



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La recherche
Scientifique

Université Abbes Laghrour –Khenchela-
Faculté de la science de la nature et de la vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de Master académique
Option : Microbiologie appliquée

Thème

**Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des
huiles essentielles des galbules de *Juniperus phoenicea* L.**

Présenté par :

- * GRIR SOUMIYA
- * LATRECHE CHAHRA

Devant le jury:

- * **Président:** M. RAHAL K. MAA. Univ. Khenchela
- * **Examineur :** M. BOUSSAA AH. MAA. Univ. Khenchela
- * **Promoteur:** Dr. ZERAIB A. MCB. Univ. Khenchela

Année universitaire:

2017/2018



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents que je ne peux jamais remercier

Mes très chers frères : Belgacem, Mahmoud et Walid

À Ma chère amie : Yasmina, Mes remerciements ne pourront jamais égaler ton grand cœur qui m'a apporté du soutien au moment où j'avais besoin d'aide. Tu es mon ange gardien ! Merci encore !

À tous mes amies : Chahra, Khmissa, Ahlem, Elkhensaa et Malak

A toutes les personnes que je porte dans mon cœur.

SOUMIYA





Dédicaces

*C'est avec un grand plaisir Et une grande fierté que je dédie ce
travaille*

A mon cher papa pour ses précieux conseils et encouragements.

*A ma très chère Maman et meilleure amie, qui a œuvré pour ma
réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour
toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

A mon fiancé Mehdi, ma belle mère Fatima et mon beau frère Amine.

A mes chers sœurs et frères pour leurs encouragements et leur aide.

*A mes chers neveux :Amdjed,Iyed et Djawed et mes belles
nièces :Malak, Ghofran et rawan.*

*A mes très chères amies que j'espère de mon dieu les garde ensemble
pour toutes la vie Maissa, Soumiya et yasmina.*

*A mes chères amies : Meriem,Nouha, Rayen, Selma,
Khaoula,Dounia,Romaissa,*

CHAHRA



Remerciement

الحمد لله

Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de mener à bien ce travail. Et d'une façon toute particulière, nous remercions nos chers parents pour leur patience et le bonheur qui nous ont apporté.

Nous tiens à remercier chaleureusement notre promoteur Dr. Zeraïb, Maître de conférences à la Faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbès Laghrour, Khenchela, pour nous avoir fait travailler sur un sujet aussi intéressant et riche. Nous lui sommes reconnaissante tout particulièrement pour la confiance qu'il nous a témoignée et la liberté qu'il nous a laissée.

Nous remercions de façon spéciale Monsieur Boussaa AH, enseignant à Université Abbès Laghrour, Khenchela, qui nous a conseillé, soutenu, dirigé et encouragé dans la pratique de ce mémoire. Que Dieu vous accorde santé, bénédictions et courage pour continuer cette belle œuvre.

Nos remerciements vont également à Monsieur Rahal K, qui a accepté d'être le président de ce mémoire et dont les remarques et commentaires nous ont permis de corriger certaines erreurs et d'améliorer la compréhension de ce mémoire.

Nous remercions aussi tous ceux qui, tout au long de ces années d'études, nous ont encadrés, observés, aidés, conseillés et même supportés.

Que ce soit depuis toujours, depuis plusieurs années ou quelques mois seulement, nombreux sont celles et ceux qui ont participé à notre épanouissement. Nous les remercions sincèrement.

Table des matières

Table des matières

Remerciements.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des figures.....	iii
Liste des abréviations.....	iv
Introduction.....	Page 01
Synthèse bibliographique	
Premier chapitre	
I.Aperçu sur l'espèce étudiée	
I.	Aperçu sur l'espèce étudiée (<i>Juniperus phoenicea</i> L.)..... Page 03
I.1.	La famille des Cupressacées..... Page 03
I.2.	Les genévriers..... Page 04
I.3.	L'espèce <i>Juniperus phoenicea</i> L..... Page 04
I.3.1.	Taxonomie..... Page 04
I.3.2.	Description morphologique..... Page 05
I.3.3.	Répartition géographique..... Page 07
I.3.3.1.	Dans le monde..... Page 07
I.3.3.2.	En Algérie..... Page 07
I.3.4.	Utilisation traditionnelle..... Page 08
I.3.5.	Composition chimique..... Page 08
Premier chapitre	
II.les huiles essentielles	
II.	les huiles essentielles..... Page 10
II.1.	Définition des huiles essentielles..... Page 10

II.2.	Répartition des huiles essentielles dans la plante.....	Page 10
II.3.	Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	Page 10
II.4.	Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	Page 11
II.5.	Composition chimique des huiles essentielles.....	Page 11
II.5.1.	Les terpènes et les terpénoïdes.....	Page 11
II.5.2.	Les composés aromatiques.....	Page 14
II.5.3.	Les composés d'origines diverses.....	Page 14
II.5.4.	Notion de chémotype.....	Page 15
II.6.	Facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.....	Page 15
II.7.	Rôles des huiles essentielles.....	Page 15
II.7.1.	Rôle physiologique.....	Page 15
II.7.2.	Rôle écologique et activités biologiques.....	Page 16
II.8.	Toxicité des huiles essentielles.....	Page 16

Premier chapitre

III.l'activité antibactérienne des HEs

III.	Activités biologiques des huiles essentielles	Page 17
III.1.	Les huiles essentielles comme agents antibactériens.....	Page 17
III.1.1.	Mode d'action.....	Page 18
III.1.2.	Activité bactéricide et bactériostatique.....	Page 19
III.2.	Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	Page 20
III.2.1	Activité liée à la composition chimique.....	Page 20
III.2.2.	Activité liée au microorganisme.....	Page 21
III.3.	La résistance bactérienne aux antibiotiques	Page 21

Partie expérimentale

Deuxième chapitre

Matériel et méthodes

IV.1.	Matériel	Page 22
IV.1.1.	Matériel végétal	Page 22
IV.1.2.	Les souches bactériennes testées.....	Page 22
IV.1.3.	Les antibiotiques.....	Page 22
IV.1.4.	Les milieux de culture.....	Page 23
IV.2.	Méthodes.....	Page 23
IV.2.1.	Méthodes phytochimiques.....	Page 23
IV.2.1.1.	Extraction des huiles essentielles.....	Page 23
IV.2.1.2.	L'eau florale.....	Page 24
IV.2.1.3.	Rendement en HE.....	Page 25
IV.2.2.	Méthodes microbiologiques.....	Page 25
IV.2.2.1.	l'activité antibactérienne.....	Page 25
IV.2.2.2.	L'association des huiles essentielles avec les antibiotiques.....	Page 27

troisième chapitre

Résultats et discussion

V.	Résultats et discussion.....	page 29
V. 1.	Extraction de l'huile essentielle.....	Page 29
V. 2.	Etude de l'activité antibactérienne des HEs de <i>J. phoenicea</i> et de l'eau florale.....	page 31
V.2.1.	La méthode de diffusion sur disque.....	page 31
V.2.1.1.	L'aromatogramme.....	page 31
V.2.1.2.	L'antibiogramme.....	page 33

V.2.2.	La méthode de microdilution.....	page 34
V.3.	Résultats des associations réalisées.....	page 36
V.3.1.	Méthode de diffusion sur disque.....	page 36
V.3.2.	Méthode de microdilution.....	page 37
	Conclusion et perspectives.....	page 44
	références bibliographiques.....	page 46
	Annexes.....	page 66
	Résumé.....	
	Abstract.....	
	

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	Page
01	La classification botanique de l'espèce <i>J. phoenicea</i>	05
02	Les différentes classes des terpènes	12
03	Les souches bactériennes testées	22
04	Résultats du rendement en % des différentes fractions de <i>J. phoenicea</i>	29
05	Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Juniperus phoenicea</i> exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm	31
06	Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm	33
07	Les résultats de l'activité antibactérienne de l'eau florale et les huiles essentielles de <i>J. phoenicea</i> en utilisant la méthode de microdillution	34
08	Résultats de combinaison des HE avec les ATBs en utilisant la méthode de disque	37
09	Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'eau florale de <i>Juniperus phoenicea</i> et les antibiotiques	38
10	Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> et les antibiotiques chez <i>E. coli</i> ATCC 25922	39
11	Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> et les antibiotiques chez <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	40
12	Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> et les antibiotiques chez <i>S. aureus</i>	41
13	Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i> et les antibiotiques chez <i>L. monocytogenes</i> ATCC 25922	42

Liste de figures

N°	Titre de la figure	Page
01	Arbre phylogénétique de la famille des <i>Cupressaceae</i>	03
02	Morphologie de l'espèce <i>Juniperus phoenicea</i> L.	06
03	Structure de quelques terpènes	13
04	Structure de quelques terpénoïdes	13
05	Structures de quelques composés aromatiques	14
06	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	18
07	Montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés	23
08	Résultats de l'extraction et el fractionnement des huiles essentielles en fonction du temps au cours de l'hydrodistillation	29
09	Rendements en HEs fractionnées en fonction du temps de l'hydrodistillation	30

Liste des abréviations

AFNOR	Association française de normalisation
ATCC	American Type Culture Collection
BHIB	Bouillon cœur-cervelle
BMH	Bouillon Mueller Hinton
BMR	Bactérie Multirésistante aux antibiotiques
CFI	Concentrations inhibitrices fractionnaires
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMIs	Concentrations minimales inhibitrices
CMI EFc	concentration minimale inhibitrice de l'eau florale en combinaison
CMI EFs	concentration minimale inhibitrice de l'eau florale seule
CMI HEc	concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle en combinaison
CMI HEs	concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle seule
DMSO	Sulfoxyde de diméthyle
EF	Eau florale
FICI	Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire
LPS	Lipopolysaccharides
MH	Muller Hinton
OMS	Organisation mondiale de la santé
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méthicilline
UFC	Unité Formant Colonie

Introduction

Introduction

Au cours des dernières décennies, plusieurs questions se sont soulevées concernant l'efficacité et la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine. Au fil du temps, la résistance des microorganismes aux antibiotiques se manifestait de plus en plus, et l'utilisation des produits chimiques comme agents antimicrobiens a donné naissance à des maladies infectieuses graves (**Davis, 1994; Service, 1995**).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés (**Muthu et al., 2006**). En effet, au cours de ces dernières années, la recherche de nouveaux procédés basés principalement sur l'utilisation de molécules extraites de façon naturelle a connu un regain d'intérêt dans la plupart des recherches scientifiques.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Bruneton, 1999; Teuscher et al., 2005**). Elles font l'objet d'études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Chalchat et al., 1997; Baser et al., 2001**).

Les plantes aromatiques sources de ces substances sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable. De ce fait nous nous sommes intéressés au genévrier rouge : *Juniperus phoenicea* dans le but d'exploiter de nouveaux composés comme alternatives aux produits chimiques.

Ce travail a pour objet l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* fractionnées en fonction du temps sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, et de réaliser différentes combinaisons de ces fractions d'huile avec des antibiotiques conventionnels à la recherche d'un effet potentiel, synergique, additif ou antagoniste en utilisant la technique de diffusion sur gélose et celle de l'échiquier.

La combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques de synthèse entraîne une meilleure efficacité antibactérienne et permet la réduction de la dose efficace des antibiotiques et des huiles essentielles, en plus elle peut transformer une action bactériostatique en action bactéricide.

Le présent manuscrit comporte trois chapitres :

Dans un premier chapitre est une revue bibliographique, elle comporte une description de l'espèce végétale étudiée, les huiles essentielles. La problématique de la résistance aux antibiotiques sera également présentée dans cette partie.

Le deuxième chapitre du manuscrit présentera le matériel et les méthodes adoptées, ainsi que les résultats obtenus et leur discussion. Nous clôturons ce manuscrit par une conclusion et les perspectives.

Chapitre I

synthèse bibliographique

I. Aperçu sur l'espèce étudiée (*Juniperus phoenicea* L.)

I.1. La famille des Cupressacées

Le genre *Juniperus* appartient à la famille des *Cupressaceae*, qui occupe une place primordiale dans la pharmacopée traditionnelle du Nord de l'Afrique. Cette famille regroupe vingt-neuf genres et plus de 130 espèces. (Christenhusz *et al.*, 2011). Elle a été autrefois divisée entre les Cupressacées sensu stricto (un genre avec des feuilles opposées dans quatre rangs) et les Taxodiacées (feuilles alternées), parmi ces derniers, *Cupressus* (cyprés), *Juniperus* et *Thuja*, sont les plus représentatifs (Achak, 2006; Singh, 2006).

Concernant la classification sub-familiale de la famille des *Cupressaceae* Gadek *et al.* (2000); et Pittermann *et al.* (2012) divisent les *Cupressaceae* en sept sous-familles qui sont: *Cunninghamioideae*, *Taiwanioideae*, *Athrotaxidoideae*, *Sequoioideae*, *Taxodioideae*, *Callitroideae* et *Cupressoideae* (figure 1). Cette division est basée essentiellement sur la morphologie et des analyses de l'ADN chloroplastiques.

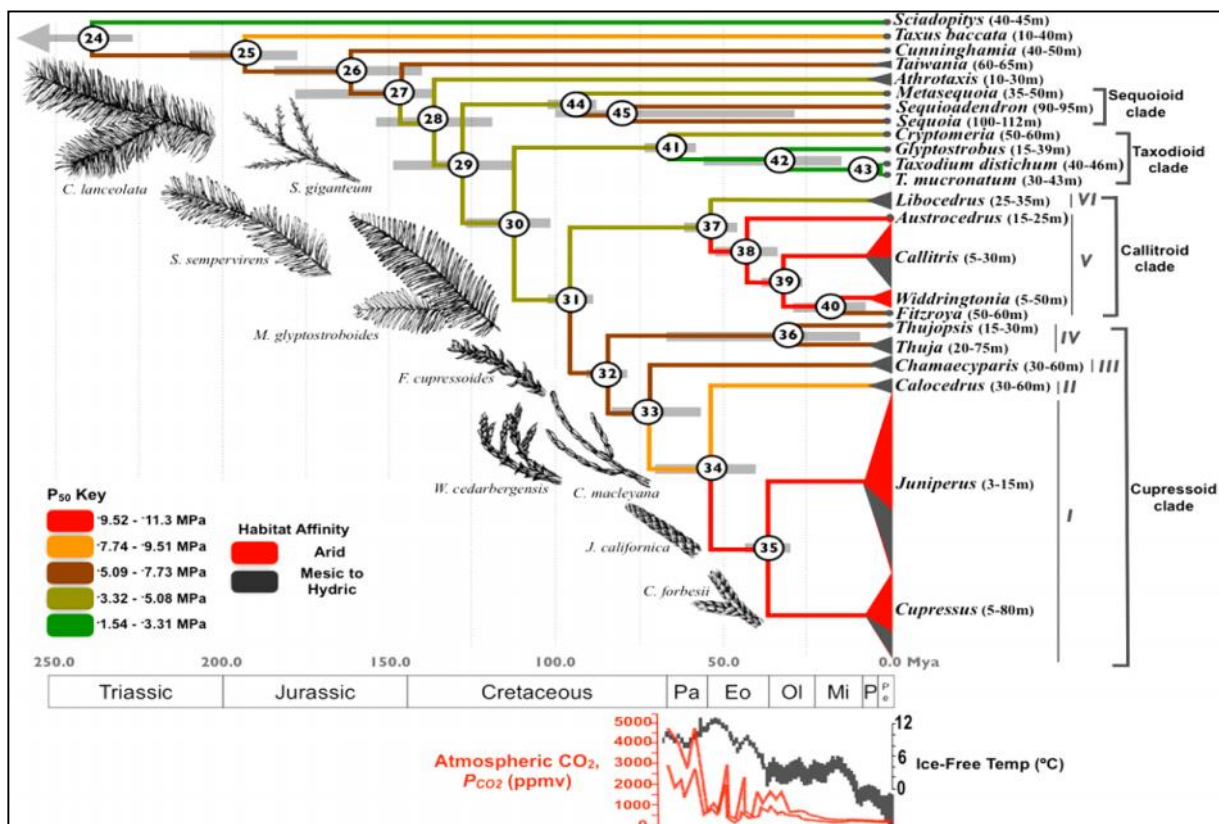


Figure 1: Arbre phylogénétique de la famille des *Cupressaceae* (Pittermann *et al.*, 2012).

I.2. Les genévriers

Le genre botanique des genévriers, nom scientifique *Juniperus*, comporte un grand nombre d'espèces, des variétés rigides aux aiguilles piquantes et des variétés souples au feuillage en écailles. D'origine américaine, asiatique, africaine et européenne, cet arbre atteint couramment 4 à 15 m de haut dans la nature, et même 25 à 30 m pour certaines espèces. Il supporte les sols pauvres, éventuellement calcaires, sablonneux et secs, jusqu'à 4500 m d'altitude.

Le genre *Juniperus* est caractérisé par des cônes très particuliers, appelés galbules, comportant des écailles plus au moins complètement soudées entre elles. Beaucoup d'espèces sont dioïques, au printemps, les pieds mâles portent des petits cônes à l'aisselle des feuilles de l'année précédente. Les trois ovules, à l'aisselle des écailles supérieures du rameau, émettent une goutte micropylaire captant le pollen. Les fleurs se présentent sous la forme de très petits chatons à l'aisselle de feuilles vers le milieu de jeunes rameaux. Le genre *Juniperus* appartient à la tribu *Junipereae* et à la sous-famille *Cupressoideae* (Vidakovi et Soljan, 1991). Il comprend approximativement 75 espèces d'arbustes ou d'arbres persistants réparties en 3 sections: *Caryocedrus* (une seule espèce ; *J. drupaceae* Labill.), *Juniperus* appelé également *Oxycedrus* (14 espèces) et *Sabina* (près de 60 espèces) (Adams, 2014). Il est très répandu dans les régions subtropicales et tempérées de l'hémisphère nord à l'exception de certaines de ses espèces qui s'étendent jusqu'en hémisphère sud notamment en Afrique du Nord et subsaharienne (PROTA, 2008; Mao et al., 2010). En Algérie, cinq espèces indigènes sont énumérées, à savoir, *J. communis*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*, *J. sabina* et *J. thurifera* (Quezel et Santa, 1963). Ce genre est le plus diversifié de la famille *Cupressaceae* et le deuxième taxon le plus varié en conifères après le genre *Pinus* (Debazac, 1991).

I.3. L'espèce *Juniperus phoenicea* L.

I.3.1. Taxonomie

Juniperus phoenicea appartient à la famille des Cupressacées, tribu des junipérées et du genre *Juniperus* (Teibi, 1992). Deux variétés sont connues pour cette espèce: *J. phoenicea* var. *phoenicea* (les graines des cônes sont globuleuses) et *J. phoenicea* var. *turbinata* (les graines des cônes sont turbines) (Achak, 2006). La classification du genévrier de Phénicie est la suivante : (Teibi, 1992; Adams, 2004).

Tableau1 : La classification botanique de l'espèce *J. phoenicea* L.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Pracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous- Embranchement	<i>Gymnospermes</i>
Division	<i>Pinophyta</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressaceae</i>
Sous-famille	<i>Cupressoideae</i>
Genre	<i>Juniperus</i>
Section	<i>Sabina</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i> L.

Autres noms : Genévrier rouge, Genévrier de Lycie, Araâr (en Arabe), Cade endormi. Les provençaux l'appellent « morven » ou genévrier à fruits rouges. L'étiquette *Phoenicea* vient du latin phoenicus qui signifie rouge éclatant ou rouge pourpre qui décrit la couleur des baies (Rameau *et al.*, 2008).

I.3.2. Description morphologique

Le genévrier rouge a été décrit par Linné en 1753 sous le nom de *Juniperus phoenicea*. C'est un arbrisseau ou un arbuste buissonnant sempervirent, ramifié dès la base et touffu, formant une cime allongée (**figure 2A**). Il peut atteindre 8 mètres de haut, l'écorce est d'un brun rougeâtre ou grisâtre, assez épaisse.

Les feuilles sont toutes ou presque squamiformes (de 0.7 à 1 mm), ovales ou rhomboïdales, obtuses, convexes, sillonnées sur le dos, glanduleuses et de couleur vert foncé (**figure 2C**) (Varlet, 1992 ; Jaume Saint-Hilaire, 2010 ; Chazel et Chazel, 2012). Elles sont non articulées, groupées par trois et étroitement imbriquées les unes sur les autres sur 4 ou 6 rangées faisant corps avec le rameau (Varlet, 2008).



