un pouvoir antibactérien important (**Benkherara et al., 2011**). Les huiles essentielles peuvent se solubiliser dans les membranes cellulaires bactériennes, grâce à leurs propriétés lipophiles ce qui entraîne l'augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires. Les huiles essentielles de thym, origan, menthe, cannelle, salvia et clou de girofle ont un pouvoir antibactérien intense (**Boutabia et al., 2016**).

- **Pouvoir antivirale**

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (phénol et monoterpénoles) contenues dans les huiles essentielles. Ces dernières possèdent des propriétés antivirales intéressantes, elles peuvent pénétrer dans l'enveloppe des virus et sont plus actives sur les virus enveloppés, ceux qui leur confèrent la capacité de combattre certaines pathologies virales. Comme l'huile essentielle d'arbre à thé, de thym, de romarin (**Buronzo, 2008 ; Hélène, 2015**).

- **Pouvoir antifongique**

Les huiles essentielles constituent une source potentielle pour des nouveaux médicaments antifongiques. Elles présentent une efficacité anti-fongique qui pourrait être avantageusement exploitée en thérapeutique. On utilise les huiles essentielles de citron ou de lavande (**Peralta et al., 2015**).

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule (**Cox et al., 2000 ; Jouault ,2012**).

- **Pouvoir antiparasitaire**

Les huiles essentielles constituent des phénols et des alcools mono terpéniques possèdent une action antiparasitaire puissante. Certaines huiles essentielles comme le géranium, la citronnelle, la menthe et la lavande sont efficaces pour protéger des attaques des insectes (**Cavalli, 2004 ; Fekih, 2014**).

- **Pouvoir antiseptique**

L'activité antiseptique des huiles essentielles leur confère des propriétés désinfectantes et antiseptiques. Les huiles essentielles constituent les aldéhydes et les terpènes qui s'opposent à la prolifération des germes pathogènes. Les huiles essentielles antiseptiques : cannelle, thym, girofle, lavande, eucalyptus (**Duraffourd, 2002 ; Muther, 2015 ; Desramaux, 2018**).

- **Pouvoir insecticide**

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation est l'une des méthodes de lutte efficace contre les ravageurs. Ces huiles essentielles agissent par diffusion, c'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées (**Koumagalou, 1992 ; Isman, 2000**).

- **Pouvoir anti-inflammatoire**

Les huiles essentielles constituent des aldéhydes qui possèdent la propriété de combattre les inflammations. Comme l'huile essentielle de Gingembre et l'huile essentielle de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires (**Buronzo, 2008 ; Mayer, 2012**).

- **Pouvoir antispasmodique**

Les esters et les éthers sont responsables de l'action antispasmodique des huiles essentielles. L'huile essentielle de verveine, marjolaine, thym et camomille diminuent ou suppriment les spasmes gastro-intestinaux et augmentent les sécrétions digestives (**Bruneton, 2016**). Les molécules lipophiles se fixent sur la membrane des cellules musculaires lisses et entraînent une inhibition de l'entrée du calcium dans les cellules ce qui aboutit à une relaxation des fibres lisses (**Duraffourd et Lapraz, 2002 ; Aurore, 2016**).

- **Pouvoir calmant, anxiolytique**

Les aldéhydes contenus dans les huiles essentielles présentent des propriétés intéressantes qui agissent grâce à leur fort pouvoir négatif. Elle permet de calmer, détendre ou faciliter le sommeil ou au contraire, stimuler le système nerveux. Comme l'huile essentielle de Mélisse, de Verveine (**Aurore, 2016 ; Vangelder, 2017**).

- **Pouvoir cicatrisant**

Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes pour soigner les blessés. Les cétones ont un pouvoir accélérant la vitesse de réparation tissulaire par un processus de régénération cellulaire et induisent la cicatrisation des plaies, brûlures et ulcères, comme l'huile essentielle de lavande vraie, citron, romarin, eucalyptus (**Franchomme et al., 2001 ; Fekih, 2014**).

II.6.Procédés d'extraction des huiles essentielles

IL existe plusieurs méthodes d'extraction traditionnelles ou modernes. Cette diversité est due à la variété des matières et à la sensibilité de leurs constituants. Donc le choix de l'extraction dépend de la nature de la matière végétale et leur caractéristiques physico-

chimiques de l'essence à extraire et aussi l'usage de l'extrait (Guerrouf, 2017; Bouyahyaoui, 2017).

II.6.1. Hydro distillation

La méthode la plus simple et la plus ancienne d'extraction des huiles essentielles.

Il s'agit d'immerger directement le matériel végétal dans un alambic rempli d'eau qui ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant, le mélange d'huile - eau se sépare par différence de densité (Voir Fig 2) .L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, donc elle surnage au-dessus de l'hydrolat (Guerrouf, 2017).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants.

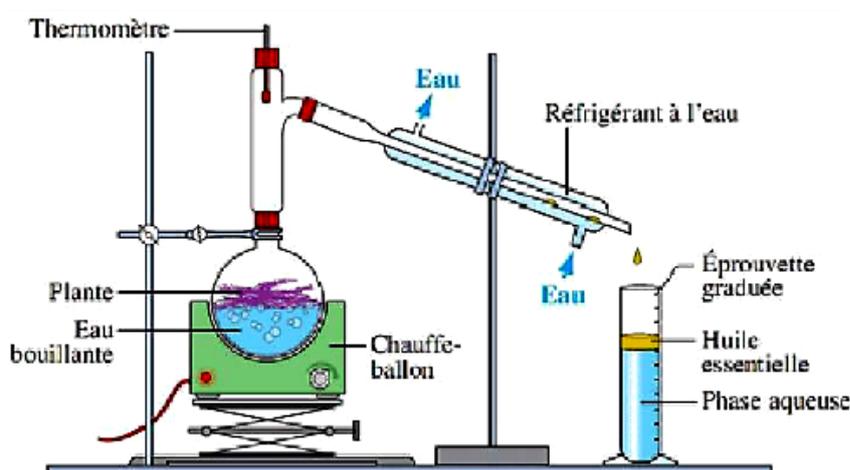


Figure 2 : Montage d'extraction par Hydro distillation selon (Guerrouf, 2017).

II.6.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction le matériel végétal chargé dans un alambic est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération dans l'eau. La vapeur injectée traverse la plante depuis la base de l'alambic jusqu'au haut, cette vapeur fonctionne comme des agents qui brisent les pores de la matière première et en libèrent l'huile essentielle. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (Voir Fig 3).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques. Evite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant

nuire à la qualité et le parfum de l'huile obtenue (Boukhatem *et al.*, 2019; Hesham *et al.*, 2016).

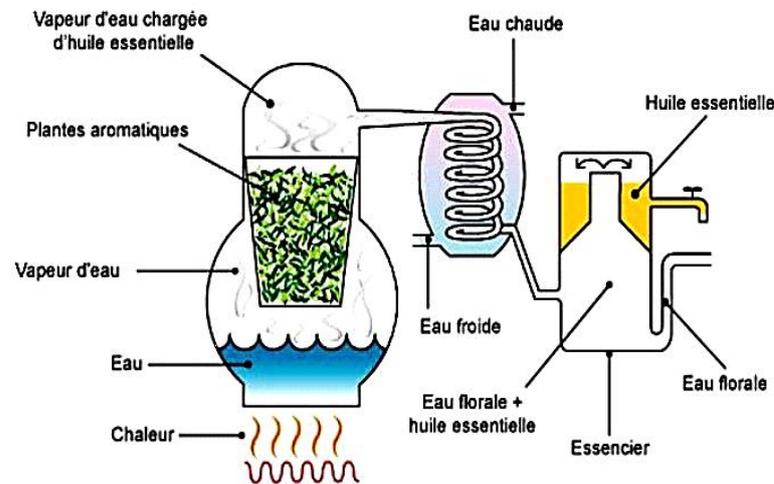


Figure 3: Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau selon (Guerrouf, 2017).

II.6.3. Hydro diffusion

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Le flux de vapeur traversant la matière végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant (Voir Fig 4).

