

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar Telidji -Laghouat

Faculté des Sciences

Département de Biologie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

THEME

**Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de
Rosmarinus officinalis et *Juniperus communis*.**

Présenté Par :

Merah Isra Nourelyakine & Guellouma Fatima Zahra

Devant le jury composé de :

Mme ZAKHROUF Zohra	MAA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Président
M. MESSAOUDI Omar	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Examineur
Mme NEBEG Halima	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Rapporteur
Mme EL HOUITI Fatiha	MCA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Soutenu publiquement le : 25 /06/2023.

Résumé

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux et un véritable trésor pour l'humanité, elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, et sont également utilisées pour leur propriété antimicrobienne qui est l'un des activités biologiques connue chez les plantes médicinales et aromatiques.

Ce travail s'inscrit dans le cadre de rechercher de nouveaux produits bioactifs d'origine naturels jouissantes d'activités biologiques notamment les activités antimicrobiennes et d'évaluer l'effet antibactérien des huiles essentielles (HE) des deux plantes aromatiques et médicinales de la flore algérienne provenant de la région de Djelfa.

L'une est *Rosmarinus officinalis* de la famille des Lamiacées et l'autre, c'est *Juniperus communis* de la famille des Cupressacées, leurs huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger.

L'activité antibactérienne était réalisée par la méthode de diffusion sur gélose basée sur la détermination des diamètres d'inhibitions autour des disques. L'étude a été effectuée sur **06** souches bactériennes à Gram (+) et à Gram (-) : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* et deux levure *Candida albicans* (C10 et C26).

Les résultats obtenus montrent que nos extraits ayant une activité antibactérienne forte sur les deux souches bactérienne *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* et les deux levures de *Candida* avec des zones d'inhibition égale à **50** mm Les autres souches présentes des diamètres de zones d'inhibitions allant de **5** à **45** mm. Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des deux extraits ont montré un large éventail de valeurs entre **0,027** et **0,144 mg/ml**.

Mots clé : plantes aromatique et médicinales, huiles essentielles, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus communis*, activité antibactérienne.

Abstract

Medicinal plants constitute a precious heritage and a real treasure for humanity, they are used to prevent, cure or relieve various ailments, at least some of which have medicinal properties, and are also used for their antimicrobial property which is one biological activities known in medicinal and aromatic plants.

This work is part of the search for new bioactive products of natural origin enjoying biological activities including antimicrobial activities and to evaluate the antibacterial effect of essential oils (EO) of the two aromatic and medicinal plants of the Algerian flora from the Djelfa region.

One is *Rosmarinus officinalis* from the Lamiaceae family and the other is *Juniperus communis* from the Cupressaceae family, the essential oils of the two plants are extracted by hydrodistillation using a Clevenger type apparatus, the antibacterial activity is carried out by the agar diffusion method based on the determination of the diameters of inhibitions zone around the discs. The study was carried out on **06** Gram (+) and Gram (-) bacterial strains: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and two *Candida albicans* yeast (C10 and C26).

The results obtained show that our extracts having a strong antibacterial activity on the two bacterial strains *Micrococcus luteus* and *Staphylococcus aureus* and the two *Candida* yeasts with an inhibition zone of **50** mm. For the other strains present diameters of inhibition zones ranging from **5** to **45** mm. The values of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the two extracts between **0,027** and **0,144 mg/ml**.

Key words: aromatic and medicinal plants, essential oils, *Rosmarinus officinalis*, *Juniperus communis*, Antibacterial activity.

ملخص

تشكل النباتات الطبية تراثا ثمينا وكنزا حقيقيا للبشرية، فهي عقاير نباتية تستخدم للوقاية من الأمراض المختلفة وأيضا لعلاجها أو تخفيفها، وبعضها على الأقل له خصائص طبية، وتستخدم أيضا كمضادات للميكروبات والتي تعد أحد الأنشطة البيولوجية المعروفة في النباتات الطبية والعطرية.

هذا العمل هو جزء من البحث عن منتجات جديدة النشطة بيولوجيا من أصل طبيعي تتمتع بالأنشطة البيولوجية وخاصة الأنشطة المضادة للميكروبات. وأيضا لتقييم النشاط المضاد للجراثيم ومدى فعالية وتأثير هذه الزيوت المستخلصة من النباتات العطرية والطبية الجزائرية القادمة من منطقة الجلفة.

النبات الاول هو **إكليل الجبل** من عائلة شفويات ، والآخر هو **العرعر الشائع** من عائلة الصنوبريات، يتم استخراجهما عن طريق التقطير المائي باستخدام جهاز من نوع كليفينجر، ويتم تنفيذ دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من خلال طريقتين الاولى هي الانتشار على وسط أجار جيليلوزي على أساس تحديد مناطق التثبيط حول الأقراص الي تحتوي على الزيت الاساسي بال(مم)، والثانية هي التمديدات على الوسط السائل. أجريت الدراسة على **06** سلالات بكتيرية ايجابية الغرام (+) و سلبية الغرام (-) هم **الإشريكية القولونية، الزائفة الزنجارية ، البرسينيا المعوية ، الكلبسيلة الرئوية والمكورات العنقودية الذهبية ، المكورات الدقيقة الصفراء واثنين من خميرة المبيضات البيضاء ج 10 و ج 26**

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن مستخلصاتنا لها نشاط مضاد للجراثيم قوي خاصة على السلالتين البكتيريتين المكورات الدقيقة الصفراء والمكورات العنقودية الذهبية وخمائر المبيضات بمنطقة تثبيط محددة ب**50 مم**. أما بالنسبة للسلالات الأخرى توجد مناطق تثبيط تتراوح من **5 إلى 45 مم**.

بالنسبة لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة التمديدات على الوسط السائل تم تسجيل قيم الحد الأدنى للتركيز المثبط من المستخلصين بين **0,027 و 0,144 ملغ/مل**.

الكلمات المفتاحية: النباتات العطرية والطبية، الزيوت العطرية، اكليل الجبل، العرعر الشائع، نشاط مضاد

للجراثيم.

Dédicace

Je remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage pour Pouvoir réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes parents pour leur soutien infatigable et leurs encouragements tout au long de mon parcours scolaire et personnel. Aucun mot ne peut exprimer tout l'amour et la gratitude que j'ai pour toutes ces années de sacrifice, merci d'être là, merci si j'y arrive. Je souhaite que le Dieu miséricordieux les bénisse, les comble de santé et leur accorde longue vie.

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur : ma mère **LAMARJA** Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanent et son soutien.*

*À mon père **TAHER** Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui, que dieu le garde et le protège, Quoi que je fasse, où que soit ma vie, je ne pourrai jamais être une personne plus grande que mon père.*

*Mon seule sœur **RIHAB** et chère frère **RAHIM** pour leur dévouement, leur compréhension et leur grande tendresse, qui en plus de m'avoir encouragé tout le long de mes études, m'ont consacré beaucoup de temps et disponibilité, et qui par leur soutien, leurs conseils et leur amour, m'ont permis d'arriver jusqu'à ici car ils ont toujours cru en moi, Merci d'avoir toujours soutenu et merci pour tous les bons moments passé ensemble, et ce n'est pas fini.*

*À ma source de joie et de bonheur, à mon binôme de mémoire **FATIMA** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet. Nous avons tout fait ensemble depuis l'enfance. Aujourd'hui, Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Je te dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

À tous mes amis, en témoignage de ma reconnaissance. À tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce Travail.

Isra nourelyakine

Dédicace

Avant tout, je remercie le Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience

En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce modeste travail Avec une grande fierté à tous ceux qui me sont cher :

La source de la tendresse, ma mère pour sa gentillesse sa douceur, pour son affection, son amour ses sacrifices et ses encouragements. Pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

À mon très cher père, pour sa confiance, son soutien et ses encouragements dans toute ma carrière d'étude dès le premier pas jusqu'à ce jour-là et qui m'a appris que la patience est le Secret du succès.

*Ma précieuse sœur **Amina**, Mes chers frères **Mohamed, Madani, Slimane, Mahmoud, Yacine** et leurs enfants, en témoignage de mon profond attachement, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite. Puisse Dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.*

*À ma meilleur amie **Isra** Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi. Merci pour son amitié, la bonne humeur, pour votre fidélité, je vous souhaite un avenir souriant, bonne chance dans votre vie.*

*À ma petite sœur **Ranime**, que Dieu lui fasse miséricorde.*

À mes belles-sœurs.

À tous les autres que je n'ai pas cités mais à qui je pense aussi.

Fatima Zohra

Remerciement

*N*ous remercions tout d'abord *Allah* tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail, car l'homme propose mais Dieu dispose.

Au moment où s'achève ce travail, permettez-moi de remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui, pendant cette période de thèse, m'ont dirigée, soutenue, aidée et encouragée.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu Avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Mme *NEBEG Halima On* le remercie pour la qualité de son encadrement Exceptionnel, pour ça patience rigueur et sa disponibilité Durant notre préparation de ce mémoire.

C'est avec une profonde gratitude nous tenons encore à remercier notre Co-encadrante Mme *ELHOUITI Fatiha*, pour l'aide si efficace qu'elle nous a apportée, sans vous il nous aurait été difficile de mener à bien nos travaux non seulement nous avons profité pleinement de ton accueil mais aussi de tes conseils éclairés, ta gentillesse et ton soutien moral.

*J'*aimerais également remercier *Melle Zegrine Anfal* pour leur conseil très précieux et leur aide pendant de réaliser ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury *Dr. Zekhrout Zohra* pour et *Dr. Massoudi* l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance et d'avoir examiné notre travail qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

*J'*adresse mes sincères remerciements à nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements on à puis surmonter tous les obstacles.

Table des matières

Liste des figures	III
Listes des tableaux.....	V
Liste des symboles et des abréviations.....	VI
Introduction générale.....	Erreur ! Signet non défini.
2 Données bibliographiques.....	4
2.1 Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales.....	4
2.1.1 Définition des plantes aromatiques et médicinales.....	4
2.1.2 La phytothérapie.....	4
2.1.3 Intérêts et applications des plantes aromatiques et médicinales.....	5
2.2 Les Huiles Essentielles.....	6
2.2.1 Définition des Huiles essentielles	6
2.2.2 Les principes actifs des huiles essentielles :	6
2.2.3 Domaine d'utilisation des Huiles essentielles.....	9
2.3 Les Activités biologiques.....	10
2.3.1 Activité antibactérienne	12
2.3.2 Activité antifongique	12
2.4 Description botanique des plantes aromatiques	13
2.4.1 Lamiacées (labiées) : <i>Rosmarinus officinalis</i>	13
2.4.2 Cupressaceae : <i>Juniperus Communis</i>	17
2.5 Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles	21
2.5.1 Expression à froid :	21
2.5.2 Entraînement à la vapeur d'eau :	22
2.5.3 Hydrodistillation	22
3 Matériels et méthodes.....	23
3.1 Matériels.....	23
3.1.1 Matériels biologiques.....	23
3.1.2 Les souches microbiennes utilisées :	23
3.2 Méthode expérimentale.....	25
3.2.1 L'Extraction par hydrodistillation :	25
3.3 Test des activités biologiques :.....	28
3.3.1 Activités antimicrobiennes :	28
3.3.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE.....	31
3.3.3 La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer la CMI, la CMB et la CMF	33

4	Résultats et discussion.....	35
4.1	Paramètres organoleptique et rendement des HEs des deux plantes aromatiques ..	35
4.2	Résultats des Tests des activités biologique	37
4.2.1	Test du pouvoir antimicrobienne	37
4.3	Résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode diffusion sur gélose	41
4.4	Les résultats de la détermination de la CMI	53
	Conclusion.....	58
	Perspectives.....	59
	Références	60
	Annex I	68
	Annexe II.....	69

Liste des figures

Figure 1 : Différents types de phytothérapie	5
Figure 2 : Structure d'unité isoprène (C ₅ H ₈) _n	7
Figure 3 : Quelques exemples de structure de monoterpènes acyclique et cyclique rencontrés dans les huiles essentielles.	8
Figure 4 : Quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles.	9
Figure 5 : Exemple d'une diterpène caractéristique des huiles essentielles.	9
Figure 6 : Quelques exemples des composés aromatiques caractéristiques des huiles essentielles.	9
Figure 7 : Quelques exemples des compose diverses caractéristiques des huiles essentielles.	9
Figure 8 : Répartition géographique de <i>Rosmarinus officinalis</i> selon la biodiversité mondiale.	13
Figure 9 : <i>Rosmarinus Officinalis</i> L	14
Figure 10 : feuilles et racine de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	14
Figure 11 : Composition chimique d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	16
Figure 12 : Répartition du genre <i>Juniperus</i> dans le monde	17
Figure 13 : <i>Juniperus communis</i>	18
Figure 14 : Feuilles <i>Juniperus communis</i>	19
Figure 15 : Fruit <i>Juniperus communis</i>	19
Figure 16 : Principe schématiser d'entraînement à la vapeur d'eau.....	22
Figure 17 : Principe schématiser hydrodistillation	22
Figure 18 : Organigramme de notre travail	25
Figure 19 : Appareils d'hydrodistillation de type Clevenger	26
Figure 20 : Les étapes d'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation de type Clevenger.	27
Figure 21 : trois types de stries sources https://theory.labster.com/streaking-fr/29	

Figure 22 : Préparation des dilutions.....	30
Figure 23 : principe de la méthode de diffusion sur gélose.....	31
Figure 24 : Schéma de la méthode de diffusion sur gélose en utilisant les disques.	32
Figure 25 : Principe de la méthode de microdilution en microdilution.....	34
Figure 26 : Rendement en huile essentielle obtenu.	36
Figure 27 : Rendement en huile essentielle obtenue par nos collègues, 2023.	36
Figure 28 : Effet de DMSO sur quelques souches.	38
Figure 29 : Effet des antibiotiques et l'antifongique sur quelques souches testées.	40
Figure 30 : Effet de l'extrait de <i>Juniperus communis</i> sur la croissance des souches microbiennes.	49
Figure 31 : Effet de l'extrait de <i>Rosmarinus Officinalis</i> sur la croissance des souches microbiennes.	52
Figure 32 : Détermination de la CMI de l'HE <i>J. communis</i> de <i>J. communis</i> vis-à- vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution	54
Figure 33 : Détermination de la CMI de l'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro dilution.	55
Figure 34 : Détermination de la CMI de l'HE de <i>J. communis</i> vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution	55
Figure 35 : Détermination de la CMI de l'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution	55

Listes des tableaux

Tableau 1: les principaux domaines d'application des PAM	6
Tableau 2 : Les principaux domaines d'Utilisation des Huiles essentielles.	10
Tableau 3 : Caractérisation de souches microbiennes utilisées.....	24
Tableau 4 : Des informations sur la région de récolte des deux plantes.	25
Tableau 5 : Les milieux des cultures utilisés.....	28
Tableau 6 : Disques antibiotiques et antifongiques utilisés dans le teste.....	30
Tableau 7 : Caractéristiques organoleptiques des HEs testées.....	35
Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) en présence de 3 antibiotiques et un antifongique	39
Tableau 9 : les diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques testés.	39
Tableau 10 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) de l'huiles essentielle de <i>Rosmarinus Officinalis</i> vis-à-vis les souches testés.	42
Tableau 11 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de <i>Juniperus communis</i> vis-à-vis les souches testés.	43
Tableau 12 : Concentration minimale inhibitrice (mg/ml) et concentration minimale bactéricide (mg / ml) des extraits de <i>R. officinalis</i> et <i>J. communis</i>	56
Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice (mg/ml) et concentration minimale bactéricide (mg/ml) des extraits de <i>helianthus annuus</i> et <i>Ageratum conyzoides</i>	57

Liste des symboles et des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation.

ATCC: American Type Culture Collection.

ATB : Antibiotique.

ATF : Antifongique.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CLSI : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

DMSO : Dimethyl sulfoxide.

HE : Huile essentielle.

INT : iodonitrotétrazolium.

mg : Milligramme.

MH : Mueller–Hinton.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

Mm : Millimètre.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PAM : Plante aromatique et médicinale.

SB : Sabouraud.

°C : Degrés Celsius.

μ : Micro.

Introduction générale

Introduction générale

L'utilisation massive d'agents antimicrobiens en médecine humaine a conduit à l'émergence de souches microbiennes résistantes, il est donc important d'orienter la recherche vers de nouvelles molécules, sur lesquelles la plupart des recherches scientifiques se sont concentrées. (BENDIFALLAH, 2023)

Les plantes ont toujours fait partie de l'humanité puisqu'elles sont utilisées comme nourriture, médicament et parfois dans les rites religieux. (BENDIFALLAH, 2023). Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours eu une grande importance en médecine. (CHABRIER, 2010)

Ces plantes médicinales trouvent des applications dans divers domaines, dont la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture. Cela est dû à la présence de plusieurs substances actives. (BENDIFALLAH, 2023)

En Afrique, plus de 80% de la population utilise les plantes médicinales pour assurer leurs soins de santé. (JDAIDI *et al.*, 2023)

En Algérie, les ressources naturelles, les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle important dans la médecine traditionnelle. Ainsi, l'utilisation de substances d'origine végétale telles que les huiles essentielles offrent de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Les huiles essentielles sont connues pour leurs propriétés antiseptiques, notamment bactéricides, virucides et fongicides, elles sont utilisées depuis l'Antiquité pour la préservation des aliments et comme agents antibactériens, antalgiques, sédatifs, anti-inflammatoires. - Anesthésiques inflammatoires. Ainsi, les puissantes propriétés biologiques et thérapeutiques des huiles essentielles sont directement liées aux plantes sélectionnées, qui doivent être qualifiées de puissantes plantes médicinales aromatiques. (HAICHOIR, 2023)

Introduction générale

Les infections microbiennes sont des maladies causées par le développement de bactéries ou de levures chez l'homme ou l'animal, dont certaines espèces sont pathogènes. La dernière décennie a vu un énorme intérêt pour l'étude des microbes, que ce soit d'un point de vue biologique, taxonomique ou thérapeutique. (KOUDOU, 2009).

Les travaux de recherche actuels s'intéressent aux mécanismes d'inhibition des germes pathogènes *in vitro* avec des produits d'origine naturelle « extraits des plantes médicinales »

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des molécules d'origine végétale avec des propriétés antibactériennes et antifongiques. Dans le but de poursuivre ces activités, une étude phytochimique est faite sur deux plantes médicinales à savoir : *Romarinus officinalis* et *Juniperus communis*. Notre travail est réparti en 4 parties :

- ✓ La première partie a été consacrée aux données bibliographiques récentes, sur les PAM, les HE, les activités biologiques et la description botanique des deux plantes aromatiques étudiées.
- ✓ La deuxième partie détaille le matériel utilisé et les méthodes d'étude des différents paramètres abordés : extraction par hydrodistillation simple, étude des activités antibactérienne et antifongique des deux extraits par deux méthodes : la méthode de diffusion sur gélose / la méthode de microdilution en milieu liquide afin de calculer les **CIM** et **CMB**. L'ensemble des manipulations *in vitro* ont été réalisés au sein des deux laboratoires : « laboratoire de recherche des Sciences Fondamentales » et « laboratoire pédagogiques de département de Biologie » à l'université Amar Telidji de Laghouat.
- ✓ La troisième partie concerne l'interprétation des résultats obtenus sur les activités antibactériennes, antifongiques.
- ✓ Dans la quatrième partie nous présenterons la conclusion générale et les perspectives.

Données bibliographiques

2.1 Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales.

2.1.1 Définition des plantes aromatiques et médicinales.

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. D'après la définition donnée par l'OMS, une plante médicinale est une plante ou un de ses organes contenant des substances qui peuvent être employées pour des buts thérapeutiques, ou des précurseurs pour la synthèse d'autres drogues avec des propriétés thérapeutiques prouvées scientifiquement, ou bien aussi de manière empirique par leurs emplois en médecine traditionnelle. (CHAACHOUAY *et al.*, 2020).

Les plantes aromatiques sont un groupe de plantes utilisées en médecine culinaire et en Phytothérapie en raison de l'arôme qu'elles dégagent et des huiles essentielles dont elles peuvent être extraites. (HAMZAOUI *et al.*, 2021)

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ». (CASANOVA *et al.*, 1993)

2.1.2 La phytothérapie.

Le mot « **phytothérapie** » est étymologiquement composé de deux racines grecques : « **phuton** » et « **therapeia** » signifient respectivement "plante" et "traitement".

