

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



Université Dr. Moulay Tahar de Saida
Faculté des Sciences
Département De Biologie



Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation
biologique des Plantes

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER EN BIOLOGIE

Option :
Biochimie
Microbiologie appliquée

Présenté par :
M^{elle}. BELMEKHFI Manal
M^{elle}. CHITOURA Nadjjet

Sur le thème intitulé :

Contribution à l'étude des propriétés
cosmétiques de l'extrait hydrométhanolique
des feuilles de *Juniperus oxycedrus* de la
région de Saida

Présenté devant le jury :

M. ADLI Djallal Eddine Houari	Maître de conférences-A-	U T. M.de Saïda	Président
M.BENREGUIEG Mokhtar	Maître de conférences-A-	U T. M. de Saïda	Examinater
M.HALLA Nouredine	Maître de conférences-B-	U T. M. de Saïda	Encadreur

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Avant toute chose, nous remercions Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce mémoire.

*À cet égard, nous ne pouvons que remercier tout d'abord l'éminent professeur: **HALLA Noureddine**, qui ne nous a épargné ni son temps ni ses efforts au cours de cet humble travail grâce à ses directives et conseils qui ont abouti à la réalisation de ce travail.*

*Nous exprimerons toute notre gratitude à M. **ADLI Djalal Eddine Houari**, Maître de conférences classe A, à l'Université de Saida, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Nous remercions vivement M. **BENREGUIEG Mokhtar**, Maître de conférences classe A, à l'Université de Saida, d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

Nous remercions également tous les professeurs de la Faculté des sciences naturelles et de la vie, sans exception. Nous n'oublions pas non plus de remercier tous les technologues de laboratoire de biologie, les amis et tous ceux qui ont tendu la main de près ou de loin, même avec un mot gentil ou une prière.



Dédicaces

Avant tout je remercie Dieu tout puissant, qui m'adonné, la volonté, le courage et la patience et qui a guide mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

Et puis :

Je dédie ce modeste travail à: Ceux qui j'ai tant aimé avec beaucoup d'affection et je suis très fière de les avoir ou tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur port: mes très chère parents qui m'ont soutenu et encouragé durant tout le long de ma vie. Mes très chères sœurs chérifa, fatima, et frères que j'adore. A toute la promotion de MASTERII en Biochimie appliquée. A mon cher binôme, copine et amie avec qui j'ai partagé le travail, ainsi pour tous les membres de sa famille.

Je dédie ce modeste travail à :

A mes chers parents, qui m'ont encouragé à aller de l'avant et qui m'ont donné tout leur amour pour prendre mes études. Aux quels je dois ce que je suis. Que dieu les protège.

A mes chers frères,, pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À tous les amis et à ceux qui se tenaient à côté de moi et m'ont aidé avec tout ce qu'ils avaient



-المخلص

لطالما لعبت النباتات الطبية دورًا أساسيًا في تاريخ البشرية. لم تمنح المملكة النباتية الطب بعضًا من أفضل علاجاتها فحسب ، بل احتلت أيضًا مكانًا بارزًا في التجميل. عملنا هو جزء من تحسين مستحضرات تجميل طبيعي مشتق من مستخلص العرعر الشريبي(الطاقة).

من أجل تحقيق هذا الهدف ، ركزنا على تحديد بعض المكونات الثانوية لنبته العرعر الشريبي. من خلال مجموعة من الاختبارات الكيميائية النباتية ، وكذلك تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلص نبات عشبة العرعر. مقابل سبع سلالات بكتيرية وسلالتين من الخميرة بطريقتين (طريقة القرص ، طريقة التخفيف الدقيق).

أظهرت نتائج الفحوصات الكيميائية النباتية أن نبات العرعر الشريبي المحصود في عين الحجر بولاية سعيدة يحتوي على تركيبة كيميائية نباتية: تضمنت: التانينات والمركبات المختزلة والكينون. في نفس السياق مستخلص نبات العرعر المحضر بالنقع أعطى متوسط إنتاجية تقدر بـ 17.4% تم الحصول عليه من استخلاص واحد

هي *Bacillus cereus* أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات أن: مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها بطريقة القرص أوضحت أن سلالة 19 ملم. ، أما عن التركيزات المثبطة الدنيا (التي تم تحديدها: السلالة الوحيدة الحساسة لمستخلص نبات العرعر ، بمنطقة تثبيط مقدر بـ بواسطة طريقة التخفيف الدقيق) أظهرت تأثيرًا مثبطًا للمستخلص الميثانولي لنبات العرعر ضد السلالات المستخدمة بقيمة تتراوح من 250 وفي الختام أوضحت. التي أبدت مقاومة كبيرة للمستخلص *Staphylococcus aureus* و *c.albicans* إلى 1000 مجم / مل ، باستثناء النتائج أن مستخلص نبات العرعر الشريبي يحتوي على مركبات ذات خصائص مضادة للجراثيم التي يمكن استخدامها كمضادات للميكروبات

تجميلة - نبتة طبية - العرعر الشريبي - مستخلص - مضاد ميكروبي:الكلمات المفتاحية

Résumé :

Depuis toujours, les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel dans l'histoire de l'humanité. Non seulement le règne végétal a donné à la médecine certains de ses meilleurs remèdes, mais a aussi occupé une place prépondérante dans la cosmétologie. Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'un produit cosmétique naturel issu d'extrait hydrométhanolique de *Juniperus oxycedrus* L. (El taga).