A. Aspect du genévrier de Phénicie, Source: **Radivo (2007) et Achak (2006)**.



B. Fleurs et feuilles de *J. phoenicea*
(**Bouilet, 2007**)



C. Feuilles et fruits de *J. phoenicea* (**Nedjimi et al., 2015**)

Figure 2 : Morphologie de l'espèce *Juniperus phoenicea* L.

Les fleurs mâles et les fleurs femelles sont souvent réunies sur les mêmes pieds (rarement sur des individus différents) (**figure 2B**). Les premières forment de très nombreux petits chatons ovales ou arrondis, munis d'écaillés pédicellées, portés sur de courts pédoncules feuillés et disposés latéralement le long des rameaux. Les fleurs femelles sont beaucoup moins nombreuses, leurs écaillés sont épaisses, aigues et disposées sur 4 rangs (**Brochant de Villers et al., 2008**). La floraison s'étend de février à avril et finit par produire de fausses baies sphériques rouge sombre à maturité (**Chazel et Chazel, 2012**).

Les fruits, improprement qualifiés de baies, sont d'abord de couleur verte virant au brun rouge luisant à maturité (au bout de 2 ans), de forme globuleuse et charnue, d'un diamètre de 7 à 10 mm, à surface irrégulière (**figure 2C**) (**Brochant de Villers et al., 2008 ; Huguet, 2008 ; Varlet, 2008**). Leur chair est ferme, sèche, fibreuse, jaune teinté de vert puis de brun, à odeur forte et contenant de 4 à 9 graines ovales, aux extrémités aigues avec une enveloppe dure (**Seigue, 1985 ; Varlet, 2008**). La période de fructification a lieu de septembre à décembre (**Varlet, 2008**).

I.3.3. Répartition géographique

I.3.3.1. Dans le monde

Le genévrier de Phénicie est une espèce dont l'aire de répartition est circumméditerranéenne, il se trouve aussi bien dans certaines régions du littoral que sur les basses montagnes dont l'altitude ne dépasse pas 2000 m (**Ait Youssef, 2006 ; Gandini, 2006**). Au niveau mondial, il se produit en Europe méridionale (sud de la France, l'est du Portugal, Espagne), en Asie tempérée et subtropicale (Turquie, Chypre, l'ouest de l'Arabie Saoudite, Israël, Jordanie), dans l'océan atlantique (îles Canaries) et en Afrique du nord (Algérie, Maroc, Tunisie, Lybie et Egypte) (**Seigue, 1985 ; Dakki, 2003 ; Mazur et al., 2003 ; Achak et al., 2009**).

I.3.3.2. En Algérie

Le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la surface forestière algérienne (**Louni, 1994**). Il est commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranais, de l'algérois et du constantinois (**Ait Youssef, 2006**). Il est assez rare ailleurs, on le trouve surtout sur les dunes littorales, dans les collines, sur les cotes de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif (régions de Maafa, Beni Fodhala) où il occupe une superficie de 1950 ha (**Abdessamed, 1981 ; Dakki, 2003 ; Ait Youssef, 2006**).

Il est souvent en mélange avec *Pinus halepensis*, mais c'est dans l'Atlas saharien bordant le désert, plus particulièrement à Djelfa et Bousaâda, qu'il trouve sa place en grande extension (**Frank, 1986 ; Louni, 1994**).

I.3.4. Utilisation traditionnelle

Le genévrier rouge est très recherché pour son bois. Celui-ci est utilisé pour le chauffage et pour fabriquer du charbon de bois. Cette espèce est l'une des plus importantes plantes médicinales du fait qu'elle soit largement employée en médecine traditionnelle (Bellakhdar, 1997).

Les branches feuillées sont exploitées pour la production du goudron végétal pour traiter certains cas d'eczéma et en inhalation contre l'asthme, bronchite, maux de tête, étourdissements et pour contrôler l'arthrite (Seigue, 1985 ; Derwich *et al.*, 2010). Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner diabète, diarrhée, rhumatisme et troubles digestifs (Seigue, 1985 ; Bellakhdar, 1997 ; Allali *et al.*, 2008). Le mélange des feuilles et des cônes est employé comme agent oral hypoglycémique (Amer *et al.*, 1994 ; Mazari *et al.*, 2010). Les feuilles séchées et réduites en poudre peuvent guérir les affections broncho-pulmonaires et agir comme agent diurétique (Bellakhdar, 1997), alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Le Floc'k, 1983).

I.3.5. Composition chimique

La majorité des composants chimiques isolés des feuilles et des cônes (fruits) de *Juniperus phoenicea* sont des huiles volatiles (Angioni *et al.*, 2003 ; Cosentino *et al.*, 2003 ; El-Sawi *et al.*, 2007). En général, les huiles essentielles des espèces du genre *Juniperus* sont composées de 85 – 95% de monoterpènes et près de 0.1 – 12% d'alcools (Angioni *et al.*, 2003).

L'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea* connaît une grande variation chimique, cependant, un grand nombre de travaux rapportent la prédominance de celle-ci en monoterpènes hydrocarbonés, avec l' α -pinène comme constituant majeur, suivi des monoterpènes oxygénés tels que, α -terpinyl acétate, β -3-carène, myrcène, α -phellandrène et β -phellandrène (Afifi *et al.*, 1992; Rezzi *et al.*, 2001; Angioni *et al.*, 2003; El-Sawi *et al.*, 2007; Ennajar *et al.*, 2009; Mazari *et al.*, 2010). L'huile essentielle des baies est composée majoritairement de monoterpènes, suivi des sesquiterpènes, le α -pinène étant le constituant caractéristique. Camphène, β -3-carène et trans-verbénol sont également présents à des taux variables (Delitala, 1980 ; Lawrence, 1989 ; Rezzi *et al.*, 2001).

Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient également de la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes (**Medini et al., 2013; Alzand et al., 2014; El-Sawi et al., 2014**) et des glucides, notamment, trois phenylpropanes glycosides (juniperosides, rosarin et skimmin) et deux dérivés furanones glucosides (psydrin et phoenicéine) (**Aboul-Ela et al., 2005**). La présence de phoenicerosides (un pseudo dimère des deux furanones précédents) et de dérivés phenylisopropanes a aussi été démontrée par certaines études (**Comte et al., 1996**). Seulement de faibles quantités de dérivés phénoliques sont présentes; il s'agit des Bisflavones et Lignanes (**San Feliciano et al., 1992; Comte et al., 1997**).

II. Les huiles essentielles

II.1. Définition des huiles essentielles

Le terme « huile essentielle » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. En effet, les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques (**Duquénois et Anton, 1968**).

Selon l'Association Française de Normalisation «**AFNOR**» (**2000**), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition exclut les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction.

II.2. Répartition des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que: les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Poacées (**Mann, 1987**). Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal (**Lamendin, 2004 ; Rafi, 1995**) : Les sommités fleuries (ex: lavande, menthe...), dans les racines ou rhizomes (ex: vétiver, gingembre), dans les écorces (ex: cannelles), le bois (ex: camphrier), les fruits (ex: citron), les graines (ex: Muscade) et sont contenues dans des structures spécialisées à savoir : les poils, les canaux sécréteurs et les poches (**Couic, 2013**).

II.3. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal.

Il existe différents procédés d'extraction, mais le choix de la méthode utilisée définit obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation.

L'hydrodistillation reste le moyen le plus employé pour produire les huiles essentielles, en particulier à des fins commerciales et médicinales (**Burt, 2004**). Le volume d'huile essentielle récupéré dépend du rendement de distillation, qui est variable, chez une même plante, en fonction de la saison et l'organe (**Gonny et al., 2004**). Les huiles essentielles peuvent aussi être obtenues par expression à froid, comme pour les agrumes. De nouvelles techniques, permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (**Santoyo et al., 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al., 2006**).

II.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

A la température ordinaire, on trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide. Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables et leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau. Ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de sassafras. Le terme «huile» s'explique par la propriété de solubilisation dans les graisses et par son caractère hydrophobe. Ces huiles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles et la vaseline; très altérables, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (**Charpentier et al., 2008**).

II.5. Composition chimique des huiles essentielles

Plus de 300 composés différents peuvent être identifiés dans les huiles essentielles. Trois groupes de composés ont été décrits (**Pichersky et al., 2006**). Le principal groupe est composé de terpènes et les terpénoïdes, majoritairement des monoterpènes et des sesquiterpènes (**Ruberto et Baratta, 2000**), les autres groupes comprennent les composés aromatiques (phénoliques) et dans une moindre mesure des composés aliphatiques (alcane et alcènes) qui sont généralement en trace. Tous les composés sont caractérisés par un faible poids moléculaire (**Bakkali et al., 2008**).

II.5.1. Les terpènes et les terpénoïdes

Environ 30 000 terpènes ont été décrits dans la littérature (**Connolly et Hill, 1991; Pinder, 1960**). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur

squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈). Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprène en monoterpènes formés de deux isoprènes (C₁₀H₁₆), en sesquiterpènes, formés de trois isoprènes (C₁₅H₂₄), en diterpènes, formés de quatre isoprènes (C₂₀H₃₂), en tétraterpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en polyterpènes (C₅H₈)_n où n peut-être de 9 à 30 (Hernandez Ochoa, 2005). Les terpénoïdes (figure 4) sont les terpènes dérivées des composés ayant un ou plusieurs groupes chimiques fonctionnels (alcool, aldéhyde, cétone, acide, ...).

Tableau 2: Les différentes classes des terpènes Zeraib (2016).

Classe des terpènes	Nombre d'unités isopréniques	Nombre de carbones	structure détaillée
Hémiterpènes (50 molécules)	1	5C	C ₅ H ₈
Monoterpènes (1500 molécules)	2	10C	C ₁₀ H ₁₆
Sesquiterpènes (10000 molécules)	3	15C	C ₁₅ H ₂₅
Diterpènes (5000 molécules)	4	20C	C ₂₀ H ₃₂
Sesterpènes (150 molécules)	5	25C	C ₂₅ H ₄₀
Triterpènes (5000 molécules)	6	30C	C ₃₀ H ₄₈
Tétraterpènes (200 molécules)	8	40C	C ₄₀ H ₆₄
Polyterpènes (non renseigné)	N	5nC	n(C ₅ H ₈)

Premier chapitre
II. Les huiles essentielles

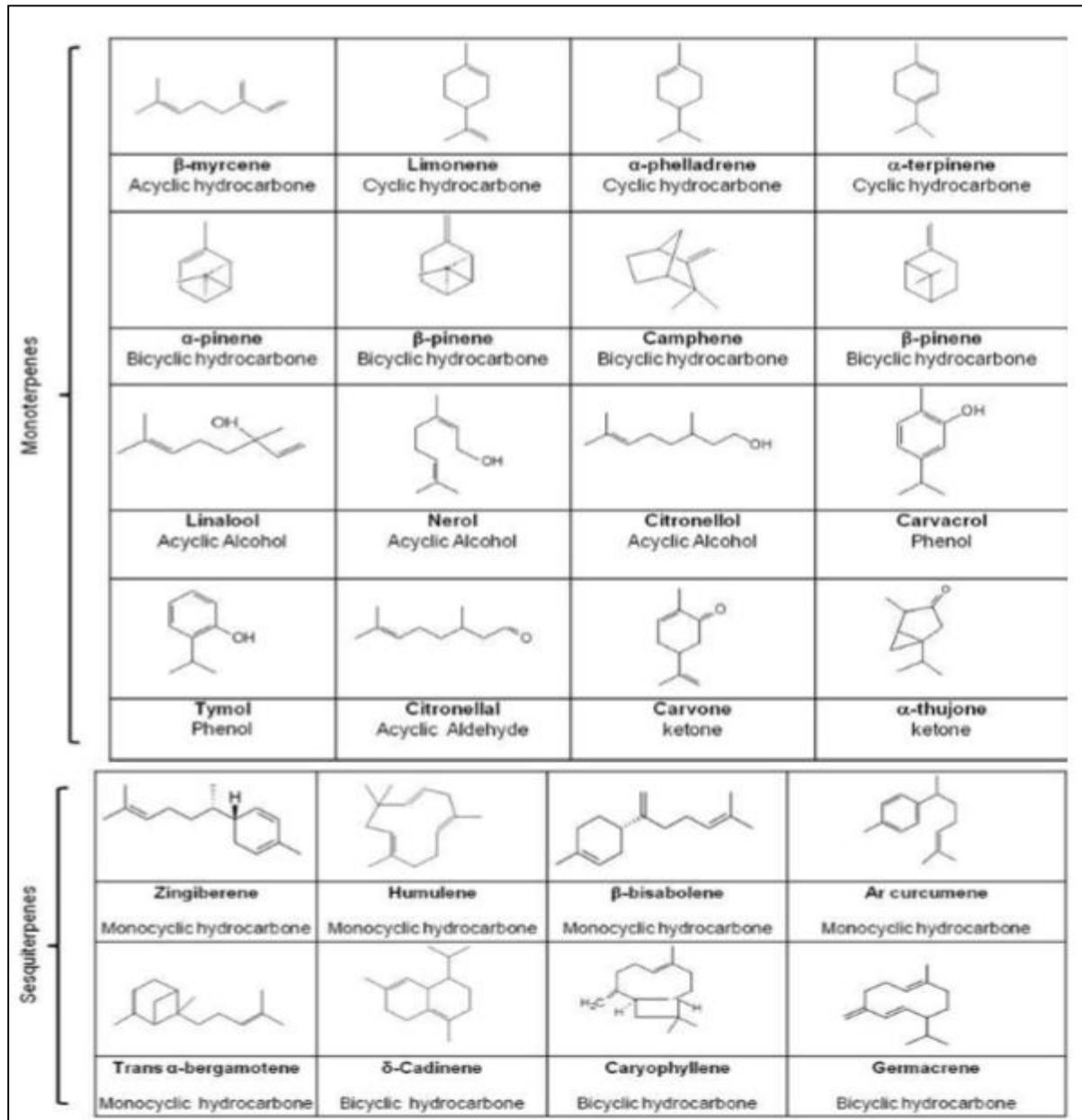


Figure 3: Structure de quelques terpènes (Ruberto et Baratta, 2000)

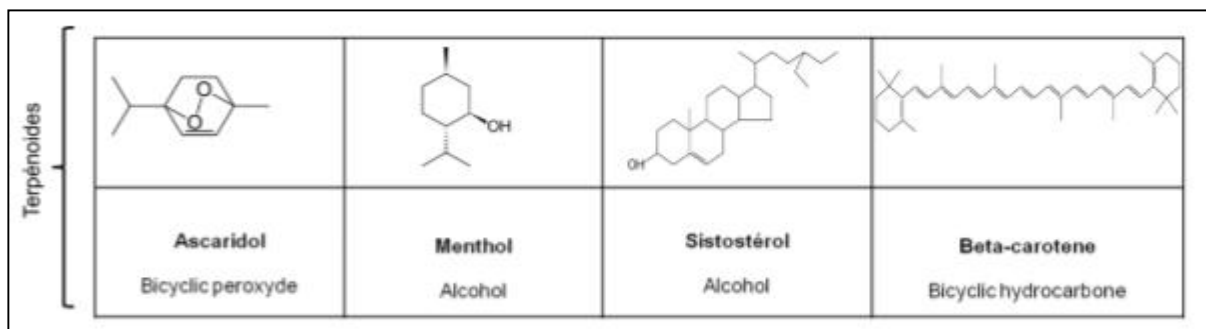


Figure 4: Structure de quelques terpénoides (Ruberto et Baratta, 2000)

II.5.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques (**figure 5**) sont des dérivés du phénylpropane. Ils sont moins abondants que les terpènes. Deux classes de composés aromatiques peuvent être distinguées: les composés substitués sur le noyau de benzène et les dérivés dans lesquels le substituant est directement attaché au cycle benzénique de la chaîne latérale des composés substitués.

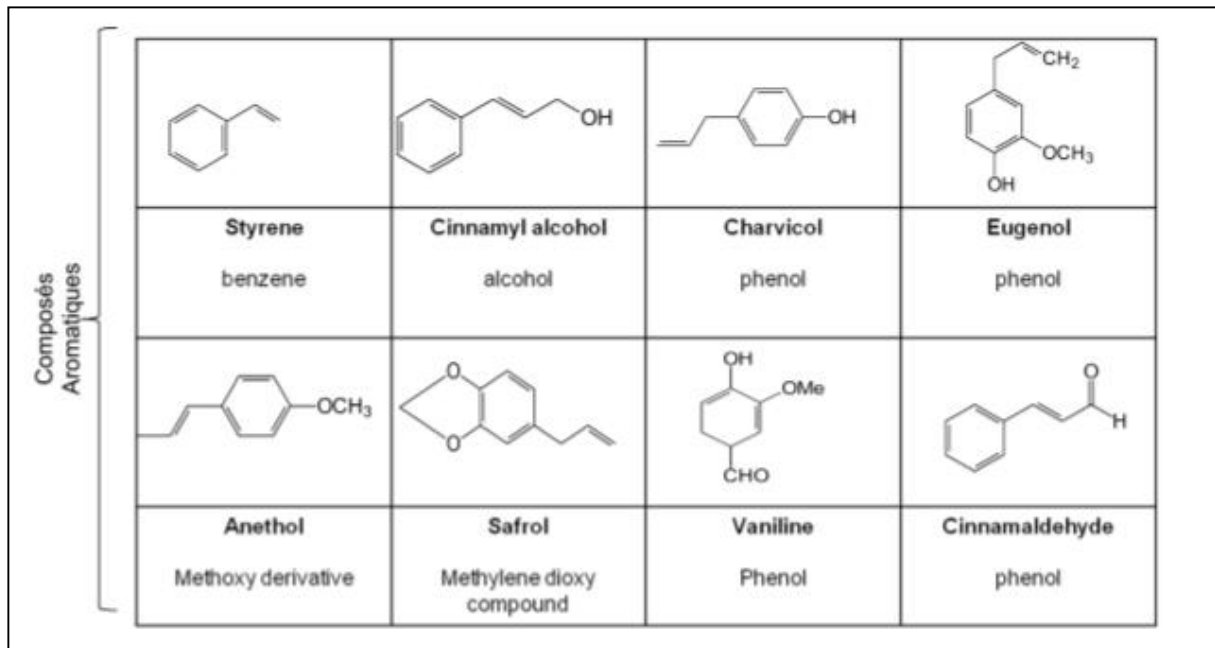


Figure 5: Structures de quelques composés aromatiques (**Ruberto et Baratta, 2000**)

II.5.3. Les composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils issus de la dégradation de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites odorantes, comme par exemple le (3Z)-hexen-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et -linoléique) (**Bruneton, 1999**). Si la concentration de ces composés est généralement très faible, ils peuvent cependant avoir une influence considérable à l'exemple de la -damascenone. Cette molécule, issue de la dégradation des terpènes, ne représente que 0.14% de l'huile essentielle de rose (*Rosa damascena*). Elle est pourtant un contributeur majoritaire de l'odeur de cette huile (**Leffingwell, 2011**).

II.5.4. Notion de chémotype

Selon les conditions environnementales et de vie, les mêmes espèces peuvent présenter des différences chimiques intraspécifiques dans leurs compositions d'huiles essentielles (**Lahlou et Berrada, 2003; Lahlou, 2004**). Ces différences intraspécifiques sont définies comme chémotypes. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (**Pibiri, 2005**).

II.6. Facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes (**Garnéro, 1991 ; Bruneton, 1999**).

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Ozcan et al., 2004 ; Svoboda et Hampson, 1999; Smallfield, 2001**).

Les conditions principales requises pour une production rentable en huile essentielles sont: le bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation et le climat (**Smallfield, 2001**).

II.7. Rôles des huiles essentielles

II.7.1. Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles (HE) en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (**Rai et al., 2003**).

Certainement, plusieurs effets apparents utiles ont été décrits: réduction de la compétition des autres espèces de la plante par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et

bactéricides, et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (**Porte, 2008**).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour pousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Belaiche, 1979**).

II.7.2. Rôle écologique et activités biologiques

Comme nous venons de la préciser plus haut, parmi les composés majoritaires des huiles essentielles (HE), nous trouvons les terpénoïdes. Ces derniers possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination. Mais lors des interactions végétal-animal, il s'agit aussi d'un agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction des pollinisateurs (**Langenheim, 1969**). Prouvées par la recherche scientifique moderne, les huiles essentielles (HE) ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Elles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé et de la maladie (**Balz, 1986; Willem, 2004**). Les différents travaux réalisés sur les plantes ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

II.8. Toxicité des huiles essentielles

Les substances volatiles sont en proportions beaucoup plus grandes dans l'huile essentielle par rapport à la plante et représentent un concentré de principes actifs. L'huile essentielle est donc douée d'une activité pharmacologique beaucoup plus grande que la plante fraîche ou l'organe desséché utilisé en pharmacie. En outre du fait de cette activité, l'huile essentielle peut être toxique (**Chabal, 1995**). En effet, des substances cétoniques peuvent provoquer des troubles psychiques et sensoriels et certains monoterpènes sont toxiques à fortes doses: camphre, menthol, cinéole et anéthol (**Mansouri, 2008**).