La phytothérapie peut donc être définie comme un traitement allopathique visant la Prévention et le traitement de certains dysfonctionnements et/ou de certaines pathologies par Plantes, parties de plantes ou préparations à base de plantes. (CHABRIER, 2010)

On distingue la phytothérapie traditionnelle (figure 1) (parfois très ancienne, utilisant les PAM sous forme fraîche ou séchée) et la phytothérapie moderne (phytomédicaments élaborés à partir de principes actifs extraits de ces plantes). (CHAACHOUAY *et al.*, 2020)

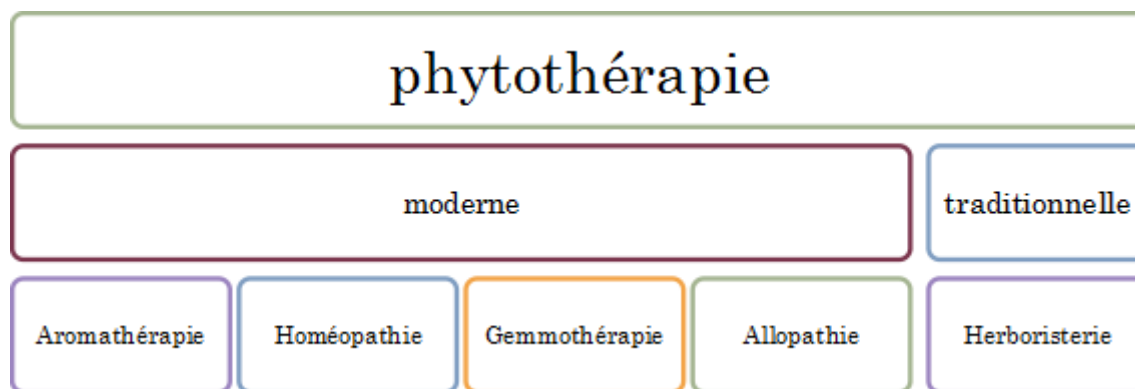


Figure 1 : Différents types de phytothérapie (CHAACHOUAY et al. ,2020)

2.1.3 Intérêts et applications des plantes aromatiques et médicinales.

En plus de l'utilisation des substances de base qui entrent dans leur structure, comme le bois ou les fibres, ou de réserve comme les polysaccharides ou les lipides, les plantes sécrètent (sous stress) des substances bioactives appelés métabolites secondaires.

Outre leur rôle dans l'adaptation des plantes aux conditions environnementales difficiles, ces métabolites ont les principales fonctions suivantes (NEFFATI *et al.*, 2014) :

- pigmentation ;
- action anti-herbivore (insectes/mammifères) ;
- composés antifongiques & antibactériens ;
- signalisation chimique (symbioses) ;
- substances de croissance.

Un grand nombre de plantes ont des propriétés biologiques très intéressantes et peuvent être appliquées dans divers domaines, à savoir la médecine, la pharmacie et la cosmétologie. Cependant, l'évaluation des propriétés médicinales des plantes ; antioxydants, antimicrobiennes et antidiabétique reste une tâche très intéressante et utile et ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs. (BOUNEGTA, 2021)

Données bibliographiques

Tableau 1: les principaux domaines d'application des PAM (NEFFATI *et al.*, 2014)

Domaine d'application des PAM	En médecine traditionnelle : les PAM sont connus par leurs propriétés thérapeutiques grâce à leurs substances bio-actives qui jouent un rôle pour traiter, diagnostiquer ou prévenir la maladie.
	En cosmétologie et parfumerie : des produits synthétiques, l'industrie des parfums et des cosmétiques utilise également des extraits de plantes (romarin, armoise, menthe, myrte, etc.) pour produire les formulations souhaitées. C'est une industrie qui consomme beaucoup d'huiles essentielles.
	En alimentation : herbe aromatique, les épices, condiments, compléments alimentaires sont issues a partir des PAM sont utilisés pour leurs qualités aromatiques (aromatisation alimentaire).
	En pharmacie : les PAM sont utilisés pour la fabrication des médicaments à usage pharmaceutiques et comme modèles pour les composées pharmacologiquement actifs.

2.2 Les Huiles Essentielles

2.2.1 Définition des Huiles essentielles

Les **huiles essentielles** sont des mélanges de composés organiques volatils provenant d'une seule source végétale qui contribuent à la saveur et à l'arôme d'une plante. (BOUDERBALA *et al.*, 2020)

Le terme "**huile**" vient de leur caractère hydrophobe et de leur propriété de se solubiliser dans les graisses, alors que le terme "**essentielle**" fait référence à l'odeur dégagée par la plante productrice. Les huiles essentielles sont bio synthétisées comme métabolites secondaires par des plantes odorantes, dites aromatiques. Ces plantes se caractérisent par la présence des structures sécrétrices des huiles essentielles dans presque tous les organes du végétal (fleurs, graines, racines, feuilles, fruits...). Il s'agit de structures histologiques sécrétrices spécialisées qui diffèrent selon l'organe végétal considéré et qui sont souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante. (KHEDIDJA *et al.*, 2019)

2.2.2 Les principes actifs des huiles essentielles :

L'HE est un mélange complexe de nombreuses molécules différentes, dont la plupart sont poly-moléculaires et composées d'un grand nombre de composants. (LAKHDARI *et al.*, 2019)

Données bibliographiques

- Il a été démontré que les huiles essentielles sont constituées principalement par :

A. Les composés terpéniques :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par l'agrégation de plusieurs isoprènes. Dans les plantes aromatiques médicinales, on trouve souvent une grande classe d'arômes constitués de ces terpènes. Ces terpènes ont souvent des propriétés biologiques importantes, telles que des propriétés fongicides ou insecticides. (LAKHDARI *et al.*, 2019).

Les terpènes peuvent être classés en fonction du nombre d'unités d'isoprène (Figure 2) et Leur disposition :

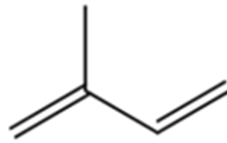


Figure 2 : Structure d'unité isoprène (C₅H₈)ⁿ

• Monoterpènes :

Le composant le plus simple de la famille des terpènes, avec deux sous unités Isoprène (C₅H₈), qui est principalement présent dans HE (90%). ils peuvent être cyclique, monocyclique ou acyclique (figure 3). (LAKHDARI *et al.*, 2019)

• Sesquiterpènes :

C'est un dérivé d'hydrocarbure contenant trois unités isoprène en (C₁₅H₂₂). Ils existent sous deux formes, les hydrocarbures et les composés oxygénés tels que les aldéhydes et les acides dans la nature (figure 4). (LAKHDARI *et al.*, 2019)

• Di terpènes :

Grâce à la formation du squelette carboné et à la modification chimique, les diterpènes sont dérivés du précurseur commun de l'isoprène (figure 5), le di phosphate de géranylgeranyle.

Données bibliographiques

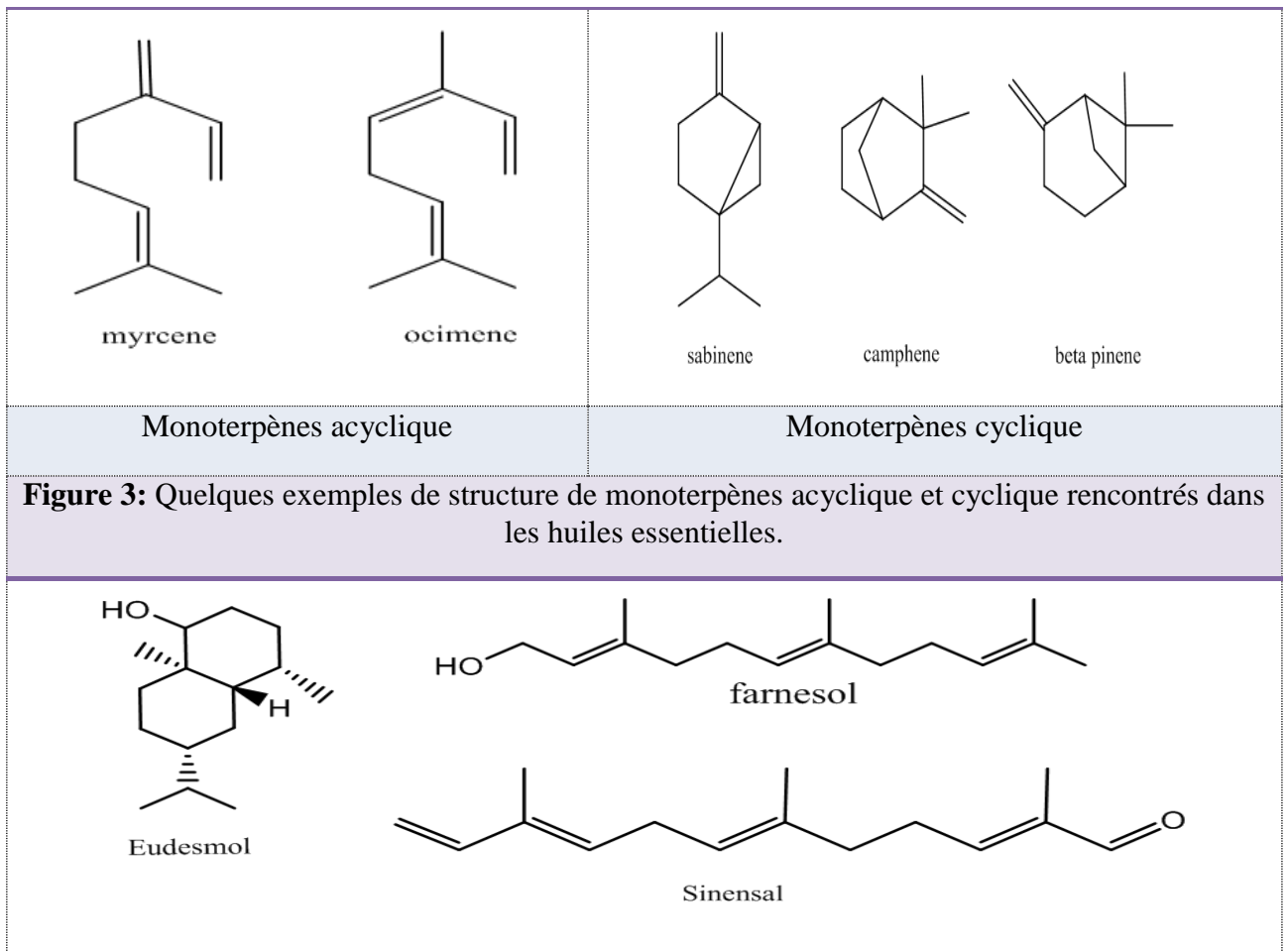
Diversité structurelle et fonctionnelle grâce à des fonctions distinctes des diterpènes cyclases et des enzymes de modification chimique. (TOMONOBU *et al.*, 2010)

B. Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup plus rares que les dérivés précédents. Ce sont le plus souvent des allylphénols et des propénylphénols, parfois des aldéhydes caractéristiques de certaines huiles essentielles de la famille des Umbellifères (anis, fenouil, persil), et des aldéhydes de girofle, muscade, estragon, eugénol (figure06). (LAGSIER *et al.*, 2020)

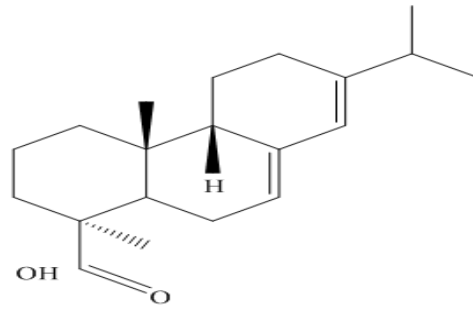
C. Composés d'origines diverses :

Les huiles essentielles peuvent contenir d'autres produits de décomposition. Les acides gras tels que le (3Z)-hexène-1-ol et d'autres composés résultant de la dégradation des terpènes tels que les ionones. Des composés azotés et sulfurés peuvent également être présents, mais ils sont rares dans les huiles essentielles. (LAGSIER *et al.*, 2020)



Données bibliographiques

Figure 4 : Quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles.



Acide abietique

Figure 5 : Exemple d'une diterpène caractéristique des huiles essentielles.

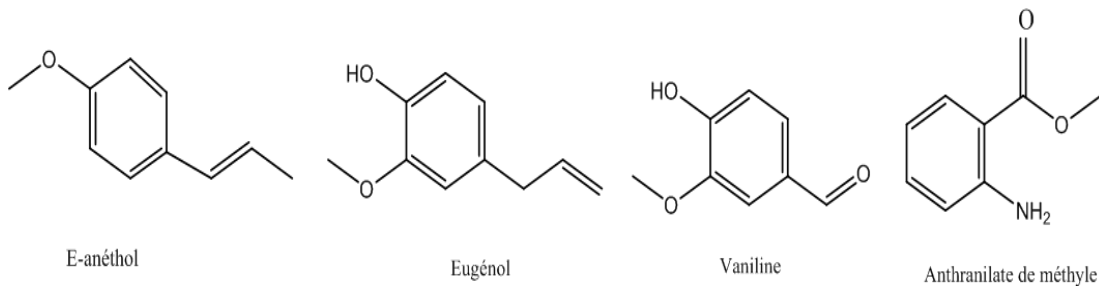


Figure 6: Quelques exemples des composés aromatiques caractéristiques des huiles essentielles.

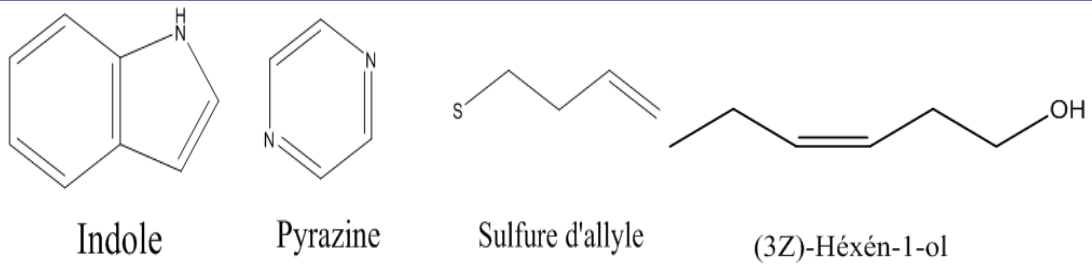


Figure 7 : Quelques exemples des compose diverses caractéristiques des huiles essentielles.

2.2.3 Domaine d'utilisation des Huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont étroitement liées à l'histoire humaine. En effet, depuis Civilisations anciennes, les êtres humains utilisent des substances aromatiques à chaque instant de la vie Au quotidien, les principaux domaines d'Utilisation (KOUDOU *et al* ,2009) sont résumés dans le tableau 2 suivant :

Données bibliographiques

Tableau 2 : Les principaux domaines d'Utilisation des Huiles essentielles.

Les Domaines	L'utilisation
Parfumerie et cosmétologie	L'industrie des savons et des parfums est le consommateur le plus important d'huiles essentielles. Selon la National Research and Development corporation, elle représente 60 % de la demande totale de substances naturelles. Les huiles essentielles sont utilisées comme ingrédients de base dans la fabrication de parfums et autres cosmétiques. (BESSAH, <i>et al.</i> , 2015)
Pharmacie	Les propriétés pharmacologiques de certaines huiles essentielles utilisées en thérapeutique sont principalement des propriétés antiseptiques et antifongiques reconnues par les autorités sanitaires. Il existe différentes spécialités pharmaceutiques sur le marché. La tendance actuelle est de valoriser cette activité bactéricide, notamment dans l'assainissement des centres de santé (hôpitaux, cliniques), et l'ajout d'HE lors de la formulation d'un médicament de spécialité pour masquer le goût désagréable du médicament et le rendre plus agréable à consommer. (DJARALLAH <i>et al.</i> , 2020)
Industrie agro-alimentaire	Ils sont utilisées dans l'industrie alimentaire comme aromatiques dans les préparations culinaires. Plusieurs industries agroalimentaires sont consommatrices : de nombreux arômes de fruits sont utilisés dans les produits laitiers, les agrumes et les huiles essentielles de menthe poivrée sont utilisés dans les boissons non alcoolisées. les plantes aromatiques sont utilisées sous diverses formes en charcuterie : oléorésines et huiles essentielles, mais aussi fraîches, séchées ou Formes surgelées. (DJARALLAH <i>et al.</i> , 2020)
Industrie chimique	Les huiles essentielles sont un mélange très complexe. Il est possible d'isoler des molécules d'intérêt, soit pour une utilisation ultérieure comme produits naturels sous forme d'énantiomères simples, soit pour permettre une semi-synthèse et obtenir in fine de nouvelles molécules, plus rentables économiquement que la synthèse chimique conventionnelle. (DJARALLAH <i>et al.</i> , 2020)

2.3 Les Activités biologiques.

Les PAM possèdent une variété d'activités biologiques, parmi lesquelles on peut citer les fongicides, les insecticides, les herbicides, les bactéricides, les antioxydants, etc.

Données bibliographiques

Les HE sont connus pour leurs propriétés antiseptiques et antibactériennes. Beaucoup d'entre eux ont des propriétés antivenimeuses, antivenimeuses, antivirales, antioxydants et antiparasitaires. Plus récemment, ils ont également été connus pour avoir des propriétés anticancéreuses. (GOUDJIL, 2016)

Dans notre étude, nous sommes intéressées par deux activités biologiques : les activités Antibactériennes et Antifongiques.

Activités antimicrobiennes : De nombreuses PAM et leurs HE présentent une activité antimicrobienne, qui peut inhiber la détérioration et la croissance de microorganismes pathogènes, améliorant ainsi la sécurité alimentaire. Elle est généralement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs. (GOUDJIL, 2016)

Agent antimicrobienne : est une substance d'origine synthétique ou naturelle utilisée pour détruire ou inhiber la croissance des micro-organismes, comme **les bactéries, les champignons, les virus, les parasites.** (GOUDJIL, 2016)

2.3.1 Activité antibactérienne

-Les bactéries sont le plus souvent associées aux intoxications alimentaires et l'utilisation généralisée antimicrobienne chimiques en médecine a conduit à la sélection de souches résistantes. Les huiles essentielles de plantes médicinales et aromatiques sont utilisées comme substituts pour traiter les maladies infectieuses et protéger les aliments de toute altération. (LALAMI et al, 2013)

-D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

-Agression de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;

-Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire

-Et la synthèse des composants de structure ; Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie. (GOUDJIL, 2016)

2.3.2 Activité antifongique

-Les HE et leurs Les composés bioactives sont largement utilisées comme des agents d'inhibition et de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes surtout dans les deux domaines phytosanitaire et agro-alimentaire.

-Les HE agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

-Les HE agissent sur un large spectre de moisissures et de levures en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines dans les moisissures.

-Les effets antifongiques de ces composés sont dus à une perméabilité accrue de la membrane plasmique suivie d'une rupture de la membrane plasmique entraînant une fuite du contenu cytoplasmique, entraînant la mort de la levure. (GOUDJIL, 2016)

2.4 Description botanique des plantes aromatiques

2.4.1 Lamiacées (labiées) : *Rosmarinus officinalis*

La famille des Lamiacées (Labiacées) est l'une des familles les plus grandes et les plus distinctes de plantes à fleurs, avec environ 220 genres et près de 4000 espèces dans le monde. (NAGHIBI *et al.*, 2022)

Le romarin est une culture industrielle importante appartenant aux plantes médicinales et aromatiques. Il est connu botaniquement sous le nom de *Rosmarinus officinalis*. (GONZÁLEZ *et al.*, 2023).

Rosmarinus officinalis est l'herbe médicinale la plus couramment utilisée parmi les épices dans les aliments, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques. (GONZÁLEZ *et al.*, 2023)

2.4.1.1 Répartition géographique de *Rosmarinus officinalis* :

Le romarin médicinal est présent dans toute la région méditerranéenne (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie). Cependant, comme il est cultivé depuis l'Antiquité, il est cultivé dans de nombreux pays d'Europe et d'Asie, dont l'Inde, les Philippines, les Antilles, l'Australie, les États-Unis et le Mexique (figure 8). (OUTALEB, 2016)

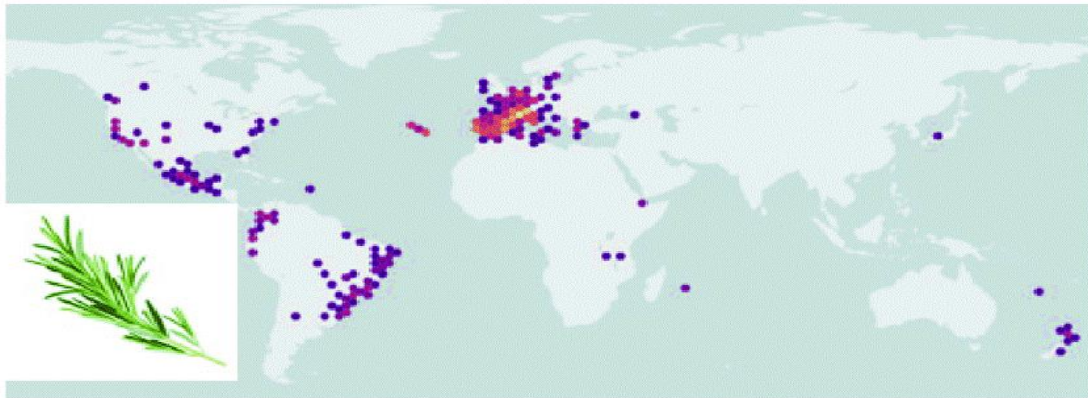


Figure 8 : Répartition géographique de *Rosmarinus officinalis* selon la biodiversité mondiale. (GONZÁLEZ *et al.*, 2020)

Données bibliographiques

2.4.1.2 Description botanique de *Rosmarinus officinalis* :

Le romarin (figure 9) est un arbuste à feuilles persistantes atteignant 1,8 m de haut, dressé ou couché. Les feuilles (10–41 ; 1–3 mm) sont non pétiolées, de taille variable dans la même branche. La face supérieure est verte et la face inférieure est blanchâtre en raison de la présence de nombreux poils : glandulaires (capités et peltés) et non glandulaires trichomes. Ses fleurs sont petites, disposées en grappes courtes, et elles ont une corolle bilabée violette ou blanche (8,5 –13,5 mm). (GONZÁLEZ *et al.*, 2020)



Figure 9 : *Rosmarinus Officinalis* L (Photo personnel, 2023).