Afin d'atteindre cet objectif, nous nous sommes concentrés sur l'identification de certains composants secondaires de la plante de *Juniperus oxycedrus* L. grâce à un ensemble de tests phytochimiques, et aussi l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait hydrométhanolique de cette plante vis-à-vis de sept souches bactérienne et deux souches de levure par deux méthodes (Méthode des disques, Méthode de micro-dilution).

Les résultats des testes phytochimiques ont montré que la plante *Juniperus oxycedrus*, récoltée à l'Ain El Hdjar de la wilaya de Saida, avait une composition phytochimique compris : les tanins, les composés réducteurs et les quinones. dans le même contexte ,l'extrait de *Juniperus oxycedrus* L préparé par la macération a fourni un rendement moyen de 17,4%.obtenus à partir d'une seule extraction.

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que : les zones d'inibitions obtenues par la méthode des disques ont révélé que notre extrait hydrométhonolique donne une activité seulement contre *Bacillus cereus* est la seule souche sensible, estimée par une zone d'inhibition de 19 mm. Par la suite, les concentration minimales inhibitrices (qui ont été déterminées par la méthode de micro- dilution) montrent un effet inhibiteur de l'extrait hydrométhanolique de *Juniperus oxycedrus* contre les souches utilisées varient de 250 à 1000 mg/ml, sauf *Staphylococcus aureus* et *C.albicans* IP 444 qui sont le plus résistant aux extrait.En conclusion ,les résultats obtenus ont montré que l'extrait de *J. oxycedrus* possède des composés aux propriétés antibactériennes et anticandidales qui peuvent être utilisés comme agents antimicrobiens.

Mots clé : cosmétique, plante médicinale, *Juniperus oxycedrus* L, extrait, activité antimicrobienne.

Abstract:

Medicinal plants have always played an essential role in the history of mankind. Not only has the plant kingdom given medicine some of its best remedies, it has also played a prominent role in cosmetology. Our work is part of the development of a natural cosmetic product made from *Juniperus oxycedrus* L. (El taga) extract.

In order to achieve this objective, we focused on the identification of certain secondary components of the *Juniperus oxycedrus* L. plant through a set of phytochemical tests, and also the evaluation of the antimicrobial activity of the extract of this plant against seven bacterial strains and two yeast strains by two methods (Disc method, Micro-dilution method).

The results of the phytochemical heads showed that the plant *Juniperus oxycedrus*, harvested in Ain El Hdjar of the wilaya of Saida, had a phytochemical composition including: tannins, reducing compounds and quinones. In the same context, the extract of *Juniperus oxycedrus* L prepared by maceration provided an average yield of 17.4% obtained from a single extraction.

The results of the antimicrobial activity showed that: the zones of inhibition obtained by the method of the discs revealed that our hydromethanolic extract gives only an activity against the *Bacillus cereus* strain is the only strain sensitive to the plant extract, estimated by an inhibition zone of 19 mm. Subsequently, the minimum inhibitory concentrations (determined by the micro-dilution method) showed an inhibitory effect of the methanolic extract of *Juniperus oxycedrus* against the strains used ranged from 250 to 1000 mg/ml, except for *Staphylococcus aureus* and *C.albicans* IP 444 which are the most resistant to the extract. In conclusion, the results obtained showed that the extract of *J. oxycedrus* has compounds with antibacterial and anticandidal properties that can be used as antimicrobial agents.

Key words: cosmetic, medicinal plant, *Juniperus oxycedrus* L, extract, antimicrobial activity.

Sommaire

Remerciement	I
Dédicace	II
ملخص	IV
Résumé	V
Abstract	VI
Sommaire	VII
Liste des figures	IX
Liste des tableaux	IX
PATIE BIBLIOGRAPHIQUE :	
Introduction	02
Chapitre I : Généralités sur les cosmétiques et leur conservation	05
1 Définition des produits cosmétique.....	05
2 Contamination microbiennes des produits cosmétique.....	05
2-1. Origine.....	05
2-2. Les germes concernés	06
2-3. Les conséquences des contaminations	06
3. Les conservateurs	07
3-1 Définition.....	07
3-2 Types de conservateurs dans la cosmétique.....	08
3-2- 1 Les conservateurs de synthèse.....	08
3-2-2 Les conservateurs naturels et propreté antimicrobienne	08
Chapitre II: Propriétés cosmécutique des plants médicinales	11
1 La phytothérapie et la cosmétique.....	11
2- Composition en métabolisme secondaires des plantes.....	12
2-1 Composés phénoliques	12
2-2 Les terpènes.....	15
2- 3 Les alcaloïdes	17
3 Exemples sur l'utilisation des plants médicinale dans cosmécutique.....	17
Chapitre III: Plante étudié <i>Juniperus oxycedrus</i>	18
1 Description taxonomique.....	21
2 Description botanique.....	21
3. Utilisation thérapeutique de <i>Juneperus oxycedrus</i>	23
4 Activité antimicrobienne de la plants <i>Juniperus oxycedrus</i>	23
PARTIE EXPERIMENTALE	
1. Matériel	25
1.1. Matériel végétal.....	25
1.2. Microorganismes.....	26
2. Méthodes.....	27
2.1. Préparation d'extrait de la plante : Extraction par macération.....	28
2.2. Screening phytochimique.....	30
<i>Tanins</i>	30
<i>Saponines (Indice de mousse)</i>	30
<i>Composés réducteurs</i>	30