L'avantage de cette technique est traduit par un temps réduit ce qui rend moins dommageable pour les composés volatils, donc elle permet l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (Bazizi, 2017; Daoui-Mokaddem, 2012).

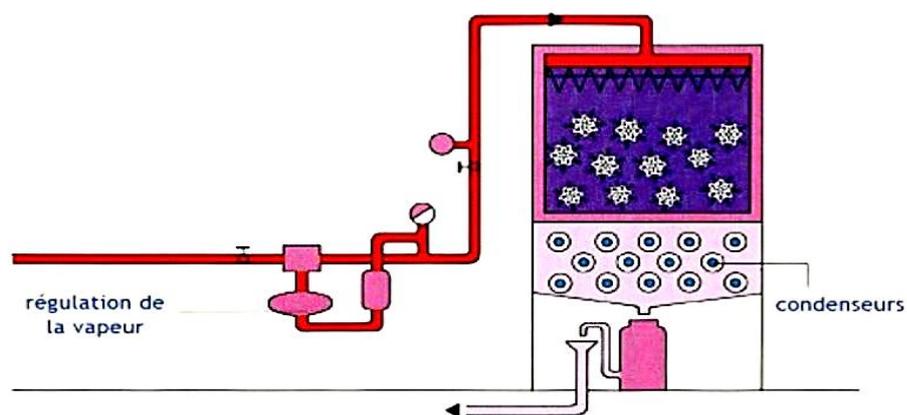


Figure 4 : Montage d'extraction par hydro diffusion selon (Guerrouf, 2017).

II.6.4. Expression à Froid

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes par traitement mécanique sans chauffage.

Elle consiste à éclater ou abrasée les minuscules vésicules et les poches à essences par des racleurs mécaniques. L'application d'une pression sur les parois du fruit entraîne l'extraction du jus qui va être transporté jusqu'au collecteur pendant que l'essence est extraite de la peau et collectée à l'aide d'un courant d'eau, le mélange eau-essence est ensuite séparé par décantation (**Voir Fig 5**).

L'avantage de cette méthode lié a l'obtention de l'huile sans modification chimique causée par la chaleur (**Boukhatem et al., 2019 ; Mnayer, 2014**).



Figure 5 : Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid selon (**Guerrouf, 2017**).

II.6.5.Extraction par solvant

Ce procédé consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages fréquents, le solvant va se remplir en molécules aromatiques et envoyé par la suite au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé concrète. Cette dernière pourra être brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour extraire les cires végétales. On obtient une "absolue" après une dernière concentration (**Voir Fig 6**).

Les rendements sont généralement plus importants par rapports à la distillation (**Lucchesi, 2005**).

Le choix du solvant dépend de la partie de la plante à utiliser pour l'extraction et la température d'ébullition (**Hamid et al, 2011**).

Elle est utilisée pour les organes végétaux qui présentent une faible concentration en essence ou pour les essences que l'on ne peut pas extraire par distillation (Nedjai et Nedjai, 2017).

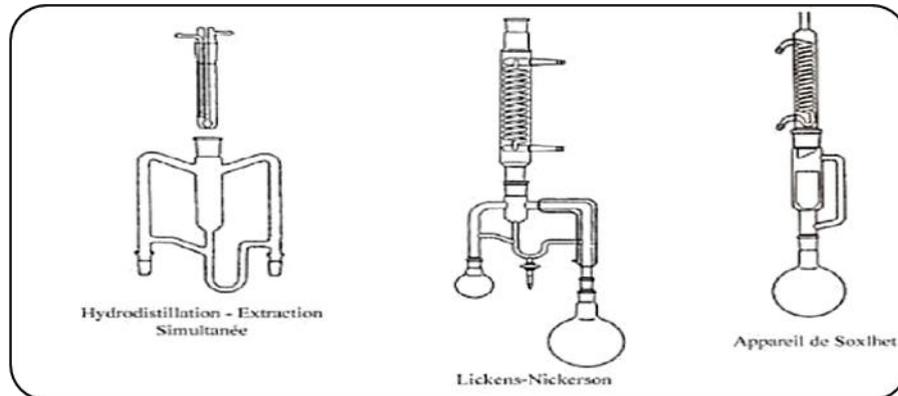


Figure 6 : Différents types d'extraction par solvants volatils selon (Lucchesi, 2005).

II.6.6.Extraction par micro ondes

Ce processus d'extraction utilise des micro-ondes pour exciter les molécules d'eau dans les tissus végétaux provoquant la rupture et la libération de l'huile essentielle piégée dans le tissu extracellulaire des plantes.

Elle a été développée et rapportée par de nombreux auteurs comme une technique pour extraction d'huiles essentielles afin d'obtenir un bon rendement de l'essence et de réduire le temps de l'extraction (Voir Fig 7). Cette technique a également été appliquée pour l'extraction des saponines de certaines plantes médicinales (Hamid et al., 2011).

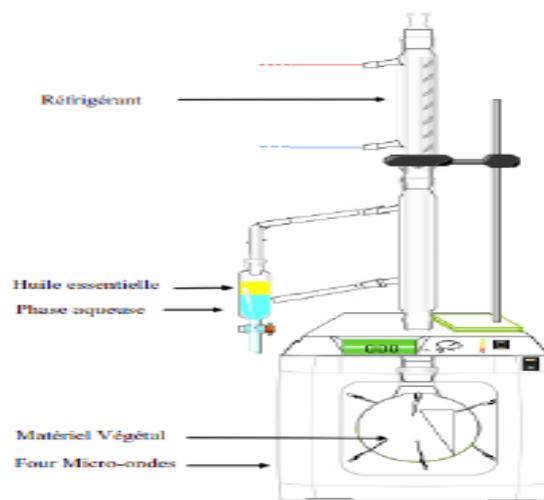


Figure 7: Extraction par micro-ondes selon (Guerrouf, 2017)



Chapitre – III

Huile de Cade

III.1. Description et caractéristiques de l'huile de cade

C'est un liquide visqueux de couleur noire ou brune foncée, d'une odeur résineuse empyreumatique très forte, d'une saveur âcre très-désagréable, presque caustique, riche en molécules aromatiques, analogue à celle du goudron, produite par la combustion du bois de *Genévrier oxycèdre* « *Juniperus oxycedrus* » (Joanneau , 1857; Dechambre, 1823).

Huile de cade, partiellement soluble dans l'alcool à 90°mais insoluble dans l'eau.par contre, elle se dissout entièrement dans de nombreux solvants organiques (l'éther, acide acétique cristallisé, le benzène et le chloroforme...). Elle est miscible aux huiles, aux graisses et à la vaseline (Belliot, 2007).

Selon l'Association Française de Normalisation, l'huile de cade doit avoir une densité comprise entre 0,9 à 1 à 20 °C. Son pH allant de 3,28 à 3,69 respectivement pour l'huile de cade diluée et pure.

III.2.Procédés d'extraction de l'huile de cade

Il existe deux types de distillation :

III.2.1.Distillation sèche (distillation per descensum)

C'est un procédé utilisant une température d'environ 200°C à 250°C permettant de récupérer l'huile s'écoulant du bois.

Le principe de carbonisation est de couper ce bois en morceaux de 20 ou de 30 centimètres de long, et de mettre le bois à distiller dans un pot à fond percé, fournit d'un couvercle, puis celui-ci est placé sur l'ouverture d'un autre pot. Tous les joints sont alors luttés. L'ensemble est ensuite placé dans une fosse, le pot supérieur devant dépasser de la surface du sol. Autour de ce dernier, on allume un foyer. Sous l'effet de la chaleur, le bois à distiller exsude et le distillat s'écoule à l'intérieur du pot inférieur (Voir fig 8).

Une décantation est réalisée durant 8 jours au minimum, permettant ainsi de récupérer le liquide surnageant: l'huile de cade (Burri, 2010 ; Bouchardet, 1873).