Les feuilles (Figure10) de romarin sont persistantes, linéaires, coriaces, pointues, vert foncé, enroulées, blanches en dessous, opposées, entières, sessiles, avec des bords réfléchis et des poils blancs sur le dos. (LAGSIER et NAHLA ,2020)

La racine : Il a un système racinaire dense et profond (Figure10) qui absorbe l'eau profondément pendant les périodes de sécheresse. (HAMMAD et HIMED, 2020)



Figure 10 : feuilles et racine de *Rosmarinus officinalis* L (Photo personnel, 2023).

Données bibliographiques

2.4.1.3 Classification systématique de : *Rosmarinus officinalis*

Classification botanique de : *Rosmarinus officinalis* (HAMMAD et HIMED, 2020)

Règne	Plantes
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Lamiales (Labiales)</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

2.4.1.4 Usage de *Rosmarinus officinalis* :

Rosmarinus officinalis L. est une plante médicinale largement utilisée dans divers domaines, ainsi que dans les industries pharmaceutiques, cosmétique et alimentaire. (RAFYA *et al.*, 2023)

Usages agroalimentaires : Les feuilles et les extraits de romarin sont utilisés dans ; industrie alimentaire avec ; acide rosmarinique, acide carnosol, le rosmanol et le carnosol. Ils sont en fait utilisés comme antioxydants et conservateurs dans la charcuterie, les viandes et les aliments gras. (HAMMAD et HIMED, 2020)

Usages cosmétiques : des essais ont été menés en utilisant des extraits et des huiles essentielles de romarin comme bactéricide et antifongiques dans les préparations cosmétiques. (GONZÁLEZ *et al.*, 2020)

Données bibliographiques

2.4.1.5 Composition chimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* :

Les huiles essentielles (HE) de romarin ont été documentées pour leurs activités biologiques, notamment leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et anti-inflammatoires. (RAFYA *et al.*, 2023)

Des études antérieures ont montré que *R. officinalis* a montré des effets thérapeutiques très élevés en raison de la présence de composés bioactifs (figure 11) tels que le 1,8-cinéol (15–55%), la verbénone (2,2–11,1%), le bornéol (1,5–5,0%) , camphre (5–31 %), limonène (1,5–5,0 %), pinène (2,0–9,0 %), pinène (9–26 %), caryophyllène (1,8–5,1 %), camphène (2,5–12,0 %) et myrcène (0,9–4,5 %). (MOGHADAM *et al.*, 2023)

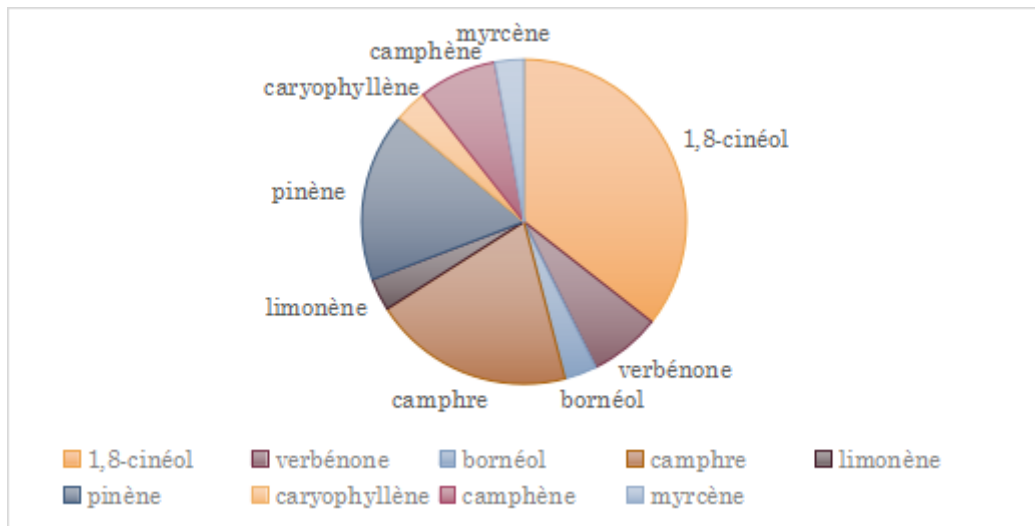


Figure 11: Composition chimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

R. officinalis contient différentes vitamines (acide ascorbique total, thiamine, riboflavine, niacine, vitamine B6, vitamine E, folate, vitamine B12, vitamine A et vitamine D), acides gras (saturés, monoinsaturés et polyinsaturés) et minéraux (Ag, Al, As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cu, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Sr, Ti, V, et Zn). Leur contenu dépend des parties de la plante. (GONZÁLEZ *et al.*, 2020)

2.4.2 Cupressaceae : *Juniperus Communis*

Cupressaceae est une famille de gymnospermes, qui contient environ 135 espèces d'arbres et d'arbustes et 19 genres comprenant jusqu'à 25 espèces. Les Cupressaceae se classent au troisième rang parmi les conifères, mais sont les plus largement distribués. (RAHMANI, 2020)

Juniperus Communis est un conifère dioïque que l'on trouve couramment dans les régions montagneuses avec des feuilles persistantes en forme d'aiguilles et des graines comestibles ressemblant à des fruits. Ils sont entourés d'une couche protectrice sombre et juteuse.

Chez *J. communis*, la formation et la maturation des baies se produisent sur une période de trois ans. La première année du cycle de reproduction, les cônes sont petits et verts. La deuxième année, la masse double et vire au bleu foncé et au noir. La troisième année, elle mûrit en septembre-octobre. (POPESCU *et al.*, 2023)

2.4.2.1 Répartition géographique de *Juniperus Communis*

J. communis est distribué en Europe, en Asie occidentale jusqu'à l'Himalaya et Amérique du Nord. Quant à la sous-espèce hémisphérique, on la trouve dans Italie et Grèce (figure 12).

En Algérie, il est cultivé dans des endroits comme le sommet de la montagne du Djurdjura Rarement présent sur les Aurès et les Babors, il se situe au-dessus d'une forêt de cèdres. Au Maroc, toujours rare, il est Trouvé dans les calcaires du Haut Rif, Moyen Atlas oriental, très clairsemé même sur les hautes montagnes Atlas oriental. (TABET *et al.*, 2022).

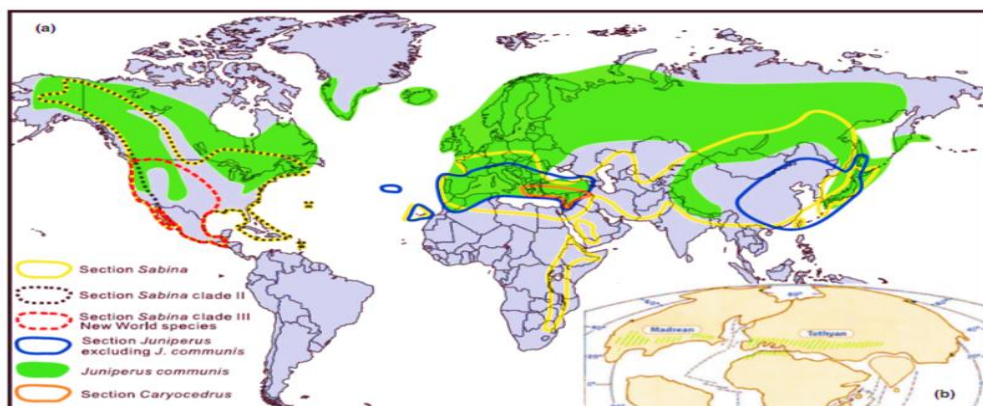


Figure 12 : Répartition du genre *Juniperus* dans le monde (BERKAT et KADDOUR, 2019)

Données bibliographiques

2.4.2.2 Description botanique de *Juniperus Communis* :



En botanique, le genre des genévriers (figure 13), également appelé poivre du pauvre, nom scientifique *Juniperus*, famille des Cupressaceae.

Il existe de nombreux types, dont des variétés "rigides" avec des aiguilles et des piquants et des variétés "souples" avec des écailles sur les feuilles. Généralement une hauteur de 4 à 15 m dans la nature. Il supporte des sols pauvres, qui peuvent être très calcaires, sableux et secs, jusqu'à 4 500 mètres d'altitude. (DOUFFI et AMROUNE ,2021)



Figure 13 : *Juniperus communis* (Photo personnel, 2023).

Données bibliographiques

Les feuilles :	Fruit :
<p>Les feuilles de <i>J. communis</i> sont entièrement en forme d'aiguilles (figure14), en trois verticilles autour des branches 5 à 15 mm de long et 1,5 à 2 mm de large. Ils sont très larges en bas, puis se rétrécit vers la pointe et devient pointu, rigide, très piquante. (TABET <i>et al.</i>, 2022).</p>	<p>C'est une fausse baie ou galbule aux écailles charnues, sphériques ou ovoïdes (figure15), de forme 5 à 6 mm de diamètre, vert la première année, noir violet foncé à maturité la deuxième année. (KADDOUR <i>et al.</i>, 2018).</p>
 <p>Figure 14 : Feuilles Juniperus communis (photo personnel, 2023)</p>	 <p>Figure 15 : Fruit Juniperus communis (photo personnel, 2023)</p>

Données bibliographiques

2.4.2.3 Classification systématiques de : *Juniperus communis*

Classification botanique de : *Juniperus communis*. (TABET *et al.*, 2022).

Règne	Plantes
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Classe	<i>Coniférospides</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressaceae</i>
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus communis</i>

2.4.2.4 Usage de *Juniperus communis* :

Utilisation médicinale :	Utilisation alimentaire :	Utilisation industrielle :
<ul style="list-style-type: none">• Les usages médicaux de cette espèce sont nombreux, notamment dans le traitement de la diarrhée, des douleurs abdominales, des tumeurs, des bronchites et des indigestions. (TABET <i>et al.</i>, 2022).• Il possède des propriétés antirhumatismales, carminatives, antiseptiques, antifongiques et antioxydants. (DOUFFI <i>et al.</i>, 2021).	<ul style="list-style-type: none">• Utilisé comme condiment (pour rehausser le goût d'un aliment ou d'une préparation, notamment Les sauces. (Toumi <i>et al.</i>, 2015).	<ul style="list-style-type: none">• Le bois de cette espèce est utilisé dans la fabrication de petits objets, dans la sculpture. (TABET <i>et al.</i>, 2022).• Il est compact et durable est utilisé pour fabriquer des poteaux (colonnes), des poignées, et Également utilisé pour le chauffage. (Toumi <i>et al.</i>, 2015).

2.4.2.5 Composition chimique d'huile essentielle de *Juniperus communis* :

Le genévrier commun est une source importante de métabolites, avec des études photochimiques montrant la présence de plus de 60 constituants, et le rendement en huile essentielle apporté par les branches de genévrier est d'environ 0,02 à **0,23 %**. Cette huile essentielle est riche en monoterpènes (**81,68%**), dont principalement le sabinène (**27,51%**), le limonène (**16,19%**), l'alpha-pinène (**8,82%**) et le terpinène-4ol (**6,52%**). (AIDLI *et al.*, 2013).

Les feuilles de genévrier commun d'origine géographique spécifique ont montré une accumulation importante de polyphénols pouvant atteindre jusqu'à **3,43 ± 0,17%** d'équivalents pyrogallols, et les composés volatils prédominants sont le δ -3-carène, l' α -pinène, le sabinène, le β -pinène, le myrcène, limonène, β -phellandrène et D-germacrène. (POPESCU *et al.*, 2023)

2.5 Différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. En effet, sa vocation est de capter et de collecter les produits les plus instables, délicats et fragiles issus des végétaux sans en altérer la qualité. (BOUKHATEM *et al.*, 2019)

Basées sur différents phénomènes physiques : distillation, extraction ou séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles reposent et réparties en deux catégories différentes selon le produit final obtenu : huiles essentielles ou extraits aromatiques. (LUCCHESI, 2005)

On distingue :

2.5.1 Expression à froid :

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification (BOUKHATEM *et al.*, 2019)

2.5.2 Entraînement à la vapeur d'eau :

C'est l'une des méthodes officielles d'obtention de l'HE. Dans ce système d'extraction, la matière végétale est soumise à un flux de vapeur sans macération préalable (figure 16). Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées en parfum, puis séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). Il n'y a pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale, et entre l'eau et les molécules d'arôme, évitant certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation qui pourraient altérer la qualité de l'huile. (BOUKHATEM *et al*, 2019)

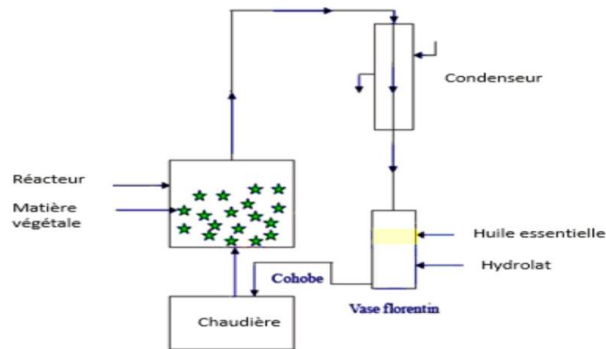


Figure 16 : Principe schématiser d'entraînement à la vapeur d'eau (BOUKHATEM *et al.*,2019)

2.5.3 Hydrodistillation

Il s'agit de plonger les matières premières dans un bain-marie, puis de porter le tout à ébullition. Elle est habituellement conduite à la pression atmosphérique (figure17). La distillation peut être réalisée avec ou sans précipitation de l'eau aromatique obtenue lors de la décantation. L'inconvénient de cette méthode est principalement dû à l'action de la vapeur ou de l'eau bouillante ; certains organes végétaux, notamment les fleurs, sont trop fragiles pour supporter la distillation à la vapeur et le traitement d'Hydrodistillation (BOUKHATEM *et al* , 2019)

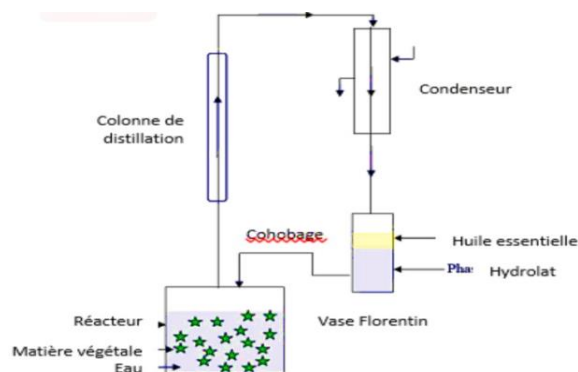


Figure 17 : Principe schématiser hydrodistillation (BOUKHATEM *et al.*,2019)

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité pour leurs propriétés biologiques.

Le but de notre travail est de tester l'activité antibactérienne et antifongique des deux extraits aromatiques « huiles essentielles » de *Rosmarinus Officinalis* et *Juniperus communis*.

L'ensemble des manipulations ont été réalisées au sein des deux laboratoires : « Laboratoire de Recherche des Sciences Fondamentales » et « Laboratoire pédagogiques de Département de Biologie » de l'université Amar Telidji de Laghouat.

Le travail pratique est subdivisé en deux parties :

- Extraction et récupération des « huiles essentielles » de *Rosmarinus Officinalis* et *Juniperus communis* par Hydrodistillation de type Clevenger.
- Étude de l'activité antibactérienne et antifongique des deux extraits aromatiques en déterminant les (CMI), (CMB), (CMF).

3.1 Matériels

3.1.1 Matériels biologiques

La matière végétale utilisée dans cette étude est le romarin connu sous le nom scientifique *Rosmarinus Officinalis* et le genévrier connu sous le nom scientifique *Juniperus communis*.

3.1.2 Les souches microbiennes utilisées :

Les souches bactériennes choisies pour cette étude sont des bactéries pathogènes, souvent responsable de maladies et infections nosocomiales dont plusieurs sont résistantes aux antibiotiques, voir même multi-résistantes. Ils sont de références obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC).

Le support microbien est composé de six souches bactériennes (Gram -/+) et deux souches fongiques (levures) : qui ont été isolées des produits pathologiques provenant de laboratoires de recherches « Tlemcen », « Djelfa », « laboratoire vétérinaire de Laghouat »

Matériels et méthodes

Tableau 3 : Caractérisation de souches microbiennes utilisées.

		Référence	Caractérisation	
Souche bactérienne	Gram(-)	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	La plupart des <i>E. coli</i> sont non pathogènes et essentiels au fonctionnement normal d'un intestin sain. (LENSKI, 2023)
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	C'est un agent pathogènes les plus courants associés aux infections nosocomiales et est souvent résistant aux antibiotiques, entraînant une morbidité et une mortalité importantes dans les cas de bactériémie à <i>P. aeruginosa</i> . (NG <i>et al.</i> , 2023)
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 70603	C'est une Bacille, considérée comme un problème de santé mondial en raison des niveaux élevés de mortalité associés à la résistance à plusieurs antibiotiques. (DE SOUZA <i>et al.</i> , 2022).
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC 9610	C'est la quatrième bactérie la plus courante causant une gastro-entérite infectieuse aiguë En tant qu'agent pathogène largement répandu dans la nature, il est souvent transmis à l'homme par la consommation d'aliments ou d'eau contaminés. (FANG <i>et al.</i> , 2023)
	Gram(+)	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 4698	Elle peut provoquer une rechute et une infection de dialyse péritonéale réfractaire car il conduit à une forte formation de bio film. (SAIKI <i>et al.</i> , 2023)
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	C'est l'un des principaux agents pathogènes reconnus comme étant responsables d'infections nosocomiales et communautaires chez l'homme (BOWBE <i>et al.</i> , 2023).
Levures	<i>candida albicans</i>	ATCC 10231	Cette levure peut pénétrer dans la circulation sanguine, entraînant, chez les hôtes sensibles, une infection systémique grave pouvant toucher plusieurs organes dont le cœur, l'œil, ou le cerveau, et être à l'origine du décès. (WEINER, 2023).	
	<i>candida albicans</i>	ATCC 26790		

Matériels et méthodes

3.2 Méthode expérimentale

L'organigramme ci-dessous (figure 18) résume l'ensemble de notre travail pratique.

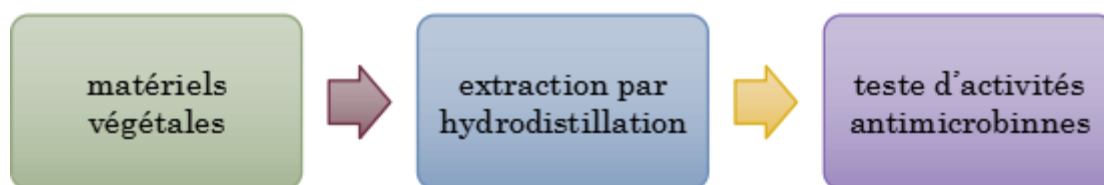


Figure 18: Organigramme de notre travail

Cette étude est basée sur deux plantes récoltées à partir d'une seule région, Tableau 4 ci-dessous indique les informations sur la région :

Tableau 4 : Des informations sur la région de récolte des deux plantes.

Plante	Région et date de récolte	Partie récolté	Altitude	Coordonnée géographique
<i>Rosmarinus officinalis</i>	El Idrissia/Djelfa-2021	Partie aérienne Feuille	895m (REBBAS <i>et al.</i> , 2021)	34°47'47"N, 02°52'35"E (REBBAS <i>et al.</i> , 2021)
<i>Juniperus communis</i>	El Idrissia/Djelfa-2021			

3.2.1 L'Extraction par hydrodistillation :

L'hydrodistillation est une méthode traditionnelle d'extraction de composés bioactifs, principalement des huiles essentielles. L'hydrodistillation implique trois processus physico-chimiques principaux ; hydrodiffusion, hydrolyse et décomposition par la chaleur. (OREOPOULOU *et al.*, 2019)

Dans notre étude on utilise la méthode L'Hydrodistillation de type Clevenger car c'est une technique simple, disponible, non coûteuse dont leur principe est décrit ci-dessous (Figure 19) L'extraction des deux huiles essentielles (HE) du Romarin (*Rosmarinus Officinalis*) et du genévrier (*Juniperus communis*) a été effectuée au niveau du Laboratoire de Recherche des Sciences Fondamentales de l'université Amar Telidji de Laghouat.