III. Activités biologiques des huiles essentielles

Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent des propriétés médicinales nombreuses et variées telles que, les propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antitoxiques, antivenimeuses, anti-oxydantes, antiparasitaires, diurétiques...etc. (**Valero et Salmerón, 2003 ; Bakkali et al., 2008**).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (-terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques (**Dorman et Deans, 2000**). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important en renforçant les effets des composés principaux (**Bassolé et Juliani, 2012**). L'efficacité d'une huile essentielle dépend ainsi de sa richesse en composés phytochimiques; plus elle est riche en substances actives, plus son activité est importante (**Zhiri, 2006**).

Cependant, dans ce travail, nous allons nous limiter à leurs propriétés antimicrobiennes qui constitueront l'essentiel de notre étude de recherche.

III.1. Les huiles essentielles comme agents antibactériens

Les huiles essentielles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives. Toutefois, ces dernières paraissent moins sensibles à leur action que les bactéries Gram positives. Ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. En effet, *Aeromonas hydrophila* (**Wan et al., 1998**) et *Campylobacter jejuni* (**Wannissorn et al., 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. La bactérie Gram négative reconnue comme la moins sensible à leurs effets reste néanmoins *Pseudomonas aeruginosa* (**Dorman et Deans, 2000**).

III.1.1. Mode d'action

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (Burt, 2004). Compte-tenu de la variabilité quantitative et qualitative des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Bajpai et Kang, 2010). La principale caractéristique des huiles essentielles est attribuée à l'hydrophobicité de certains de leurs composants qui leur permet de traverser facilement la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire en provoquant une déstabilisation de sa structure et en augmentant sa perméabilité (Souza *et al.*, 2006). Ces modifications entraînent des pertes anormales d'ions et de composés intracellulaires et la coagulation du contenu protéique des cellules (Davidson et Parish, 1989 ; Ultee *et al.*, 2002). Les principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles sont indiquées ci-dessous (figure 6).

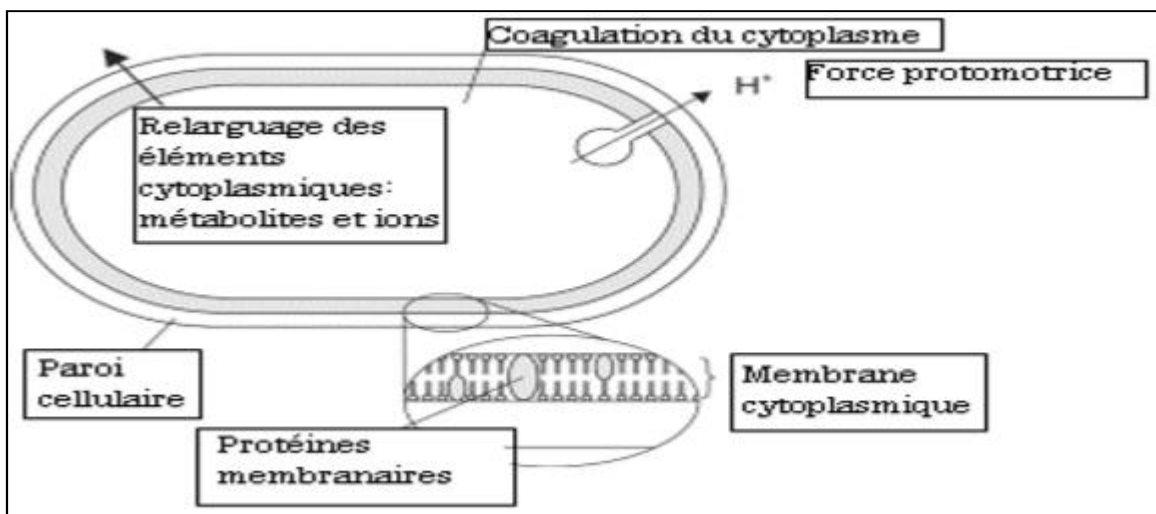


Figure 6 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

Bien qu'une certaine proportion de fuite de cellules bactériennes puisse être tolérée sans perte de viabilité, une plus grande perte du contenu cellulaire ou la sortie de molécules essentielles et d'ions peut conduire à la mort cellulaire (Denyer et Hugo, 1991). Certains composés phénoliques des huiles essentielles peuvent altérer des systèmes enzymatiques dont, ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants

structurels ou encore, perturber la fonctionnalité du matériel génétique (**Davidson, 2001 ; Pavel et al., 2009**).

Le mode d'action des huiles essentielles dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram négatives sont plus résistantes que les bactéries Gram positives grâce à la structure de leur membrane externe. En effet, cette dernière est riche en lipopolysaccharides (LPS), ce qui la rend plus hydrophile, empêchant ainsi les composés hydrophobes des huiles essentielles d'y adhérer (**Cristiani et al., 2007**).

III.1.2. Activité bactéricide et bactériostatique

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité létale.
- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance.

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides (**Kunle et al., 2003 ; Walsh et al., 2003**). En effet, des dommages au niveau des cellules de différents microorganismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *Staphylococcus aureus* (**Desjobert et al., 1997**), ou encore celui de l'*Origanum compactum* sur *Escherichia coli* (**Burt et Reinders, 2003**).

Toutefois, cette action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée (**Lakhdar et al., 2012**). Plusieurs mécanismes seraient mis en jeu (**Bakkali et al., 2008**) :

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques (**Rafi et al., 1994**).
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines et peptidoglycanes (**Combe et al., 1980**).
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective (**Bouchikhi, 1994**) et détérioration membranaire.
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique (**Cox, 1998**).
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne (**Pattnaik, 1995**).

- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion (**Rafi *et al.*, 1994**).

III.2. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres: l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le microorganisme (type, structure...) d'autre part (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

III.2.1. Activité liée à la composition chimique

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Toutefois, les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique (**Lahlou, 2004**).

De nombreuses études ont mis en évidence une activité antimicrobienne qualitativement similaire entre les huiles essentielles et leurs composés chimiques testés isolément. Cependant il existe des différences quantitatives. En effet, il a été prouvé que l'effet antimicrobien des huiles essentielles est supérieur à celui de ses composés majoritaires testés séparément (**Lahlou, 2004 ; Pibiri, 2006**). Et selon l'étude de **Lambert *et al.* (2001)** l'association des principaux composés actifs agirait de façon synergique en potentialisant l'action antimicrobienne de l'huile essentielle.

Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, (-terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures (**Cosentino *et al.*,1999 ; Dorman et Deans, 2000**).

- Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent (**Cox, 1998; Burt et Reinders, 2003**). Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane (**Pibiri, 2006**). Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte (**Cosentino *et al.*,1999**).
- Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines (**Dorman et Deans, 2000**).

- Les aldéhydes, fortement électronégatif à double liaison, deviennent de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries (**Desjobert, 1997 ; Dorman et Deans, 2000**).

III.2.2. Activité liée au microorganisme

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en biofilm, à son métabolisme et à sa résistance.

La résistance bactérienne aux huiles essentielles, comme pour tout agent antimicrobien, semble être liée à la formation du biofilm. En effet, un isolat clinique récent peut montrer une résistance augmentée, pouvant provenir des interactions avec les cellules de l'hôte (**Alviano et Alviano, 2009**), tandis que les microorganismes évoluant sous forme planctonique sont plus susceptibles (**Fine et al., 2001**).

III.3. La résistance bactérienne aux antibiotiques

L'émergence des bactéries résistantes à un ou plusieurs antibiotiques (BMR : bactéries multirésistantes) n'est pas un phénomène nouveau. De plus, la fréquence de leur apparition est en augmentation (**Arias et Murray, 2012; Coates, 2012**). Celle-ci est le plus souvent conditionnée par une utilisation accrue et répétée des antibiotiques, ce qui génère une pression de sélection de ces molécules tendant à favoriser les mutations et les échanges plasmidiques entraînant ainsi, la survie des bactéries résistantes. De plus, l'utilisation inappropriée et incontrôlée des antibiotiques, y compris l'administration de doses sous-optimales, une durée de traitement insuffisante et un mauvais diagnostic conduisant à un choix inapproprié du médicament peuvent contribuer à l'amplification de la résistance (**WHO, 2002**). Toutefois, d'autres agents antimicrobiens peuvent être utilisés comme une alternative aux antibiotiques, c'est le cas des substances d'origine végétale dont, les huiles essentielles qui représentent une source prometteuse (**Janssen et al., 1987 ; Kalemba et Kunicka, 2003**). D'excellents résultats ont d'ailleurs pu être obtenus contre les BMR telles que *Staphylococcus aureus* qui est résistante à la méthicilline (**Warnke et al., 2009 ; Fadli et al., 2011**).

Partie expérimentale

Chapitre II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de galbules de l'espèce *J. phoenicea* (genévrier rouge) qui sont recueillis de la région de T'kout, au Sud-Est de Batna en Algérie, au mois de Décembre 2017, aux coordonnées de 35°7'13.55" N de latitude, 6°21'5.55" E de longitude et à une altitude de 1450 m.

L'identification de l'espèce a été faite par Dr. Zeraib Azzeddine. Maître de conférences à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Université Abbes Laghrour, Khenchela.

Après la récolte et l'identification, le matériel végétal est nettoyé des impuretés, séché à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 15 jours, puis conservé dans des sachets en papier pour servir à l'extraction de l'huile essentielle.

II.1.2. Les souches bactériennes testées

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*, a été évaluée sur quatre souches bactériennes fréquentes en pathologie humaine (**Tableau 3**).

Tableau 03: Les souches bactériennes testées.

La souche	Gram	La référence	La famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 25923	<i>Staphylococcaceae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Positif	ATCC 25922	<i>Listeriaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 25922	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	<i>Pseudomonadaceae</i>

II.1.3. Les antibiotiques

Trois antibiotiques conventionnels ont été utilisés : Gentamicine, Ampicilline, et la pénicilline.

II.1.4. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antibactériens sont les suivants:

- La gélose nutritive pour l'isolement des souches bactériennes.
- Le Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux huiles essentielles et aux antibiotiques par la méthode de diffusion sur disque.
- Le bouillon Mueller Hinton (BMH) pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) par la méthode de microdilution en milieu liquide.

II.2. Méthodes

II.2.1. Méthodes phytochimiques

II.2.1.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir des galbules de la plante *J. phoenicea* a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation en contact direct, sur un montage de type «Clevenger1928» (**figure 7**).



Figure 7: Montage utilisé pour l'extraction des huiles essentielles et leurs dérivés.

A chaque extraction, une quantité de 100 g de galbules broyées de *J. phoenicea* est introduite dans un ballon contenant 1 L d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition avec une température de 100°C puis on diminue la température jusque 50°C à l'aide d'un chauffe-ballon (**Figure 7**). Les huiles essentielles sont entraînées à la vapeur d'eau. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation.

Le début de la distillation a été marqué quand la première gouttelette d'huile essentielle est tombée du réfrigérant dans l'unité collectrice d'huile de l'appareil. Les fractions d'huile essentielle ont été récoltées à cinq périodes depuis le début de la distillation: (0-3, 3-6, 6-20, 20-60, et 60-120 min).

Les fractions d'huile essentielle ont été collectées sans interrompre le processus d'hydrodistillation, en collectant l'huile et l'eau florale recueillis dans l'unité collectrice de l'appareil dans des tubes en verre de 20 ml. En raison de la différence de densité; l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau, et est ensuite recueillie à l'aide d'une seringue. L'eau florale (hydrolat) collecté durant les deux heures de l'hydrodistillation est accumulée dans un flacon en verre.

Le procédé d'extraction est répété plusieurs fois (10 fois) pour permettre de récupérer le maximum d'huile essentielle et de l'eau florale.

II.2.1.2. L'eau florale

L'extraction liquide-liquide a été utilisée pour séparer les dérivés d'huiles essentielles de l'eau en utilisant l'éther de pétrole comme le solvant d'extraction. Le procédé expérimental suivi est comme suit :

On met la quantité de l'eau florale recueillie durant l'hydro distillation (environ 500 ml) dans une ampoule à décanter bien fixée préalablement sur un support, et on ajoute 250 ml de l'éther de pétrole, puis on fait agir le mélange en dégazant régulièrement. Vu la densité du solvant d'extraction qui est inférieur à la densité de l'eau, la phase organique à récupérer se situera au-dessus de la phase aqueuse.

La séparation des deux phases est faite en ouvrant le robinet de l'ampoule à décanter. Après l'élimination du peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait le séchage de la matière organique en utilisant un rota vapeur à une température inférieure

à 40 °C. Ce procédé est répété plusieurs fois, jusqu'à ce que la phase aqueuse devienne non parfumée. Après leurs séparations, les huiles essentielles et l'hydrolat sont conservées à 4°C dans des flacons en verre emballés avec du papier aluminium jusqu'au moment de l'utilisation.

II.2.1.3. Rendement en huiles essentielles

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée.

Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = M'/M \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la plante en gramme.

II.2.2. Méthodes microbiologiques

II.2.2.1. l'activité antibactérienne

Deux méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'hydrolat et les huiles essentielles de *J. phoenicea* fractionnée dans le temps :

A. Méthode de diffusion sur disque

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des antibiotiques est celle de la diffusion sur gélose ou méthode des disques selon les recommandations du **CLSI (2011)**. Cette méthode est basée sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose. Elle consiste à déposer à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé par la suspension de germes choisis, des disques en papier-filtre imprégnés des huiles essentielles ou des antibiotiques à tester. Après l'incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres avec un pied à coulisse numérique.

Préparation de l'inoculum :

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en de Pétri ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24h.

Dans de l'eau physiologique stérile, 3 à 5 colonies similaires bien isolées sont déchargées. Après homogénéisation de la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, la turbidité de la suspension d'inoculum doit être identique à celle de la solution 0.5 Mc Ferland préalablement préparée (Annexe 2, Tableau V), ce qui correspond à une concentration de 10⁸ UFC/ml.

Mode opératoire

Le test de l'activité antibactérienne est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller Hinton. Chaque boîte de pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et estensemencée avec 1 à 2 ml de la suspension microbienne contenant 10⁸ UFC/ml. Les disques d'antibiotique et des disques stériles imprégnés de 10 µl de l'huile essentielle sont déposés à la surface du milieu. Ensuite elles ont été inversés et incubés à l'obscurité dans une étuve à une température de 37°C durant 24 h. La sensibilité des différentes souches vis-à-vis des HE étudiée est classée selon le diamètre d'inhibition (**Ponce *et al.*, 2003**).

- **Non sensible (-)** ou résistante: diamètre < 8 mm.
- **Sensible (+)** : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- **Très sensible (++)**: diamètre compris entre 15 à 19mm.
- **Extrêmement sensible (+++)** diamètre > 20 mm.

B. La méthode de micro dilution en milieu liquide

Cette méthode est utilisée pour rechercher la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible du germe.

Les CMIs sont déterminées en milieu liquide dans un bouillon MH à un volume final de 200 µl, en utilisant des micro-plaques de 96 puits. Des dilutions des HEs étudiées sont effectuées en raison de 1/2, de telle façon à obtenir une gamme de concentrations finales comprises entre 500 et 3,90 µL/mL. À la fin, la microplaque sera inoculée avec de la

suspension bactérienne (la charge finale dans la micro-plaque est de 5×10^5 UFC/mL). Un contrôle positif de croissance contenant seulement le milieu MH et la souche teste, est utilisé.

Après 24 h d'incubation à 37°C, la lecture se fait par observation de la microplaque à l'œil nu. La CMI du composé testé est déduite à partir du premier puits de la gamme ne présentant pas de dépôt ou trouble. De même les CMI des antibiotiques (la gentamicine, l'ampicilline et la pénicilline) ont été déterminées (**Rosato *et al.*, 2010**).

La CMB est la plus petite concentration d'antibiotique ne laissant subsister 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide d'un antibiotique ou un extrait.

L'activité antibactérienne des composés pris isolément est estimée par le rapport CMB/CMI ; lorsque le rapport CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (4) cette dernière est qualifiée de substance bactéricide, cependant si ce rapport est supérieur à quatre (> 4), alors elle est dite bactériostatique (**Traoré *et al.*, 2012**).

II.2.2.2. L'association des huiles essentielles avec les antibiotiques

A. La méthode de diffusion sur disque

Dans le test de la combinaison les disques des antibiotiques sont imprégnés par 10 µl de l'huile essentielle. Après la période d'incubation, les zones d'inhibition de croissance ont été mesurées.

Les données de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et les antibiotiques seules et en combinaison ont été soumises à une analyse statistique à un seul facteur. La combinaison d'HE avec ATB peut donner un effet synergique, additif, antagoniste ou indifférent.

L'effet antibactérien des combinaisons entre les HE et les ATB a été évalué par la formule suivante :

$$EC = [(E_{he} - D) + (E_{ab} - D)] / (E_{he+ab} - D).$$

EC : Effet antibactérien de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques.

E_{he} : Effet antibactérien des huiles essentielles.

E_{ab} : Effet de l'antibiotique.

D : Diamètre du disque égale 6 mm

B. La méthode de microdilution en milieu liquide

Le test de la combinaison a été effectué en utilisant les deux méthodes précédentes :

La méthode de microdilution modifiée a été utilisée pour déterminer le potentiel de synergie des associations HEs/ATBs à différentes concentrations suivant la même procédure utilisée pour évaluer la CMI (**Rosato *et al.*, 2010**).

La dilution de l'HE est effectuée dans le sens horizontal (de CMI \times 8 à CMI \times 1/16) et l'ajout des différentes concentrations d'antibiotiques est fait verticalement avec une gamme de concentration allant de 2000 à 7.825 μ g/mL, une série de combinaisons de concentration différente en HE/ATB sera obtenue.

L'HE et l'ATB sont également testés séparément sur la même microplaque pour la comparaison (témoin positif). Par la suite, la microplaque est inoculée avec une suspension bactérienne de telle façon à obtenir une charge finale qui est de 5×10^5 UFC/ mL, puis incubée à 37 C pendant 24 h.

La mesure de l'effet de l'association HE/ATB a été obtenue en calculant l'Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire (FICI) selon la formule ci-dessous.

$$FICI = \frac{\text{CMI de l'ATB en combinaison}}{\text{CMI de l'ATB seul}} + \frac{\text{CMI de l'HE en combinaison}}{\text{CMI de l'HE seul}}$$

La combinaison des deux composés est considérée selon **Mulyaningsih *et al* (2010)** comme :

Synergique : lorsque la valeur FICI est $< 0,5$

Additif : quand $0,5 < FICI < 1$

Indifférent : quand $1 < FICI < 4$

Antagonistes : quand $FICI > 4$

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III. 1. Extraction de l'huile essentielle

Les différentes fractions d'huile essentielle de *J. phoenicea* obtenues par hydrodistillation à différentes périodes (0-3, 3-6, 6-20, 20-60 et 60-120 min) sont des liquides visqueux, limpides, et à une odeur forte caractéristique du genévrier, avec une couleur dégradée allant d'une huile transparente blanchâtre observée dans les premières fractions (0-3 et 3-6 min) à une huile verte bleuâtre observée dans les dernières fractions (20-60 et 60-120 min). Cependant, l'eau florale obtenue est un liquide plus dilué, plus doux que les huiles essentielles, transparent et à odeur forte (**figure 8**).



A. Les fractions des huiles essentielles



B. l'eau florale « hydrolat »

Figure 8: Résultats de l'extraction et el fractionnement des huiles essentielles en fonction du temps au cours de l'hydrodistillation.