<i>Quinones</i>	30
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31
3.1. Préparation des solutions des extraits.....	31
3.2. Préparation des souches testées.....	32
3.2.2. Préparation des pré-cultures.....	32
3.2.3. Préparation de l'inoculum.....	32
3.3. Méthode de Diffusion en milieu gélosé.....	32
3.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI par la méthode de micro-dilution.....	34
Résultats et discussion.....	37
1. Rendement des extraits.....	37
2. Aspect physique de l'extrait.....	37
3. Screening phytochimique.....	37
4. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	39
4.1. Méthode de diffusion sur disques.....	39
4.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques	42
4.3. Comparaison de l'activité d'extraits à celle d'antibiotiques témoins.....	42
4.4. Détermination de la CMI.....	44
Conclusion.....	46
Références bibliographiques.....	48
Annexe	58

LISTE DES FIGURES :

Figure 1: structure chimique de quelque acides hydroxy benzoïques.....	14
Figure 2Structures chimiques de quelque acides hydroxy cinnamiques	14
Figure 3: Squelette d'un flavonoïde.....	14
Figure 4: un arganier, région d'Essaouir a Maroc.....	18
Figure 5: L'huile essentielle provenant des feuilles et des fleurs du Géranium rosat de l'Île de La Réunion Indien	18
Figure 6: Allure d'un giroflier de Madagascar	19
Figure 7: Photo de l'arbre Jojoba (Nom latin: Simmondsiachinensis Schneid)	19
Figure 8: morphologie de <i>Juniperus oxycedrus</i> L.....	22
Figure 9: Situation géographique de la zone d'étude	25
Figure 10: les feuilles du plant étudié a près séchage	26
Figure 11: Schéma illustrant la démarche expérimental	28
Figure 12: préparation de l'extrait par macération	29
Figure 13: Schéma illustrant l'extraction par macération	29
Figure 14: méthode d'utilisation de la microplaque à96puits	35
Figure 15: Résultats obtenus de screening phytochimique	38
Figure 16:Résultats obtenus par la méthode de diffusion des disques de l'extrait hydrométhanolique à différentes concentrations vis-à-vis des souches bactériennes testées	40
Figure 17: les zones d'inhibition par l'antibiotique.....	42
Figure 18Effet antimicrobien d'antibiotique Gentamicine et les déférentes concentrations d'extrait hydrométhanolique	43
Figure 19:les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait méthanolique sur les souches bactériennes	44
Figure 20:la concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique sur la c.albicans	45

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Classes de composé phénoliques dans la plante.....	13
Tableau 2 : Classification du terpénoïdes	15
Tableau 3 : Les différents microorganismes utilisé.....	26
Tableau 4 : Différentes dilutions préparées pourl'activité antimicrobiennes.....	31
Tableau 5 : Aspect physique de l'extrait <i>Juniperus oxycedrus</i>	37
Tableau 6 : Résultats des tests phytochimiques	38
Tableau 7 : Diamètres de zone d'inhibition obtenues par différentes concentrations de l'extrait de <i>Juniperus oxycedrus</i> vis-à-vis des les souches microbiennes testées	39
Tableau 8 : Diamètres de zone d'inhibition obtenues par différentes concentrations de l'extrait.....	41
Tableau 9 : Les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait hydrométhanolique.....	44

Introduction

La mise en valeur du corps semble être une préoccupation relativement récente, pourtant elle est très ancienne et remonte à l'Antiquité. Les classes aisées de l'Égypte ancienne utilisaient de nombreuses substances naturelles pour s'embellir, notamment le khôl (fard issu de la carbonisation de la substance grasse) pour mettre en valeur les traits de leur visage. Par la suite, ce sont les romains des premiers siècles de notre ère, notamment Néron et Poppée, qui utilisaient la craie (calcaire d'origine marine) et la céruse (carbonate de plomb) pour s'éclaircir la peau à des fins esthétiques. Ainsi, à l'origine, les premiers cosmétiques ont été conçus à partir d'éléments naturels ayant subi très peu de transformation. Par la suite, la révolution industrielle ainsi que les découvertes de la chimie ont permis aux hommes de s'affranchir progressivement des contraintes imposées par la nature. Ainsi, la synthèse de nouvelles molécules a permis de faire évoluer les cosmétiques afin qu'ils répondent de mieux en mieux aux attentes des consommateurs (Belaoufi,2016).