Matériels et méthodes

▪ Principe :

Dans un appareil de type Clevenger (figure 19), 100 g de l'échantillon (feuilles : partie aérienne) a été mélangé avec l'eau dans un ballon, le tout est porté à ébullition, ensuite l'eau bouillante entraîne avec elle les composants volatils, cette vapeur hétérogène passe à travers un réfrigérant pour se condenser. Deux phases (aqueuse et huileuse) sont obtenues et l'huile peut être encore séparée par un solvant selon la différence de densité (figure 20).

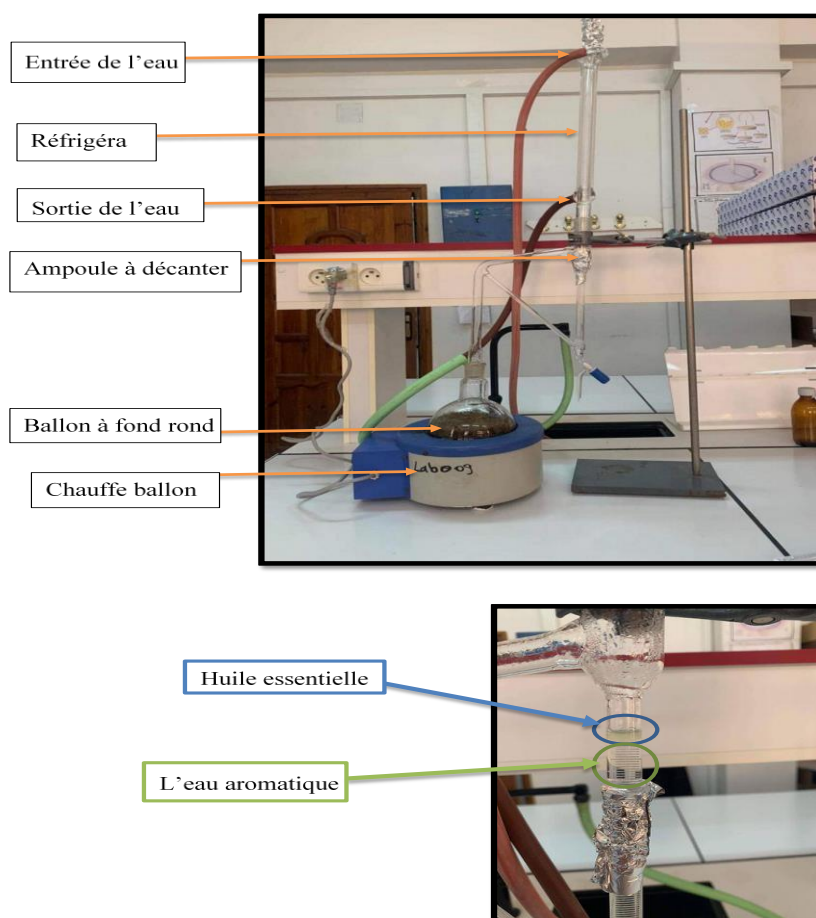


Figure 19 : Appareils d'hydrodistillation de type Clevenger (KASRI ,2022).

Matériels et méthodes

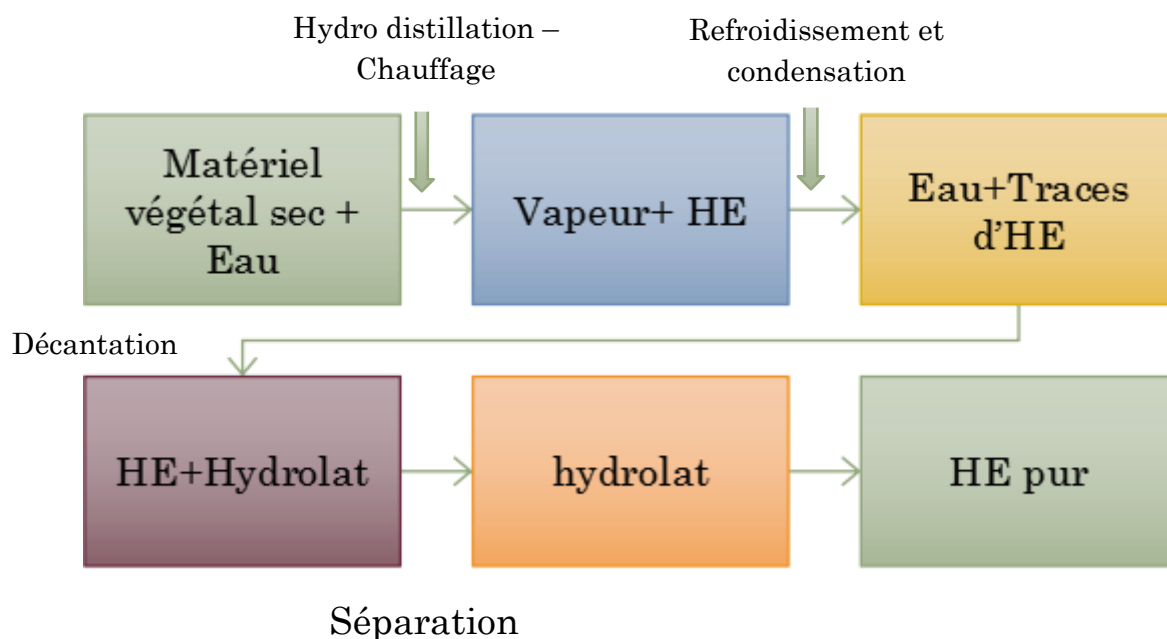


Figure 20 : Les étapes d'extraction d'huile essentielle par hydrodistillation de type Clevenger.

▪ Calcul du rendement :

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage est le rapport entre le poids de l'huile extraite sur la masse totale de la plante utilisée dans l'extraction.

$$R\% = \frac{M^*}{M} \times 100$$

R : rendement de l'huile en %

M* : poids de l'huile extraite en g

M : poids totale de la plante utilisée dans l'extraction En g

▪ La conservation des huiles essentielles

La conservation des huiles essentielles obtenues nécessite certaines précautions nécessaires. Elle doit être recueillie dans des flacons en verre ambré hermétiques et sécher avec le sulfate de sodium pour éliminer toute trace d'eau puis stoker à l'abri de l'air et de la lumière et conservée à environ 4°C.

Matériels et méthodes

3.3 Test des activités biologiques

3.3.1 Activités antimicrobiennes

L'étude d'activité antimicrobienne *in vitro* des deux extraits aromatiques a été réalisée par deux méthodes :

1. la méthode de diffusion sur gélose.
2. La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer la CMI et CMB.

■ Préparation du milieu de culture

Pour tester l'activité antimicrobienne des deux extraits organiques nous avons utilisé deux milieux de culture, le tableau 5 suivant résume cette étape :

Tableau 5 : Les milieux des cultures utilisés.

Milieu de culture			
Milieu Mueller –Hinton (MH)		Saboraud (SB)	
Liquide (bouillon)	Solide (gélose)	Liquide (bouillon)	Solide (gélose)
21 g de poudre de milieu. est bien homogénéisée avec 1 L l'eau distillée, puis chauffée jusqu'a ébullition à 250 °C en agitant. . La gélose est ensuite stérilisée à l'autoclave durant 20 min à 120 °C	38g de poudre milieu est bien mélangée avec 1 L d'eau distillée. puis chauffé en agitant. Il faut porter à ébullition à 250 C°. La gélose est ensuite stérilisée à l'autoclave durant 20 min à 120 °C	Dissoudre 30 g de poudre de milieu dans un 1L d'eau distillée, Mélanger, puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition 250 C°. Répartir et stériliser 20 minutes à 120°C à l'autoclave.	Dissoudre 38g de poudre de milieu dans un 1L d'eau distillée. Mélanger. puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition 250 C°. Répartir et stériliser 20 minutes à 120°C à l'autoclave.

Matériels et méthodes

■ Ré-isolement des souches bactériennes :

Des échantillons de souches bactériennes testés sont prélevés, réactivés et ensemencés selon la méthode de stries sur une boîte de Pétri coulée par la gélose MH préalablement puis incubés de 18 à 24 heures à 37 °C, pour l'obtention des souches pures et jeunes.

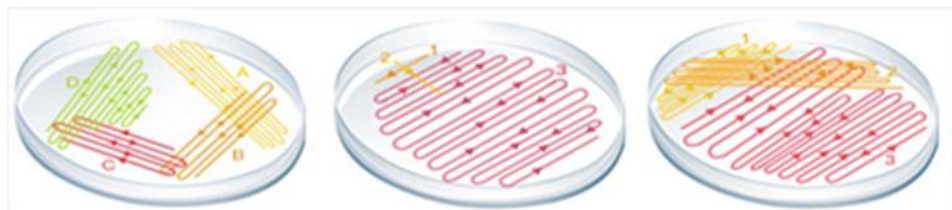


Figure 21 : trois types de stries sources <https://theory.labster.com/streaking-fr/>

■ Préparation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum s'effectue selon le protocole suivant : A partir d'une culture jeune, de 18 à 24h contenant les germes pathogènes, 3 colonies ont été raclées à l'aide d'une pipette Pasteur de chaque souche et posées dans l'eau physiologique stérile. L'ensemble est mélangé avec un vortex pendant 10 min. Pour atteindre une densité optique entre 0,08-0,1 à 580-600 nm ce qui correspond à une concentration de 10^8 cellules/ml.

■ Préparation des disques

Le papier de wattman N°3 est coupé en disques de 5 mm à l'aide d'un emporte-pièce, ces disques doivent posséder un contour régulier et référer aux diamètres des disques d'antibiotique commerciales, pour donner une zone d'inhibition que nous pouvons mesurer facilement. Ces disques sont stérilisés dans un autoclave pendant 20 minutes à 120°C.

Matériels et méthodes

■ Préparation des dilutions

Extrait 1 : *Rosmarinus Officinalis*, Extrait 2 : *Juniperus communis*

Trois tubes en verre stériles ont été préparés l'un pour l'HE pure et les deux autres pour les dilutions (1/2 ; 1/5) :

→Le premier tube contient **120 µl d'extrait pure**.

→Le deuxième tube contient **60 µl de DMSO et 60 µl de l'HE. Dilution 1/2**.

→Le troisième tube contient **96 µl de DMSO et 24 µl de l'HE Dilution 1/5**.

Une bonne agitation au vortex a été faite.



Figure 22 : Préparation des dilutions

■ Disques antibiotiques et antifongiques

Le choix des disques a été fait en fonction des souches sélectionnées et la disponibilité, La sensibilité aux antibiotiques des souches est déterminée par le test d'antibiogramme, le tableau 6 indique les différents disques ATB et ATF utilisés dans notre teste.

Tableau 6 : Disques antibiotiques et antifongiques utilisés dans le teste.

Antibiotique	Code	La dose
Céfoxitine	FOX30	30 mg/ml
Gentamicine	CN10	10 mg/ml
Ofloxacine	OF5	5 mg/ml
Antifongique		
Amphotéricine b	Fungizone	40ml 10%

Matériels et méthodes

3.3.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE

Pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des deux extraits nous avons utilisé la méthode de diffusion sur gélose.

C'est une méthode basée sur la diffusion de l'extrait testé dans la gélose (figure 23).

Ce travail a pour but de tester l'effet des deux huiles contre Six souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) et une seule souche fongique (la levure *Candida albicans*).

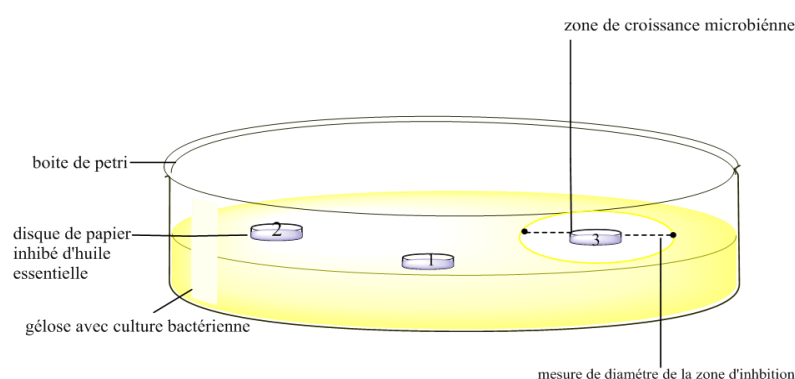


Figure 23 : principe de la méthode de diffusion sur gélose.

■ Principe :

Après réactivation des souches, une suspension microbienne ajustée à une concentration de 10^8 cellules/ml a été préparée comme il a été décrit précédemment.

Les milieux de culture utilisés ont été coulés préalablement : Mueller – Hinton (**MH**) et le milieu Saboraud (**SB**). MH est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens et SB pour agents fongiques.

la totalité de la surface gélosée a étéensemencée de haut en bas en stries serrées, à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de suspension microbienne. L'opération a été répétée en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois.

Des disques stériles de papier Wattman de 5mm étaient placés aseptiquement (avec une pince stérilisée) sur les boîtes de Pétri à la surface du milieu, préalablementensemencé avec

Matériels et méthodes

de suspension microbienne. Puis, nous avons imbibé les disques déposés par 10 μ l de chaque dilution d'HE à l'aide de micropipette.

Ensuite les boites de pétri fermées et laissées diffuser à température ambiante, puis incubées à l'étuve à une température de 37°C pendant 24h. Dans les boites de contrôle on a des disques trempés de DMSO pour témoin négatif et les autres disques standards d'antibiotiques utilisés comme témoin positif (Figure 24).

Après l'incubation de 24 heures à 37 C° des boites, nous avons mesuré les diamètres des zones d'inhibition microbienne par les huiles à l'aide d'un pied à coulisse pour toutes les boites avec les différentes concentrations pour les deux extraits.

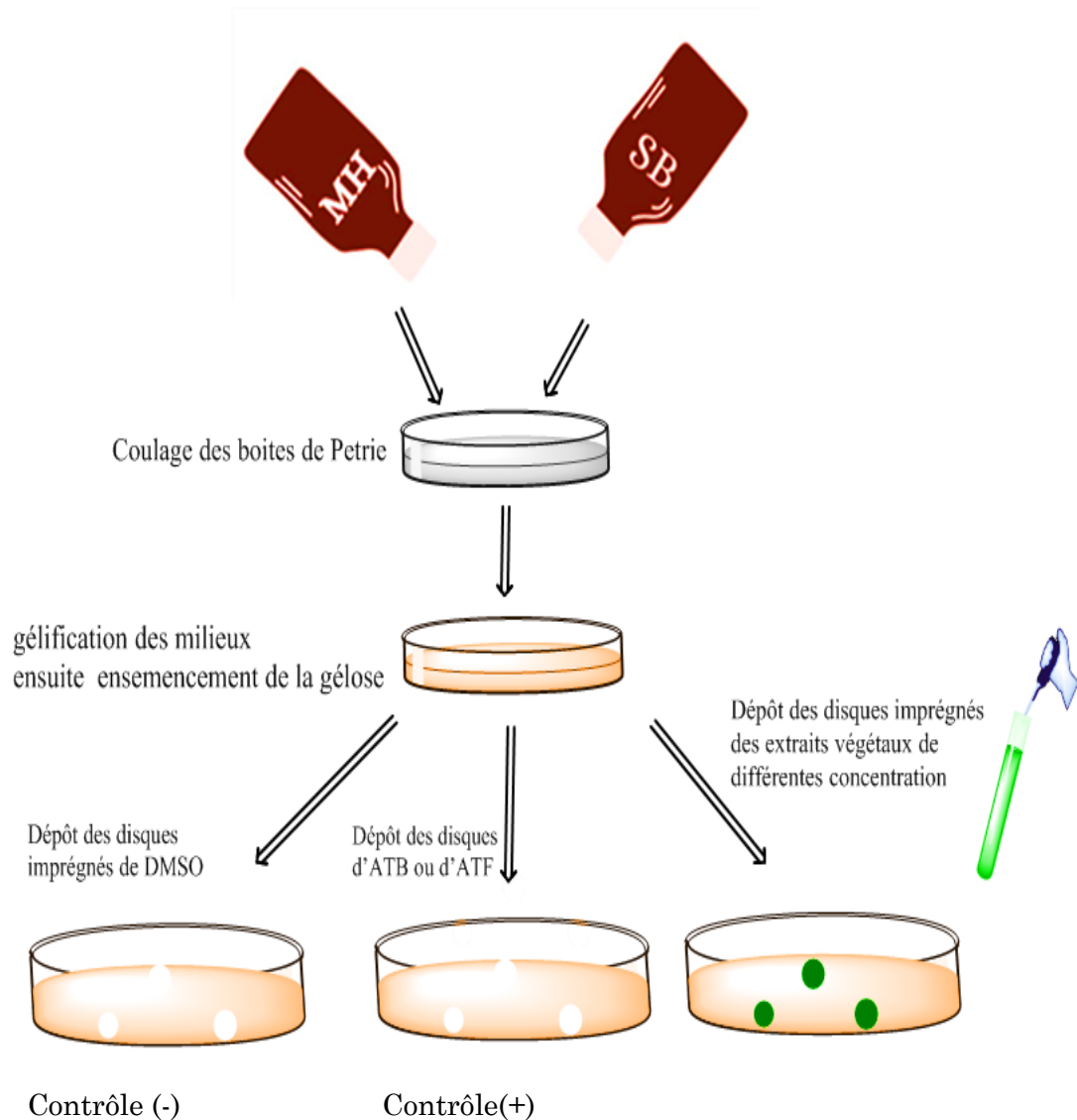


Figure 24 : Schéma de la méthode de diffusion sur gélose en utilisant les disques.

Matériels et méthodes

3.3.3 La méthode de microdilution en milieu liquide pour déterminer la CMI, la CMB et la CMF

Les concentrations minimales inhibitrices (**CMI**), bactéricides (**CMB**) et fongicides (**CMF**) des deux huiles essentielles actives ont été déterminées par la méthode de microdilution sur milieu liquide sur des microplaques en plastique, stérile à **96 puits** à fond rond permettant d'étudier simultanément de nombreuses souches microbiennes, Les puits sont en **8 lignes (A- H)** et **12 colonnes (1-12)**

100 µl de milieu de culture liquide a été disposé dans les puits ensuite **100 µl** d'extrait (dilution ½) est ajouté à colonne 1, puis dilué en série de la colonne **1** à la colonne **6** (dilution en cascade pour que tous Les puits contiennent 100 µl d'extrait dilué avec du milieu de culture). Ensuite, **100 µl** d'inoculum de la suspension microbienne (à 10^8 cellules/ml) était déposé par ligne. (Chaque ligne pour une souche)

Les puits **A7** à **F8** ont été conservés comme témoins positifs pour les souches bactériennes (**100 µl milieu MH + 100 µl céphalosporine ATB**), et les puits **G7** et **H7** comme témoins positifs pour les souches fongiques (**100 µl milieu Sabouraud + 100 µl ATF Amphotéricine B**). Sauf le contrôle négatif (**DMSO**) : dans une autre plaque qui continent (**100 µl milieu de culture +100 µl de DMSO+ 100 µl de suspension microbienne**).

Les microplaques sont incubées dans une étuve à **37°C** pendant **24 heures**. Après cette incubation **40 µl** d'indicateur de croissance microbienne (**INT**) (**0,2 mg/ml**) était ajouté dans chaque puits.

Après **15 minutes**, un changement de couleur a été observé dans les puits. L'apparition de **violet** indique une croissance microbienne. Typiquement, la **CMI** est la concentration de puits incolores (**clairs**) présents avant le premier puits coloré.

Après avoir révélé la **CMI**, nous avons entrepris de déterminer la **CMB**. Les puits ne présentant aucune croissance visible à l'œil nu après incubation ont été repiqués sur boîtes de gélose vierge sans croissance macroscopique à l'aide de micropipette. Après **24 h** d'incubation à **37 °C**, les boîtes de Pétri sans croissance microbienne correspondaient à la concentration de l'extrait représentant le **CMB**.