Le rendement en huile essentielle a été calculé selon la norme AFNOR (1986), décrite précédemment ; et les résultats sont présentés dans le **tableau 4** et la **figure 8**:

Tableau 4 : Résultats du rendement en pourcentage des différentes fractions de *J. phoenicea*

Fraction (min)	0-3	3-6	6-20	20-60	60-120	Rendement Cumulatif
Rendement (%)	0,65	0,23	0,45	0,43	0,18	1,94

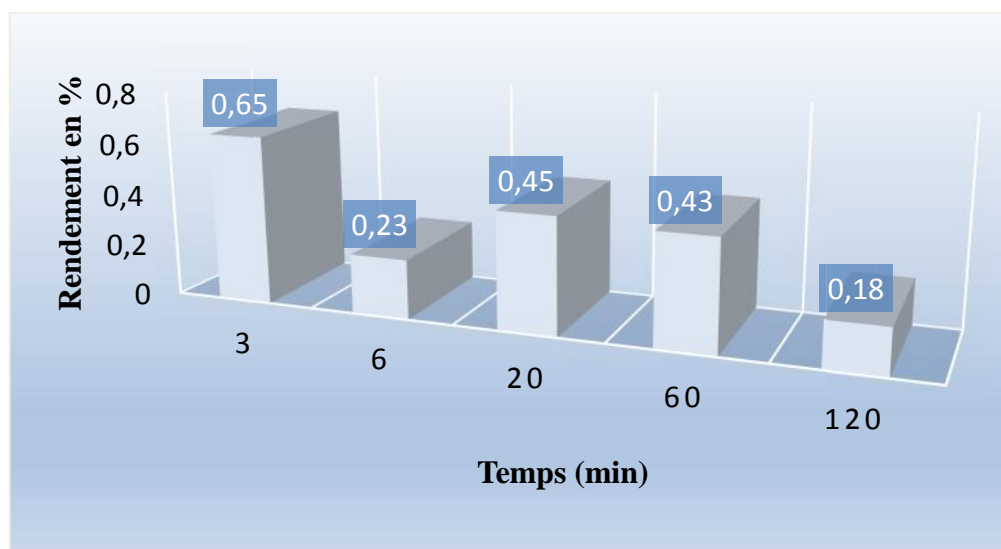


Figure 9 : Rendements en HEs fractionnées en fonction du temps de l'hydrodistillation.

Le rendement cumulatif en huile essentielle est de 1,94 %, il est similaire à celui obtenu à partir des galbules mûres de la sous espèce *turbinata* récoltée en Portugal qui est de 2% (Cavaleiro *et al.*, 2006) , et faible par rapport à ceux trouvés à partir de la même espèce récoltée en Tunisie (2 à 3,95%) (Ennajar *et al.*, 2009) et en Italie (2,45%) (Angioni *et al.*, 2003).

Ces variations de la teneur en HE peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le degré de maturité des galbules de *J. phoenicea*, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (Sefidkon *et al.*, 2001 ; Vekiari *et al.*, 2002 ; Benjilali, 2005 ; Kelen et Tepe, 2008; Ennajar *et al.*, 2009).

Les résultats de fractionnement des huiles essentielles de *J. phoenicea* par le temps sans interrompre l'hydrodistillation, ont montré des rendements différents (figure 9). Le rendement le plus élevé est celui enregistré dans la période 0-3 min (0,65%), tandis que le plus faible est enregistré dans la dernière fraction collectée durant la période 60-120 mn qui est de 0,18%.

Ces résultats sont confirmés par la seule étude menée par Zheljzakov *et al.* (2017) dans ce contexte qui ont confirmé que il y a une différence significative entre le rendement en huile obtenues dans les fractions des huiles essentielles de *J. communis* et *J. excelsa* collectées durant les périodes : 0–3, 3–5, 5–10, 10–20, 20–40, 40–80, 80–160, et 160–240 min. Les rendements les plus élevés sont enregistrés dans la première fraction (0-3 min) qui est de

0,72 % et 1,05 % chez les espèces *J. communis* et *J. excelsa* respectivement. Tandis que les rendements les plus faibles sont enregistrés dans la période 80-160 min qui sont de 0,02 % chez *J. excelsa* et 0,05 % chez *J. communis* (Zheljazkov et al., 2017).

III. 2. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *J. phoenicea* et de l'eau florale

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *J. phoenicea* et leur dérivé (l'eau florale) a été évaluée vis-à-vis de quatre souches bactériennes de deux à Gram positif et deux à Gram négatif en utilisant deux méthodes différentes à savoir: la méthode de diffusion sur disque et la méthode de micro dilution sur plaque.

III.2.1. La méthode de diffusion sur disque

III.2.1.1. L'aromatogramme

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et de l'eau florale de *J. phoenicea* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm

	3 mn	6 mn	20 mn	1 h	2 h	L'eau florale
<i>E. coli</i>	9.43±0.07	9.06±0.8	8.99±0.24	7.23±0.03	6±0	6±0
<i>P. aeruginosa</i>	9.7±0.34	8.53±0.15	8.30±0.02	8.20±0.01	7.87±0.17	6±0
<i>S. aureus</i>	6±0	6±0	6±0	6.62±0.02	6.54±0.07	10±0
<i>L. monocytogenes</i>	6±0	6±0	6±0	6±0	6±0	8±0

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ± écart type.

N.B : Les résultats sont également illustrés en figures dans l'annexe 7 et 8.

Les résultats de l'aromatogramme nous ont montré que les souches bactérienne Gram positif sont résistantes aux huiles essentielles de toutes les fractions. Cependant, les bactéries

Gram négatif sont sensibles faiblement aux huiles essentielles des premières fractions, tandis que les dernières fractions ont des zones d'inhibitions importantes selon l'échelle de **Ponce et al. (2003)**. Alors que l'eau florale est active uniquement vis-à-vis de *S. aureus* avec une zone d'inhibition de 10 mm.

Les présents résultats sont relativement comparables à ceux d'autres études évaluant l'activité antimicrobienne d'huile essentielle extraite à partir des galbules de *J. phoenicea* qui s'est révélée inefficace contre la plupart des souches testées sauf *K. pneumonia* et *E. coli* (**Bouyahyaoui et al., 2016**). De même, les travaux menés par **Angioni et al. (2003)** sur l'espèce *J. phoenicea* ssp *turbinata* ont montré que toutes les huiles essentielles extraites à partir des galbules mûres et vertes sont inefficace vis-à-vis *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*.

Avec des diamètres d'inhibition inférieurs à 10 mm, les huiles essentielles et l'eau florale de *J. phoenicea* sont peu actives. En revanche, les fractions d'huiles essentielles de *J. phoenicea* inhibent la croissance des bactéries Gram-, alors que l'eau florale inhibe la croissance des bactéries Gram+.

Plusieurs travaux notamment ceux de **Hammer et al. (1999); (2002); Souza et al. (2006a); Derwich et al. (2010) et Bari et al. (2010)** ont confirmé la grande résistance des bactéries G- par rapport aux G+, ce qui n'accorde pas avec nos résultats, ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle et de l'origine de l'huile (**Dorman et al., 2000**).

En effet, l'organisation structurale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif. Cette différence structurale la rend moins sensible à l'action des huiles essentielles et des extraits de plantes (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

Néanmoins, certaines études révèlent l'absence de l'activité antimicrobienne sélective vis-à-vis des bactéries Gram (+) ou Gram (-) (**Wan et al., 1998 ; Wannissorn et al., 2005 ; Guesmi et Boudabous, 2006**).

Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas également la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien. De même dans une population bactérienne, il peut exister des différences individuelles de sensibilité. Ainsi, l'action antibactérienne est parfois partielle

et après une diminution du nombre de bactéries, il y'a une reprise de la croissance bactérienne (Dorman et Deans, 2000).

Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement faible, nos résultats prouvent que le pouvoir antimicrobien est dépendant de la fraction d'huile testée. La différence dans la sensibilité des espèces microbiennes enregistrée suggère la susceptibilité des différents microorganismes aux divers composants de l'huile essentielle.

La recherche menée par **Zheljazkov et al. (2017)** a révélé la possibilité de l'obtention des huiles essentielles avec différents profils chimique à partir du même lot de galbules, suggérant la possibilité de générer des huiles naturelles avec des profils ciblés spécifiques.

III.2.1.2. L'antibiogramme

Au cours de nos investigations, l'activité antibactérienne a été évaluée en observant le pouvoir inhibiteur des antibiotiques sur les bactéries.

À l'instar de ce qu'on a fait avec les huiles essentielles et l'eau florale, sur l'aromatogramme, on a mesuré les zones d'inhibition autour des disques standards de trois antibiotiques (la gentamicine, l'ampicilline et la pénicilline) déposés dans des boites ensemencées préalablement avec les mêmes souches utilisées dans l'aromatogramme, les résultats sont présentés ci-dessous (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Résultats de l'antibiogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

Agent antimicrobien	GEN	PEN	AMP	DMSO
<i>E. coli</i>	24±0	17±0	9±0	6±0
<i>P. aeruginosa</i>	16.5±1.5	19±0	11±0	6±0
<i>S. aureus</i>	20±0	12.5±0.5	13±0	6±0
<i>L. monocytogenes</i>	25±0	19±0	10.5±0.5	6±0

Toutes les valeurs (zone d'inhibition incluant le diamètre du disque de 6 mm) sont exprimées en moyenne de trois essais ± écart type.

N.B : Les résultats sont également illustrés en figures dans l'annexe 6.

Nos résultats ont montré que tous les antibiotiques ont eu une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des différentes souches bactérienne testées avec un diamètre d'inhibition allant de 9 mm chez l'ampicilline vis-à-vis l'*E. coli* à 25 mm enregistré avec *L. monocytogenes* testé par la gentamicine.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles et de l'eau florale, qui sont des mélanges complexes de molécules, est généralement inférieure et très variables selon la fraction utilisée à celle exercée par les molécules d'antibiotiques (Rossi *et al.*, 2007a).

III.2.2. La méthode de microdilution

Dans un deuxième temps, nous avons jugé intéressant de déterminer la concentration minimale inhibitrice de l'eau florale et des fractions d'huiles essentielles de *J. phoenicea* vis-à-vis des quatre souches. Les résultats sont représentés dans le **tableau 7** :

Tableau 7 : Les résultats de l'activité antibactérienne de l'eau florale et les huiles essentielles de *J. phoenicea* en utilisant la méthode de microdilution.

		3 mn	6 mn	20 mn	1 h	2 h	eau florale
<i>E. coli</i>	CMI	0.25	0.016	0.031	0.031	0	0.5
	CMB	0.125	0.25	0.25	0.5	0	0.5
	CMB/CMI	0.5	15.63	8.06	16.13	0	1
	Effet	Bt	Bst	Bst	Bst	Nd	Bt
<i>P. aeruginosa</i>	CMI	0.125	0.031	0.016	0.25	0.5	0.063
	CMB	0.5	0.125	0.125	0.5	0.5	0.5
	CMB/CMI	4	4.03	7.81	2	1	7.94
	Effet	Bt	Bst	Bst	Bt	Bt	Bst
<i>S. aureus</i>	CMI	0.5	0.5	0.25	0.125	0.5	0.016
	CMB	0.25	0.25	0.5	0.25	0.5	0.5
	CMB/CMI	0.5	0.5	2	2	1	31.25
	Effet	Bt	Bt	Bt	Bt	Bt	Bst

<i>L. monocytogenes</i>	CMI	0	0.031	0.25	0.25	0	0.016
	CMB	0	0.5	0.5	0.5	0	0.5
	CMB/CMI	0	16.13	2	2	0	31.25
	Effet	Nd	Bst	Bt	Bt	Nd	Bst

Bst : bactériostatique, Bt : bactéricide, Nd : non déterminé, CMI : concentration minimale inhibitrice, CMB : concentration minimale bactéricide.

CMI de tous les antibiotiques utilisés dans notre travail est estimé de 16µg/ml en utilisant le même protocole expérimental.

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement au témoin, il y a une diminution du trouble provoqué par la croissance des germes dans les puits expérimentaux au fur et à mesure que la concentration en HE et de l'eau florale diminue. Nos résultats montrent que les fractions ont eu une activité antibactérienne en inhibant la croissance des germes bactériens selon une relation dose-réponse. Cela nous a donc permis de déterminer les différents paramètres antibactériens à savoir la CMI et la CMB.

Comme on peut le voir dans le **tableau 7**, les résultats ont montré des degrés variables d'activité antimicrobienne contre toutes les souches testées. Les valeurs de CMI vont de 0.016 à 0.5µl/ml. Ces valeurs mettent en évidence une forte activité comparativement aux résultats de CMI des antibiotiques testées qui est de 16 µg/ml.

Les résultats des CMI obtenues par la méthode de microdilution montrent qu'ils ne sont pas corrélés avec ceux obtenus par la méthode des disques; l'activité de l'HE de *J. phoenicea*. S'avère plus efficace en milieu liquide. Cela peut s'expliquer par la diversité moléculaire des huiles qui ne réagissent pas de la même manière, la composition et la concentration de l'HE et sa solubilité dans le milieu utilisé (propriété hydrophobe des huiles).

De plus, si les résultats obtenus en milieu liquide sont supérieurs à ceux obtenus en milieu solide, c'est que surtout, en milieu liquide, l'évaporation des huiles essentielles est nulle et donc ces huiles exercent leur activité de manière plus efficace et plus prolongée.

La variabilité des CMI des fractions vis-à-vis des souches étudiées traduit bien la variabilité de la composition chimique des différentes fractions. Les premières fractions obtenues (3 mn, 6 mn, 20 mn) sont constituées essentiellement de monoterpènes. Cette

fraction est active majoritairement sur les bactéries à Gram négatif. Les fractions (1 h et 2 h) sont moins actives que les premières fractions et se caractérisent par des grande CMI.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles ainsi que leur mode d'action sont directement influencés par la nature et la proportion de leurs constituants qui entrent dans leur composition. Les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (**Dormans et Deans, 2000 ; Kalemba et Kunicka, 2003**).

Il est également intéressant de noter que l'activité antimicrobienne totale n'est pas nécessairement due aux constituants qui sont présents dans les proportions les plus élevées; Des composés moins abondants devraient également être envisagés (**Ultee et al., 2002**). Un effet synergique de tous les composants chimiques présents dans l'huile peut également être impliqué (**Pavithra et al., 2009**).

La variabilité des constituants des HEs suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les microorganismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action (**Burt, 2004**).

III.3. Résultats des associations réalisées

Le test de combinaison des huiles essentielles avec les antibiotiques a été effectué par deux méthodes différentes, la première est la méthode de diffusion sur disques, tandis que la deuxième méthode, est celle de microdilution sur plaque.

III.3.1. Méthode de diffusion sur disque

Les résultats de la combinaison des huiles essentielles et l'eau florale avec les antibiotiques en utilisant la méthode de diffusion sur disque sont illustrés dans le **tableau 8**.

L'effet de la combinaison des huiles essentielles testées avec les antibiotiques varie entre addition, synergie et antagonisme (**Mandalari et al., 2007**).

L'effet le plus abondant dans cette méthode est celui de l'effet antagoniste. L'effet synergique est observé plus avec la fraction 6-20 min.

III.3.2. Méthode de microdilution

L'effet de l'association des huiles essentielles avec les antibiotiques est déterminé on se basant sur la Concentration Inhibitrice Fractionnaire (FICI) qui s'est calculée à partir des CMI des antibactériens seuls et en combinaison. Les résultats sont récapitulés dans les **tableaux 9 à 13**.

De la première lecture des résultats obtenus à partir de cette méthode, il semble qu'il n'y a pas de corrélation entre les résultats des deux méthodes. L'effet de la combinaison s'avère plus efficace en milieu liquide qu'en milieu solide. Cela peut s'expliquer par la solubilité et la volatilité des huiles essentielles dans le milieu utilisé (propriété hydrophobe des huiles).

Tableau 8: Résultats de combinaison des HE avec les ATBs en utilisant la méthode de disque

Extraits.	Souche	Ampicilline		Pénicilline		Gentamicine	
		EC	Effet	EC	Effet	EC	Effet
0-3 min	<i>E. coli</i>	1.61	ANT	1.09	ANT	1.08	ANT
	<i>P. aeruginosa</i>	3.05	ANT	4.69	ANT	3.25	ANT
	<i>S. aureus</i>	0.82	SYN	0.84	SYN	0.79	SYN
	<i>L. monocytogenes</i>	4.5	ANT	13	ANT	1.62	ANT
3-6 min	<i>E. coli</i>	2.32	ANT	3.52	ANT	1.16	ANT
	<i>P. aeruginosa</i>	1.34	ANT	1	ANT	1.14	ANT
	<i>S. aureus</i>	1.03	ANT	6.5	ANT	1.38	ANT
	<i>L. monocytogenes</i>	0.56	SYN	0.87	SYN	1.71	ANT
6-20 min	<i>E. coli</i>	1.99	ANT	1.55	ANT	1.13	ANT
	<i>P. aeruginosa</i>	0.81	SYN	1.04	ANT	0.94	SYN
	<i>S. aureus</i>	0.89	SYN	0.93	SYN	0.87	SYN
	<i>L. monocytogenes</i>	0.89	SYN	0.92	SYN	0.94	SYN
20-60 min	<i>E. coli</i>	1.06	ANT	1.09	ANT	1.03	ADD
	<i>P. aeruginosa</i>	1.03	ADD	2.23	ANT	1.18	ANT
	<i>S. aureus</i>	0.99	ADD	1.01	ADD	0.97	ADD
	<i>L. monocytogenes</i>	4.5	ANT	1.65	ANT	1.16	ANT

Troisième chapitre Résultats et discussion

60-120 min	<i>E. coli</i>	0.75	SYN	0.98	ADT	0.96	ADD
	<i>P. aeruginosa</i>	6.87	ANT	1.93	ANT	1.16	ANT
	<i>S. aureus</i>	7.54	ANT	1.16	ANT	1.75	ANT
	<i>L. monocytogenes</i>	4.5	ANT	13	ANT	1.56	ANT
L'eau florale	<i>E. coli</i>	0.75	SYN	0.92	SYN	ND	
	<i>P. aeruginosa</i>	1.25	ANT	13	ANT	ND	
	<i>S. aureus</i>	11	ANT	2.63	ANT	ND	
	<i>L. monocytogenes</i>	6.5	ANT	3	ANT	ND	

HE=huile essentielle, **[C]**= concentration de l'huile essentielle utilisée, **EC**= effet de la combinaison des huiles essentielles, **ANT**=effet antagoniste, **ADD** =effet additif, **SYN**=effet synergique, **ND**= non déterminer

N.B : Les résultats sont également illustrés en figures dans l'annexe 9.

La combinaison de l'eau florale avec les trois antibiotiques (ampicilline, pénicilline et gentamicine) a un effet antagoniste avec toutes les bactéries à l'exception de *E. coli* avec laquelle l'effet est synergique **Tableau 9**.