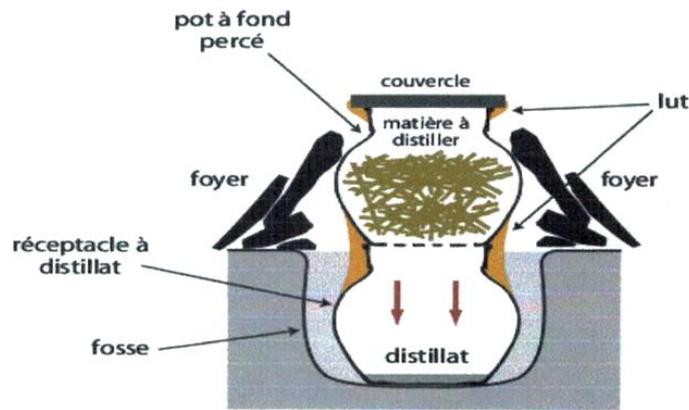


Figure 8 : Distillation per descensum selon (Benlarbi, 2019).

III.2.2. Hydro distillation (distillation per ascensum)

C'est un procédé se fait avec une température très élevée (400°C).

Le principe de cette méthode est de mettre le bois dans une cuve de distillation autour de laquelle, on allume un feu.

L'évaporation commence grâce à une plaque métallique, la vapeur est refroidie puis récupérée dans un récipient de condensation (voir Fig 9). Le liquide condensé reste dans la cuve de décantation une dizaine de jours jusqu'à la formation de trois couches : eau, mélange de huile et d'eau et huile de cade (Belliot, 2007).

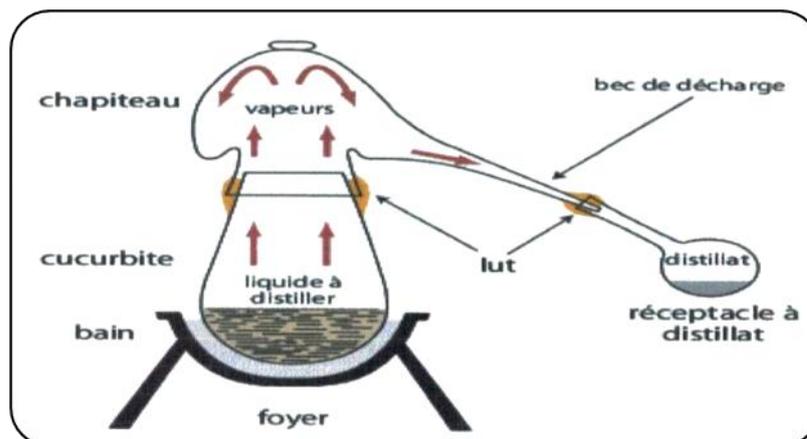


Figure 9 : Distillation per ascensum selon (Benlarbi, 2019).

III.3.Composition de l'huile de cade

L'huile de cade se caractérise par une composition différente riche en molécules apolaires et aromatiques. Les constituants principaux sont :

Le cadinène de formule $C_{15}H_{24}$. Plusieurs isomères sont présents dont le principal est le β -cadinène, les autres (σ -cadinène, γ 1-cadinène et γ 2-cadinène). se présente sous la forme d'un liquide incolore, peu odorant et fluide (**Chalchat et al., 1990**).

Le cadinol, est un alcool sesquiterpénique ($C_{15}H_{26}O$), est très abondant dans l'huile essentielle de cade (40%) (**Chalchat et al., 1988**) (**Voir Fig 10**).

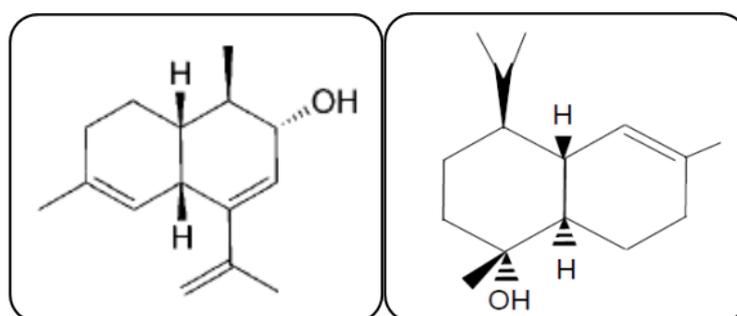
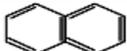
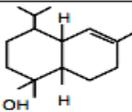
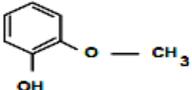
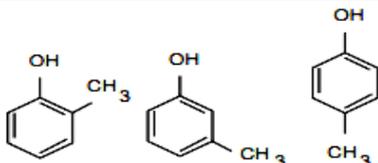
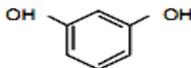


Figure 10 : Structure de β -cadinène (à gauche) et cadinol (à droite) selon (**Belliot, 2007**).

L'huile de cade contient aussi : (**Voir Tab 01**).

- Des hydrocarbures cycliques et polycycliques : benzène, toluène, naphthalène, méthyle et phénanthrène.
- Des phénols dont le gäiacol, le crésol et la résorcine.
- Des acides pyroliigneux dont l'acide acétique (**Belliot, 2007**).

Tableau 01 : Composants l'huile de cade selon (Belliot, 2007).

Nom	Formule brute	Formule développée
Benzène	C_6H_6	
Toluène	$C_6H_5CH_3$	
Naphtalène	$C_{10}H_8$	
Cadinène	$C_{15}H_{24}$	Mélange de 3 isomères
Cadinol	$C_{15}H_{26}O$	
Gaïacol	$C_7H_8O_2$	
Crésol	C_7H_8O	
Résorcine	$C_6H_6O_2$	

III.4. Utilisation de l'huile de cade

III.4.1. Utilisation cosmétique

L'emploi de l'huile de cade dans les soins capillaires est par voix externe, cette dernière peut être présentée sous forme de shampoing afin de traiter les infections du cuir chevelu telles que : les pellicules, psoriasis et les croûtes de lait ainsi que diminuer les démangeaisons et les irritations, comme elle s'avère nécessaire au traitement des cheveux secs. Ainsi que l'un des divers usages de huile de cade, la préparation de produits cosmétiques (savon ou gels douche, crème) (Belliot, 2007).

III.4.2. Utilisation en médecine humaine

L'huile de cade est utilisée en médecine humaine pour le traitement de diverses maladies telles que lithiase biliaires, de néphrites chroniques, Elle est conseillé aussi pour traité les angines et combattre l'asthénie est aussi connue pour ses vertus prophylactiques.

Au niveau du tube digestif comme anti-diarrhéique et antihelminthique (Bensegueni, 2001).

En dermatologie utilisé pour traiter l'eczéma chronique et d'autre maladie de la peau tandis que (kératoses, névrodermites, acné et psoriasis) (**Loizzo et al., 2007**).

III.4.3. Utilisation en médecine vétérinaire

L'huile de cade est employée en médecine vétérinaire depuis longtemps. Il possède des propriétés antiseptiques, antiparasitaires permettent des traitements préventifs mais aussi curatifs dans le traitement des maladies cutanées contre la gale, les teignes, et l'eczéma des animaux (**Guibert, 1860 ; Benlarbi, 2019 ; Zouaoui, 2016**).

Elle est utilisée contre l'eczéma des chiens ou des chats ou encore des bovins (**Chuyen, 1985**). C'est le remède par excellence employait contre la gale du mouton, du cheval et du chien. une goutte par jour, déposée sur les points malades, suffit pour guérir la maladie en moins d'une semaine, et prévenir la chute de la laine et contre les diverses affections herpétiques des animaux, les ulcères, les larves des plaies. Il est aussi utilisé chez les chevaux, en application locale, sur les paturons pour traiter la gale de boue et sur les sabots pour traiter le pourrissement des fourchettes (**Bouchardat, 1873 ; Poudret, 1985**).

L'huile de cade possède en outre une action répulsive contre les tiques, les mouches et divers insectes ce qui peut contribuer à la prévention de maladies systémiques parfois graves véhiculées par ces parasites (**Poudret, 1985**).