Matériels et méthodes

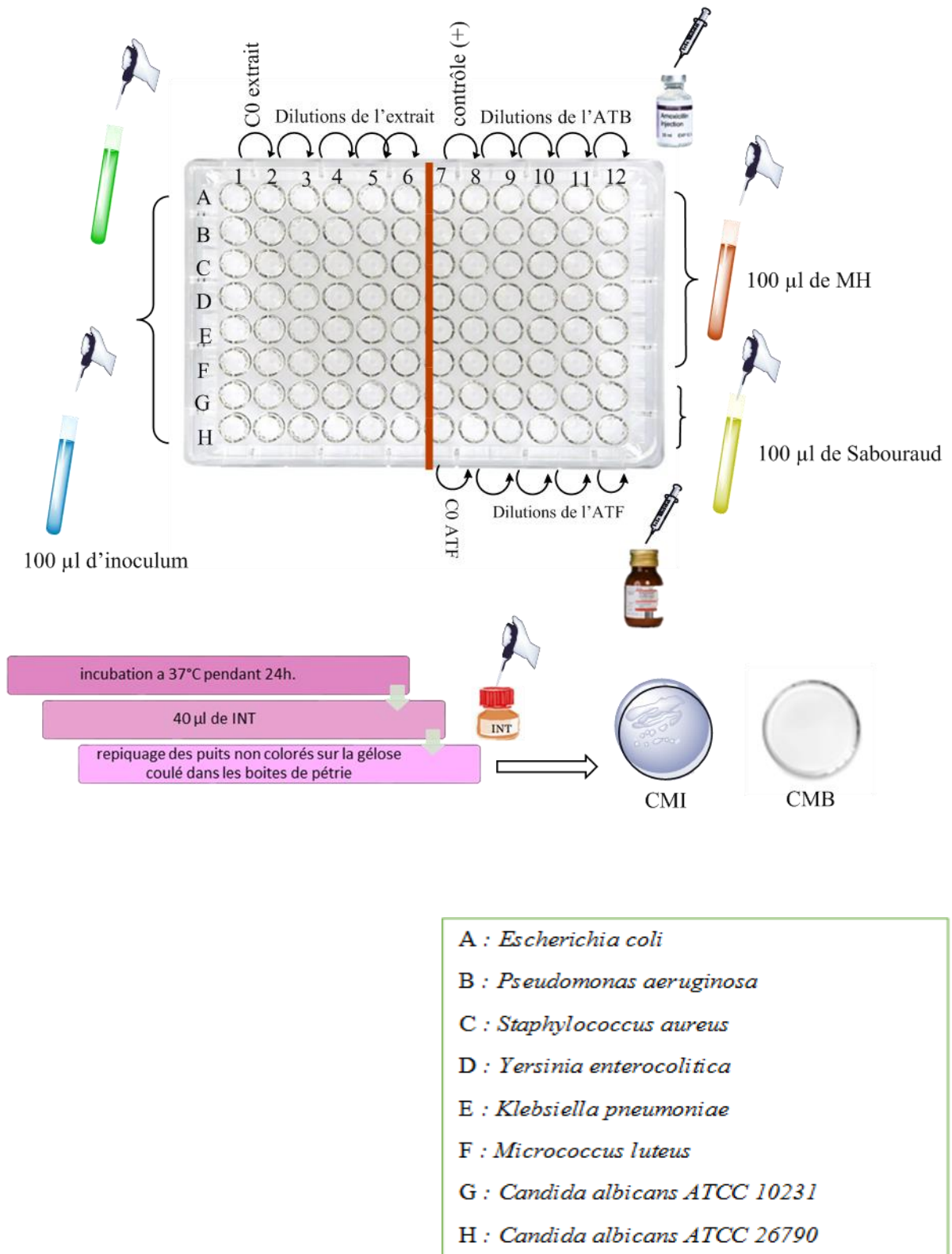


Figure 25 : Principe de la méthode de microdilution en microdilution.

Résultats et discussions

Résultats et discussion

Résultats et discussion

4.1 Paramètres organoleptique et rendement des HEs des deux plantes aromatiques :

Les paramètres organoleptiques de nos HEs obtenues par l'hydrodistillation de deux plantes aromatiques sont résumés dans le tableau (7) suivant :

Tableau 7 : Caractéristiques organoleptiques des HEs testées.

Plante à huile	Couleur	Odeur	Aspect	Rendement
<i>Rosmarinus Officinalis</i>	Jaune pâle	Aromatique forte	Liquide limpide	Faible
<i>Juniperus communis</i>	Jaunâtre	Aromatique forte	Liquide limpide	Elevé

Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielles sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (AFNOR, 2001). Ce qui signifie que l'huile extraite de *Rosmarinus officinalis* et de *Juniperus communis* de la région d'El Idrissia/Djelfa a une bonne qualité organoleptique.

● Calcule de rendement

Les huiles essentielles des deux plantes ont été extraites des matériaux végétaux secs, et ceci par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, le rendement en huile essentielle est variable en fonction de la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la technique d'extraction, aussi bien l'origine de récolte de la plante.

Nous avons obtenu une huile de couleur jaunâtre pour *Rosmarinus Officinalis*, alors que *Juniperus communis* a donné une huile de couleur jaune pâle plus claire, les deux huiles possèdent une forte odeur.

Le rendement en huile essentielle après hydrodistillation des deux plantes était largement variable, l'ensemble des valeurs de rendement sont regroupées dans la (figure 26), le rendement le plus important a été enregistré pour l'huile de *Juniperus communis*, avec une teneur de **1,14% (m/m)**, alors que *Rosmarinus Officinalis* représente un rendement en huile essentielle de **0,82 % (m/m)**.

Résultats et discussion

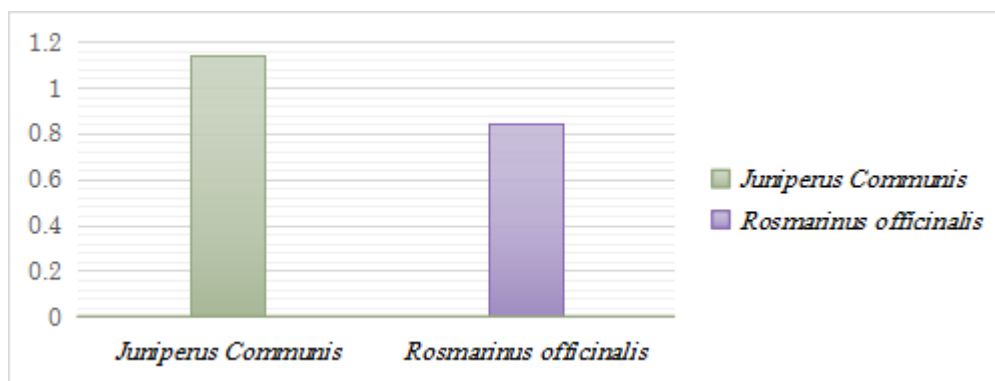


Figure 26 : Rendement en huile essentielle obtenu.

Le rendement en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* (**0,82 %**) était meilleur à (**0,5 %**) celui obtenu par El-AZRAK (2017), en utilisant le procédé hydrodistillation. Alors que, ce même rendement de **0,82 %** en huile essentielle pour la même espèce reste proche de **0,98%** celui obtenu par DJOUSSE *et al.*, (2022), sachant que la région de récolte de la plante était l'Ouest-Cameroun.

La teneur en HE de *Juniperus communis* (**1,14%**) était supérieur à (**0,23 %**) celle obtenue par MANSOURI *et al.*, (2011).

Le rendement des HE est très variable dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la région de récolte, la période de récolte, partie de plante utilisée pour l'extraction et la technique d'extraction.

Dans notre étude *in vitro* nous avons fait d'autres extractions en collaboration avec nos collègues pour des plantes différents mais de la même région (El Idrissia Djelfa) et en utilisant la même technique d'extraction. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 27 :

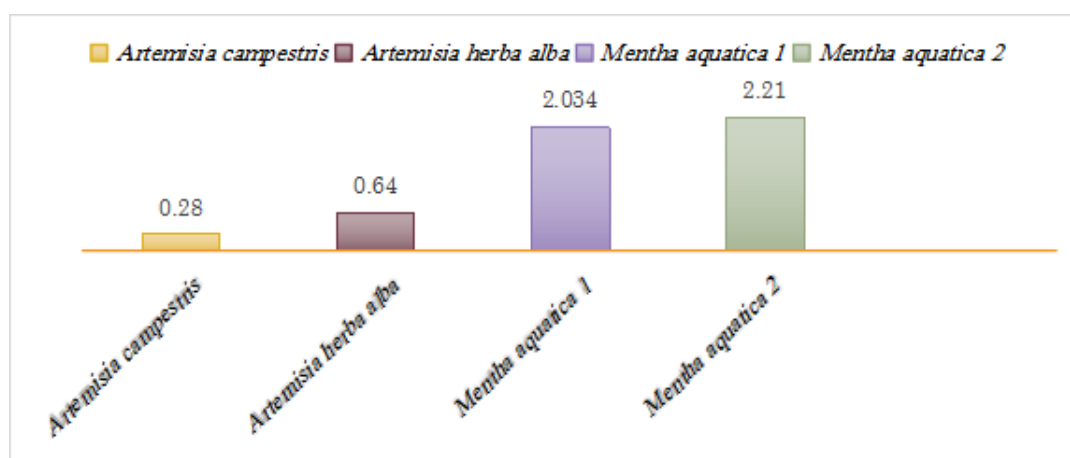


Figure 27: Rendement en huile essentielle obtenue par nos collègues, 2023.

Résultats et discussion

Les résultats montrent que le genre Menthe présente le rendement le plus élevé **2,21%** et **2,034%** par rapport aux *Rosmarinus Officinalis* et *Juniperus communis*.

En revanche, *Artemisia herba alba* et *Artemisia campestris* ont présenté respectivement un rendement de **0,28%** et de **0,64%** inférieur à ceux obtenu lors de notre étude.

Donc la différence de rendement peut être due aux plusieurs facteurs : la différence des plantes (genre / espèce), Influence des facteurs extrinsèques, Influence de stade végétatif...etc.

4.2 Résultats des Tests des activités biologique

4.2.1 Test du pouvoir antimicrobienne

Au cours de nos investigations, l'activité antimicrobienne a été évaluée contre 8 souches microbiennes, ce test préliminaire nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des deux huiles essentielles.

En utilisant la méthode de diffusion sur gélose solides, Mueller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons ensuite nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antimicrobien des extraits par la méthode de micro dilution en milieu liquide pour estimer et déterminer la **CMI**, la **CMB** et la **CMF**.

● Contrôle négatif :

Si des essais biologiques doivent être effectués sur des extraits, la toxicité des solvants peut également être critique, car même des traces de solvants ne doivent pas inhiber les processus biologiques. Il convient également de prêter attention aux interactions possibles entre les solvants et des solutés, tandis que les solvants peuvent réagir avec certains composés pour former des complexes ou provoquer la décomposition, la déshydratation ou l'isomérisation de ces composés (Yrjöen, 2004).

Pour cette raison, le DMSO a été testé comme solvant et les résultats ont montré que le solvant était approprié et n'avait aucun effet (figure 28) sur la croissance normale des souches microbiennes.

Résultats et discussion

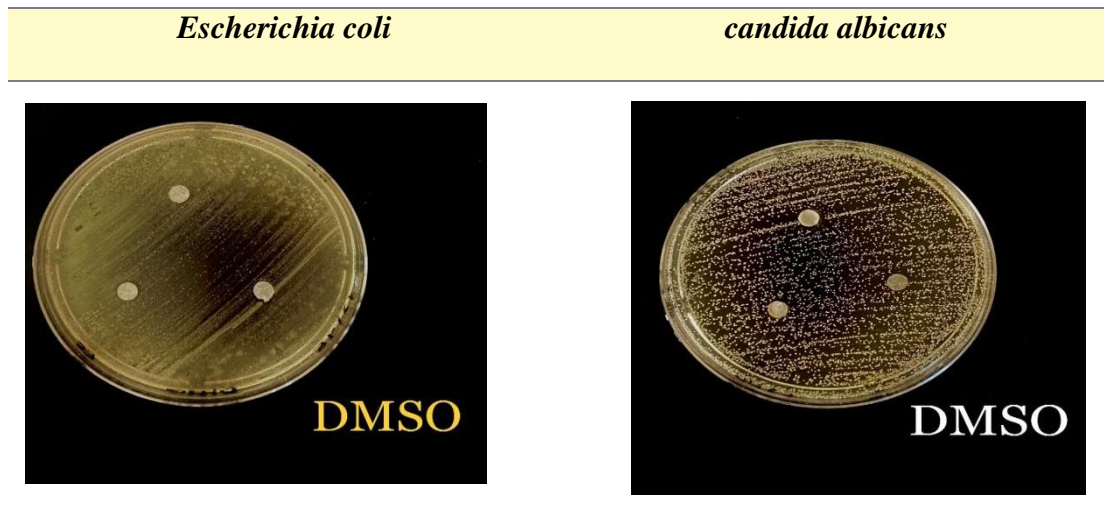


Figure 28: Effet de DMSO sur quelques souches.

- **Contrôle positif (antibiogramme) :**

L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance des souches microbiennes qui sont à l'origine du processus infectieux aux antibiotiques ou aux antifongiques.

Dans le cadre de cette recherche, nous avons utilisé comme antibiotiques : Céfoxitine-gentamicine et Ofloxacine et un seul antifongique : Amphotéricine b. La mesure du diamètre des zones d'inhibition de chaque souche pour chacun des antibiotiques testés nous a permis de caractériser les souches comme étant sensibles ou résistantes.

Les résultats des zones d'inhibitions sont exprimés en mm comme indiqué dans le tableau (8) et les figures (29) ci-dessous :

Résultats et discussion

Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) en présence de 3 antibiotiques et un antifongique

Souches bactériennes testés	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)			
	Antibiotique			Antifongique
	FOX	CN	Of	Amphotéricine b
<i>Escherichia coli</i>	25,5±0,5	23±00	35±2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28±1	36±3	36,5±1,5	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23,6±1,5	36±2,5	38±1,5	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	16,5±0,5	20±2	18,5±0,5	
<i>Micrococcus luteus</i>	24±4	39±1	34,6±0,5	
<i>Staphylococcus aureus</i>	39±1	26,5±0,5	33±1	
<i>Candida albicans 10</i>				14±1
<i>Candida albicans 26</i>				18,3±0,70

Selon (CLSI, 2018) les diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques testés :

Tableau 9 : les diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques testés.

Antibiotique	Charge du disque	Diamètre critique en mm	
		S	R
Gentamicine	10 mg/ml	≥17	<14
Ofloxacine	5 mg/ml	≥24	<22
Céfoxitine	30 mg/ml	≥ 19	<15

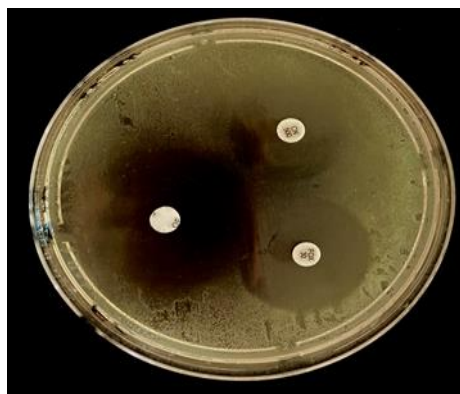
- ✓ S : sensible
- ✓ R : résistance

Résultats et discussion

Pseudomonas aeruginosa



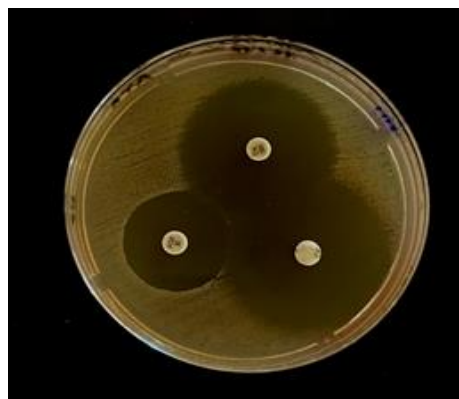
Escherichia coli



Yersinia enterocolitica



Klebsiella pneumoniae



candida albicans 10



candida albicans 26



Figure 29 : Effet des antibiotiques et l'antifongique sur quelques souches testées.

Résultats et discussion

Nous observons que les souches bactériennes réagissent différemment à l'antibiotique testé, on constate que les souches testées présentent une zone supérieure entre **22** et **38 mm** cela explique leur sensibilité à la Gentamicine Selon (BONNET *et al.*, 2013).

Les six souches se sont révélées sensibles à la Céfoxitine avec des diamètres variés entre **17** et **38 mm**, *Staphylococcus aureus* était la plus sensible avec une zone d'inhibition de **38 mm** et le plus petit diamètre était de **17 mm** enregistré pour *Yersinia enterocolitica*.

Ofloxacin a exercé un effet inhibiteur contre *Escherichia coli*, était la plus sensible avec un diamètre d'inhibition autour de 37 mm, seule *Yersinia enterocolitica* résiste avec une zone d'inhibition de 17 mm.

4.3 Résultats de l'activité antimicrobienne par la méthode diffusion sur gélose :

Les tests *in vitro* de l'activité antimicrobienne d'HEs vis-à-vis des différentes bactéries et levure pathogènes ont été évalués qualitativement et quantitativement par la présence ou l'absence de zones d'inhibition.

La méthode de diffusion sur gélose nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* et de *Juniperus communis*

Les Tableaux 10 et 11 ainsi que les Figures 30-31 et représentent les diamètres des zones d'inhibition propre à chaque extrait utilisé Après 24h d'incubation des souches.

Résultats et discussion

Tableau 10 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* vis-à-vis de souches testées.

	Huile essentielle	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)		
	Souches	Pure	1/2	1/5
Bactéries à Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	34,33±0,57	13,67±1,52	10,33±0,57
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	33,67±2,51	12,33±0,57	10,67±1,52
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12±1	9,67±0,57	5±0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31,33±1,52	13,67±2,08	5±0
Bactéries à Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	50±0	25,67±2,08	20,67±2,51
	<i>Micrococcus luteus</i>	50±0	50±0	50±0
Levures	<i>Candida albicans</i> 10	50±0	45±0	18±2,64
	<i>Candida albicans</i> 26	50±0	45±0	32±2

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures ± l'écart type.

Résultats et discussion

Tableau 11 : Diamètre de la zone d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de *Juniperus communis* vis-à-vis les souches testées.

	Huile essentielle	Diamètre de la zone d'inhibition en (mm)		
	Souches	Pure	1/2	1/5
Bactéries à Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	11,67± 1,5	7±1	5±0
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	38,67±5,68	21±6,24	9±1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15,59±2,9	9,15±1,2	5±0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20,33±4,04	11,33±3,21	9,33±0,5
Bactéries à Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	50±0	43±1	22,67±2,08
	<i>Micrococcus luteus</i>	50±0	34,33±1,5	19,33±5,1
Levures	<i>Candida albicans</i> 10	32±1,7	29,67±0,57	19,33±1,52
	<i>Candida albicans</i> 26	50±0	45±0	20±1

Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures ± l'écart type.

Résultats et discussion

D'après les résultats que nous avons obtenus du pouvoir antimicrobien de nos extraits organiques, par la méthode de diffusion sur gélose, les diamètres des zones d'inhibitions varient de **5 à 50 mm** pour les souches bactériennes et fongiques, en fonctions des concentrations (**pures, C_{1/2} et C_{1/5}**).

L'activité de l'huile essentielle de l'espèce *Rosmarinus Officinalis* était forte vis à vis des souches microbiennes testées des grandes zones d'inhibition ont été enregistrés jusqu'à **50 mm**.

Les micro-organismes les plus sensibles à cette huile essentielle lorsqu'elle est pure étaient : *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* 26, *Candida albicans* 10, *Staphylococcus aureus* avec diamètre d'inhibition de **50 mm**.

D'autres sont sensibles à cette huile essentielle tel que : *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae* avec des diamètres d'inhibition de (**34,33 mm, 33,67 mm et 31,33 mm**) respectivement.

Suite à ces résultats, l'huile essentielle de l'espèce *Rosmarinus Officinalis* est jugée moyennement active contre les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, avec un diamètre d'inhibition de (**12 mm**).

Les micro-organismes sont aussi très sensibles lorsque l'huile est diluée à **50%** avec des zones d'inhibition allant de (**45 à 9,67**) **mm**.

Lorsque l'HE de *Rosmarinus officinalis* est dilué **25%**. Elle a exercé une activité antimicrobienne contre : *Micrococcus luteus* *Candida albicans* 26, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 10, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* avec des diamètres d'inhibition de (**50 mm, 32 mm, 20,67 mm 18 mm, 10,67 et 10,33 mm**) respectivement.

Seules les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* se révèlent les plus résistantes à l'huile, cela peut être justifié par la composition de notre huile essentielle qui ne contamine pas de molécule bioactives contre ce type des souches microbiennes.

Nos résultats sont comparés à ceux trouvés par (MOUAS, 2017) et (SALAMON, 2021). La souche les plus sensible à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* des deux écotypes Blida et Djelfa est le *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de **23,75 mm** pour Blida et **16,75 mm** pour Djelfa. Egalement, ils ont indiqué que cette huile avait une bonne activité contre les différentes bactéries testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui se révèle la plus résistance.

Résultats et discussion

Selon SALAMON, (2021), *Thymus vulgaris* qui fait partie de la famille des Lamiacées, avait un fort effet antimicrobien sur *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec des zones d'inhibition de **50 mm** et **38 mm** respectivement.

En effet, l'huile essentielle pure de *Juniperus communis* a montré un important effet Inhibiteur contre les microorganismes étudiés. Les très sensibles à cette huile essentielle lorsqu'elle est pure étaient : *Micrococcus luteus*-*Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 26 avec un diamètre d'inhibition égale à **50 mm**, *Yersinia enterocolitica*, *Candida albicans* 10, avec diamètre d'inhibition de (**38,67 mm** et **32 mm**) respectivement.