Les fabricants de cosmétiques sont tenus de garantir la conservation des produits qu'ils mettent sur le marché. L'introduction de conservateurs permet ainsi de protéger les produits cosmétiques des contaminations microbiennes, auxquelles ils sont exposés lors de la production, mais aussi ensuite lors de leur utilisation. Parmi ces conservateurs on trouve des substances d'origine chimique, qui ont pour rôle principale l'inhibition de la croissance des microorganismes. Les plus anciens conservateurs sont le formaldéhyde, les parabènes et l'Euxyl K400. Par exemple les parabènes ont pour avantage d'être de bons conservateurs, peu coûteux, inodores, incolores, biodégradables et relativement peu sensibilisants. En revanche, leur rôle comme perturbateur endocrinien est évoqué. En effet, ils sont capables de se lier aux récepteurs estrogéniques et d'induire une réponse. Plus la chaîne alkyle est longue, plus l'effet estrogénique est important. Par conséquent, les consommateurs qui se sentent concernés cherchent de plus en plus à fuir ces substances et se tournent vers une nouvelle génération de cosmétiques, qui se veut plus proche de la nature, que se soit par le respect et la protection de l'environnement ou par le respect de la santé humaine.

Pendant des siècles, les produits cosmétiques ont utilisé les vertus associées aux plantes. Aujourd'hui, des plantes de plus en plus nombreuses entrent dans la composition de produits destinés à améliorer l'apparence physique. Cette tendance s'est accélérée, en réponse à la suspicion qui pèse sur certains ingrédients chimiques présents dans les cosmétiques.

Depuis toujours, les plantes ont joué un rôle essentiel dans l'histoire de l'humanité. Non seulement le règne végétal a donné à la médecine certains de ses meilleurs remèdes, mais a aussi occupé une place prépondérante dans la cosmétologie. Ces plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques. C'est le cas par exemple des polyphénols végétaux (qui sont largement utilisés en thérapeutique comme antimicrobiens, antioxydants et antihémolytiques) et des huiles essentielles.

Dans le cadre de nos travaux relatifs aux plantes aromatiques et médicinales, nous sommes intéressés à l'évaluation de quelques activités biologiques de l'extrait de *Juniperus oxycedrus* récoltée à Ain El Hdjar de la wilaya de Saida. *Juniperus oxycedrus* est une espèce typique de la région méditerranéenne, sa répartition s'étend dans l'Afrique du nord (Maroc, Algérie et la Tunisie). Il se trouve aussi en Espagne, en France, en Italie, en Portugal, en Turquie, dans la péninsule Balkanique et aussi dans l'Est du Caucase et au Nord de l'Iran. C'est une espèce qui se développe sur des pentes sèches, mais aussi sur les dunes. Elle apprécie les lieux arides, rocaillieux, sur calcaire ou sur sols acides.

En médecine traditionnelle, cette plante est utilisée dans le traitement de diverses maladies telles que l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie (**swanston-flatt et al.1990**) ;(**sancher et al.1994**), il est également utilisé sous forme de décoction pour le traitement des troubles gastrique et comme un analgésique buccal (Fernandez et al. 1996).

Les principaux chapitres de la synthèse bibliographique sont :

- Le premier chapitre, nous étudierons les généralités sur la cosmétique et sa conservation
- Dans le deuxième chapitre, nous étudierons des généralités sur les plantes médicinales et leurs compositions.
- Le troisième chapitre est consacré à présenter une monographie sur la plante étudiée de *Juniperus oxycedrus*.

*Chapitre I : Généralités sur
les cosmétiques et leur
conservation*

1. Définition des produits cosmétique

Le mot cosmétique vient du grec *kosmêtikos*, de *kosmos* qui désigne la beauté, l'ordre, l'ornement, la parure et la belle apparence (**Maziane, 2011**). Selon la directive du conseil de l'Union Européenne la définition exacte du mot cosmétique est « On entend par produit cosmétique toute substance ou mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles » (**Buzek et Ask, 2013**). Cette définition n'est pas nouvelle puisqu'elle a été établie à peu près sous cette forme lors de la rédaction de la loi française de 1975, imposant une réglementation des produits cosmétiques à la suite de la tragique affaire du talc Mohrange (**Maziane,2011**).

2. Contamination microbienne des produits cosmétiques

La contamination microbienne peut survenir durant toutes les étapes de vie du produit, de la production à l'utilisation par le consommateur (**PLDDE, 2018**). La plupart des cosmétiques contiennent beaucoup d'ingrédients qui présentent un milieu favorable pour la croissance microbienne et leur fabrication n'est pas un processus stérile et au moins le stockage. La température est presque optimale pour la croissance microbienne (**Muhammed, 2011**). La contamination peut entraîner des changements indésirables dans la composition, l'odeur ou la couleur des produits. De plus, les micro-organismes peuvent être pathogènes et présenter ainsi un risque pour la santé du consommateur (**Lundov et al.,2009**).