Tableau 9: Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'eau florale de *Juniperus phoenicea* et les antibiotiques

		CMI EFs	CMI EFc	FIC	FICI	Interprétation
<i>E. coli</i>	pénicilline	0.0078	0.0020	0.2564	0.2642	synergique
	Eau florale	0.5	0.0039	0.0078		
	ampicilline	0.0078	0.0029	0.2564	0.2642	synergique
	Eau florale	0.5	0.0039	0.0078		
<i>P. aeruginosa</i>	pénicilline	0.0078	0.0625	8.0128	11.9811	antagoniste
	Eau florale	0.063	0.25	3.9683		
	ampicilline	0.0078	0.125	16.025	16.0869	antagoniste
	Eau florale	0.063	0.0039	0.0619		
<i>S. aureus</i>	pénicilline	0.0078	0.0156	2	2.2437	antagoniste
	Eau florale	0.016	0.0039	0.2437		
	ampicilline	0.0078	0.0625	8.0128	8.2565	antagoniste
	Eau florale	0.016	0.0039	0.2437		

<i>L. monocytogenes</i>	pénicilline	0.0078	0.125	16.0256	47.2756	antagoniste
	Eau florale	0.016	0.5	31.25		
	ampicilline	0.0078	0.125	16.0256	47.2756	antagoniste
	Eau florale	0.016	0.5	31.25		

Tableau 10 : Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et les antibiotiques chez *E. coli* ATCC 25922

		CMI HEseule	CMI HEcombiner	FIC	FICI	Interprétation
3 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.131	synergique
	HE	0.25	0.0039	0.0156		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.131	synergique
	HE	0.25	0.0039	0.0156		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.131	synergique
	HE	0.25	0.0039	0.0156		
6 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.6029	additif
	HE	0.016	0.0078	0.4875		
	pénicilline	0.0078	1	128.20	190.70	antagoniste
	HE	0.016	1	62.5		
	ampicilline	0.0078	0.0039	0.5	1.475	antagoniste
	HE	0.016	0.0156	0.975		
20 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.367	synergique
	HE	0.031	0.0078	0.2516		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	1.1251	antagoniste
	HE	0.031	0.0313	1.0097		
	ampicilline	0.0078	0.0039	0.5	0.6258	additif
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
1 h	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.6186	additif
	HE	0.031	0.0156	0.5032		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		

Tableau 11 : Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et les antibiotiques chez *P. aeruginosa* ATCC 27853

		CMI HEseule	CMI HEcombiner	FIC	FICI	Interprétation
3 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	1.1154	antagoniste
	HE	0.125	0.125	1		
	pénicilline	0.0078	0.125	16.0256	20.0256	antagoniste
	HE	0.125	0.5	4		
	ampicilline	0.0078	0.0312	4	8	antagoniste
	HE	0.125	0.5	4		
6 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.367	synergique
	HE	0.031	0.0078	0.2516		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.6186	additif
	HE	0.031	0.0156	0.5032		
20 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2404	synergique
	HE	0.016	0.0020	0.125		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2404	synergique
	HE	0.016	0.0020	0.125		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.3592	synergique
	HE	0.016	0.0039	0.2438		
1 h	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2402	synergique
	HE	0.25	0.0312	0.1248		
	pénicilline	0.0078	0.0078	1	1.1248	antagoniste
	HE	0.25	0.0312	0.1248		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2402	synergique
	HE	0.25	0.0312	0.1248		
2 h	gentamicine	0.0078	0.0020	0.2564	0.3814	synergique
	HE	0.5	0.0625	0.125		
	pénicilline	0.0078	0.0078	1	1.5	antagoniste
	HE	0.5	0.25	0.5		
	ampicilline	0.0078	1	128.20	130.2	antagoniste
	HE	0.5	1	2		

Tableau 12: Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et les antibiotiques chez *S. aureus*

		CMI HEseule	CMI HEcombiner	FIC	FICI	Interprétation
3 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2404	synergique
	HE	0.5	0.0625	0.125		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2404	synergique
	HE	0.5	0.0625	0.125		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2404	synergique
	HE	0.5	0.0625	0.125		
6 mn	gentamicine	0.0078	0.0020	0.2564	1.2564	antagoniste
	HE	0.5	0.5	1		
	pénicilline	0.0078	1	128.20	130.2	antagoniste
	HE	0.5	1	2		
	ampicilline	0.0078	0.0039	0.5	1.75	antagoniste
	HE	0.5	0.625	1.25		
20 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2406	synergique
	HE	0.25	0.0313	0.1252		
	pénicilline	0.0078	0.0020	0.2564	0.3816	synergique
	HE	0.25	0.0313	0.1252		
	ampicilline	0.0078	0.0020	0.2564	0.3816	synergique
	HE	0.25	0.0313	0.1252		
1 h	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2402	synergique
	HE	0.125	0.0156	0.1248		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2402	synergique
	HE	0.125	0.0156	0.1248		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2402	synergique
	HE	0.125	0.0156	0.1248		
2 h	gentamicine	0.0078	1	128.20	130.2	antagoniste
	HE	0.5	1	2		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.6154	Additif
	HE	0.5	0.25	0.5		
	ampicilline	0.0078	1	128.20	130.2	antagoniste
	HE	0.5	1	2		

Tableau 13: Concentrations minimales inhibitrices réactionnelles pour les combinaisons d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* et les antibiotiques chez *L. monocytogenes* ATCC 25922

		CMI HEseule	CMI HEcombiner	FIC	FICI	Interprétation
6 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2412	synergique
	HE	0.031	0.0039	0.1258		
20 mn	gentamicine	0.0078	0.0009	0.1154	0.1458	synergique
	HE	0.25	0.0076	0.0304		
	pénicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2438	synergique
	HE	0.25	0.0321	0.1284		
	ampicilline	0.0078	0.0009	0.1154	0.2438	synergique
	HE	0.25	0.0321	0.1284		
1 h	gentamicine	0.0078	0.0078	1	1.25	antagoniste
	HE	0.25	0.0625	0.25		
	pénicilline	0.0078	0.0078	1	1.5	antagoniste
	HE	0.25	0.125	0.5		
	ampicilline	0.0078	1	128.20	132.2	antagoniste
	HE	0.25	1	4		

L'effet synergique est enregistré dans 52,54 % des tests de combinaison (environ 31 cas), la fraction qui a donné le plus d'effets synergiques est celle de 3-20 min avec 10 tests suivie par la fraction 0-3 min (9 tests) et 20-60 min (6 tests).

L'effet antagoniste est observé dans 38,98 % de tests (23 cas), l'eau florale et les fractions 3-6 et 60-120 min sont les extraits qui ont donné le plus d'effets antagoniste. Cependant l'effet additif est observé dans 8,47 % des cas testés.

L'effet synergique des combinaisons HEs/ATBs contre les bactéries Gram+ a été rapporté par **Betoni et al. (2006)** qui ont observé des interactions synergiques entre les extraits

de quelques plantes médicinales brésiliennes et huit antibiotiques sur *S. aureus*. De même, **Darwish et al. (2002)** ont démontré que l'efficacité de la gentamycine et du chloramphénicol contre quelques souches bactérienne a été considérablement améliorée en association avec les huiles essentielles. **Gallucci et al. (2006)** ont montré également dans leur étude que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline a augmenté l'activité de cette dernières contre les staphylocoques résistants à la méticilline, l'interaction entre le carvone et la pénicilline a donné une interaction synergétique très intéressante.

L'effet synergique peut être produit si les constituants d'un extrait affectent des cibles différentes ou interagissent entre eux afin d'améliorer la solubilité et ainsi améliorer la disponibilité d'une ou plusieurs substances dans le mélange (**Wagner et Ulrich-Merzenich, 2009**). Dans le même ordre d'idées, la nature hydrophobe des huiles essentielles de *J. phenicea* lui permet de pénétrer dans les cellules microbiennes et probablement de perturber la structure de la membrane cellulaire et de perturber les fonctions cellulaires (**Lopez-Romero et al., 2015**). Cela conduit à une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires bactériennes et facilite donc la pénétration des antibiotiques dans la cellule (**Rodrigues et al., 2009**).

En ce qui concerne les effets additifs observés, aucune explication du mécanisme n'a été retrouvée, néanmoins quelques auteurs ont suggéré que cet effet est probablement associé à la composition de la paroi bactérienne (**Scholar et Prat, 2000**).

Alors que l'effet antagoniste, peut s'expliquer par l'interaction entre les différents composés qui peut conduire à des changements de conformation structurelle au niveau de la paroi cellulaire des bactéries, conduisant ainsi à la réduction de l'activité inhibitrice (**D'Arrigo et al., 2010**).

Il est utile de rappeler que le pouvoir antimicrobien d'une huile essentielle ne résulte pas nécessairement de l'action d'un constituant chimique seule, mais de l'action d'un ensemble de composés qui interagissent entre eux. Donc, des phénomènes de synergie et d'antagonisme entre les différents constituants peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible par les composés majoritaires (**Bouaoun et al., 2007**).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Cette étude a pour objectif de fractionner les huiles essentielles extraites à partir des galbules mûres de *Juniperus phoenicea*, en fonction du temps au cours de l'hydrodistillation sans l'utilisation de solvants et de tester l'effet antibactérien de ces fractions vis-à-vis des souches pathogènes, seules et en combinaison avec des antibiotiques conventionnels, en utilisant deux méthodes différentes ; la méthode de diffusion sur disque et la méthode de microdilution.

Cette recherche a montré la possibilité d'obtenir des huiles essentielles de genévrier rouge avec différents profils chimique, en collectant des fractions d'huile à différents moments au cours du processus d'hydrodistillation.

Malgré l'inefficacité des différentes fractions d'huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* vis-à-vis des souches testées, mais elles ont manifesté un effet synergique important en combinaison avec les antibiotiques. Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut combiner certaines fractions avec les antibiotiques, ce qui peut réduire la dose efficace de ces derniers et minimiser leurs effets secondaires.

La méthode de microdilution sur microplaques est la méthode la plus démonstrative des effets d'interactions entre les agents antimicrobiens.

Enfin, ces huiles essentielles peuvent, donc, servir dans le traitement de certaines maladies infectieuses, et combattre les bactéries multirésistantes aux antibiotiques usuels. Cette étude pourrait constituer une base pour la mise au point d'une nouvelle génération d'agents antimicrobiens naturels pouvant être utilisés chez l'homme contre les infections rebelles aux antibiotiques classiques.

Il serait intéressant d'étayer ce travail en :

- Testant d'autres méthodes d'extraction (entraînement à la vapeur d'eau, extraction à froid, extraction au moyen de dioxyde de carbone...) et leurs influences sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles.
- Fractionnant les huiles essentielles, isolant et caractérisant les composants responsables des différentes activités biologiques.

- Testant les effets des composants actifs séparément et comparant leurs pouvoirs avec ceux des huiles essentielles.
- Des tests *in vivo* sont nécessaires pour évaluer le potentiel de cette combinaison à des fins thérapeutiques.
- Etudiant les mécanismes d'action et les facteurs influençant l'efficacité des huiles essentielles.
- Elargissant le spectre des propriétés biologiques que peuvent posséder les huiles essentielles en évaluant d'autres activités tant *in vitro* qu'*in vivo* telles que l'activité antitumorale, antivirale, insecticide et allélopathique.
- Cherchant des agents antimicrobiens capables d'inhiber le système enzymatique qui inhibe la dégradation des antibiotiques.

Références bibliographiques

Abdessamed K., 1981; Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M.) dans les massifs de l'Aurès et de Belezma : Etude phytosociologique et problèmes de conservation et d'aménagement. *Thèse de docteur-ingénieur, Université de Marseille, France*, 149p.

Abou-Douh AM., 2008; New eudesmane derivatives and other sesquiterpenes from the epigeal parts of *Dittrichia graveolens*. *Chem. Pharm. Bull.* 56: 1535-1545.

Aboul-Ela M., El-Shaer N., El-Azim T.A., 2005; Chemical constituents and antihepatotoxic effect of the berries of *Juniperus phoenicea* Part II. *Natural Produc. Sciences*, **11**(4), 240-247p.

Achak N., 2006; Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. *Thèse III^o cycle, Université de Marrakech, Maroc*, 304p.

Achak N., Romane A., Alifriouie M., Adams R. P., 2009; Chemical studies of leaf essential oil of three species of *Juniperus* from Tensift Al-Haouz- Marrakech region (Morocco). *Journal of Essent Oil Res*, **21**, 337-341p.

Adams R. P., 2014; Junipers of the world: The genus *Juniperus*. *4th edition, Trafford Publishing*, 415p.

Adams R. P., and Rieseberg L. H. 1998; The effects of non-homology in RAPD bands on similarity and multivariate statistical ordination in *Brassica* and *Helianthus*. *Theoret. App. Gen.* 97: 323-326.

Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K., 2010; Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different anti- microbials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *As Pacif J Trop Med* 1:266–9.

Afifi M. S., El-Sharkawy S. H., Maatoog G. T., Sohly M., Rosazza J. P. N., 1992; Essential oils of *Thuja occidentalis*, *Thuja orientalis*, *Cupressus sempervirens* and *Juniperus phoenicea*. *Mandura. J. Pharm. Sci*, **8**, 37-46p.

Afnor (association Française pour la normalisation), 2000; Huiles essentielles. Tom 1: Echantillonnage et méthodes d'analyse 471 P. Tom 2. Vol 1: Monographie relative aux huiles essentielles. éd. PARA Graphic, 323 P.

Ait Youssef M., 2006; Plantes médicinales de Kabylie. *Edition Ibis Press, Paris*, 349p.

Allali H., Benmehdi H., Dib M. A., Tabti B., Ghalem S., Benabadji N., 2008; Phytotherapy of diabetes in west Algeria. *Asian J. Chem*, **20**, 2701-2710p.

Alviano D. S, Alviano C. S, 2009; Plant extracts: search for alternatives to treat microbial diseases. *Curr Pharm Biotech*; 10: 106-21. Fine DH.

Alzand K. I., Aziz D. M., Tailang M., 2014; Isolation, structural elucidation and biological activity of the flavonoid from the leaves of *Juniperus phoenicea*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, **3**(10), 951-965p.

Amer M. M. A., Wasif M. M., Abo-Aytta A. M., 1994; Chemical and biological evaluation of *Juniperus phoenicea* as a hypoglycaemic agent. *J. Agric. Res*, **21**, 1077-1091p.

Angioni A., Barra A., Russo M. T., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., 2003; Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *J. Agric. Food. Chem*, **51**, 3073-3078p.

Arias C. A., Murray B. E., 2012; Antibiotic-resistant bugs in the 21st century: A clinical super challenge. *N. Engl. J. Med*, **360**(5), 439-443p.

Bagamboula C. F., Uyttendaele M., and Debevere J., 2004; Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *higella sonnei* and *S. flexneri*, *Food Microbiology*, p. 33-42.

Bajpai V. K., Kang S. C., 2010; Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu. *J. Am. Oil. Chem. Soc*, **87**(3), 327-336p.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008; Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446-475p.

Balz R., 1986; Les huiles essentielles et comment les utiliser, 152 p.

Barauskiene R., Venskutonis P. R., Viskelis P., Dambrauskiene E., 2003; Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J.Agr. Food Chem*, **51**(26), 7751-7758p.

Bari M. A., Islam W., Khan A. R., and Mandal A., 2010; Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae), *Int. J. Agric. Biol.*, p. 386-390.

Baser K. H., Tümen G., Tabanca N. and Demirci F., 2001; Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wiedemanniana* (Lallem.). *Velen. Z. Naturforsch*, 56c : 731-738.

Bassolé I. H. N., Juliani H. R., 2012; Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006p.

Baudry C., Brezellec H., 2006; Microbiologie-immunologie : Cahiers du préparateur en pharmacie. 2ème édition, *Groupe Liaisons*, 126p.

Belaiche P., 1979; Traite de la phytothérapie et de l'aromathérapie. Tome 1 *Aromatogramme*.

Bellakhdar J., 1997; La pharmacopée marocaine traditionnelle. *Edition Ibis Press, Paris*, 272p.

Benjilali B., 2005; Le matériel végétal et l'extraction. In : Huiles essentielles, de la plante à l'extraction. Manuel pratique. Université du Québec à Chicoutimi, Chicoutimi : 61-78.

Bochaton C., Rochegude S., Roubille R., Les aminoglycosides, Lyon Pharmaceutique, 1997; 48:226-239 Lacarelle, Baltasat A, Bouquet S. Suivi thérapeutique pharmacologique de la gentamicine. In : Marquet P. Suivi thérapeutique pharmacologique pour l'adaptation de posologie des médicaments. Paris:Elsevier 2004 ; pp. 51 à 61.

Bonomo R.A., Szabo D., 2006; Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 43(Suppl. 2): S49–S56.

Bouaoun D., Hila C., Garabeth F., & Sfeir R., 2007; Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie* , 5, pp. 129–134.

Bouchikhi T., 2000; Activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles. Thèse. Doct. Universit. Balaise Pascal. Clermont-Ferrand.

Boudy P., 1950; Economie forestière Nord-Africaine. Monographie et traitement des essences. Ed. Larose. Paris. pp. 29-249.

- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Senhajiskli N., et Abrini J., 2005;** L'effet antibactérien *in vitro* de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis-à-vis de souches d'origines cliniques. *Nouvelles Tendances dans l'Ingénierie Biomédicale*. 11: 142-149.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N. S., Abrini J., 2006;** *Thymus* essential oils: chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. *In: Congrès International de Biochimie. Agadir, Morocco, May 9-12, 2006*, pp. 1-4.
- Bouilet L., 2007;** Notes sur la technique traditionnelle d'extraction du goudron végétal. *Projet Machrek & Maghreb III, Algérie*.
- Bouyahyaoui A., Bahri F., Romane A., Höferl M., Wanner J., Schmidt E., Jirovetz L., 2016;** Antimicrobial activity and chemical analysis of the essential oil of Algerian *Juniperus phoenicea*. *Natural Product Communications*, 11(4), 519-522p.
- Bozin B., Mimica-dukic N., Simin N., Anackov G., 2006;** Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, **54**, 1822-1828p.
- Brochant de Villers A.J.F.M., Brongniart A., Turpin P.J.F., Cuvier F.G., Cloquet H., Dumériel A.M.C., Ducrotay de Blainville H.M., Desmarest A.-G, 2008 ;** Dictionnaire des sciences naturelles. *Volume 18, Edition Levrault, Paris*, 594p
- Bruneton J., 1999;** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. *3ème édition, Tec & Doc. Lavoisier, Paris*, 1120p.
- Burt S., 2004;** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.
- Burt, S. A., et Reinders R. D., 2003;** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol*; 36(3):162-7.
- Calcagno F., Lacroix R., 2011;** Pharma-memo infectiologie. *Vernazobres-Greco, Paris*, 246.
- Carbonnelle B., 1988;** Bactériologie médicale techniques usuelles, éd. SIMEP, 253-291p.

Carson, C. F., et Riley T. V., 1995; Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *J Appl Bacteriol*; 78: 264-9.

Cavaleiro A., Wang Y., Liang F., Su W., Feng Y., Guo X., Wang N., 2010; Composition and variability of essential oils of *Platycladus orientalis* growing in China. *Biochem. Syst. Ecol.*, 38: 1000-1006.

CCLIN Paris-Nord, décembre 2007; Le bulletin n°31 : Réseaux de surveillance, 22p, disponible en ligne <http://www.cclinparisnord.org/Bulletin/Bull31.pdf>.

Chabal M., 1995; Etude chimique et valorisation pharmacologique des huiles essentielles de thym et d'origan du Maroc – Thèse de l'Université Mohamed 5, 118p.

Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. 1997; Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.

Charpentier B., Hamon-Lorleac'h F., Harlay A., Huard A., Ridoux L., Chanselle S, 2008 ; Guide du préparateur en pharmacie. 3ème édition, Elsevier Masson, Paris, 1358p

Chaslus-Dancla E., Cloeckert A., Payot S., Baucheron S., 2002; Les multiples façons de faire de la résistance aux antibiotiques. *In : Antibiothérapie bovine. Acquis et consensus* (coordonné par C Legrand), pp 53-67. *Le Point Vétérinaire, Maisons-Alfort*.

Chazel M., Chazel L., 2012; Découverte naturaliste des garrigues. *Quae édition*, 208p
chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatized in Morocco. *Flavour Fragr. J.* 18, 124–127. doi:10.1002/ffj.1160.

Clos J., 2012; Immunité chez les animaux et les végétaux : Aspects fondamentaux et physiopathologiques. *Lavoisier, Paris*, 432p.

Coates A. R. M., 2012; Antibiotic resistance. *Springer Science & Business Media*, 192p.

Combe J., Simonnet F., Simonnet G., 1988; Action du xibornol sur la division cellulaire et les synthèses macromoléculaires des bactéries à gram positif. *Ann pharm fr*; 46(1): 19-26.

Comte G., Allais D. P., Chulia A. J., Vercauteren J., Bosso C., 1996; Phoeniceroside, the first natural Bis-Furanone Propane derivatives from *Juniperus phoenicea* L. *Tetrahedron Letters*, **37** (17), 2955-2960p.

Comte G., Vercauteren J., Chulia A. J., Allais D. P., Delage C., Pinaud N., 1997; Three phenylpropanoids from *Juniperus phoenicea*. *Phytochemistry*, **44**(6), 1167-1173p.

Connolly J. D., Hill R. A., 1991; Dictionary of Terpenoids. Vol. 1: Mono- and Sesquiterpenoids, Vol. 2: Di- and higher Terpenoids, Vol. 3: Indexes. Chapman & Hall London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.

Cosentino S., Tuberoso C. I. G., 1999; In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett Appl Microbiol*; 29(2):130-5.

Couic-Marinier F., Lobstein A., 2013; Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine.

Coutinho H. D. M., Matias E. F. F., Santos K. K. A., Santos F. A. V., Morais-Braga M. F. B., Souza T. M., Andrade J. C., Souza C. E. S., Tintino S. R., Guedes G. M. M., Falcão-Silva V. S., Siqueira-Júnior J. P., Costa J. G. M., 2011; Modulation of the norfloxacin resistance in *Staphylococcus aureus* by *Croton campestris* A. and *Ocimum gratissimum*. *Biomédica*, 31: 608-612.

Cox S. D., Gustafson J. E., Mann C. U., Warmington J., 1998; Tea tree oil causes K⁺ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli*. *Lett. Appl. Microbiol*; 26: 355.

Cox S. D., Mann C. M., 2000; The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J Appl Microbiol*; 88 (1): 170-5.

Cristiani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G., Micieli D., 2007; Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(15), 6300-6308p.