L'huile essentielle est jugée modérément active contre les souches : *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* avec les diamètres d'inhibition respectives, de (**20,33 mm**, **15,59 mm** et **11,67mm**).

Les souches *Candida albicans* 26, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* appartiennent très sensibles vis-à-vis de l'extrait de l'huile essentielle de *Juniperus communis* lorsqu'elle est diluée à **50%** dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre **45 et 7mm**.

Lorsque L'HE de *Juniperus communis* est diluée **25%**. Il a exercé une activité antimicrobienne contre : *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 26 avec des diamètres d'inhibition de (**22,67 mm** et **20 mm**) respectivement. Les souches *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* 10 s'avèrent moyennement sensibles à cette HE dont le diamètre d'inhibition était de **19,33 mm**.

Concernant les deux souches : *Klebsiella pneumoniae* et *Yersinia enterocolitica* L'huile essentielle a montré un effet faible avec des diamètres d'inhibition de **9,33 mm** et **9 mm**.

L'huile essentielle *Juniperus communis* n'a aucune activité antibactérienne contre les souches d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* donc sont les deux souches les plus résistantes, avec un diamètre d'inhibition de **5 mm**.

En comparant, nos résultats avec ceux trouvés par (SALAMON, 2021) et (POPESCU, 2023) pour l'extrait *Juniperus communis*. Nous constatons qu'ils concordent.

Résultats et discussion

SALAMON, (2021), a enregistré des zones d'inhibition de **21 mm** et **7 mm** vis-à-vis de *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* et POPESCU, (2023) a enregistré une zone de **21,3 mm**.

D'après les résultats de LAFRAXO, (2022) à enregistre une zone d'inhibition de **20,33 mm** vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* pour l'espèce *Juniperus thurifera* qui est du même genre que l'espèce *Juniperus communis*.

Ces résultats nous amènent à conclure qu'une augmentation du volume d'HE entraîne une augmentation de sa capacité inhibitrice. Nous avons également constaté que l'activité était directement proportionnelle au volume d'HE, plus le volume de l'extrait est important, meilleure est son activité antibactérienne ou antifongique. Pareillement, ce pouvoir antimicrobien peut être dû à la nature des constituants chimiques composant nos huiles essentielles.

Cela peut s'expliquer par le pourcentage accru de molécules bioactives responsables de son effet antibactérien. (KHEYAR *et al.*, 2013).

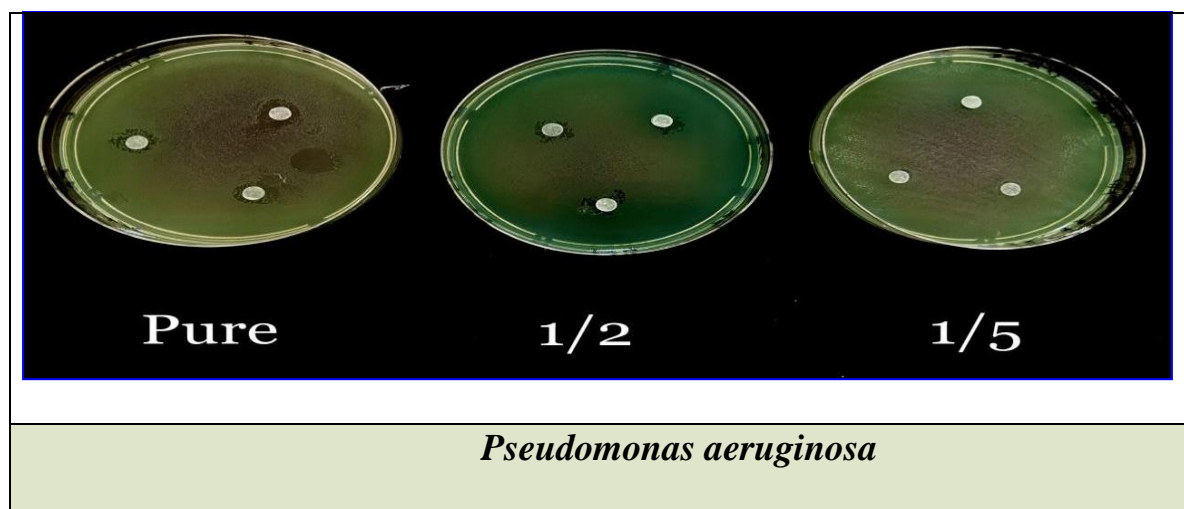
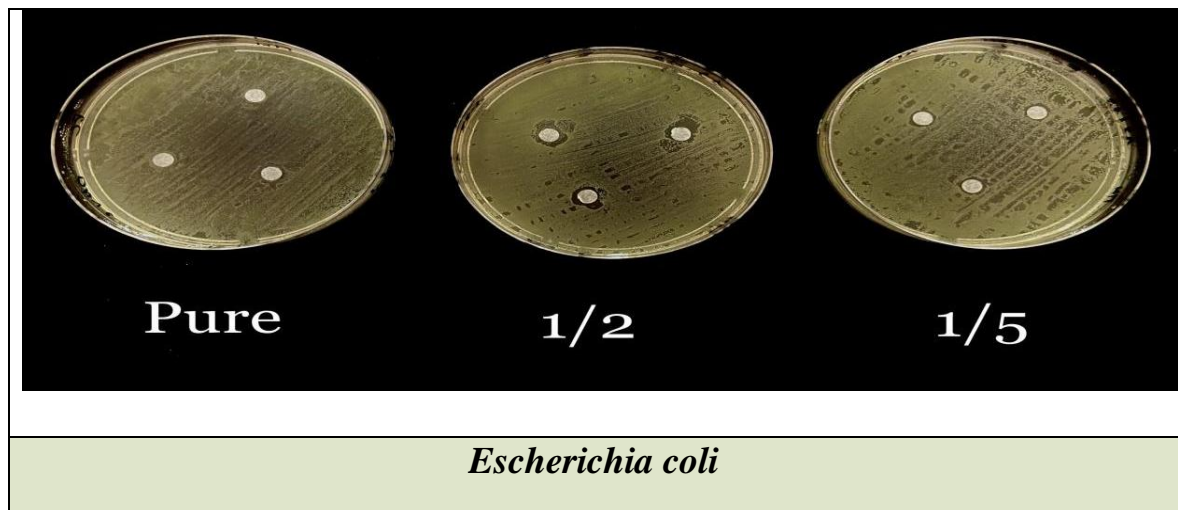
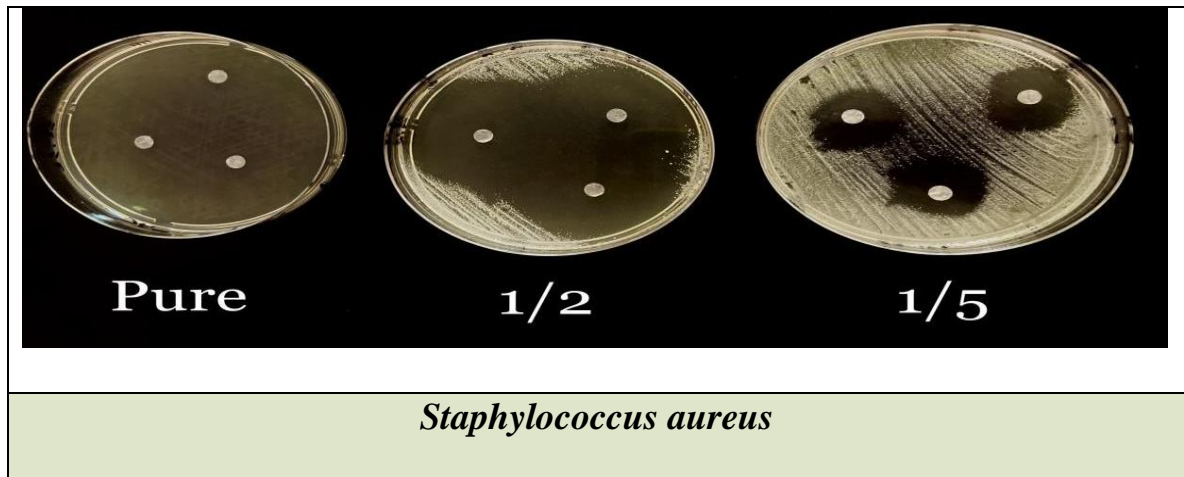
Les résultats de notre présente étude dévoilent une forte activité antimicrobienne des huiles essentielles testées vis-à-vis des souches testées.

Les deux huiles essentielles ont présenté un large spectre d'action sur les bactéries et les levures testées, Notons que le pouvoir antimicrobien de l'HE de *Rosmarinus officinalis* s'est montré plus important que celui de L'HE de *Juniperus communis*.

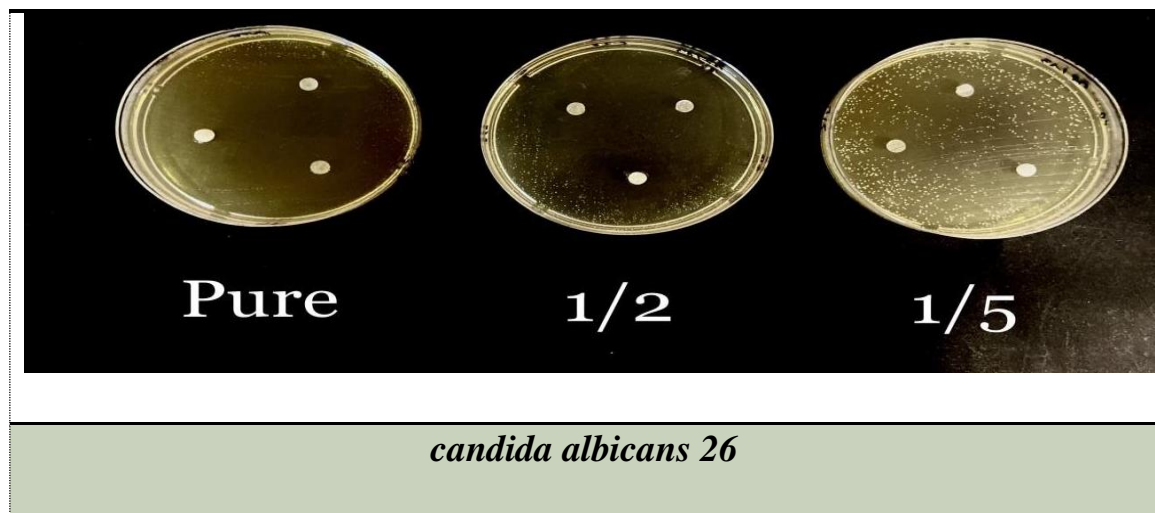
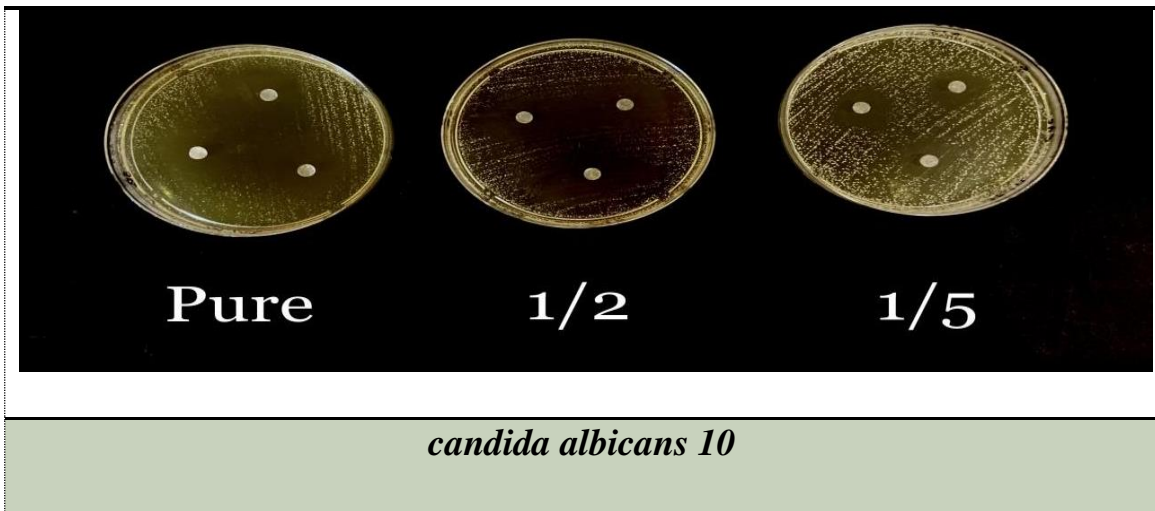
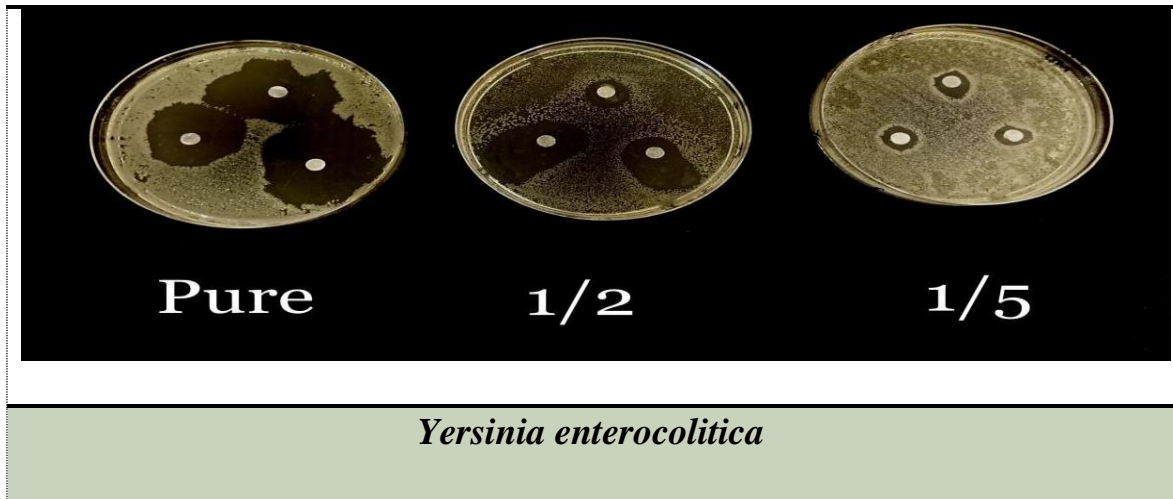
Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des huiles essentielles ont confirmé que les bactéries à **Gram (+)** sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à **Gram (-)**. Cette résistance est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire des bactéries à Gram (-), qui contient une double membrane (BUSATTA *et al.*, 2008), qui est sélective et d'autre part (MOREIRA *et al.*, 2005), suggère que les bactéries à **Gram (-)** peuvent être sensibles aux effets des huiles essentielles à cause des lipopolysaccharides qui sont trouvé dans la membrane externe de ce type des bactéries.

L'activité biologique des huiles essentielles est en relation avec sa composition chimique, la variation de cette dernière influence sur l'action antimicrobienne.