2.1. Origine de la contamination:

a. Contamination primaire

La contamination primaire est liée aux matières premières utilisées. La principale matière première concernée est l'eau, d'où l'attention particulière qui doit être apportée à sa production et à son contrôle. Une attention particulière doit être portée à

la surveillance des matières d'origine biologique, mais aussi d'origine végétale (surtout les eaux florales, par exemple) et d'origine minérale (bentonites, etc.) (Mussard, 2006).

b. Contamination secondaire:

Cette contamination est liée au consommateur. En effet il peut lui aussi être à l'origine de la contamination du produit. L'utilisateur des produit cosmétique peut favoriser l'entrée d'air lors du prélèvement (flacon à large ouverture, pot, tube souple, pompes distributrices), en introduisant de l'eau lors de l'utilisation ou de la refermeture (shampooing et gels douches), ou encore en effectuant des gestes qui favorisent l'inoculation du produit (prélèvement avec le doigt, remise dans le récipient de l'excédent de produit prélevé etc.) (Mussard, 2006).

2.2. Germes contaminants

Le micro-organisme le plus fréquemment trouvé en tant qu'agent contaminant des cosmétiques est le pathogène *Pseudomonas aeruginas* (35,48%). D'autres microorganismes ont été trouvés tels que des microorganismes aérobies mésophiles (bactéries, levures et moisissures), *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Achromabacter xylosoxidans*, *Rhizobium radiobacter*, *Pseudo-bactérien* et *Rhumobobiuma* (Neza et Centini, 2016).

2.3. Conséquences de la contamination

a. Chez le consommateur

Sur la plan de la santé, le risque peut être considéré comme faible, très peu de cas d'infections liés à l'utilisation de produits contaminés ont été rapportés, par rapport à la quantité importante de produits utilisés dans le monde (Cohen et Gleitz,2009).

Le risque potentiel est fonction de la nature du germe contaminant, de l'importance de la contamination, et du site d'application du produit sur le consommateur. La peau saine, avec sa flore saprophyte, constitue une barrière vis-à-vis des micro-organismes exogènes. En revanche, le risque sera plus important si le produit est utilisé sur une peau lésée, près des muqueuses, chez les jeunes enfants, chez des sujets

immunodéprimés etc (Mussard, 2006b). Les infections oculaires graves attribuées à l'utilisation de produits contaminés pour le contour des yeux ont généralement impliqué *Pseudomonas aeruginosa*. Une infection de la cornée peut survenir après une éraflure accidentelle de l'épithélium avec un applicateur de mascara provenant d'un cosmétique contaminé (Wilson et Ahearn,1977).

b. Chez le fabricant

L'un des problèmes auxquels l'industrie cosmétique est toujours confrontée est la pollution microbiologique et ses diverses conséquences. Pour la fabrication, la contamination altère les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques d'un produit et dégrade ses principes actifs, ce qui conduit à un refus du produit (Rakotondrazafy et Ittah, 2007).

3. Les conservateurs antimicrobiens

3.1. Définition

Les conservateurs sont utilisés afin de protéger un produit cosmétique des altérations et des contaminations pouvant se produire lors de leur production ; mais ils ont également un rôle de protection lors de l'utilisation du produit par l'utilisateur. (Desplan, 2018).

La directive européenne 1223/2009 définit un agent conservateur, comme une substance qui est exclusivement ou principalement destinée à empêcher le développement de micro-organismes (Buzek et Ask, 2013).

Les conservateurs peuvent cibler les bactéries (antibactériens) et/ou les levures et moisissures (antifongiques). Ils peuvent avoir deux modes d'actions : soit ils éliminent les micro-organismes de manière irréversible (bactéricides ou fongicides), soit ils inhibent la multiplication des micro-organismes sans les éliminer (bactériostatiques ou fongistatiques). Les agents conservateurs distinguent les cellules microbiennes des cellules humaines, et agissent sur ces cellules d'une façon spécifique selon le type de conservateur. Ainsi, ils peuvent intervenir sur les protéines constitutives de la paroi bactérienne, sur les membranes, la synthèse protéique et les systèmes enzymatiques (Moutier,2018).

Le conservateur ou le système de conservation idéal doit avoir une activité à large spectre, être efficace à de faibles concentrations, soluble dans l'eau et insoluble dans l'huile, stable à toutes les températures et pH, incolore et inodore, compatible avec tous les ingrédients utilisés, facile à manipuler et à analyser et à faible coût. Ce qui est important à souligner, c'est la nécessité de les utiliser à la plus faible dose possible car ils ont tous le potentiel d'être toxiques, irritants ou sensibilisants, étant des produits biologiquement actifs (**Rosado et Monteiro Rodrigues,2006**).

3.2. Classification des conservateurs

3.2.1. Les conservateurs de synthèse

Les conservateurs sont regroupés selon leur classe chimique. On peut citer, à titre d'exemple, les acides carboxyliques et leurs sels (potassium sorbate, sodium benzoate), les parabènes et leurs sels (methylparaben, ethylparaben), ou encore les hétérocycles que sont les isothiazolinones (methylisothiazolinone, methylchlorisothiazolinone). Ces molécules sont soumises à de nombreuses polémiques actuellement, certains étant décriés pour leur caractère irritant, allergène, hépatotoxique ou encore perturbateur endocrinien (avéré ou suspecté) (**Debacker, 2018**).