D'Arrigo M., Ginestra G., Mandalari G., Furneri P. M., et Bisignano G., 2011; Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and *Melaleuca alternifolia* (teatree) oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Phytomedicine*. 17,317–322.

- Daferera D. J., Ziogas B. N., Polissiou M. G., 2000;** GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agr. Food Chem*, **48**(6), 2576-2581p.
- Dakki M., 2003;** Embouchure de la Moulouya. *Rapport de synthèse, projet MedWetWoast, Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Eau et de l'Environnement, Maroc*, 114p.
- Darwish R. M., Aburjai T., Al-Khalil S., Mahafzah A., 2002;** Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of *Staphylococcus aureus*. J.
- Davidson P. M., Parish M. E., 1989;** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*, **43**(1), 148-155p.
- Davies J. E., 1994;** Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Found Symp*, **207**, 15-27p.
- Deans S. G., & Ritchie G., 1987;** Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology* **5**:165-180.
- Debazac E. F., 1991;** Manuel des conifères. *E.N.G.R.E.F, 2ème édition, Nancy*, 172p.
- Debreczy Z. K., Musial R. A., Price and Rącz I., 2009;** Relationships and nomenclatural status of the Nootka cypress (*Callitropsis nootkatensis*, Cupressaceae) *Phytologia* **91**(1): 140-159.
- Delamare A. P. L., Ivete A., Luciana A. S., and Sergio E., 2007;** Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. *Food Chemistry* **100** : 603-608.
- Delaquis P. J., Stanich K., Girard B., Mazza G., 2002;** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* **74**: 101-109.
- Delitala F. L., 1980;** Ricerche chemiotassonomiche sul genere *Juniperus* Linnaeus. *Riv Ital EPPOS*, **62**, 303-309p.feliciano

Demoré B., Grare M., Duval R. E., 2012; Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. *In* : Pharmacie clinique et thérapeutique (coordonné par J Calop., S Limat., C Fernandez et G Aulagner), pp 801-844. 4ème édition, Elsevier Masson, Paris.

Denyer S. P., Hugo W. B., 1991; Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. *In*: Mechanisms of action of chemical biocides, The Society for Applied Bacteriology, Technical Series n°27 (edited by S.P Denyer and W.B Hugo), pp 171-188. Oxford Blackwell Scientific Publication, Oxford, UK .

Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010; Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *International Journal of Agriculture & Biology*, 12(2), 199-204p.

Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J., et Bernardini A. F., 1997; Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*; 25 (6) : 13-16.

Didry N., Dubreuil L., 1993; Activité antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldehyde cinnamique seuls ou associés. *Pharmacize*; 48: 301-4.

Dorman H. J. D., et Deans S. G., 2000; Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*; 88(2): 308-16.

Duke J. A., 1998; Phytochemical Database. Ed. USDA-ARS-NGRL. Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland.

Dunphy P. J., 2006; "Location and biosynthesis of monoterpenyl fatty acyl esters in rose petals." *Phytochemistry* 67 (11): 1110-1119.

Duquenois P., Anton R., 1968; Search for derivatives of anthracene in 2 African Cassia: oils--a review. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 46, 446-475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.

Duraffourd C., Dhervicourt L., et Laparaz J. C., 1990 ; Examen de laboratoire galémique, Eléments thérapeutiques synergiques, T.1.2ème édition, Masson, Paris, p.10.édition Masson.

El-Sawi S. A., Motawae H. M., Ali A. M., 2007; Chemical composition, cytotoxic activity and antimicrobial activity of essential oils of leaves and berries of *Juniperus phoenicea* L. grown in Egypt. *Afr. J. Trad. CAM*, **4**(4), 417-426p.

El-Sawi S. A., Motawae H. M., 2008; Labdane, Pimarane and Abietane diterpenes from the fruits of *Juniperus phoenicea* L. Grown in Egypt and their activities against human liver carcinoma. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*, **2**(1), 115-122p.

El-Sawi S. A., Motawae H. M., Sleem M. A. F., El-Shabrawy A. R. O., Sleem A., Ismail M. A. N., 2014; Phytochemical screening, investigation of carbohydrate contents, and antiviral activity of *Juniperus phoenicea* L. growing in Egypt. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, **20**(1), 83-91p.

Ennajjar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Savagnac A., Abderraba M., Raies A., Romdhane M., 2010; The influence of organ, season and drying method on chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. essential oils. *J Sci Food Agric*, **90**(3), 462-470p.

Ennajjar M., Bouajila J., Lebrihi A., Mathieu F., Abderraba M., Raies A., Romdhane M., 2009; Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). *Journal of Food Science*, **74**(7), 364-371p.

Fadli M., Chevalier J., Saad A., Mezrioui N. E., Hassani L., Pages J. M., 2011; Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria. *Int J Antimicrob Agents*, **38**(4), 325-330p.

Farjon A., 2005; A monograph of *Cupressaceae* and *Sciadopitys*. *Royal Botanic Gardens edition. Michigan, USA*, 643p.

Felice S., Francesco N., Nelly A. A., Maurezio B., Werner H., 2004; Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. *Flav. Fragr. J.*, **20** (3), 291 – 294.

Fisher K., Phillips C., 2009; In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *Br. J. Biomed. Sci.*, **66**(4), 180-185p.

Frank P., 1986; La végétation d'Afrique, *Edition IRD*, 169p.

Furgang D., Barnet M. L., 2001; Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of actinobacillus actinomycetemcomitans. *J Clin Periodontol*; 28: 697-700.

Gadek P. A., Alpers D. L., Heslewood M. M., Quinn C. J., 2000; Relationships within Cupressaceae *sensu lato*: a combined morphological and molecular approach. *Am. J. Bot.*, 87: 1044–1057.

Gallucci N., Casero C., Oliva M., Zygadlo J., Demo M., 2006; Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics. *Molecular Medicinal Chemistry*. 10, 30-32.

Garnéro J., 1991; Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. *Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France*, 2-20p.

Garnier B., Jarlier V., 1996; Bêta-lactamines et bacilles à Gram négatif. *Feuillets de Biologie*, XXXVII(212), 13-20p.

Gaston B., 1990; La grande flore en couleurs (la flore de France) Edit.Belin.Tome

Gauthami R., Sudhakara R. G., Karthik K., 2012; Evaluation of Antibacterial Effect of Vernonia Anthelmintica seed Extract and Its Synergistic Effect with Antibiotics on Resistant Bacterial Strains. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 3: 79-81.

Gonny M., Bradesi P., Casanova J., 2004; Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour Fragr. J.* 19, 424–433. doi:10.1002/ffj.1330.

Griffin S., 2000; Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to their molecular structure, Doctorante thesis, University of Western Sydney, Sydney, Australia.

Guesmi A., Boudabous A., 2006; Activité antimicrobienne de cinq huiles essentielles associées dans les produits de thalassothérapie. *Revue des Régions Arides*, numéro spécial, 224- 230p.

Hammer K. A., Carson C. F., & Riley T. V., 1999; Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology*. 86: 985–990.

Henandez Ochoa L. R., 2005; Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine solvant / actif D'origine végétale – thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p.

Hogan D., Kolter R., 2002; Why are bacteria refractory to antimicrobials. *Current opinion in Microbiology* 5: 272–4.

Hulin V., Mathot A. G., Mafart P., Dufossé L., 1998; Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.

Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M., Benzeid H., Khedid K., 2009; Physico-chemical compositions and antimicrobial activity of essential oil of eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11(2) : 113-118.

Janssen A. M., Scheffer J. J., Baerheim Svendsen A., 1987; Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Med*, 53(5), 395-398p.

Jaume Saint-Hilaire J. H., 2010; Plantes de la France: décrites et peintes d'après nature. *Volume 7, Edition Chez l'auteur, Paris*, 360p.

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

Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M. F., 2008; Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160-164p.

Karpanen T. J., Worthington T., Hendry E. R., Conway B. R. Lambert P. A. 2008; "Antimicrobial efficacy of chlorhexidine digluconate alone and in combination with eucalyptus oil, tea tree oil and thymol against planktonic and biofilm cultures of *Staphylococcus epidermidis*." *J. Antimicrob. Chemother.* 62(5): 1031–1036.

Kelen M., Tepe B., 2008; Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99(10), 4096-4104p.

Kimbaris A. C., Siatis N. G., Daferera D. J., Tarantilis P. A., Pappas C. S., Polissiou M. G., 2006; Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compound from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason. Sonochem.* 13, 54–60. doi:10.1016/j.ultsonch.2004.12.003 .

Kunle O., Okogun J., 2003; Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedicine*; 10: 59-61.

Lahlou M., Berrada R., 2003; Composition and niticidal activity of essential oils of three.

Lahlou M., 2004; Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, 435-448p.

Lakhdar L., Hmamouchi M., Rida S., Ennibi O., 2012; Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens: A qualitative systematic review. *Trop Dent J*; 35(140).

Lambert R. J., Skandamis P. N., Coote P. J., Nychas G. J., 2001; A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91: 453-462.

Lamendin H., 2004; Huiles essentielles en diffusion atmosphérique. *Chir. Dent. Fr.*

Lawrence B. M., 1989; Juniper-berry oil. *Essential oils Allured Publishing Corporation, Wheaton*, 240-241p.

Le floe'h E., 1983; Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Edition Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.

Le Loir Y., Gantier M., 2009; *Staphylococcus aureus*. *Lavoisier, Paris*, 300p.

Leffingwell J. C., (Consulté le 24 Janvier 2011), Rose (*Rosa damascena*). Disponible sur <http://www.leffingwell.com/rose.htm>

- Livermore D. M., 1995;** Beta-lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, 8(4), 557-584p.
- Louni D., 1994;** Les forêts algériennes. *Forêt Méditerranéenne*, 1, 59-63p.
- Mainardi J. L., Goldstein F. W., Gutmann L., 1996;** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *Encycl Méd Chir. Maladies infectieuses (Elsevier, Paris)*, 8-006-N-10, 8p.
- Malecky M., 2007.** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de Doctorat . Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l' Environnement (Agro. Paris,Tech.).
- Mandalari G., D'Arrigo M., Ginestra C., Arena A., Tomaino A., Wickham M.S.J., 2007 ;** Antimicrobial potential of polyphenols extracted from almond skins. *5th edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, PA organ transplantation*.83-89P.
- Mann J., 1987;** Secondary metabolism. Second edition, Clarendon press, Oxford.
- Manou L., Bouillard L., Devleeschouwer M. J., Barel A. O., 1998;** Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *J. Appl. Microbiol.* , 84, pp. 368-376.
- Mansouri N., 2008;** valorisation des huiles essentielles de *Jubiperus thurifera* et *Juniperus oxycedrus* du Maroc. 57p.
- Mao K., Hao G., Liu J., Adams R. P., Milne R. I., 2010;** Diversification and biogeography of *Juniperus* (*Cupressaceae*): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytol*, 188(1), 254-272p.
- May J., Chan C. ., King A., Williams L., French G. L., 2000;** Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother*, 45(5), 639-643p.
- Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X., 2010;** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L.. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 959-964p.
- Mazur M., Boratynska K., Marcysiak K., Gomez D., Tomaszewski D., Didukh J., Boratynski A., 2003;** Morphological variability of *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*).

- Medini H., Elaissi A., Khouja M. L., Chemli R., 2013;** Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, **1**(2), 77-82p.
- Moreira M. R., Ponce A. G., De Valle C. E.; Roura S. I., 2005;** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie-LWT*, **38**, 565-570p.
- Muthu C., Ayyanar M., Raja N., Ignacimuthu S., 2006 ;** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **2**: 43 doi: 10.1186/1746-4269-2-43
- Nascimento G. G. F., Locatelli J., Freitas P. C., Silva G. L., 2000;** Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Braz J Microbiol*, **31**(4), 247-256p.
- Nauciel C., Vildé J. L., 2005;** Bactériologie médicale : Abrégés. Connaissances et pratique. *2ème édition, Elsevier Masson, Paris*, 257p.
- Nedjimi B., Beladel B., Guit B., 2015;** Multi-element determination in medicinal juniper tree (*Juniperus phoenicea*) by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, **8**, 243-246p.
- Normak H. B., Normak S., 2002;** Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. Intern. Med*, **252**(2), 91-106p.
- Nour M., Mastouri M., Nejma, M. B., 2005;** Le staphylocoque doré résistant à la méticilline : émergence et bases moléculaires de la résistance. *pathologie biologique*, **53** (6) :334-340.
- Opal S. M., Mayer K. H., Medeiros A. A., 2000;** Mechanisms of bacterial antibiotic resistance: Control of antibiotic resistance. *In: Principles and practice of infectious disease* (edited by G.L Mandell., J.E Bennett and R Dolin), pp 236-253. *5th edition, Churchill Livingstone, Philadelphia, PA* organ transplantation]. *Bull. Académie Natl. Médecine* **192**, 883–893; discussion 893–894.

Oussalah M., Caillet S., Lacroix M., 2006; Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69(5) : 1046-1055.

Oussou K. R., Kanko C., Guessend N., Yolou S., Dosso M., N'Guessan Y. T., Koukoua G., 2004; Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10) : 1081-1086.

Özcan M., Chachat J. C., 2004; Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30(3-4): 68-73.p.374.

Paris M., Hurabielle M., 1981; Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I.

Pattnaik S., 1995; Effect of essential oils in the variability and morphology of *Escherichia coli*. *Microbios*; 48: 195-9.

Pauli A., 2001; Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromathérapie*, 11(3), 126-133p.

Pavel M., Ristic M., Stevic T., 2009; Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity. *J. Serb. Chem. Soc.* 75(1), 27-34p.

Pavithra P. S., Sreevidya N., Verma R. S., 2009; Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Pamburus missionis*. *J. Ethnopharmacol.* 124, 151–153.

Pibiri M. C., 2006; Assainissement microbiologique de l'air et des systems de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat, EPFL Lausanne, 161p.

Pichersky E., Noel J. P., Dudareva N., 2006; Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. *Science* 311, 808–811. doi:10.1126/science.1118510.

Pittermann J., Stuart S. A., Dawson T. E., Moreau A., 2012; Cenozoic climate change shaped the evolutionary ecophysiology of the *Cupressaceae* conifers. *PNAS*, 109(24): 9647-9652.

- Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C. E., Roura S. I., 2003;** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-LWT*, 36, 679-684p.
- PROTA, 2008;** Ressources végétales de l'Afrique tropicale. *Vol II(1). Plantes médicinales, tome 1*, G.H. Schmelzer & A. Gurib-Fakim. Wageningen, Fondation PROTA - Backhuys - CTA, 869p.
- Quezel P., Santa S., 1963;** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. *CNRS, tome 2, Paris*, 1170p.
- Rafi A., Tasneem U. S., Achfaq A., Muchtaq A., 1994;** Médicinal importance of essential oils. *Hamdard Medicus*.XXXVI(3): 101-105.
- Rai M. K., Acharya D., Wadegaonkar P., 2003;** Plant derived-antimicrobials: potential of Asteraceous plants, In: *Plant derived-antimicrobials: current trends and Future prospects*, Haworth press, N-York, London, Oxford, pp 165-185.
- Rameau J. C., Mansion D., Dume G., 2008;** Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne. *Forêt privée française, Volume 3*, 2426p.
- Remmal A., Tantaoui-Elaraki A., Bouchikhi T., et al, 1990;** *J Ess Oil Res* 5, 179–84 “Improved method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium.”.
- Rezzi S., Cavaleiro C., Bighelli A., Salgueiro L., Proença da Cunha A., Casanova J., 2001;** Intraspecific chemical variability of the leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* subsp. *turbinata* from Corsica. *Biochem. Syst. Ecol*, 29, 179-188p.
- Robert P.A., Barrero.F., Lara A., 1996;** Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*. *J. Essent. Oil Res*, 8, 367-371p.
- Rodrigues F. F. G., Costa J. G. M., Coutinho H. D. M., 2009;** Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. *Phytomedicine*, 16(11) : 1052-1055.

- Rosato A., Vitali C., De Laurentis N., Armenise D., Milillo M. A., 2007;** Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine* 14 : 727-732.
- Rossi P. G., Berti L., Panighi J., Maury J., Muselli A., de Rocca Serra D., Gonny M., Bolla J. M., 2007;** Antibacterial action of essential oils from Corsica. *J. Essent. Oil Res.* 19: 176-182.
- Ruberto G., Baratta M. T, 2000;** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* 69, 167–174. doi:10.1016/S0308- 8146(99)00247-2.
- San Feliciano A., Miguel Del Corral J. M., Gordaliza M., Salin Ro M. A., 1992;** Neutral diterpenoids and aromatic compounds from leaves of *Juniperus phoenicea* ssp. *turbinata*. *Anales de Quimica*, 88, 512-516p.
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F. J., Reglero G., 2005.** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Prot.* 68, 790–795.
- Sartoratto A., Machado A. L. M., Delarmelina C., Figueira G. M., Cristina M., Duarte T., Rehder V. L. G., 2004;** Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35 : 275-280.
- Scholar E. M., Pratt W. B., 2000;** The antimicrobial drugs. Oxford University Press, USA.
- Sefidkon F., Jalili A., Mirhaji T., 2001;** Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran. *Flavour Fragr. J.* 17(2), 150-152p.
- Seigue A., 1985;** La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. *Edition Maisonneuve et Larose, Paris*, 502p.
- Sienkiewicz M., Łysakowska M., Denys P., Kowalczyk E., 2012;** Antimicrobial activity of thyme essential oil against multidrug resistant clinical bacterial strains. *Microbial Drug Resistance*, 18(2), 137-148p.
- Silba J., 1986;** An international census of the *Coniferae*. *Phytologia Memoir*, 8, 1-217p.
- Singh V. P., 2006;** Gymnosperm (naked seeds plant). *Sarup & Sons edition. India*, 694p.

Smallfield B., 2001; introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crops and Food Research. Number 45, P4.

Sofiev M., Bergmann K. C., 2012; Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts. *Springer Science & Business Media*, 252p.

Southwell I. A., Hayes A. J., Markham J., Leach D. N., 1993; Acta Horticult., p.344, 256–265. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M., 2006, Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs, Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, p. 405.

Souza E. L., Guerr N. B., Stamford T. L. M., Lima E. O., 2006; Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Rev. Bras. Farm., p. 22-25.

Spencer R., 1995; Horticultural flora of South Eastern Australia: Ferns, Conifers and their Allies. *Royal Botanic Gardens edition, volume I, Melbourne*, 358p.

Svoboda Hampson, 1999; Zohra M., 2006; Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p.

Teibi M., 1992; Contribution à l'étude de l'estimation de biomasse aérienne d'un taillis de chêne vert (*Quercus ilex*) et de deux Genévriers : Genévrier oxycèdre, Genévrier de Phénicie dans la région de Kasserou. *Mémoire d'ingénieur en agroalimentaire, Université de Batna, Algérie*, 80p.

Teuscher E., Anton R., et Lobstein A., 2005 ; plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec et Doc éditions, Paris.

Thiago S. A., João B. T. R., Fabíola F. G. R., Adriana R. C., José G. M. C., 2013; Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of Croton. *Industrial Crops and Products*, 44 : 630– 633.

Tohidpour A., Sarari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J., 2010; Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17, 142-145p.

- Topçu G., Öksüz S., Shieh H. L., Cordell G. A., Pezzuto J. M., Bozok-Johansson C., 1993;** Cytotoxic and antibacterial sesquiterpenes from *Inula graveolens*. *Phytochemistry*. 33: 407-410.
- Traoré Y., Ouattara, K., Yéo D., Doumbia I., Coulibaly A., 2012;** Recherche des activités antifongiques et antibactériennes des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers. (Annonaceae). *Journal of Applied biosciences*, 58 : 4234-4242.
- Ultee A., Bennik M. H. J., Moezelaar R., 2002;** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1561–1568.
- Valero M., Salmerón M. C., 2003;** Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology*, 85(1-2), 73-81p.
- Van Royen P., 1979;** The alpine flora of New Guinea: Taxonomic part *Cupressaceae* to *Poaceae*. *Cramer J. volume 2. Germany*, 1232p.
- Van Schie, C. C. N., Haring M. A., et al; 2006;** "Regulation of terpenoid and benzenoid production in flowers." *Current Opinion in Plant Biology* 9(2): 203-208p.
- Varlet E., 2008;** Découvrez les fruits sauvages. *Edition Ellebore, Paris*, 254p.
- Vekiari S.A., Protopapadakis E. F., Papadopoulou P., Papanicolaou D., Panou C., Vamvakias M., 2002;** Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(1), 147-153p.
- Vidakovi M., Soljan M., 1991;** Conifers: Morphology and variation. *Grafi ki zavod Hrvatske*, 754p.
- Walsh S. E., Maillard J. Y., 2003;** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *J Appl Microbiol*; 94(2): 2407.
- Wan J., Wilcock A., Coventry M. J., 1998;** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J.Appl. Micro biol*, 84(2), 152- 158p.