Résultats et discussion



Résultats et discussion



Résultats et discussion

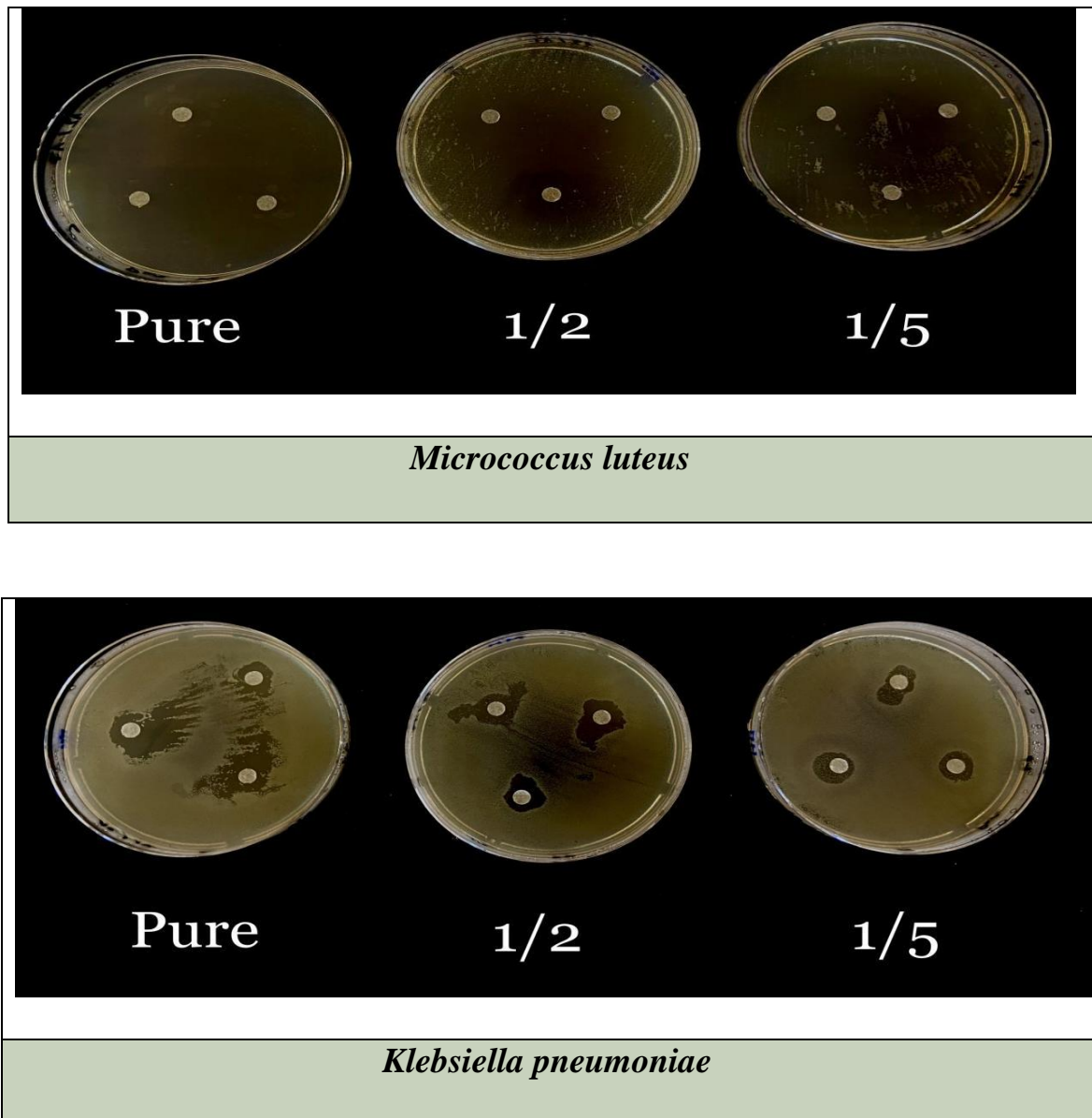
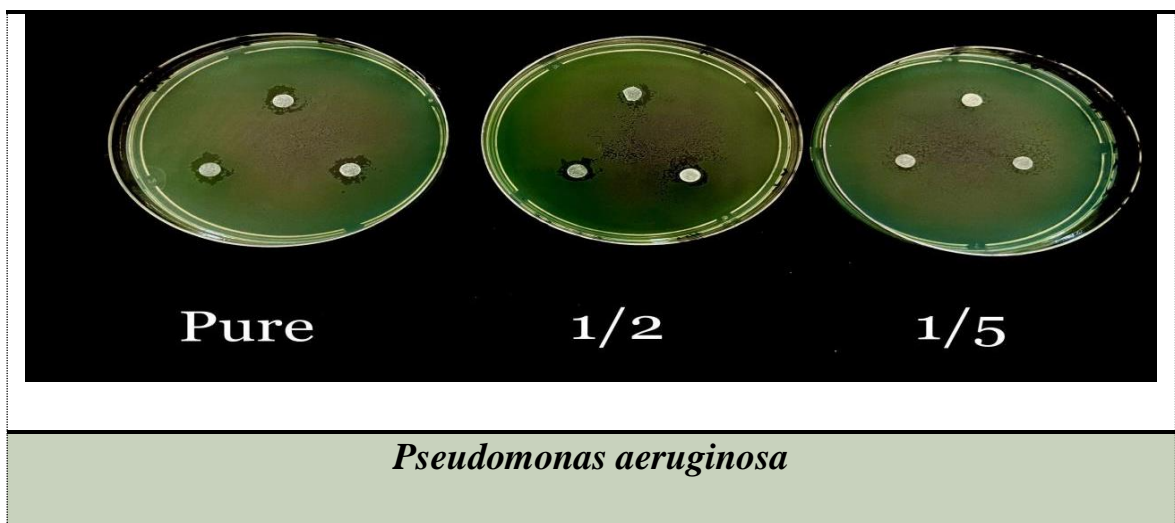
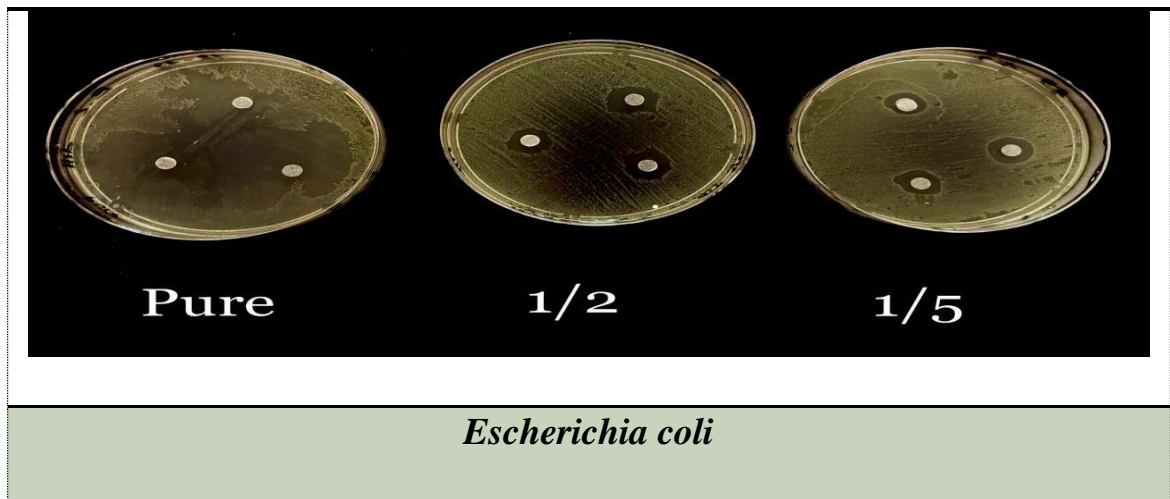
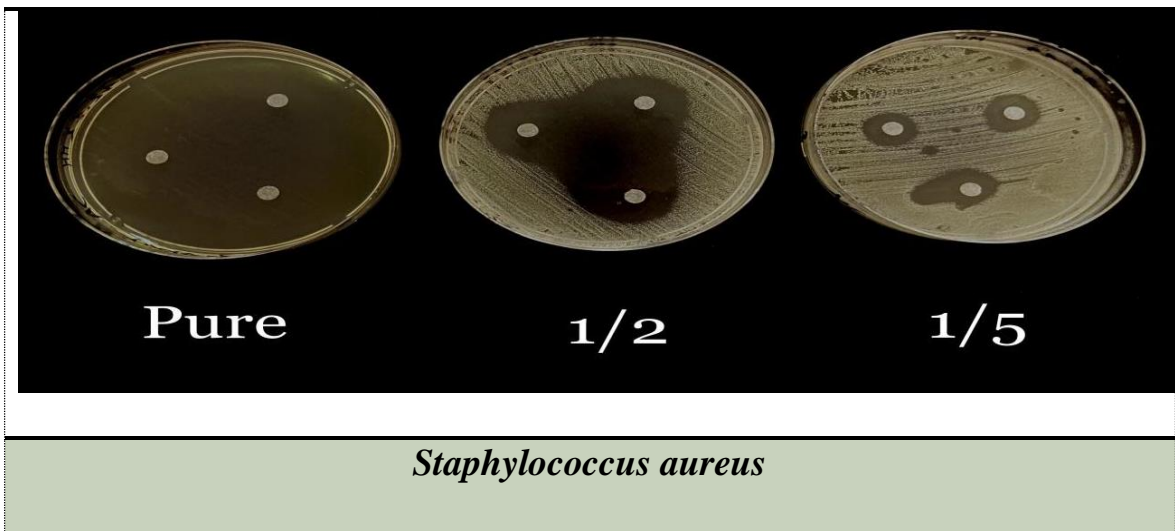
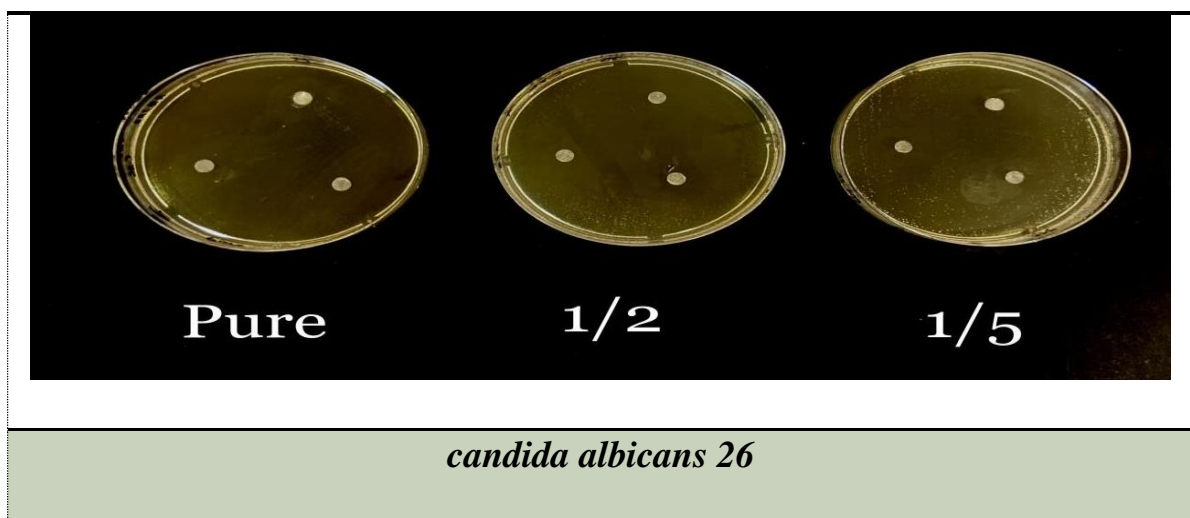
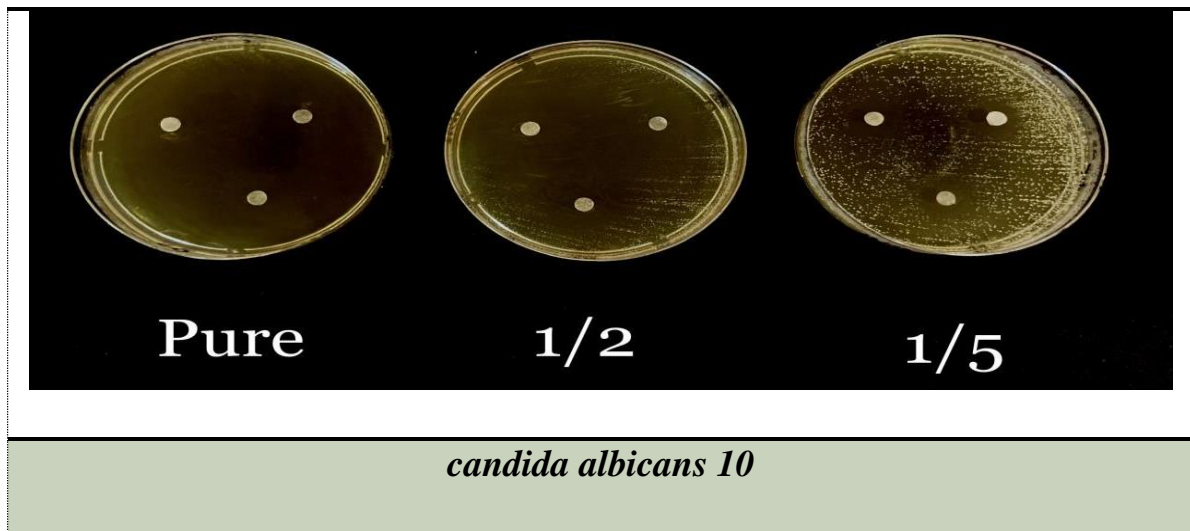
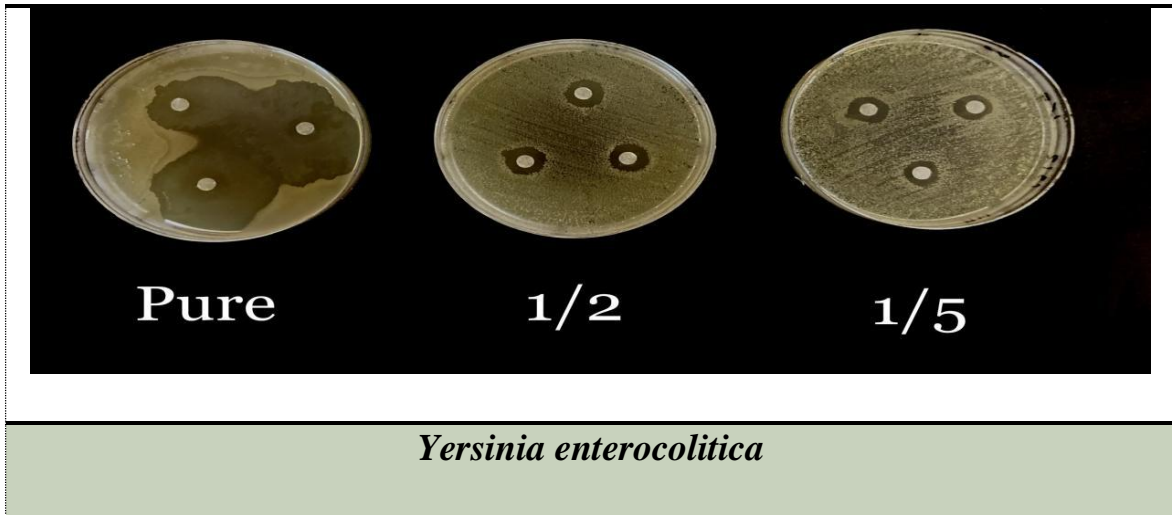


Figure 30: Effet de l'extrait de *Juniperus communis* sur la croissance des souches microbiennes.

Résultats et discussion



Résultats et discussion



Résultats et discussion

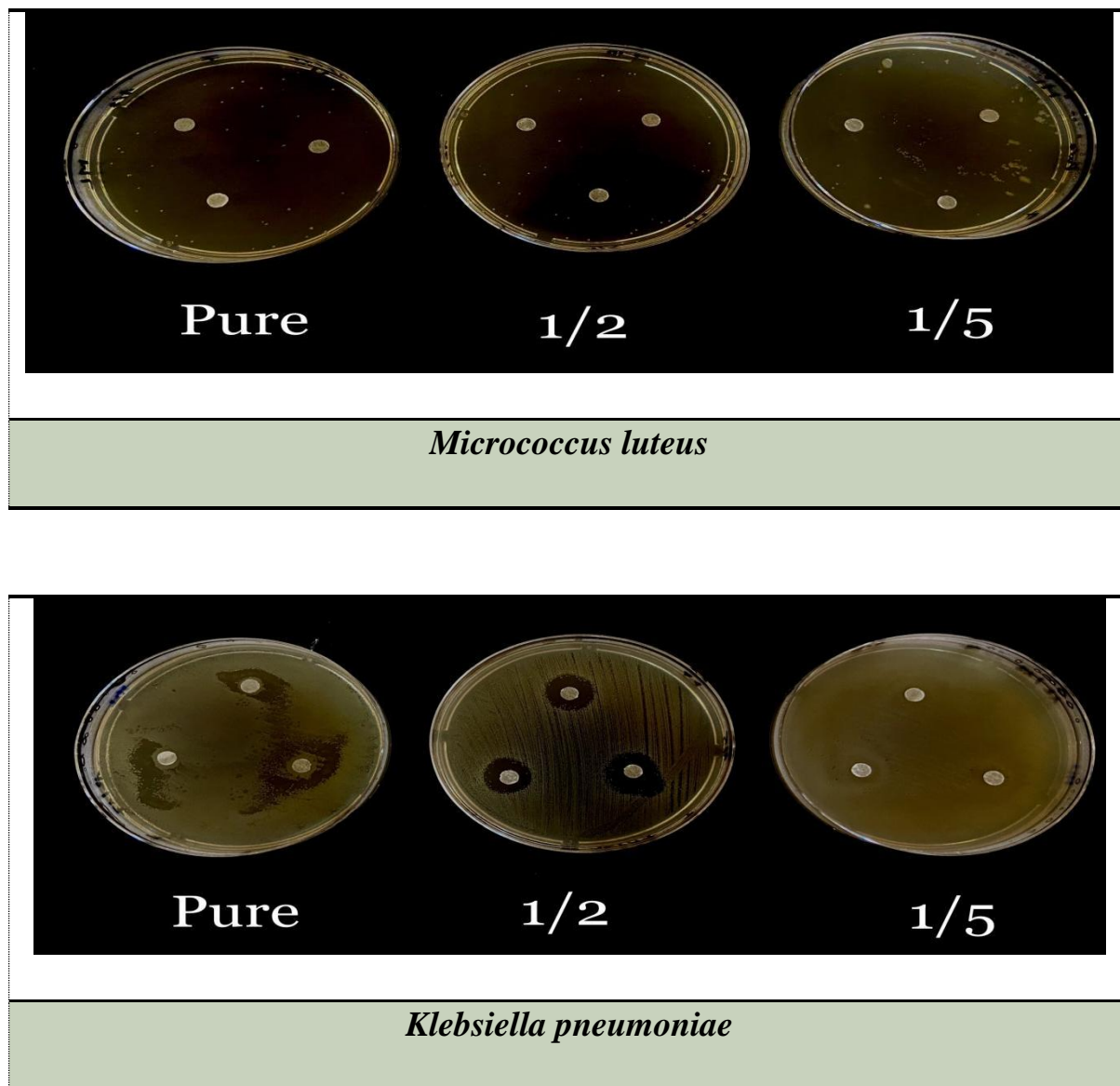


Figure 31 : Effet de l'extrait de *Rosmarinus Officinalis* sur la croissance des souches microbiennes.

Résultats et discussion

4.4 Les résultats de la détermination de la CMI :

Après la réalisation de l'activité antimicrobienne de nos extraits par la méthode de diffusion sur disque. Nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) par la méthode de micro dilution en milieu liquide. Après, nous avons procédé à la détermination de la CMB (Concentration Minimale Bactéricide) et CMF (Concentration Minimale Fongicide).

Les résultats des deux huiles extraites de plantes étudiées sur les souches ont été alors déterminés et regroupés dans les deux tableaux 18 et 19 ci-dessous, nous remarquons que la CMI est différent d'une souche à une autre et d'un extrait à un autre.

Les CMI sont compris entre **0,028** et **0,144 mg/ml** pour *R. officinalis* et entre **0,027** et **0,108 mg/ml** pour *J. communis*.

Des fortes Inhibitions minimales inhibitrices ont été enregistrés pour nos extraits, une CMI de **0,054 mg/ml** contre les deux souches bactériens *Micrococcus luteus* et *Escherichia coli* pour l'HE de *J. communis*, et une CMI égale à **0,057 mg/ml** contre la souche microbienne *Klebsiella pneumoniae* pour l'HE de *R. officinalis*.

Également, de très fortes concentrations minimales fongicides de nos huiles essentielles ont été noté contre les souches fongiques testées, comprises entre **0,027** et **0,028 mg/ml**.

Si nous comparons nos résultats de CMI pour les deux espèces étudiées avec d'autres espèces de la même famille nous trouvons que nos résultats pour :

✚ L'espèce *R. officinalis* concordent à ceux trouvés par :

ADDA *et al.*, (2022), ont trouvé que *Mentha spicata* s'est montrée très efficace contre les bactéries à gram positif comme *Staphylococcus aureus*. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre **22** et **40 mm** et les valeurs de CMI sont rangées entre **2,5** et **31,6 µg/ml**

MEHALAINE, (2017), a montré que l'huile de *Thymus algeriensis* et *Salvia officinalis* ont exercé un effet très fort envers la souche *Staphylococcus aureus* à une CMI de **(0,2 mg/ml)**.

BADI *et al.*, (2019), ont révélé que La concentration minimale inhibitrice de l'HE d'*Origanum vulgare* sur la souche *Staphylococcus aureus* était de **0,625mg/ml**.

RAHMA *et al.*, (2022), ont dévoilé une CMI égale à **0.04 mg/ml** pour *Thymus vulgaris*.

Résultats et discussion

ALLOUN, (2019), a noté que l'HE de **mélisse** présente une assez bonne activité antimicrobienne sur la souche *Staphylococcus aureus* avec une valeur de CMI égale à **0,25 mg/ml**.

✚ Nos résultats pour l'espèce *J. communis* concordent aussi à ceux trouvés par :

BOUKHALOUA *et al.*, (2022), ont montré que les espèces *J. phoenicea* et *J. oxycedrus* ont une activité antibactérienne puissante contre les souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* avec une CMI de **0,125 mg/ml**.

LAFRAXO *et al.*, (2022), révèlent que *J. thurifera* avait une activité antibactérienne significative contre toutes les souches bactériennes. une CMI de **0,095 mg/ml** a été enregistrée pour *J. thurifera* contre la souche *Staphylococcus aureus*.

AKHTAR *et al.*, (2019), ont révélé que *J. communis* avait une activité antibactérienne contre les souches à gram positive *Staphylococcus aureus* et a gram à négative (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). La CMI de cette plante contre *S. aureus* était de **0,05 mg/ml**.

D'après BENAÏSSA *et al.*, (2020), l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* collectée de plusieurs régions (Hammam Melouane et Tipaza) avait une très forte activité contre deux types de bactéries (Gram + et Gram -). Tel que *E. coli* et *S. aureus* sensible à l'huile des régions de Hammam Melouane avec des CMI égales à **1** et **0,2 (µg/ml)** et pour la région de Tipaza huile avait une activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa* de l'ordre de **0,4 (µg/ml)**.



Figure 32 : Détermination de la CMI de l'HE *J. communis* de *J. communis* vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution

Résultats et discussion

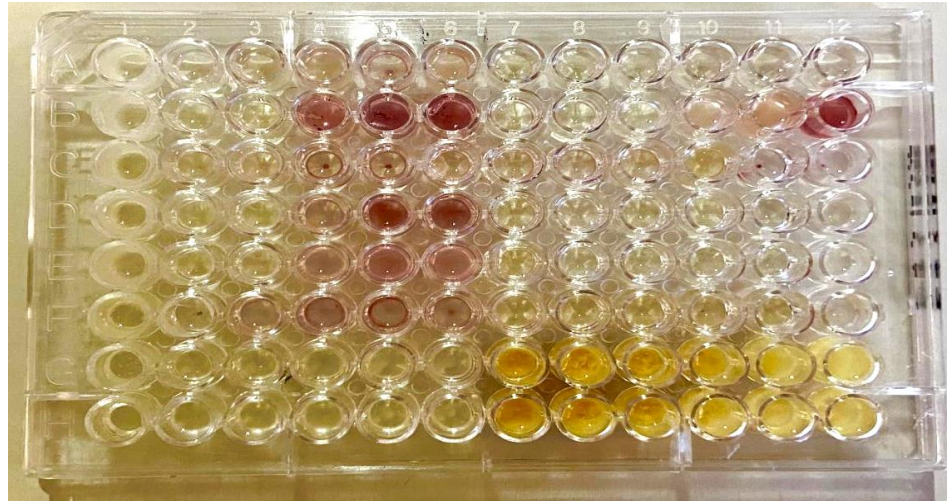


Figure 33 : Détermination de la CMI de l'HE de *R. officinalis* vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode de micro dilution.

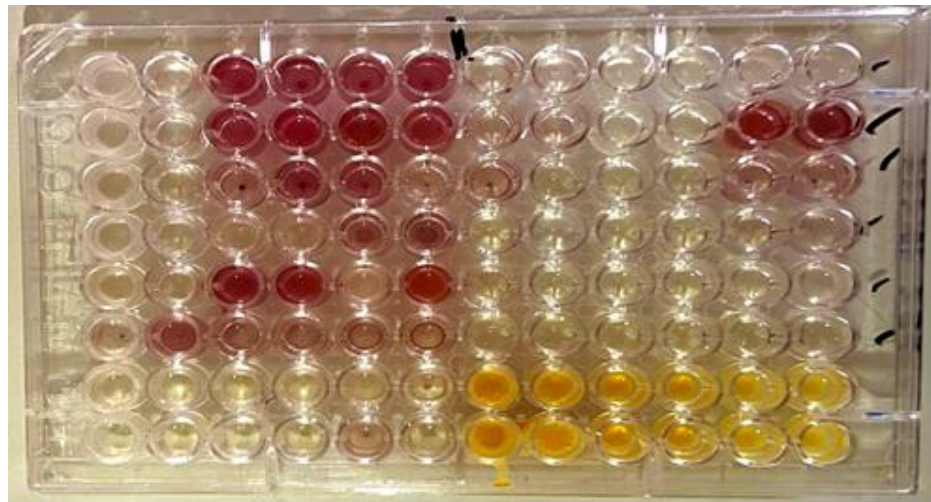


Figure 34 : Détermination de la CMI de l'HE de *J. communis* vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution



Figure 35 : Détermination de la CMI de l'HE de *R. officinalis* vis-à-vis des souches pathogènes par la méthode micro dilution

Résultats et discussion

L'effet antibactérien peut être **bactéricide** ou **bactériostatique** en fonction du rapport : un extrait est considéré comme substance bactéricide si le rapport **CMB/CMI** est inférieur à 4 sinon, il est bactériostatique (**CMB/CMI** \geq 4) (MAIDI *et al.*, 2022).