3.2.2. Les conservateurs naturels

Les extraits de plantes et les huiles essentielles sont principalement ajoutés aux préparations cosmétiques en raison de leurs propriétés reconnues, telles que: antioxydant anti-inflammatoire et antimicrobien, émoullients, colorants, humectants, cicatrisation des plaies, anti-mutagènes, anti-âge, agents protecteurs contre les UV -B dommages et réduction de la décoloration de la peau (**Halla et al., 2018**). Ils sont tous obtenus à partir de matières premières végétales mais selon des méthodes d'extraction plus ou moins sophistiquées et innovantes définissant le type de molécules extraites (volatiles ou non par exemple), ainsi que la forme finale (liquide, poudre, pâte...) (**Kerdudo, 2014**).

Les huiles essentielles et les extraits en tant que systèmes de conservation naturels sont économiques et, dans certains cas, peuvent améliorer les propriétés dermocosmétiques du produit final. Ainsi, leur application comme antimicrobiens

dans les préparations cosmétiques est souvent déconseillée en raison des inconvénients suivants. Premièrement, ils sont beaucoup plus spécifiques à l'organisme que les conservateurs synthétiques et doivent donc être soigneusement mélangés pour protéger le produit contre la grande variété de micro-organismes qui peuvent insulter un produit cosmétique; deuxièmement, dans certains cas, ils provoquent des allergies dermatologiques (Varvaresou et al.,2009).

*Chapitre II : Propriétés
cosmeucétiques des plantes
medicinales*

1. La phytothérapie et la cosmétique

Étymologiquement, la phytothérapie du grec « *phyton* » qui signifie plante et « *therapein* » qui signifie soigner. La phytothérapie est l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques (Sumit et al.,2012).

1.1. Définition de plantes médicinales:

En France, une définition officielle en est donnée: "une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal, c'est-à-dire que les plantes sont présentées pour leurs propriétés préventives ou curatives à l'égard des maladies humaines ou animales (Chabrier,2010).

2.2. Plantes médicinales en cosmétique :

Aujourd'hui, les extraits végétaux sont considérés comme des substances indispensables à la cosmétique et c'est ce qu'on appelle la phytocosmétique (El Hachimi et al., 2015).

La phytocosmétologie thérapeutique est un art qui recouvre les trois domaines qu'elle évoque: la réparation (thérapie) avec des extraits de plantes (phyto), de modifications de la peau et ses annexes qui ne constituent pas une maladie de la peau mais dont le traitement en améliore l'état au niveau de l'esthétique (cosmétologie). La cosmétique emploie les plantes depuis ses origines. La cosmétologie réparatrice, thérapeutique, utilise des plantes sous différentes formes. Dans certains cas, la cosmétique et la médecine se rencontrent. Il en va ainsi du khôl, cet ensemble minéral et végétal qui en plus de souligner le regard, servait jadis à prévenir les infections des paupières. La cosmétologie thérapeutique restaure des modifications situées soit dans l'épithélium, soit dans le derme, soit au niveau des phanères, et utilise des principes actifs divers. Les plantes et leurs extraits, devant le progrès de la synthèse chimique, ont perdu, un temps, leur place primordiale. On s'aperçoit aujourd'hui que cette industrie ne peut se passer des extraits des végétaux qui, comme nous le savons en phytothérapie, ont de nombreuses actions biologiques qui peuvent corriger de nombreux phénomènes cutanés (Goetz,2007).

2. Compositions des plantes en métabolismes secondaires:

Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (acides aminés et protéines, acides gras, sucres et polysaccharides...) (Royer, 2013).

Les métabolites secondaires sont des composés de faible masse moléculaire (<1000 généralement) qui ne jouent pas un rôle fondamental pour les plantes comme les métabolites primaires, mais qui sont impliqués dans l'adaptation des plantes à leur environnement, notamment dans les interactions biotiques. Une grande variété de métabolites secondaires est synthétisée par les plantes supérieures à partir des métabolites primaires (par exemple carbohydrates, lipides et acide aminés) et sont le résultat d'une co-évolution entre les plantes et leur environnement biotique. Connus comme principes actifs pour la production de médicaments, d'additifs alimentaires et d'arômes, ou de parfums, ils contribuent notamment à la formation des odeurs et des couleurs chez les plantes. Leur rôle dans la croissance et le développement des plantes est de plus en plus étudié, notamment afin d'améliorer les techniques de culture (Pham,2017).

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (Koné, 2009). Les métabolites secondaires des plantes peuvent être classés en quatre classes principales : composés phénoliques, terpénoïdes, composés alcaloïdes et composés soufrés (Guerriero et al.,2018).

2.1. Composées phénoliques:

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui sont des dérivés du pentose phosphate shikimate et du phénylpropanoïde (Tableau 01) (Balasundram, 2006). Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside (Krief,2003). Ils peuvent être répartis

en plusieurs classes, selon la complexité de leur squelette de base, du degré de modification de ce squelette et des liaisons possibles de ces composés avec d'autres molécules (Chanforan,2010).