Wannisorn B., Jarikasem S., Siritwangchai T., Thubthimthed S., 2005; Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, **76**(2), 233-236p.

Warnke P. H., Becker S. T., Podschun R., Sivananthan S., Springer I. N., Russo P. A., Wiltfang J., Fickenscher H., Sherry E., 2009; The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *J Craniomaxillofac Surg*, **37**(7), 392-397p.

Willem J. P., 2004; Les huiles essentielles, medecine d'avenir, 318 p.

Zengin H., Baysal A. H., 2014; Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. *Molecules*, **25**(19) :17773-17798.

Zheljazkov VD., Ka ániova M., Astatkie T., Tekwani B., 2017 ; Sequential Elution of Essential Oil Constituents during Steam Distillation of Hops (*Humulus lupulus* L.) and Influence on Oil Yield and Antimicrobial Activity. *J. Serb. Chem. Soc.*

Zhiri A., 2006; Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix*, **12**, 8p.

Zohoun A., Ngoh E., Bajjou T., Sekhsokh Y., Elhamzaoui S., 2010; Epidemiological features of multidrug resistant bacteria isolated from urine samples at the Mohammed V Military Teaching Hospital in Rabat, Morocco. *Med Trop*, **70**(4), 412-413p.

Porte A., Godoy R., 2008 ;Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (thyme) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *J. Serb. Chem. Soc.*, **73**(3), 307-310p

Annexes

Annexe 01: Milieux de culture

Tableau I : Milieu Gélose nutritive (**Guiraud, 1998**).

Composant	Quantité
Extrait de viande 1g	1g
Peptone 5g	5g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillée 1000ml	1000ml
Agar-agar	15g
pH=7	
Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

Tableau II : Milieu Mueller-Hinton gélosé (**Guiraud, 1998**).

Composant	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Agar-agar	17 g
Eau distillé	1000ml
pH=7.4	
Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

Tableau III : Milieu Mueller-Hinton liquide (**Guiraud, 1998**).

Composant	Quantité
Infusion de viande de bœuf	300 ml
Peptone de caséine	17.5g
Amidon de maïs	1.5g
Eau distillé	1000ml
pH=7.4	
Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

Annexe 02 : Solvants

Tableau IV : Eaux physiologique (Guiraud, 1998).

Composant	Quantité
Chlorure de sodium	9g
Eau distillée	1000ml
pH=7,2	
Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

Tableau V : Standards de turbidité (McFarland 0,5)

Composant	Quantité
dihydrate de chlorure de baryum (BaCL ₂) à 1 %	0,5 ml
acide sulfurique à 1 %	99,5 ml
Mettre dans des tubes de test identiques à ceux de la suspension bactérienne.	
Fermer hermétiquement avec de la cire pour éviter leur évaporation.	
Réfrigérer ou conserver à température ambiante (22-25°C).	

Annexe 03: Appareillage

Balance, Entonnoir en verre, papier filtre, Agitateur, Barrou magnétique, Papier film, Papier Wattman 1, Flacon stérile, pipettes graduées, bain marée, les tubes a essai, boite de pétri, les étuve, vortex, éprouvette, bécher, micro pipette, Bec Bunsen, l'anse de platine, Spatule, écouvillon. Micro pipette,

Disques d'antibiotiques: Gentamicine, Ampicilline, Pénicilline.

Produits chimiques et réactifs

- Ethanol, Eau physiologique, Méthanol, Ethanol, L'eau distillée.

Annexe 04 :

Tableau VI : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques

	CMI (mg/L)	Diamètre (*) (mm)
Sensible	CMI \leq c	* \leq D
Intermédiaire	CMI $>$ C	* $<$ d
Résistante	c $<$ CMI \leq C	d $<$ * $<$ D

Tableau VII. Concentrations et diamètres critiques pour les divers antibiotiques testés

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations Critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		sensible	Résistant	Sensible	Résistant
Pénicilline	6 μ g (10 UI)	0,25	$>$ 2	29	$<$ 18
Ampicilline	10 μ g	2	$>$ 8	21	$<$ 16
Gentamicine -streptocoques, entérocoques - autres bactéries	500 μ g	250	$>$ 500	14	$<$ 10
	15 μ g (10 UI)	2	$>$ 16	17	$<$ 15

Annexe 05 :

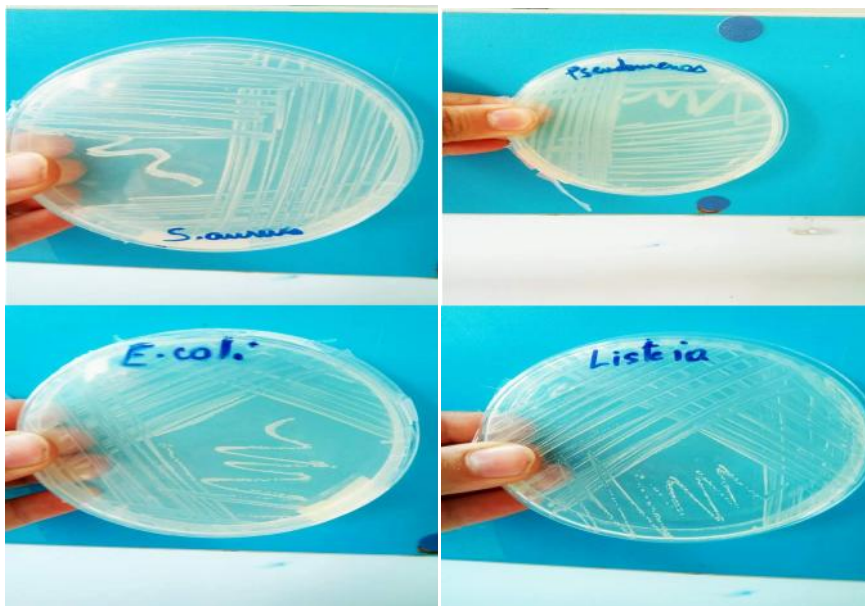


Figure I : Repiquage des souches testées

Annexe 06:

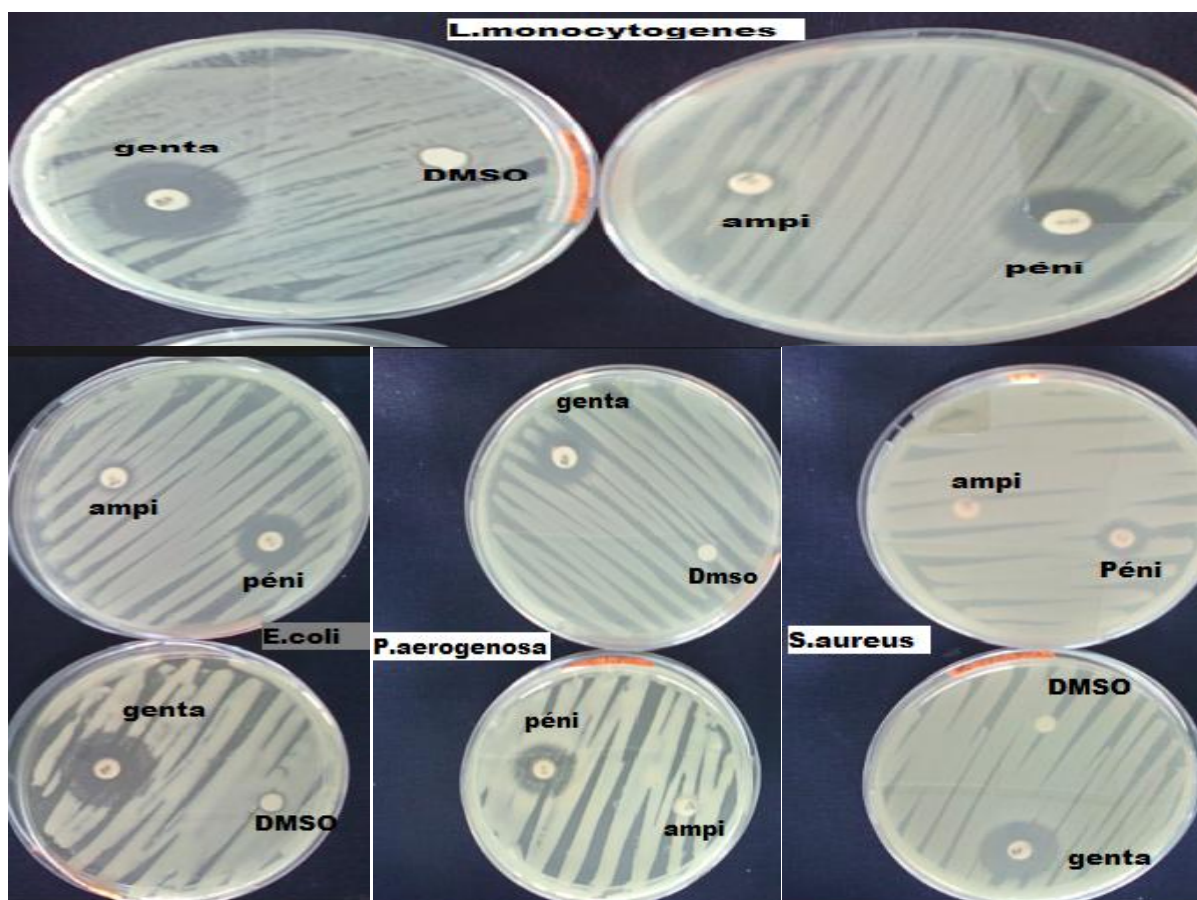


Figure II : Les zones d'inhibition obtenues par l'activité antibactérienne des antibiotiques sur les souches testées (*S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *L.monocytogenes*)

Annexe 07 :

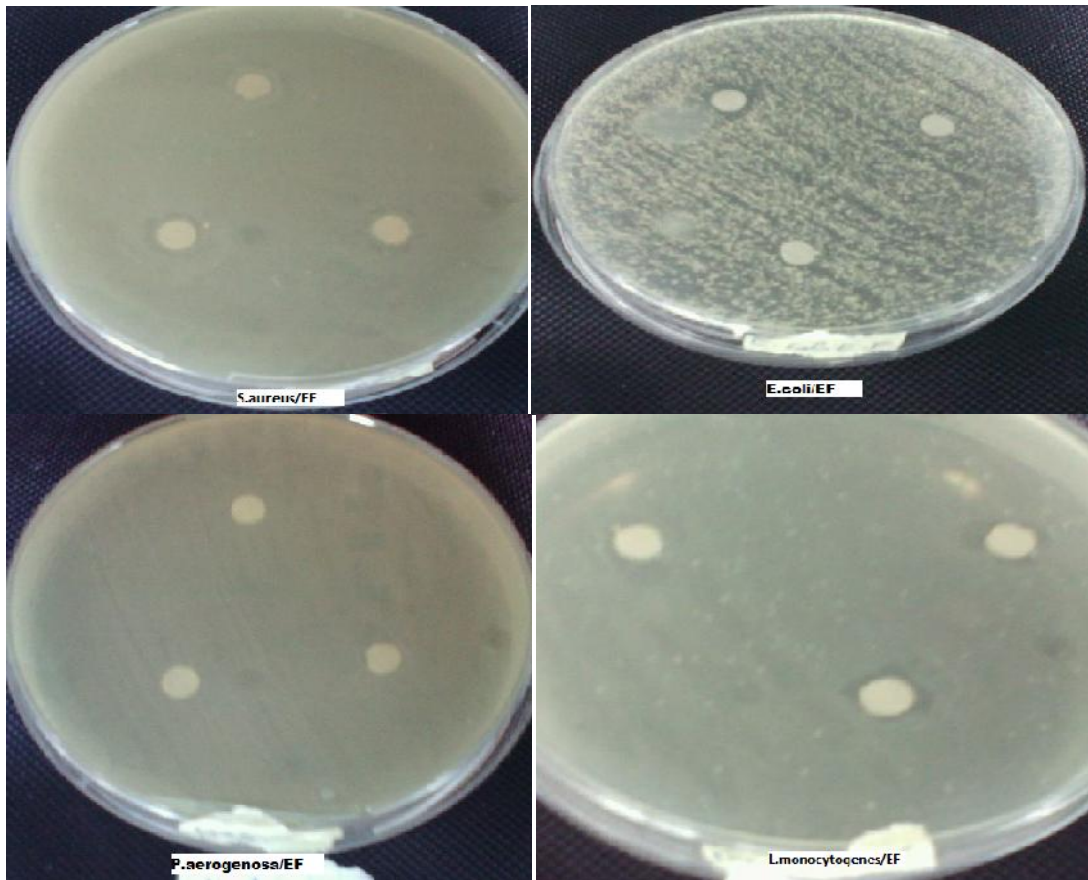


Figure III: aromagramme avec l'eau florale des souches (*S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *L.monocytogenes*)

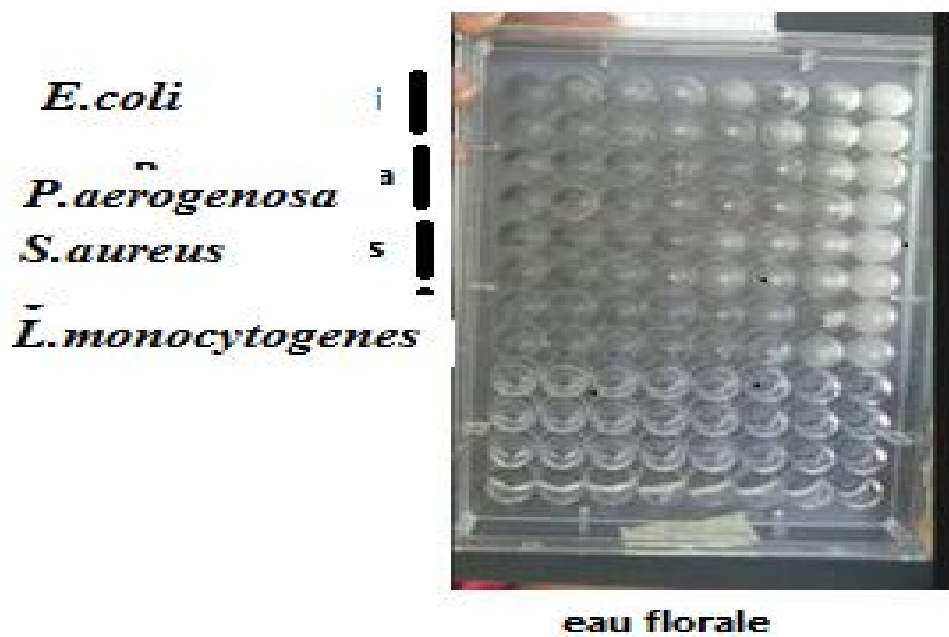


Figure IV : Détermination de la CMI chez les souches testées

Annexe 08:

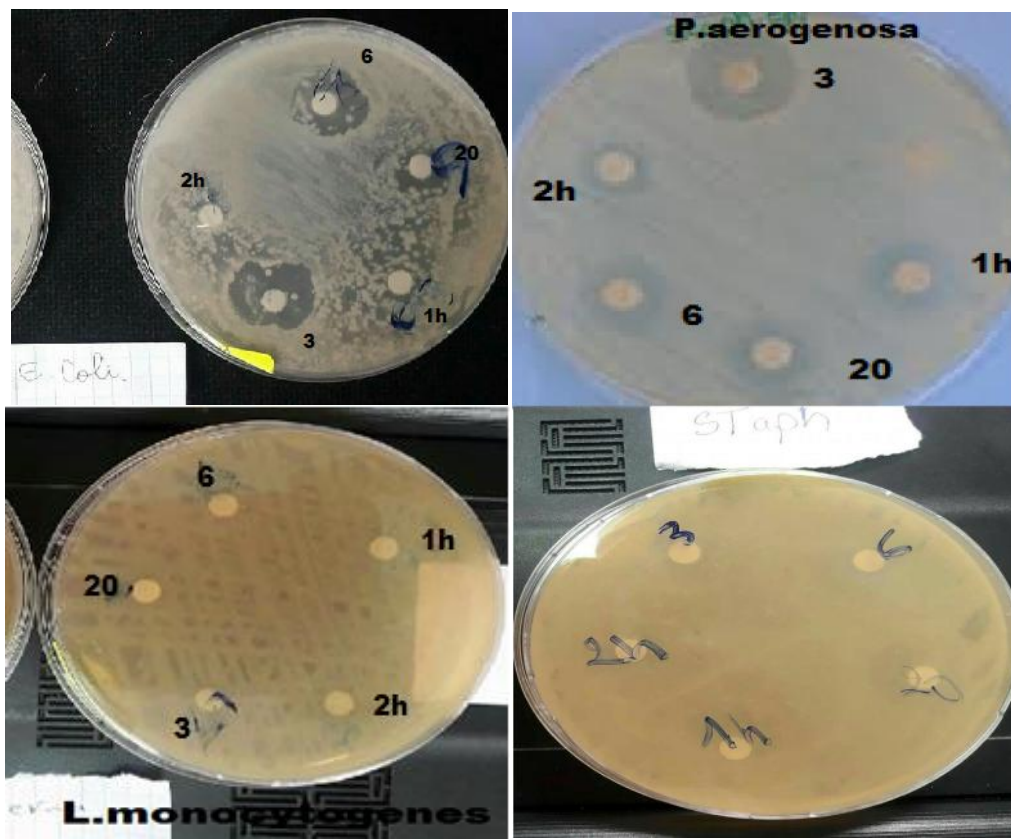


Figure V: aromatoigramme avec l'HE des souches (*S.aureus*, *E.coli*, *P.aeruginosa*, *L.monocytogenes*)

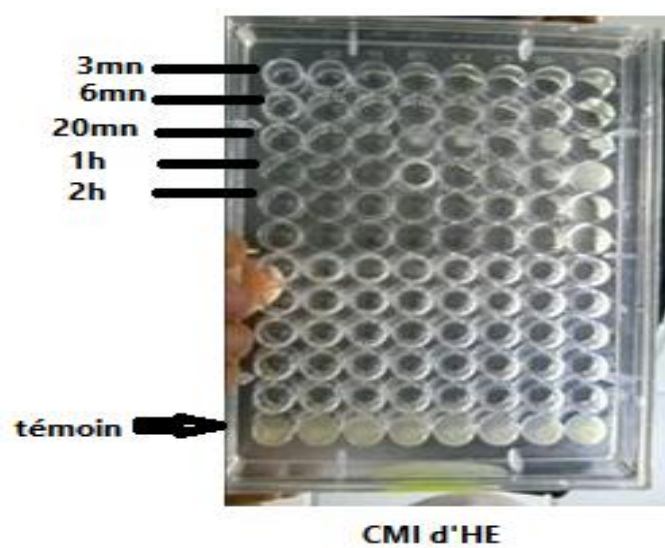


Figure VI : Détermination de la CMI des huiles essentielles chez les souches testées

Annexe 09 :