Les deux extraits ont un rapport de **CMB/CMI = 2**, D'où leurs effet Bactéricide

Nos résultats sont dans (Tableau 12) et ils sont comparés à d'autres résultats similaires pour d'autres espèces (Tableau 13)

Tableau 12 : Concentration minimale inhibitrice (mg/ml) et concentration minimale bactéricide (mg / ml) des extraits de *R. officinalis* et *J. communis*.

Les souches	Les extraits des plantes à huiles							
	<i>R. officinalis</i>				<i>J. communis</i>			
	CMI	CMB	CMB/CMI	Effet bactérien	CMI	CMB	CMB/ CMI	Effet bactérien
EC	0,144	0,229	2	Bactéricide	0,054	0,108	2	Bactéricide
PA	0,144	0,229	2	Bactéricide	0,108	0,217	2	Bactéricide
KP	0,057	0,114	2	Bactéricide	0,108	0,217	2	Bactéricide
YE	0,114	0,229	2	Bactéricide	0,108	0,217	2	Bactéricide
ML	0,144	0,229	2	Bactéricide	0,054	0,108	2	Bactéricide
SA	0,144	0,229	2	Bactéricide	0,108	0,217	2	Bactéricide
C10	0,028	0,057	2	Fongicide	0,027	0,054	2	Fongicide
C26	0,028	0,057	2	Fongicide	0,027	0,054	2	Fongicide

EC : *Escherichia coli*, **SA** : *Staphylococcus aureus*, **PA** : *Pseudomonas aeruginosa*, **YE** : *Yersinia enterocolitica*, **KP** : *Klebsiella pneumoniae*, **ML** : *Micrococcus luteus*, **C10** : *Candida albicans* 10, **C26** : *Candida albicans*26.

Résultats et discussion

Tableau 13: Concentration minimale inhibitrice (mg/ml) et concentration minimale bactéricide (mg/ml) des extraits de *helianthus annuus* (Fatima *et al.*, 2022) et *Ageratum conyzoides* (CHABI, 2023).

les souches	Les extraits des plantes à huiles							
	<i>Ageratum conyzoides</i>				<i>Helianthus annuus</i>			
	CMI	CMB	CMB/ CMI	Effet bactérien	CMI	CMB	CMB/CMI	Effet bactérien
<i>S. aureus</i>	5	10	2	Bactéricide	0.072	1.17	16	Bactériostatique
<i>P. aeruginosa</i>	/	/	/	/	0.072	0.58	8	Bactériostatique
<i>E. coli</i>	5	10	2	Fongicide	0.072	0.29	4	Fongicide
<i>C. albicans</i>	3.75	10	2.66	Fongicide	/	/	/	/

Selon les résultats présentés dans les tableaux 12 /13 nous remarquons que la plupart des extraits ont un effet bactéricide.

Selon les résultats de nos HE nous observons que *R. officinalis* et *Ageratum conyzoides* ont une activité antibactérienne très fort contre les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec un **CMB/CMI= 2** (effet **Bactéricide**), et aussi contre la levure *Candida albicans* avec un **CMB/CMI=2** (effet **Fongicide**).

Nos résultats de *J. communis* sont comparables avec l'extrait de *helianthus annuus*, les deux extraits ont une activité contre les souches à **gram positive** et **négatives**, un effet Bactéricide contre *Staphylococcus aureus* pour *J. communis* et un effet Bactériostatique pour *helianthus annuus*, et vis à vis *Escherichia coli* les deux extraits ont un effet bactéricide.

Conclusion et perspective

Conclusion et Perspectives

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie présente un grand intérêt dans la recherche biomédicale. A la lumière de cette étude, nous avons réalisé une étude sur les propriétés antimicrobiennes de deux plantes *Rosmarinus officinalis* et *Juniperus communis*.

Les produits naturels tel que les huiles essentielles sont une source intéressante de nouvelles thérapeutiques, compte tenu de la propagation des maladies infectieuses et de l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques, dont l'effet est devenu faible, en plus de provoquer des effets secondaires indésirables chez l'homme pendant la période de traitement.

Les techniques d'extraction des dérivés de ces plantes sont les mêmes pratiquées pour toute Type de plantes aromatiques et médicinales. L'hydrodistillation est la méthode classique la plus Courante, due à la simplicité de son protocole et ses rendements adéquats.

A travers cette étude L'extraction des huiles essentielles est réalisé par hydrodistillation en utilisant un dispositif d'extraction type Clevenger. Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de la plante de *Juniperus communis*, avec une teneur de **1,14%** (m/m), alors que *Rosmarinus Officinalis* représente un rendement en huile essentielle de **0,82 %** (m/m).

Les extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Juniperus communis* ont été testés *in vitro* par la méthode de diffusion, pour leur pouvoir inhibiteur, contre un ensemble de six bactéries pathogènes : (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*) et deux levure (*Candida albicans* 10, *Candida albicans*26) Les micro-organismes les plus sensibles à les deux huiles essentielles lorsqu'elles sont pure étaient : *Micrococcus luteus*, *Candida albicans* 26, , *Staphylococcus aureus* avec diamètre d'inhibition de **50 mm**.

Les résultats de l'activité antimicrobienne par les tests de micro dilution sur milieu liquide ont montré une activité antibactérienne importante et prometteuse pour l'huile de *Rosmarinus officinalis* et une bonne activité antibactérienne pour *Juniperus communis*, Les deux échantillons présentaient une action inhibitrice vis-à-vis des souches étudiés à des concentrations enregistrées entre **0,027 à 0.144 mg/ml**.

Conclusion et Perspectives

Perspectives

- ✓ Évaluation d'autres activités biologiques *in vitro* et *in vivo* des extraits bruts et des huiles essentielles en utilisant différentes techniques. De telles études seront utiles pour créer plus d'intérêts et d'avantages pour la recherche de formulation, le développement des médicaments ainsi que des essais cliniques du genre de *Rosmarinus* et *Juniperus* à l'avenir.
- ✓ Les huiles essentielles sont un mélange très complexe. Il est possible d'isoler des molécules d'intérêt, pour une utilisation dans des différents domaines comme cosmétologie, l'industrie alimentaire etc.
- ✓ Évaluer la cytotoxicité des huiles et de faire des tests complémentaires sur d'autres souches bactériennes, des champignons microscopiques.
- ✓ Discuter la composition chimique des huiles essentielles par CPG/MS pour identifier les composants responsables des activités biologiques des extraits étudiés.
- ✓ Étudier l'activité antioxydant et d'autres activités biologiques en tenant compte d'une éventuelle synergie pour les deux extraits.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Adda, N., Bouguessa, M., & Chachoua, N.** (2022). Evaluation de l'Activité Antibactérienne de Quelques Huiles Essentielles vis-à-vis de Quelques Souches Pathogènes (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun-Tiaret-).
- Aidli, L., Bouadam, S. E., & Mehdaoui, K.** (2013). Contribution à l'étude de la composition et de l'activité antioxydante des substances actives des feuilles et des baies du genévrier commun (*Juniperus communis*) du Parc Nationale de Djurdjura.
- Akhtar, S., Rauf, A., Rehman, S., & Siddiqui, M. Z.** (2019). Antibacterial Screening of Aqueous, Alcoholic and Hydroalcoholic extracts of a Unani drug Abhal (Fruits of *Juniperus communis*). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(4-s), 48-53.
- ALLOUN, K.** (2019). Composition Chimique et activités biologiques de métabolites secondaires de *Crithmum maritimum L.*, de *Melissa officinalis L.* et de *Thymus pallescens* de Noé et effet de l'irradiation gamma sur les huiles essentielles du thym (Doctoral dissertation).
- Amira, B., & Sandli Rihab, G. N.** (2020). Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord-Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis* et *Citrus sinensis*).
- AOUINA, M., & Sarra, L. A. K. H. D. A. R. I.** (2019). Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

B

- Badi Selma-Cheikh Imen, O. L.** (2019). Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits d'*Origanum vulgare*.
- Belhadj, S., Chettab, S., Djaoui, N., & Bouridane, H. E.** (2020). Activités antioxydantes et antibactériennes des extraits et des huiles essentielles de deux plantes médicinales : *Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus* (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

Références bibliographiques

- Benaissa, C., Zedak, S., & Belkheir, Z.** (2020). Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle de *tetraclinis articulata* de la région de Tiaret.
- Bendifallah, L.** (2023). Biocidal Activity of Plant Extracts: The Case of Algeria. In Antimicrobial Research and One Health in Africa (pp. 305-315). Cham: Springer International Publishing.
- Bessah, R., & Benyoussef, E. H.** (2015). La filière des huiles essentielles État de l'art, impacts et enjeux socio-économiques. *Journal of Renewable Energies*, 18(3), 513-528.
- Bonnet, R., Caron, F., Cavallo, J. D., Chardon, H., Chidiac, C., Courvalin, P & Weber, P.** (2013). Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Recommandations*, 19, 133-142.
- BOUALLAOUI, I., KHALDI, A., BRIKAT, A., & ABISMAIL, Y.** (2022). Extraction, caractérisation et évaluation de l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Artemisia campestris L* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE AHMED DRAIA-ADRAR).
- Boukhaloua, A. H. A., Berrayah, M., Bennabi, F., Ayache, A., & Abdeldjebar, F.** (2022). Antibacterial activity and identification by GC/MS of the chemical composition of essential oils of *Juniperus phoenicea* and *Juniperus oxycedrus L.* from Western Algeria : Tiaret province. *Ukrainian Journal of Ecology*, 12(5), 31-39.
- Bouras marwa**, 2019. Microbiologie, en République Algérienne Démocratique et Populaire ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba
- Boutchiche**, 2017. de la vie, de la terre. Univers abou bekr belkaid Tlemcen,
- Bouزيد, D.** (2018). Évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON (Doctoral dissertation).
- Bowbe, K. H., Salah, K. B. H., Moumni, S., Ashkan, M. F., & Merghni, A.** (2023). Anti-Staphylococcal Activities of *Rosmarinus officinalis* and *Myrtus communis* Essential Oils through ROS-Mediated Oxidative Stress. *Antibiotics*, 12(2), 266.

Références bibliographiques

Busatta, C., Vidal, R. S., Popiolski, A. S., Mossi, A. J., Dariva, C., Rodrigues, M. R. A., ... & Cansian, R. L. (2008). Application of *Origanum majorana L.* essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food microbiology*, 25(1), 207-211.

C

Casanova, M. V. (1993). *La Phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.*

Chaachouay, N., Douira, A., Hassikou, R., Brhadda, N., Dahmani, J., Belahbib, N, & Zidane, L. (2020). Etude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc) (Doctoral dissertation, Département de Biologie-Université Ibn Tofail-Kénitra).

Chabi-Sika, K., Sina, H., Boya, B., Salami, H. A., A Dossou, G., Mama-Sirou, I., ... & Baba-Moussa, L. (2023). Ethnobotanical Survey and Some Biological Activities of *Ageratum conyzoides* Collected in Southern-Benin. *International Journal of Biochemistry Research & Review*, 32(1), 9-25.

D

DJARALLAH, Marwa et BENSACI, Maissa. Utilisation des huiles essentielles dans la lutte biologique. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah-Ouargla.

DJOUSSE, B. M. K., NGOUNE, N. F., DJOUKENG, H. G., Nono, L. W., SOGANG, H. S., & TANGKA, J. K. (2022). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques cultivées à l'Ouest-Cameroun : *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Cymbopogon citratus*. *Cameroon J Biological and Biochemical Sciences*, 30(2), 121-133.

DOUFFI, A., & AMROUNE, Y. (2021). *Artemisia herba-alba* et *Juniperus communis* : Phytochimie et Pharmacologie (Synthèse théorique) (Doctoral dissertation, universite mohamed boudiaf-Msila).

Références bibliographiques

E

El-Azrak, H. (2017). Extraction et distillation d'une plante aromatique et médicinale : *Rosmarinus officinalis*. Rapport de fin d'études. Fez, Morocco : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.

Elhadja, F., & Rahma, M. Mémoire de fin d'études.

F

Fang, X., Kang, L., Qiu, Y. F., Li, Z. S., & Bai, Y. (2023). *Yersinia enterocolitica* in Crohn's disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 182.

Fatima, R. E. G. U. I. G., & Siham, O. U. A. L. H. I. (2022). Etude de quelques activités biologiques de *Helianthus annuus L* (Doctoral dissertation, universite mohamed boudiaf-m'sila).

Faye, E. O., Gueye, R., Diop, A., Faye, I. W., Dieye, P. I., Tirera, H., ... & Diop, Y. M. (2022). Caractérisation phytochimique et étude de l'activité antimicrobienne d'extraits de feuilles de trois plantes de la flore sénégalaise : *Detarium senegalense*, *Detarium microcarpum* et *Piliostigma reticulatum*. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(1), 286-299.

G

González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis L* (Rosemary) : An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), 77.

H

Haichour, R. (2023). Phytochimie et activités biologiques de pinus halepensis de l'est algérien (Doctoral dissertation).

Hammad, L., & Himed, L. (2020). Synthèse sur les activités biologiques de *Rosmarinus officinalis L* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Références bibliographiques

Hamzaoui Yousra, G. A. (2021). Effet insecticide et larvicide de deux poudres de plantes aromatiques (*Verbina Officinalis* et *Borrago Officinalis*) sur un redoutable ravageur de denrées stockées *E. Kuehniella*.

J

JDAIDI, N., SELMI, H., ALOUI, F., JEDIDI, S., & CHAABANE, A. (2023). Évaluation des facteurs de menace et de vulnérabilité potentielle des plantes médicinales et aromatiques au nord-ouest tunisien. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 11(1), 14-21.

K

KADDOUR, S., & IRARI, S. (2018). Etude de l'effet antibactérien des extraits polyphénoliques de *Juniperus communis* et *Juniperus phoenicea* (Doctoral dissertation, Université de Bouira).

Kheyar, N., Meridja, D., & Belhamel, K. (2013). *Algerian Journal of Natural Products*.

Koudou, P. J. (2009). Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Etude phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines.

L

Lafraxo, S., El Barnossi, A., El Moussaoui, A., Bourhia, M., Salamatullah, A. M., Alzahrani, A., ... & Bari, A. (2022). Essential oils from leaves of *juniperus thurifera* L., exhibiting antioxidant, antifungal and antibacterial activities against antibiotic-resistant microbes. *Horticulturae*, 8(4), 321.

Lagsier, o & nadir, n. (2020). Evaluation du potentiel aphicide de " *rosmarinus officinalis*" sur les pucerons des céréales *rhopalosiphum maidis*.

Lenski, R. E. (2023). Revisiting the design of the long-term evolution experiment with *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Evolution*, 1-13.

Références bibliographiques

M

- Maidi, L., & Dahia, M.** Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L.(Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie.
- Mansouri, N., Satrani, B., Ghanmi, M., El Ghadraoui, L., Guedira, A., & Aafi, A.** (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Juniperus communis* du Maroc. Bulletin de la Société royale des sciences de Liège.
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I.** (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT-Food Science and Technology, 38(5), 565-570.
- Mouas, Y., Benrebaha, F. Z., & Chaouia, C.** (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l. revue agrobiologia, 7(1), 363-370.
- Moghadam, A., Foroozan, E., Tahmasebi, A., Taghizadeh, M. S., Bolhassani, M., & Jafari, M.** (2023). System network analysis of *Rosmarinus officinalis* transcriptome and metabolome—Key genes in biosynthesis of secondary metabolites. Plos one, 18(3), e0282316.

N

- Naghbi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S. M., & Ghorbani, A.** (2022). Labiatae family in folk medicine in Iran : from ethnobotany to pharmacology. Iranian journal of pharmaceutical research, 4(2), 63-79.
- Neffati, M., & Sghaier, M.** (2014). Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région menèrent (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). Observatoire du Sahara et du Sahel : Tunis, Tunisia.
- Ng, Q. X., Ong, N. Y., Lee, D. Y. X., Yau, C. E., Lim, Y. L., Kwa, A. L. H., & Tan, B. H.** (2023). Trends in *Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa) bacteremia during the COVID-19 pandemic : à systematic review. Antibiotics, 12(2), 409.

Références bibliographiques

O

OUTALEB, T. (2016). Extraits de romarin d'Algérie (*Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* De Noe) (Doctoral dissertation, ENSA).

P

Popescu, D. I., Botoran, O. R., Cristea, R., Mihăescu, C., & Şuţan, N. A. (2023). Effects of Geographical Area and Harvest Times on Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Juniperus communis* L. Pseudo-Fruits Extracts : A Statistical Approach. *Horticulturae*, 9(3), 325.

R

Rafya, M., Hafidi, A., Zehhar, N., & Benkhalti, F. (2023). Low-cost modified adsorbents derived from the solid residue of *Rosmarinus officinalis* L. for heavy metal uptake. *Industrial Crops and Products*, 195, 116317.

S

Saiki, R., Murata, T., Tsujimoto, K., Tanaka, F., Takahashi, D., Oda, K., ... & Dohi, K. (2023). Three Weeks of Treatment Induced Long-term Remission in a Patient with *Micrococcus luteus*-related Peritonitis : A Case Report. *Internal Medicine*, 0340-22.

Salamon, I., Kryvtsova, M., Bucko, D., & Tarawneh, A. H. (2021). Chemical characterization and antimicrobial activity of some essential oils after their industrial large-scale distillation. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, 2021, 984-988.

T

Tabet, N. (2022). Contribution à l'étude de quelques paramètres de la reproduction sexuée du *Juniperus communis* au Djurdjura (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Toumi, A. (2015). Etude structurale et cartographique de *Juniperus communis* et *Juniperus sabina* au Djurdjura (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Références bibliographiques

Tomonobu Toyomasu, Takeshi Sassa.2010. Natural Products Structural Diversity-I Secondary Metabolites : Organization and Biosynthesis, Comprehensive Natural Products II, Volume 1, Pages 643-672.

W

Williams, D. G. (2008). The chemistry of essential oils : An introduction for aromatherapists, beauticians, retailers and students. Micelle.

Z

Zineb SAKHRI, H. T. Evaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilm des Alicaments utilisés par la population locale de la région de Biskra.

Annexes

Annexes

Annex I

Tableau : taxonomie des souches microbienne.

Gram	Bactérie	Systématique
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	Règne : Bacteria Embranchement : Pseudomonadota Classe : Gamma Proteobacteria Famille : Enterobacteriaceae Genre : Escherichia Espèce : <i>Escherichia coli</i> (NCBI ,2022)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Règne : Bacteria Embranchement : Prokaryota Classe : Gammaproteobacteria Famille : Pseudomonadaceae Genre : Pseudomonas Espèce : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SAYAH ,2022)
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	Règne : Bacteria Embranchement : Proteobacteria. Classe : Gammaproteobacteria. Famille : Enterobacteriaceae. Genre : Yersinia Espèce : <i>Yersinia enterocolitica</i> (BOUMESSRANE ,2018)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Règne : Bacteria Embranchement : Pseudomonadota Classe : Gammaproteobacteria Famille : Enterobacteriaceae Genre : Klebsiella Espèce : <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ALLOUCHE, 2022)
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Règne : Eubacteria Embranchement : Firmicutes Classe : Bacilli Famille : Staphylococcaceae Genre : Staphylococcus Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i> (ARAB ,2022)
	<i>Micrococcus luteus</i>	Règne : Bacteria Embranchement : Actinobacteria Classe : Actinobacteria Famille : Micrococcaceae Genre : Micrococcus Espèce : <i>Micrococcus luteus</i> (ALLOUCHE, 2022)
Levure	<i>Candida albicans</i>	Règne : Fungi Embranchement : Ascomycota Classe : Saccharomycètes Famille : Saccharomycetaceae Genre : Candida Espèce : <i>Candida albicans</i> (HADJOUICIF ,2022)

Annexe II

DMSO :

Le DMSO est largement utilisé comme solvant pour les molécules insolubles dans l'eau, la cryoconservation et thérapies cellulaires. Il a été utilisé comme cellule inducteur de différenciation, piègeur de radicaux libres et radio protecteur De plus, divers produits pharmaceutiques et propriétés thérapeutiques du DMSO, comme anti-inflammatoire, analgésie antivirale, antifongique, antibactérienne, locale et systémique, et l'amélioration de la pénétration de la membrane, ont été appliquées dans applications précliniques. Il est utilisé comme médicament véhicule de livraison pour diverses conditions humaines et animales, y compris les maladies gastro-intestinales, l'amylose, les maladies dermatologiques troubles musculo-squelettiques traumatiques, œdème cérébral, maladies rhumatologiques, lésions des tissus mous de la chimiothérapie médicaments et radiothérapie. (HOANG, 2023)