III.4.4. Utilisation en pharmacologie

L'huile de cade possède différentes actions pharmacologiques. elle est utilisée comme antiseptique, parasiticide et antifongique pour traiter certaines affections de la peau. Elle cicatrise les plaies, coagulent le sang, atténuent les ulcères (**Zouaoui, 2016 ; Bouyahmed, Ibelaiden, 2018**). Elle existe en pharmacie sous forme de pommade mélangée avec des corps gras ou de la glycérine pour le traitement des (kératoses, eczémas, névrodermites...). Elle est utilisé aussi dans des solutions dermatologiques à application cutanée et conseiller dans le traitement du psoriasis, des dermites séborrhéiques, et permet de diminuer les démangeaisons et les irritations (**Dechambre, 1870 ; Benlarbi, 2019**).

L'huile de cade est utilisée, dans le traitement des végétaux et des animaux pour assurer la destruction des parasites, elle est à la fois insecticide et phytocide (**Chuyen, 1985 ; Dechambre, 1870**).

III.5. Toxicité

L'huile de cade contient des substances toxiques provoquant des intoxications survient surtout, en cas de l'ingestion d'une quantité importante d'huile de cade ou à une application cutanée prolongée, cette huile contient des phénols qui se sont révélés toxiques et peuvent causer des effets potentiellement mortels (Skalli et al., 2014 ; Achour et al.,2011).

- **Mécanisme d'action**

Le phénol reste le composant le plus toxique et probablement responsable de la majorité des symptômes systémiques observés au cours de l'intoxication. Son absorption est rapide, son métabolisme est essentiellement hépatique. La toxicité systémique est multi-viscérale et s'expliquerait par la formation de métabolites cytotoxiques. L'hydroxylation des phénols produit des radicaux semi quinones dont l'oxydation entraîne la formation de radicaux libres toxiques lorsque la quantité ingérée dépasse les capacités de conjugaison hépatique (Achour et al., 2011).

Les effets secondaires du phénol concernent une grande variété de systèmes organiques tels que le système gastro-intestinal, les systèmes nerveux central et périphérique les systèmes cardiovasculaire, hépatique et biliaire, les voies urinaires, la peau et les appendices, le système respiratoire (Skalli et al., 2014).



Partie expérimentale



Chapitre – IV

Matériel et méthodes

IV. Matériel et méthodes

IV.1 .Objectif, lieu et durée du travail

IV.1.1. Objectif

L'objectif de notre travail est d'une part, la détermination de l'activité antibactérienne de l'huile de cade. D'autre part la comparaison de cette activité avec huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*.

IV.1.2. Date et lieu de travail

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie et du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret. Pendant la période qui s'étale de : 09 mars 2020 au 15 mars 2020 on c'est arrêté à cause des répercussions du corona virus.

IV.2. Matériel

IV.2.1. Matériel végétal

L'huile de cade est obtenue à partir de trois régions : Tiaret- Ghardaïa- Djelfa .Il s'agit d'un produit commercial, vendu par les herboristes.

La plante : *Juniperus oxycedrus* ,récolté à partir de la foret de Tiaret .

IV.2.2. Matériel biologique

- **Les souches bactériennes**

Les bactéries qui ont été testés pour détecter l'activité antibactérienne de l'huile de cade et huile essentielle de genévrier sont :

- *Staphylococcus. aureus* et *Escheriachia. coli* (laboratoire de microbiologie de l'université Ibn khaldoun-Tiaret).

IV.2.3.Matériel du laboratoire

- **Produits et milieux de culture**

Les produits chimiques, les milieux de culture et les réactifs utilisés pour réaliser cette étude sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 02 : Produits et les milieux de culture utilisés.

Produits	Milieux de culture
<ul style="list-style-type: none"> •Alcool •Antibiotiques •Disque de papier wattman •Fuchsine •DMSO •Eau distillée •Eau l’oxygénée •Eau physiologique •Ethanol •Galerie API20E •Huile d’immersion •Lugol •Violet de gentiane 	<ul style="list-style-type: none"> •Chapman •Gélose nutritive •Hektoen •Muller Hinton

- **Verreries et appareillages**

Les équipements dont des appareils et des verreries utilisées pour réaliser cette étude sont figurés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Verreries et appareillages utilisés dans notre étude.

Verreries	Appareillages
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ampoule à décanter ▪ Anse de platine ▪ Ballons ▪ Béchers ▪ Boîtes de Pétri ▪ Barreau magnétique ▪ Capsule ▪ Chauffe ballon ▪ Eprouvettes ▪ Ecouvillons stériles ▪ Erlenmeyers ▪ Fioles jaugées ▪ Micropipettes ▪ Pipettes ▪ Pipettes Pasteur ▪ Pissette ▪ Spatules ▪ Tubes à essai 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Autoclave (SAMO Clave) ▪ Balance (SARTORIUS Basic) ▪ Bain Marie (MEMMERT) ▪ Etuve (MEMMERT) ▪ Incubateur (Nuve) ▪ Microscope optique (B-350 OPTIKA) ▪ Spectrophotomètre UV (SHIMADZU UV-120) ▪ Plaque chauffante (RTC Basic)

IV.3. Méthodes

IV.3.1. Protocole expérimental

La partie expérimentale a été effectuée en deux étapes :

a – Extraction des huiles essentielles à partir de *Genévrier oxycèdre*.

b – Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de cade brute et l'huile essentielle de Genévrier.

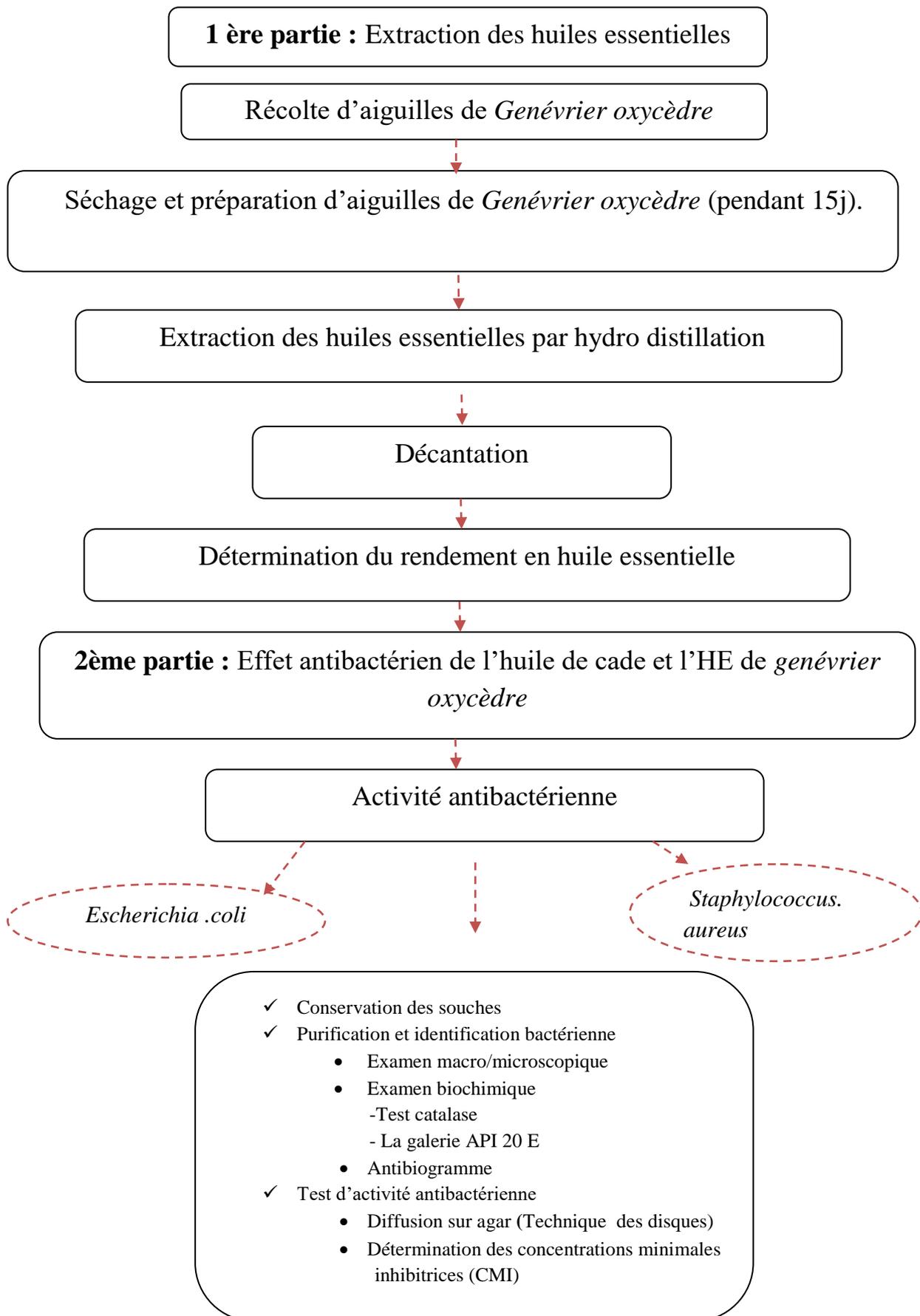


Figure 11 : Principales étapes de notre étude expérimentale

IV.3.2.Extraction de l'huile essentielle

Séchage des aiguilles

Dans un endroit sec et sombre mettre les aiguilles de genévrier pour les sécher à l'air libre pendant 15j.