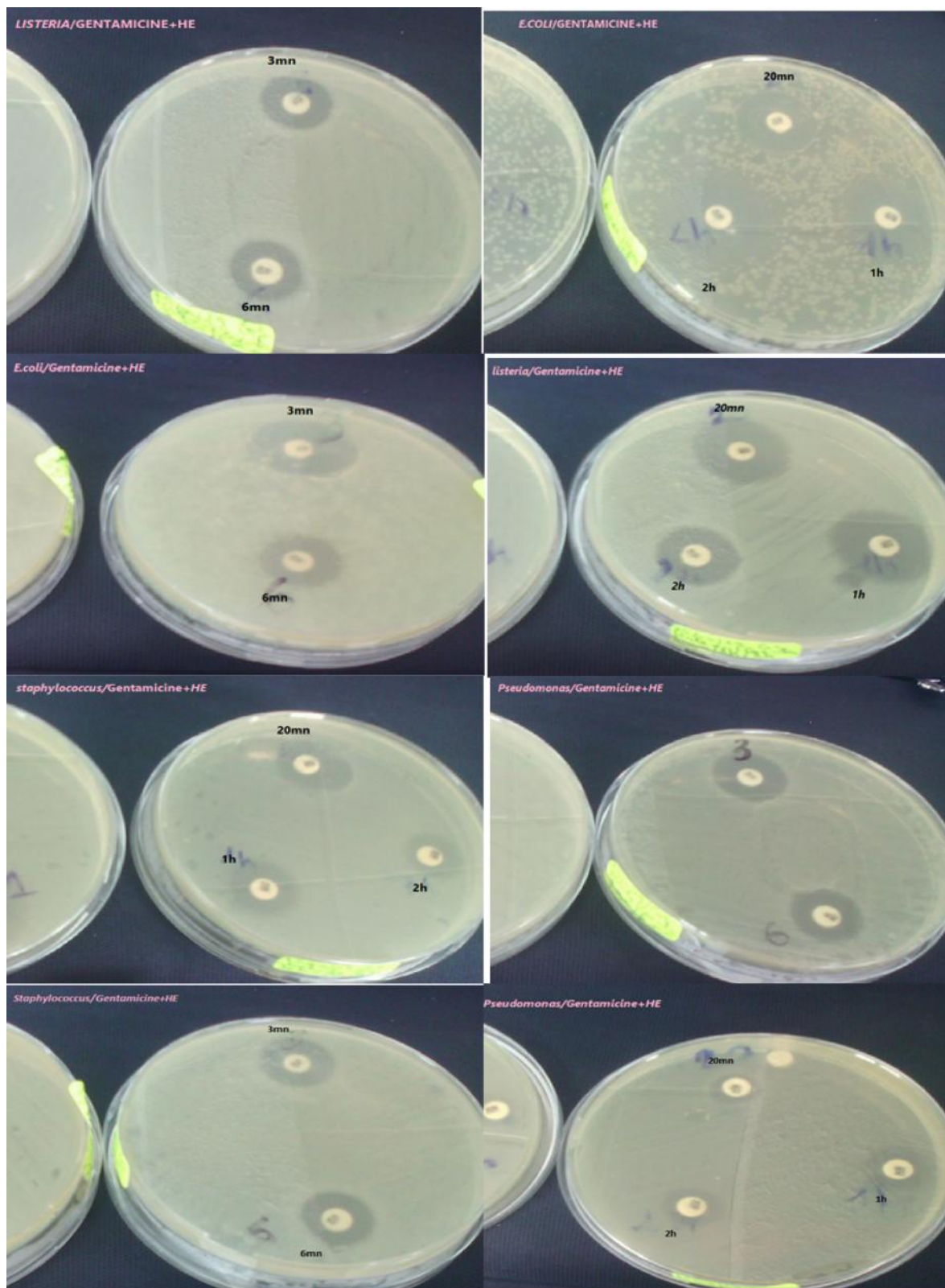


Figure VII: Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne de combinaison de la gentamicine avec les fractions des huiles essentielle de *Juniperus phoenicea*

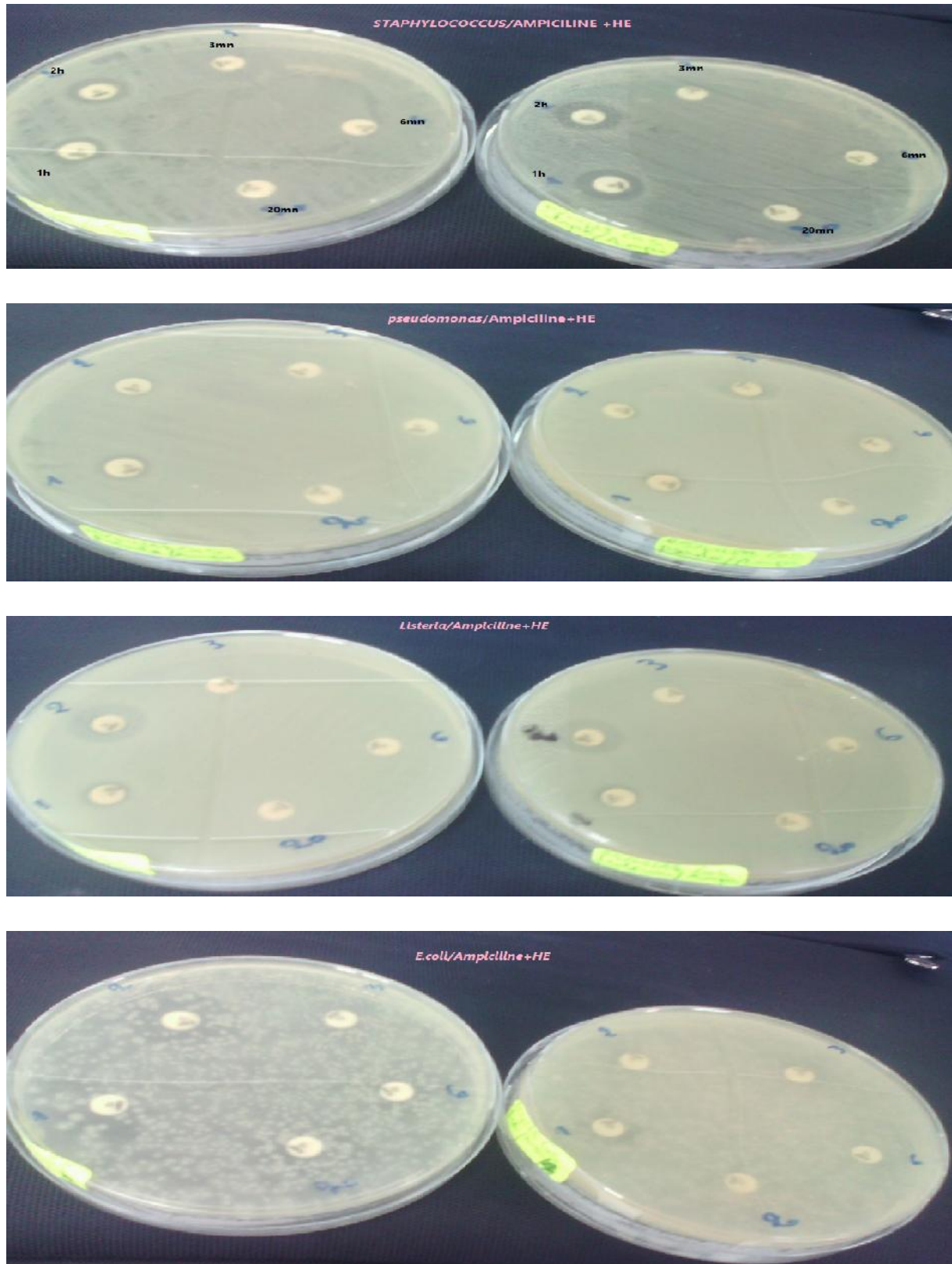


Figure VIII: Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne de combinaison de l'ampicilline avec les fractions des huiles essentielle de *Juniperus phoenicea*

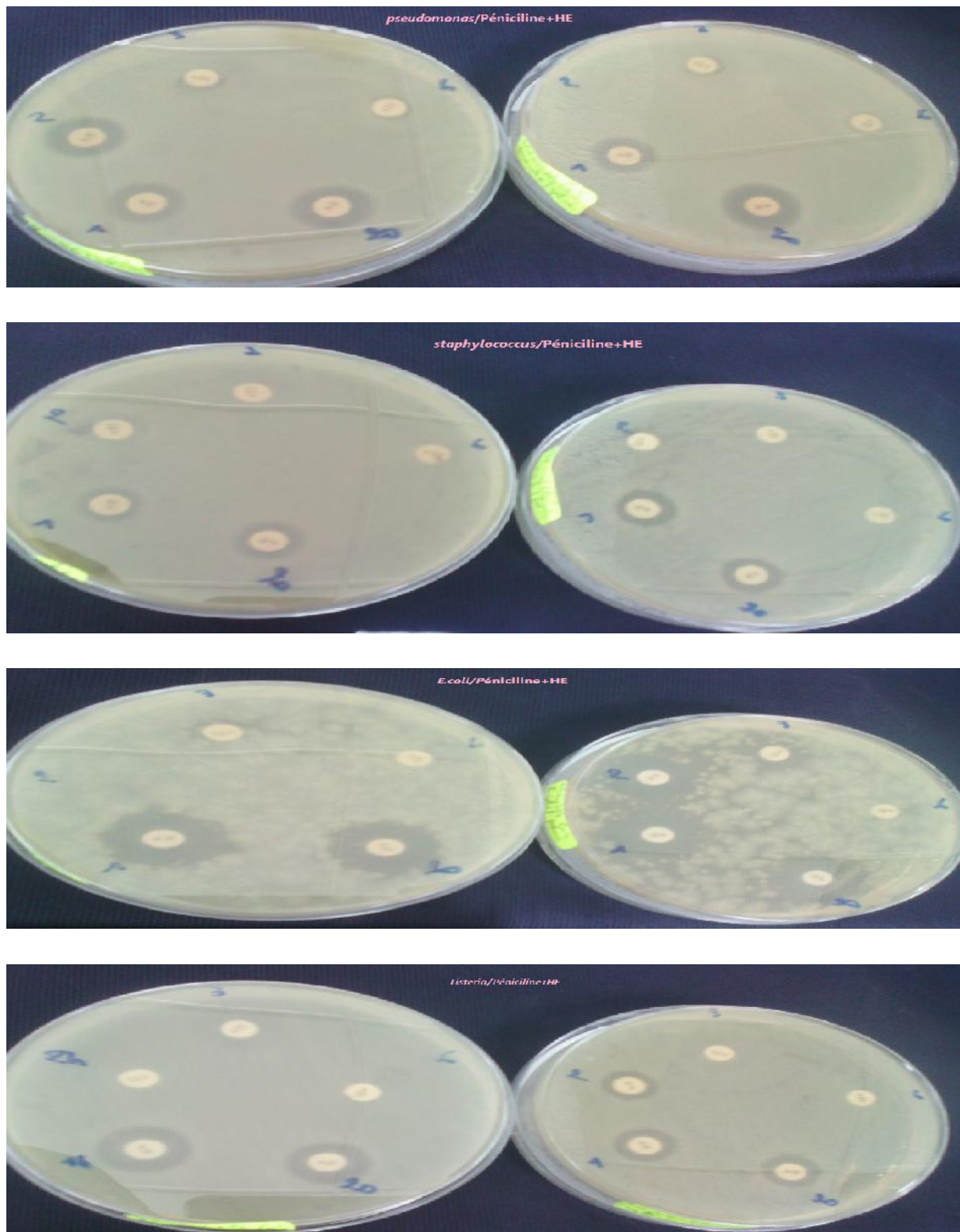


Figure IX: Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne de combinaison de la pénicilline avec les fractions des huiles essentielle de *Juniperus phoenicea*

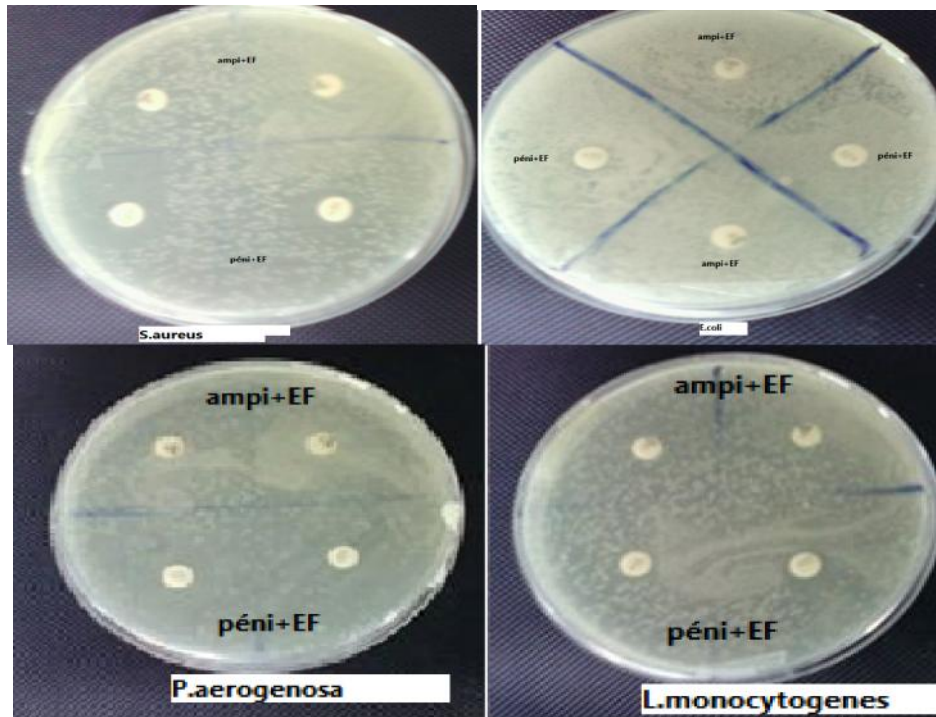


Figure X : Zone d'inhibition de l'activité antibactérienne combinaison des antibiotiques avec l'eau florale de *Juniperus phoenicea*.

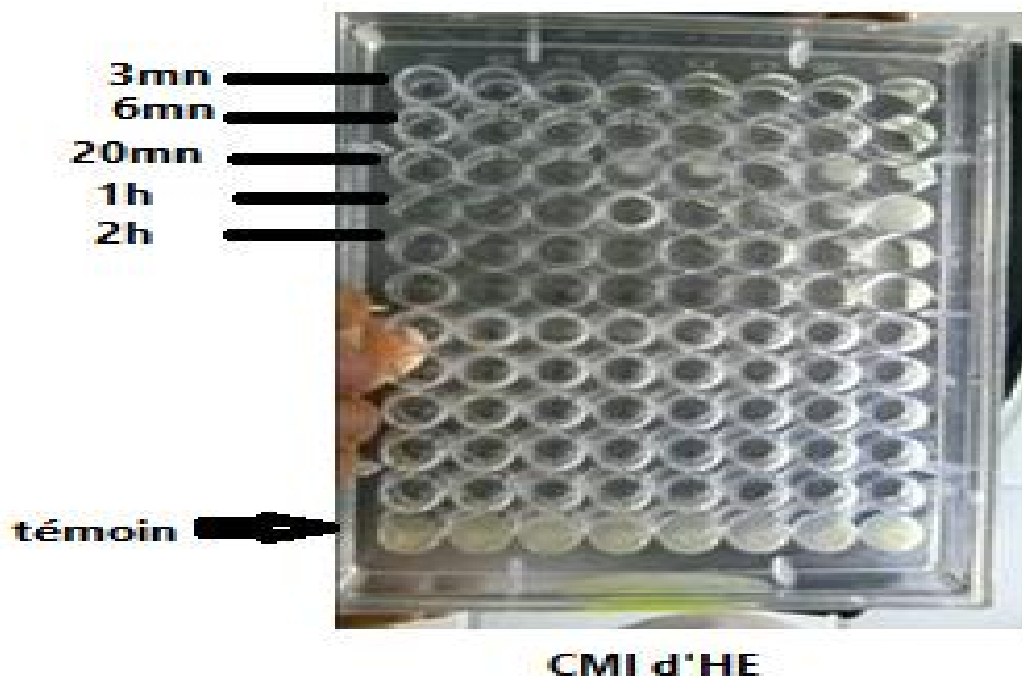


Figure XI : Détermination de la CMI des HEs combinées avec les ATBs chez les souches testées

Résumés

Résumé

Cette étude consiste à évaluer l'efficacité antibactérienne de l'eau florale et des huiles essentielles des galbules de *J. phoenicea* fractionnées en fonction du temps au cours de l'hydrodistillation: (0-3, 3-6, 6-20, 20mn-60mn et 60mn-120mn), en utilisant deux méthodes différentes : la méthode de diffusion sur disques et la méthode de microdilution sur quatre souches bactériennes, deux à Gram positif et deux à Gram négatif. Les résultats montrent l'inefficacité des fractions d'huile obtenues et de l'eau florale vis-à-vis des souches testées. Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement faible, nos résultats prouvent que le pouvoir antibactérien est dépendant de la fraction d'huile testée. Les concentrations minimales inhibitrices enregistrées (CMI) varient entre 0.008 µl /ml et 0.5 µl /ml, tandis que les concentrations minimales bactéricides (CMB) se trouvent entre 0.5 µl /ml et 1 µl /ml. Par ailleurs, ces fractions d'huile ont des effets synergiques quand elles sont combinées avec les antibiotiques. Trente deux effets synergiques et cinq effets additifs ont été obtenus entre les différents agents antibactériens.

Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut combiner certaines huiles avec les antibiotiques, ce qui peut réduire la dose efficace de ces derniers et minimiser leurs effets secondaires.

Mots clé : *J. phoenicea*, galbules, les huiles essentielles, antibiotiques, combinaison.

Abstract

The purpose of this study is to evaluate the antibacterial efficacy of time-dependent fractionated of galbules of *J. phoenicea* floral water and essential oils during hydrodistillation (0-3, 3-6, 6-20, 20mn-60mn et 60mn-120mn) using two different methods: the disk diffusion method and the microdilution method on four bacterial strains, two Gram positive and two Gram negative, The results show the inefficiency of the floral water and the oil fractions obtained with respect to the strains tested. Despite the existence of zones of inhibition, relatively small, our results prove that the antibacterial activity is dependent on the oil fraction tested. The recorded minimal inhibitory concentrations (MIC) vary between 0.008 $\mu\text{l} / \text{ml}$ and 0.5 $\mu\text{l} / \text{ml}$, while the minimum bactericidal concentrations (CMB) are between 0.5 $\mu\text{l} / \text{ml}$ and 1 $\mu\text{l} / \text{ml}$. In addition, these oil fractions have synergistic effects when combined with antibiotics. Thirty-two synergistic effects and five additive effects were obtained between the different antibacterial agents.

These results allow us to conclude that certain oils can be combined with antibiotics, which can reduce the effective dose of antibiotics and minimize their side effects.

Key words: *J. phoenicea*, galbules, essential oils, antibiotics, combination.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للميكروبات
J. phoenicea المعتمدة على الزمن خلال عملية لتقطير (3-0, 6-3, 20-6, 60-20 60 120 دقيقة)
فه : طريقة نشر القرص وطريقة التخفيف
أربع سلالات بكتيرية غرام
إيجابي وغرام سلبي. تظهر النتائج عدم كفاءة اجزاء الزيت
عليها فيما يتعلق بالسلالات التي تم اختبارها.
تشبيط صغيرة نسبيا
للبيكتيريا يعتمد
التركيزات (CMI) بين 0.008 ميكرو لتر / 0.5 ميكرو لتر / حين
التركيزات للجراثيم (CMB) بين 0.5 ميكرو لتر / 1 ميكرو لتر / . هذه
لها تأثيرات تآزرية الحيوية. اثنين وثلاثين التأثيرات التآزرية
تأثيرات بين للبيكتيريا .

هذه النتائج تسمح لنا أن نستنتج أن بعض الزيوت يمكن دمجها مع المضادات الحيوية، والتي يمكن أن تقلل من
للمضادات الحيوية وتقليل آثارها الجانبية.
الكلمات المفتاحية : *J. phoenicea* ، زيوت أساسية، مضادات حيوية، .

Diplôme : Master académique en Microbiologie

**Thème : Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles des galbules de
*Juniperus phoenicea***

Résumé

Cette étude consiste à évaluer l'efficacité antibactérienne de l'eau florale et des huiles essentielles des galbules de *J. phoenicea* fractionnées en fonction du temps au cours de l'hydrodistillation: (0-3, 3-6, 6-20, 20mn-60mn et 60mn-120mn), en utilisant deux méthodes différentes : la méthode de diffusion sur disques et la méthode de microdilution sur quatre souches bactériennes, deux à Gram positif et deux à Gram négatif. Les résultats montrent l'inefficacité des fractions d'huile obtenues et de l'eau florale vis-à-vis des souches testées. Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement faible, nos résultats prouvent que le pouvoir antibactérien est dépendant de la fraction d'huile testée. Les concentrations minimales inhibitrices enregistrées (CMI) varient entre 0.008 µl /ml et 0.5 µl /ml, tandis que les concentrations minimales bactéricides (CMB) se trouvent entre 0.5 µl /ml et 1 µl /ml. Par ailleurs, ces fractions d'huile ont des effets synergiques quand elles sont combinées avec les antibiotiques. Trente deux effets synergiques et cinq effets additifs ont été obtenus entre les différents agents antibactériens.

Ces résultats nous permettent de conclure qu'on peut combiner certaines huiles avec les antibiotiques, ce qui peut réduire la dose efficace de ces derniers et minimiser leurs effets secondaires.

Mots clé : *J. phoenicea*, galbules, les huiles essentielles, antibiotiques, combinaison.

Devant les jury

- * **Président:** M. RAHAL K. MAA. Univ. Khenchela
- * **Examineur :** M. BOUSSAA AH. MAA. Univ. Khenchela
- * **Promoteur:** Dr. ZERAIB A. MCB. Univ. Khenchela