Tableau 01 : Classes de composé phénoliques dans la plante (Wink, 2008)

Classe	Structure
Phenolique simple benzoquinones	C6
Acides hydroxybenzoïques	C6-C1
Acétophynones acides phénylacétiques	C6-C2
Acides hydroxycinnamiques,phénylpropanoïdes(coumarines,isocoumarine s,chromones,chromènes)	C6-C3
Napthoquinones	C6-C4
Xanthonnes	C6-C1-C6
Stilbénes,anthraquinones	C6-C2-C6
Flavonoïdes,iso flavonoïdes	C6-C3-C6
Lignans,néolignans	(C6-C3)2
biflavonoïdes	(C6-C3-C6)2
Lignines	(C6-C3)n
Tannis condonsés (proanthocyanidines ou flavolanes)	(C6-C3-C6)n

Les phénols simples : Ce sont les plus simples des composés phénoliques, constitués par un seul noyau benzénique et un nombre variable de groupe hydroxyle (OH) (Koul et Khier, 2019).

Acides benzoïques : Les acides benzoïques simples sont synthétisés dans les plantes via la voie shikimate qui est dérivée de l'acide shikimique (Ramawat et Mérillon, 2013). Les acides-phénols en C6-C1 dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside (Chanforan, 2010).

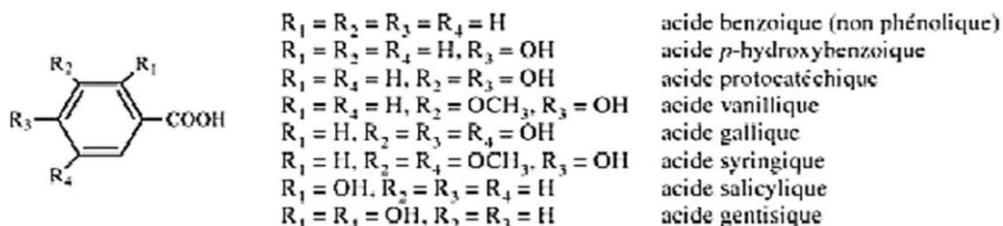


Figure 01 : structure chimique de quelques acides hydroxybenzoïques.(Chanforan, 2010).

Phénylpropanoïdes (hydroxy cinnamique) : Les acides hydroxy cinnamiques comportent une structure de base en C6-C3 dérivant de celle de l'acide cinnamique (Legrand, 2015).

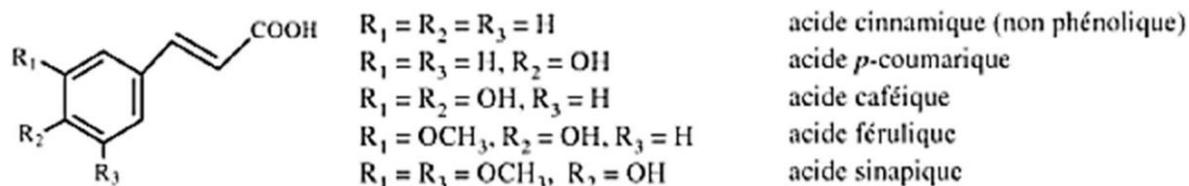


Figure 02 : Structures chimiques de quelque acides hydroxy cinnamiques (Chanforan, 2010).

Les flavonoïdes : les flavonoïdes représentent l'une des classes les plus importantes et les plus étudiées de métabolites spécialisés dérivés de phénylpropanoïdes (Dixon et Pasinetti, 2010). Les flavonoïdes polyphénoliques ont le squelette du diphenylpropane C6-C3-C6, la famille comprend des flavanols monomères, flavanones, antocyanidines, flavones et flavonols (Rice et al.,1996).

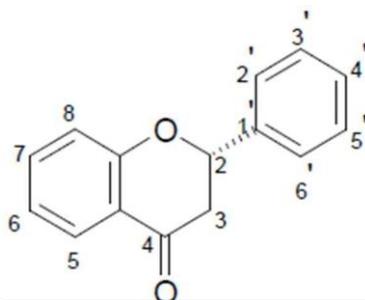


Figure 03: Squelette d'un flavonoïde (Bouakkaz, 2013)

Les tannins : Les tannins sont des composés phénoliques hydrosolubles de poids moléculaire (PM) compris entre 500 et 3 000 Da qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines (**Manolaraki, 2011**). On distingue (**Krief,2003**):

- les tanins hydrolysables, esters d'un sucre, qui est très généralement le glucose, et de l'acide gallique ou de l'acide pélagique

- les tanins condensés ou proanthocyanidols, non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unitésflavan-3-ols

2.2. Les tèrpanoïdes:

Les tèrpanoïdes (isoprénoides) représentent la classe de produits chimiques la plus importante et la plus diversifiée parmi la myriade de composés produits par les plantes (**Tholl, 2015**). Ils sont dérivés de cinq unités d'isoprène de carbone et selon le nombre de molécules d'isoprène incorporées, ils peuvent être classés en : hémiterpenes, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, tétraterpènes et polyterpènes tels que le caoutchouc (**Springob et Kutchan, 2009**).