IV.3.2.1. Extraction par hydro distillation

La technique d'extraction consiste à submerger la matière végétale séchée avec de l'eau distillée après broyage dans un ballon à raison de 100 ml d'eau distillée pour 10 g de matière sèche, le ballon est ensuite chauffé pour une période de 03 à 04 heures fournissant ainsi la vapeur d'eau entraînant les substances volatiles qui se condensent au contact du froid. Les huiles essentielles sont récupérés après condensation, et ainsi le processus d'extraction s'accomplit après épuisement de la matière sèche préparée. Après obtention des huiles essentielles, ces dernières sont conservées dans des flacons en verre enveloppés de papier aluminium à température située entre 4 à 6 °C pour empêcher la dégradation des huiles essentielles qui peut être causée par l'action de la lumière et l'air (**Kheyar et al., 2014**).

IV.3.3.Purification et identification bactérienne

L'identification des souches microbiennes nécessite une série d'étapes, le plus souvent dans un ordre déterminé; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (coloration de gram, test catalase) et par le système API... les résultats obtenus au cours de chaque étape permettant l'orientation des démarches ultérieurs (**Benaissa et Benamrane, 2016**).

- **Examen macroscopique**

Elle permet d'observer la taille, la forme, la couleur et l'aspect des colonies des souches.

- **Examen microscopique**

- **Etat frais**

C'est une méthode rapide consiste à observer entre lame et lamelle une suspension bactérienne au microscope à l'objectif 40.

- **Coloration de Gram**

C'est la coloration de référence en bactériologie, elle permet d'observer la forme des bactéries (coque, bacille, coccobacille), ainsi que le type de coloration de Gram positif ou négatif (Benaïssa et Benamrane, 2016).

- **Examen biochimique**

- **Test catalase**

Les souches bactériennes sont examinées pour leur activité catalase qui a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H₂O₂ à 3%.

Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles d'aires en 10 secondes.

- **La galerie API 20 E**

La galerie API 20 E comporte 20 micros tubes contenant des substrats déshydratés qui sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les tests. Les réactions produites au cours de la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. La lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture (Benaïssa et Benamrane, 2016).

- **Antibiogramme**

Cet examen se fait de la même manière qu'un aromatochrome ou (l'huile essentiel et l'huile de cade) sont remplacées par les antibiotiques. Des disques d'antibiotiques de Streptomycine et l'acide Nalidixique sont utilisés comme une référence (témoins positifs) pour l'évaluation de la sensibilité des microorganismes testés dans ce travail. Un témoin négatif en l'absence d'un agent antibactérien pour l'évaluation de la sensibilité de bactéries testées dans cette étude. Après incubation à 37° pendant 24h, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm (Kheyar et al., 2014).

IV.3.4. Tests d'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de cade est réalisée par la technique de diffusion des disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont estimées

par la méthode de dilution d'agar. Cette méthode nous permet également de savoir la nature de l'activité antibactérienne d'huile essentielle (bactériostatique ou bactéricide).

IV.3.4.1. Aromatogramme

- **préparation de l'inoculum** pour chaque souche étudiée, l'inoculum à été préparé comme suite:

A partir d'une culture pure de 24h sur un milieu d'isolement racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, décharger par la suite l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% de sel (Na cl). Puis homogénéiser bien la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (10^6 à 10^8 UFC/ ml) à l'aide d'un spectrophotomètre, l'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est très fort. L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum (**Recommandation d'OMS, 2005**).

IV.3.4.2.Méthode de diffusion sur agar (Technique des disques)

La méthode de diffusion ou antibiogramme standard sont les plus utilisées en bactériologie médicale appelé encore méthode de disque. Cette technique consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne de l'huile de cade (**Kheyar et al., 2014**).

La gélose de Mueller Hinton stérile est coulé dans des boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte puis laissées refroidir. L'inoculum bactérien, ajusté à 0.5 Mc Farland et d'une concentration de 10^7 UFC/ml, est frotté sur la totalité de la surface de Mueller Hinton de haut en bas en stries serrées. Un disque stérile de 6 mm de diamètre imprégné de 2 μ l de l'huile a été déposé au centre de la boîte ensemencée. Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 mn et mise à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures (**Mouas et al., 2017**).

IV.3.4.3.Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (**Moroh et al., 2008**). Elle a été effectuée par la méthode de dilution standard sur Mueller Hinton gélosé. Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations de la substance antimicrobienne en milieu solide (**Yakhlef et al., 2011**).

Des séries dilutions (**0.5, 0.25 et 0.125 %**) de l'huile de cade sont réalisées, qui d'abord diluée dans du DMSO, selon les proportions 1/9. 2 ml de chaque dilution ont été versé dans des boîtes de pétri contenant 18 ml des milieux gélosés puis le mélange a été homogénéisé à la main par des gestes circulaires de gauche à droite puis de bas en haut et laissé à refroidir près de la zone stérile du bec bunsen. Des spots de 2 µl d'un inoculum standardisé à 10^8 cellules/ml sont déposés sur la surface des boîtes Pétri qui contiennent les différentes concentrations. Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C (**Yakhlef et al., 2011**).



Chapitre – V

Résultats

V. Résultats

Tous les résultats sont traités par d'autres auteurs à cause des répercussions du covid 19 virus.

V.1. Rendement de l'huile essentielle

Les résultats des différents rendements sont présents dans le tableau suivant :

Tableau 4: Différents rendements de l'huile essentielle de *Genévrier oxycèdre* selon (Mazari, 2009) et (Oumeri et Bensatallah, 2017).

Espèce	Rendement
<i>J.oxycedrus L</i> (Tlemcen)	0,11
<i>J.oxycedrus L</i> (Tiaret)	0,34

V.2. Identification bactériologique et biochimique

Les résultats de l'étude des caractères biochimiques et bactériologiques des souches utilisées sont obtenus par **benaisa** et **benamrane (2016)**.

- *E. coli*

L'observation macroscopique à montré que l'aspect de la bactérie *E. coli* donne des colonies jaunes sur le milieu BGA.



Figure12: Aspect macroscopique d'une entérobactérieensemencée
Sur milieu BGA selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

L'observation microscopique de la bactérie après une coloration de Gram d'un frottis réalisée à partir d'une culture purifiée, a montré que *E. coli* obtenu est en forme de bacille colorée en rose à coloration de Gram négatif. Le test catalase est positif car il ya libération des bulles d'air résultant à la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

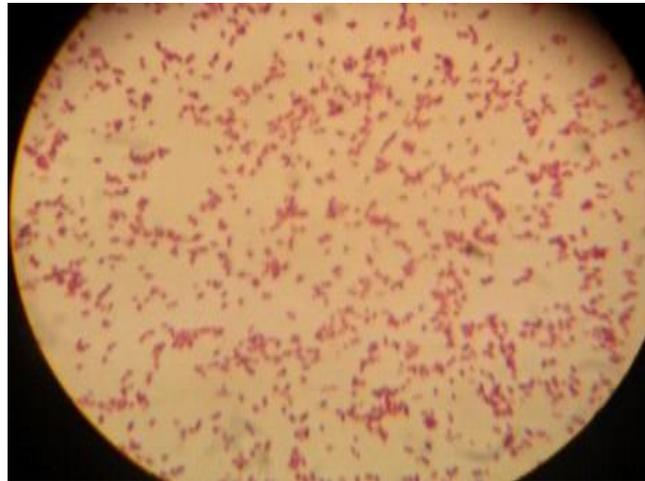


Figure 13 : Observation microscopique d'une entérobactérie après

Une coloration de Gram ($\times 100$) selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

Les résultats de la galerie API 20 E obtenus des bactéries isolées testées sont compatibles avec les caractères biochimiques d'*E. Coli*. Ce ci confirme que la souche isolée est bien *E.coli*.



Figure 14 : la galerie biochimique API 20 E selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

• *S. aureus*

Après incubation de 24h on observe un changement de couleur du milieu Chapman du rouge au jaune, avec des colonies de couleur dorée brillante. Ce qui confirme que la souche est *S. aureus*.



Figure 15 : Aspect macroscopique de *S. aureus* ensemencé sur milieu Chapman selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

L'observation microscopique des bactéries après coloration de gram des frottis, réalisée à partir des cultures purifiées, a montré que les staphylocoques sont des cocci de couleur mauve donc de gram positif disposés en paire pour former des diplocoques et pouvant se présenter sous forme de chainettes parfois longues. Le test catalase est positif car il y'a l'apparition de bulles d'air et dégagement gazeux de dioxygène.

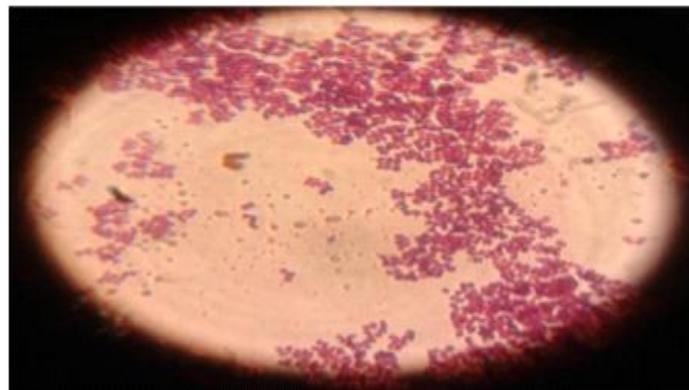


Figure 16 : Observation microscopique de *S. aureus* après une coloration de Gram ($\times 100$) selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

Les résultats de la galerie API 20 E obtenus des bactéries isolées testées sont compatibles avec les caractères biochimiques *S.aureus*. Ce ci confirme que la souche isolée est bien *S.aureus*



Figure 17: La galerie biochimique API *S. aureus* Selon (Benaïssa et benamrane, 2016).

- **Antibiogramme**

Les résultats ont montré une bonne activité des antibiotiques utilisés (streptomycine, acide nalidixique) contre *E. coli* par rapport à *S. aureus*. Le tableau suivant présente les différents D.Z.I obtenus (Oumeri et Bensatallah , 2017) .

Tableau 5 : Différents D.Z.I des souches testées sous l’effet des antibiotiques.

Antibiotique	D.Z.I de <i>S. aureus</i> (mm)	D.Z.I de <i>E .coli</i> (mm)
Streptomycin	17	24
Acide Nalidixique	13	28

Nous avons classé la sensibilité des souches selon le diamètre de la zone d’inhibition (Mebarki ,2010).

Extrêmement sensible: diamètre > 20mm.

Très sensible: diamètre compris entre 15 à 19mm

Sensible: diamètre compris entre 9 à 14mm

Non sensible « Résistante »: diamètre < 8mm

D'après les résultats obtenus par Oumeri et Bensatallah (2017) qui présente un meilleur effet antibactérien de streptomycine vis-à-vis de *S. aureus* avec un diamètre de 17 mm. Par contre le meilleur effet antibactérien de l'Acide Nalidixique observer vis-à-vis d'*E. Coli* dont le diamètre d'inhibition de 28 mm.

V.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

V.3.1.Méthode de diffusion sur agar (technique des disques)

L'activité antibactérienne de l'huile de cade et de l'huile essentielle de cade ont été évaluées en mesurant la zone d'inhibition contre les micro-organismes d'essai. L'activité est mesurée en fonction des diamètres des zones d'inhibitions formés, on a utilisé la technique de diffusion des disques sur milieu gélosé (**Karaman et al, 2002 ; Zouaoui, 2016**).

Après 24 heures d'incubation, les boites imprégnées par l'extrait ont montré des zones d'inhibitions autour des disques de la croissance de toutes les souches testées. (**Voir tab 06**).

Tableau 06: Diamètres d'inhibition en (mm) de l'huile de cade selon (**Zouaoui, 2016; oumeri et bensatallah, 2017**).

Souches Extrait	Huile de cade (mm)	l'huile essentielle de genévrier (mm)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	23	13
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14	16

- **Effet antibactérien de l'huile de cade**

Les résultats enregistrés ont montré que les plus grands diamètres d'inhibition de l'huile de cade ont été observés avec *S. aureus* ATCC 25923 avec une zone de 23 mm et *E. coli* ATCC 25922 avec diamètre de 14 mm, donc *S. aureus* est extrêmement sensible, *E. coli* est sensible à l'huile de cade.

- **Effet antibactérien des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus***

D'après les résultats obtenus par **Oumeri et Bensatallah (2017)**, on remarque que les l'huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* ont une forte activité contre *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 16 mm, par rapport à *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 13 mm pour la même dose.

Selon **Mebarki (2010)** qui classifie la sensibilité des souches aux différents agents antimicrobiens par la zone d'inhibition on constate que la souche bactérienne *E. coli* est sensible à l'huile essentielle de Genévrier et la souche bactérienne *S. aureus* est intermédiairement sensible

- **Comparaison de l'activité antibactérienne de l'huile de cade avec l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus***

L'huile de cade à une forte activité contre *S. aureus* que l'huile essentielle de Genévrier par mais l'huile essentielle de Genévrier à une forte activité contre *E. coli* par rapport à l'huile de cade.



Figure 18 : Test de pouvoir antibactérien de l'huile de cade

Sur *S. aureus* selon (**Zouaoui, 2016**).

V.3.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI a été définie comme la concentration la plus faible des composés pour inhiber la croissance des micro-organismes.

Les valeurs de concentration minimale d'inhibition (CMI) ont également été étudiées pour les micro-organismes qui ont été déterminés comme sensibles à l'huile de cade sur milieu gélose. (**Voir le Tab 07**) (**Karaman et al., 2002**).

Tableau 07 : Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile de cade sur milieu gélose Selon (Zouaoui, 2016).

Extrait	Huile de cade CMI (mg /ml)
Souches	
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	40
<i>E. coli</i> ATCC 25922	40

D'après les résultats on observe que les valeurs de CMI étaient élevées pour l'huile de cade sur la croissance bactérienne à la dilution 40 mg/ml, pour toutes les microorganismes testées (Zouaoui, 2016).



Conclusion

L'huile de cade reste un bon remède et présente un bon effet antibactérien. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de cade est comparé avec celle de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*, vis-à-vis des souches bactériennes gram positives et gram négatives.

Par conséquent l'huile de cade a été largement utilisée dans tous les pays où le Genévrier existe, le plus souvent par voie cutanée contre les infections et en plus dans la composition de divers produits cosmétiques tel que les champings, les gels douche, les crèmes, ces résultats restant préliminaires et afin de les approfondir, d'autres approches et études sont souhaitables à réaliser, il est intéressant de:

- Comparer les diamètres de zone d'inhibitions de l'huile de cade à ceux des antibiotiques.
- D'étudier d'autres propriétés biologiques de cette huile, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales, et anti parasitaires.

Références bibliographiques

Abdellah, F. Laid, B. Hammoudi, S. Benaraba, R. 2018. In vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant activities of *Juniperus oxycedrus* essential oil (Cade oil). International Journal of Innovation Engineering and Science Research. (2):66-76.

Achour,S .Abourazzak ,S .Mokhtari, A .Soulaymani, R .Hida, M .2011.JUNIPER Tar(cade oil) poisoning in new born after a cutaneous application .BMJ Case Reports 10.1136 /bcr.07.2011.4427 :1-3.

Aurore, L .2016. La prise en charge du stress et de l'insomnie en aromathérapie. thèse de Doctorat. . Faculté de Pharmacie. Université de Limoges : 44P.

Bakkali , F. Averbeck, S.Averbeck, D. Idaomar M.2008. Biological effects of essential oil- A review. Food Chem Toxicol. (46): 446-475.

Baser , K-H-C. Buchbauer, G. 2010. Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994P.

Bazizi, M. 2017. Extraction d'huile essentielle d'espece végétale *Salvia Officinalis L.* par hydrodistillation: Caractérisation physicochimique et modelisation parametrique. Memoire de master en génie chimique. Université Badji Mokhtar-Annaba : 36-37 – 9 P.

Belliot, A. 2007. Huile de cade, goudron de houille, ichthyol : Utilisation dermatologiques et cosmétologiques. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Nantes :19-25Pp.

Benaissa, I. Benamrane, Z. 2016. Les infections urinaires chez les femmes âgées et effet antimicrobienne des huiles essentielles de *thymus vulgaris*. Mémoire de master en biologie. Université abdelhamid Ibn Badis - mostaganem: 25-49 Pp.

Benkherara, S. Bordjiba, O. Djahra ,A-B. 2011. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes. . 23 : 72-80.

Bensegueni-Tounsi, L. 2001. Étude "in vitro" de l'effet antibacterien et antifongique de: *Inula viscosa* - *Lawsonia inermis* - *Asphodelus microcarpus* -*Aaloe vera* - *Juniperus oxycedrus*. Thèse de magister en médecine vétérinaire. Faculté des sciences. Université de constantine: 27-28Pp

- Bouchardet, M- A. 1873.** Manuel de matière médicale de thérapeutique et de pharmacie . 480-481Pp.
- Boukhatem, M -N .Ferhat, A .Kameli , A.2019.** Méthodes d'extraction et de distillation des huile essentielles, Revue agrobiologia .9(2) :1653- 1659.
- Bourrain, J-L. 2013.** Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques Revue français d'allergologie .53: 30-32.
- Bouyahyaoui, A. 2017.** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse de doctorat en biologie. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem: 25P.
- Bruneton, J. 2009.** Pharmacognosie. phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier, 4^{ème} Edition : Tec & Doc., Paris.567-575 Pp.
- Bruneton, J . 2016.** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales . Lavoisier ; 5ème Edition.. 1504P .
- Buronzo , A-M. 2008.**Grand guide des huiles essentielles :santé, beauté, bien-être . 24P.
- Burri, S. 2010.** Production et commerce de la poix et de l'huile de cade en basse Provence au Moyen Âge. anthropobotanica. pp 12-14.
- Cavalli, J-F. Tomi ,F. Bernardini, A-F.Casanova, J. 2004.** Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and 13C-NMR spectroscopy: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. Phytochem. Anal. 15(5): 275-279.
- Chalchat, J-C. Garry, P- R. Michet, A. 1988.** Chemical composition of the hexane fraction of empyreumatic wood oil from *juniperus oxycedrus L.* and *Juniperus phoenicea L.* Flavour and fragrance journal. 3:19-22.
- Chalchat, J-C. Garry,R-P . Michet , A. Peyron,L. 1990.**Chemical composition of natural and empyreumatic oil and extracts from *Juniperus oxycedrus and Juniperus phoenicea* wood. Journal of Essential Oil Research .2(5):231-236.

Cheriti,A. (1995). Plantes de la pharmacopée traditionnelle dans la région d'El Bayadh (Algérie) .Fitothérapie .66 (6) : 315 –327.

Chuyen, C. 1985. Sur la composition des essences de genévrier commun de l'oxycèdre et du goudron de cade. Thèse de doctorat en pharmacie. Marseille : 49P

Couic-Marinier, F. Lobstein , A. 2013. Composition chimique des huiles essentielles. Actualité pharmaceutiques. Elsevier.525:22-25.

Cox, S- D. Mann, C-M. Markham, J-L. Gustafson ,J-E., Warmington, J-R. and Wyllie, S-G. 2001. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. Molecules. 6: 87-91.

Daoui-Mokaddem, H. 2012. Etude phytochimique et biologique des especes *Eucalyptus globulus* (myralaceae) , *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae) , *Asteriscus maritimus* Et *chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae).Thèse de doctorat en biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar - Annaba : 11-12 Pp.

Dechambre , A. 1870. Dictionnaire encyclopédique des sciences médicales. Harvard,Asselin .431P

Desramaux, M.2018. Huiles essentielles en dermocosmétologie.Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux. U.F.R. des sciences pharmaceutiques : 30P.

Dıđrak, M. İlçim, A. Hakkı , A. M. 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*,*Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. Phytotherapy Research .13 : 584-587.

Djebaili, H. 2013. L'effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelques métabolites secondaires chez deux espèces médicinales: *juniperus oxycedrus* L. (cupreccacées) et *Schinus molle* L. (anacardiaccées). Memoire de magister en biologie. Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Université Larbi Ben Mhidi - Oum EL bouaghi: 36- 38Pp.

Duraffourd, C. et Lapraz, J-C . 2002. Traité de phytothérapie clinique . Ed malonie.Paris. 137-138Pp.

Fekih, N.2014.Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *pinus* poussant en ALGERIE. Thèse de Doctorat. Faculté des Sciences. Université de Tlemcen : 16617Pp.

Franchomme, P.Jollois, R . Penoel, D. 2001. L'aromathérapie exactement. Roger Jollois. 490P

Guerrouf, A. 2017. Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire. Memoire de master en genie chimique. Faculté des sciences appliquées. Université KASDI Merbah- Ouargla : 11-15P.

Guibert, V .1860 . Histoire naturelle et médicale des nouveaux médicaments introduits dans la thérapeutique depuis 1830 jusqu'à nos jours 1860 .171P.

Hafsi, Z. Belhadj , S. Derridj, A. Mevy,j-p. Notonnier, R-A. Tonetto, A.Gauquellin, T.2017. Étude de la variabilité morphologique(Aiguilles,Galbules) du complexe spécifique *Juniperus oxycedrus* L.,le *genévrier oxycèdre* ,au sein de sept populations d'algérie.Revu d'écologie(Terre et vie).72(4) : 353-373.

Hamid, A-A. Aiyelaagbe, O-O. Usman, L-A. 2011. Essential oil: Its medicinal and pharmacological uses .International Journal of Current Research. 3(2) : 86-98.

Hélène, V. 2015. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. Tthèse de Doctorat. Université des sciences pharmaceutiques et ingénierie de la santé : 67P.

Hesham, H- A-R . Abdurahman, H- N. Rosli , M-Y.2016. Techniques For Extraction of Essential Oil From Plants: A Review. Australian Journal of Basic and Applied Sciences .10(16): 117-127.

Isman ,M-B. 2000. Plant essential oil for pest and disease management. Crop Protection. (19): 603-608.

Jacques , G. Paltz, S-A. 1997. « Le fascinant pouvoir des huiles essentielles ». Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".11P.

Jamaledine, M. 2010. Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Jj. phoenicea* & *J. oxycedrus* du moyen Atlas. Mémoire de master en gestion &

conservation de la biodiversité. Faculté des sciences et techniques. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah - Fès : P34.

Johanneau, A .1857. Formulaire pharmaceutique à l'usage des hôpitaux militaires français. Paris .109P.

Jouault, S.2012. La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie : 96P.

Kalemba, D. Kunicka, A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oil. *Curr. Med. Chem.* 10:813-829.

Karaman, I. Sahin, F. Güllüce, M. Öğütçü, H. Sengül, M. Adıgüzel, A. 2002. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology.* 85 (2003) : 231–235.

Kheayar, N. Meridja, D. Belhamel, K. (2014). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian journal of Natural Products.* 2: 18-26.

Koumagalou , B.1992. Le stockage des produits agricoles et tropicaux. 4^{ème} ED. Fondation Aromisa, Wageningen. 8-18Pp.

Lahlou, M. 2004. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oil. *phytotherapy research .* 18(6) : 435-448.

Lboutabia, L. Telailia ,S. Bouguetof, I. Guenadil, F et Chefrour, A.2016. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* 85 : 174 – 189.

Loizzo, M- R. Tundis, R. Conforti, F. Saab, A- M. Statti, G- A. and Menichini, F. 2007. Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oil from Lebanon. *Food Chem.* 105: 572-58.

Lucchesi, M-E. 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la Réunion : 22-23Pp.

- Mansouri, N . Satrani ,B. Ghanmi ,M. El Ghadraoui ,L. Aafi, A. 2011.** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea ssp. lycia* et *Juniperus phoenicea ssp. turbinata* du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(3): 415-424.
- Marino, A. Bellinghieri, V. Nostro, A. Miceli, N. Taviano, M.F. Güvenç, A. Bisignano, G. 2010.** In vitro effect of branch extracts of *Juniperus* species from Turkey on *Staphylococcus aureus* biofilm. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 59 : 470–476.
- Mayer, F. 2012.** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie. Université de Lorraine 26P.
- Mazari, K. 2009 .** Étude phytochimique et pouvoir antimicrobien de *Juniperus phoenicea* L., *Juniperus oxycedrus* L. et *Cupressus sempervirens* L. de la région de Tlemcen. Mémoire de magister en biologie. Université Aboi Bakr Belkaid Tlemcen. 99Pp.
- Mebarki, N. 2010.** Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanessii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne. Thèse de magister. Université M'hamed Bougara- Boumardes: 100P.
- Medini, H. Marzouki H, Chemli, R. Khouja, M.L. Marongiu, B. Piras, A. Porcedda, S. Tuveri, E. 2009.** Comparison of the antimicrobial activity and the essential oil composition of *Juniperus oxycedrus* SUBSP. *macrocarpa* AND *J. oxycedrus* SUBSP. *Rufescens* obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction methods. *Chemistry of Natural Compounds.* 45 (5) :619–620.
- Mehani, M. 2015.** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla. Thèse de doctorat en biologie. Université de Ouargla : 12 P.
- Mnayer, D. 2014.** Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat en sciences. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. Marseille : 11P.
- Mouas ,Y. Benrebaha, F- Z. Chaouia, C. 2017.** Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Revue agrobiologia.* 7(1) :363-370.

Muther, L.2015. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie de CLERMONT FERRAND. . Université Auvergne : 56P.

Nedjai, I. Nedjai, s. 2017. Activité antimicrobienne des huiles essentielles. Mémoire de master .Université A. MIRA- Bejaia : 10P.

Oumer ,I- K. Bensattalah, F. 2017. Extraction des huiles essentielles de *genévrier oxycèrde* et évaluation de ses propriétés antibactériennes dans le massif NADOR (W. Tiaret). Mémoire de master en biodiversité et conservation des écosystèmes forestiers. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Ibn khaldoun - Tiaret: 27-31Pp.

Peralta , M-A.Silva Da. Ortega ,M-G. Cabrera,J-L. Paraje M-G. 2015. Antifungal activity of a prenylated flavonoid from *Dalea elegans* against *Candida albicans* biofilms. *Phytomedicine*. 22(11):975-980.

Poudret , C.1985 . Sur la composition des essences de Genévrier commun, de l'Oxycèdre et du goudron de Cade, Thèse de doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie. Université de Marseille : 22P.

Quezel, P .Santa, S.1962. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris .P 263.

Quezel, p .Gast, M. 1998.Genévrier. *Encyclopédieberbère*. 20: 3016-3023.

Recommandation d'OMS, (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle national. 4^{ème} édition, alger. ins pas. 95P.

Salhi , S . Fadli, M .Zidane, L . Douira, A .2010 .Etude floristique et ethanobotanique des plantes médicinales de la ville de kénitra (Maroc). *Lazaroa*.31(9) :133-146.

Taviano, M. Marino, A. Trovato, A. Bellinghieri, V. La Barbera, T; Güvenç, A. Hürkul, M. De Pasquale,R. Miceli,N.2011.Antioxidant and antimicrobial activities of branches extracts of five *Juniperus* species from Turkey. *Pharmaceutical Biology*. 49(10): 1014–1022.

Vangelder, V .2017. L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte a l'officine .thèse de Doctorat. Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de Lille 2 : 41P.

Yakhlef, G. Laroui , S. Hambaba, L. Aberkane, M-C. Ayachi, A. 2011. Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. *Phytothérapie*. 9(4):209-218.

Zouaoui, S.2016. Effet antimicrobien des extraits de racines de *juniperus oxycedrus* de tlemcen. Mémoire de master en biologie. Faculté des sciences de la nature et de la vie de la terre et de l'univers. Université Abou Bekr Belkaib Tlemcen: 6-12Pp.

Annexe

Composition des milieux de culture et réactifs

Bouillon nutritif (g/l d'eau distillée)

Macération de viande.....	01
Peptone de viande.....	15
NaCl	05

Ph=7,7

Gélose nutritive (g/l)

BioGelytone.....	05
Extrait de viande de bœuf.....	03
Chlorure de sodium.....	08
Agar.....	15

Ph=7,3

Milieu de Muller-Hinton (g/l)

Infusion de viande de bœuf.....	300
Hydrolysate de caséine.....	17,5
Amidon.....	1,5
Gélose.....	17

Ph=7,3

Héktoen (g/l)

Protéase peptone.....	12
Extrait de levure.....	03
Chlorure de sodium.....	05ml

Thiosulfate de sodium.....	05ml
Sels biliaires.....	09
Citrate de fer ammoniacal.....	1,5
Salicine.....	02
Lactose.....	12
Saccharose.....	12
Fuchsine acide.....	0,1
Bleu de bromothymol.....	0,065
Agar.....	14

Ph=7,5

Résumé

Les huiles aromatiques de genévriers ont été utilisées depuis milliers d'années en médecine traditionnelle à plusieurs fins. L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* est une source potentielle d'activité biologique, antibactérienne et antifongique d'origine naturelle. L'huile de cade est produite à partir de la combustion du bois de *Juniperus oxycedrus* originaire de la région méditerranéenne. Sa composition est complexe et contient principalement des sesquiterpènes et des phénols. Elle est utilisée en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma, les soins du cuir chevelu, le psoriasis et d'autres maladies de la peau. L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de cade. Le dépistage antibactérien de l'huile de cade a été effectué par le test de diffusion sur disque et la concentration minimale inhibitrice (CMI). D'après les chercheurs les résultats de l'effet antibactérien révèlent que l'huile de cade possède un effet antibactérien contre toutes les souches testées, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sont les espèces les plus sensibles avec une valeur CMI de 40(mg/ml) sont également inhibées. L'huile de cade avait montré un effet inhibiteur sur la croissance des espèces bactérienne *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

Mots clés : Huiles essentielles ; *Juniperus oxycedrus* ; l'huile de cade ; effet antibactérienne

Abstract

Juniper aromatic oil has been used for thousands of years in traditional medicine for several purposes. The essential oil of *Juniperus oxycedrus* has a potential source of biological, antibacterial and antifungal activity of natural origin. Cade oil is produced by burning *Juniperus oxycedrus* wood originating in the Mediterranean region. Its composition is complex and contains mainly sesquiterpenes and phenols. It is used in human and veterinary dermatology to treat eczema, scalp care, psoriasis and other skin diseases. The objective of this study is to evaluate the antibacterial activity of Cade oil. Antibacterial detection of cade oil was performed by disc diffusion test and minimum inhibition concentration (MIC). According to the researchers the results of the antibacterial effect reveal that cade oil has an antibacterial effect against all strains tested, *S. aureus* and *Escherichia coli* are the most sensitive species with a value of MIC of 40(mg/ml) were also been inhibited. Cade oil had shown an inhibitory effect on bacterial species growth *S. aureus* and *Escherichia coli*.

Key words: Essential oil; *Juniperus oxycedrus*; cade oil; antibacterial effect.