Tableau 02: Classification du terpénoïdes (**Dev, 1989**).

Classification	Nombre d'atomes de carbones	Nombre d'unités d'isoprènes
Hémiterpenoïdes	5	1
Monoterpenoïdes	10	2
Sesquiterpenoïdes	15	3
Diterpenoïdes	20	4
Sesterterpénoïdes	25	5
Triterpénoïdes	30	6
Tétraterpénoïdes	40	8
Polyterpénoïdes	>40	>8

Les terpénoïdes sont dérivés de la voie mévalonte qui est active dans le cytosol ou de la voie plastidiale 2-C-méthyl-D-drythritol-4-phosphate (MEP), les deux voies conduisent à la formation des unités C5 isopentényl diphosphate (IDP) et de son isomère allylique

diméthylallyl- diphosphate (DMADP), les éléments de base de la biosynthèse des terpanoïdes. (Aharon et al., 2005). Les triterpénoïdes et sesquiterpénoïdes sont biosynthétisés via la voie mévalonate (MVA) tandis que les monoterpénoïdes, diterpénoïdes et tétraterpénoïdes sont biosynthétisés via le MEP (Sawai et Saito, 2011).

Les monoterpènes : ils sont produits par l'union de deux unités C5 activées, les équivalents biologiques de l'isoprène, la réaction est catalysée par des prényltransférases qui effectuent la condensation du soppentényl pyrophosphate avec un pyrophosphate allylique (Seigler, 2012). Le monoterpène peut être divisé en trois grands sous-groupes : linéaires, monocycliques et bicycliques (Chern, 2013).

Les sesquiterpènes : Les sesquiterpènes dérivés d'un pyrophosphate de farnésyle intermédiaire à 15 atomes de carbone (Seigler, 2012), la formation de sesquiterpènes à partir de diphosphate de farnésyle catalysée par la sesquiterpène synthase (Degenhardt et al., 2009).

Les diterpènes : Les diterpènes proviennent de la voie plastidique phosphate de désoxyxylulose (DXP) et sont synthétisés à partir de DMAPP et de trois molécules de diphosphate d'isopentényle (IPP) donnant le métabolite C20 géranylgeranyl diphosphate. (Springob et Kutchan, 2009).

Les titerpènes et les stéroïdes : Les triterpènes sont synthétisés via la voie MVA à partir de deux molécules de diphosphate de farnésyle (FPP) qui sont reliées par condensation de queue à au squalène (Springob et Kutchan, 2009). Les triterpénoïdes, y compris les stéroïdes, constituent un group très diversifié de produits naturels largement distribués dans les plantes. (Sawai et Saito, 2011). Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique. Chez toutes les plantes on trouve ces composés liés avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols ; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme : B-Sitostérol, Stigmastérol (Koul et Khier, 2019).

Les tétraterpènes : Les tétraterpènes ou les caroténoïdes sont synthétisés à partir de précurseurs de mévalonate. Les caroténoïdes sont un composé des C40 composé de huit d'unités d'isopenténylpyrophosphate (**Takaichi, 2013**).

Les huiles essentielles : obtenues à partir de plantes médicinales et aromatiques sont de nature aromatique en raison d'un mélange de substances chimique multiples qui appartiennent différentes familles chimiques y compris : les terpènes, aldéhydes, alcools, esters, éthers, phénoliques et cétones (**Swamy et al., 2016**). Les huiles essentielles ont démontré de nombreuses actions biologiques y compris des activités antimicrobiennes (**Boyom et al., 2011**). En dehors de leurs effets antimicrobiens ,largement utilisés a l'heure actuel, les huiles essentielles ont toujours fait l'objet d'autres études biologiques.ces études ont montré leurs activités antioxydantes ,anti-inflammatoires, insecticides, antiparasitaires (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).

2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont définis comme des composés azotés hétérocycliques biosynthétisés à partir d'acides aminés (**Seigler, 2012c**). Ils sont dérivés de nombreuses voies de biosynthèse, y compris celles du métabolisme des acétates et du métabolisme des terpénoïdes (**Seigler, 2012c**). On divise les alcaloïdes en trois genres : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes

- Les alcaloïdes vrais dérivant d'acides aminés et comportant un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ce sont des substances douées d'une grande activité biologique, même à faibles doses. Ils apparaissent dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme d'un sel, soit comme N-oxide (**Badiaga,2011**).

- Les proto-alcaloïdes qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique (**Beddou,2015**).

- Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas dérivés d'acides aminés. Ils peuvent cependant être indirectement liés à la voie des acides aminés par l'intermédiaire d'un de leurs précurseurs, ou d'un de leurs postcurseurs (dérivés) (**Badiaga,2011**)

3. Exemples sur l'utilisation des plantes médicinales dans la cosméceutique:

- L'huile d'argan (*Argania spinosa*) redynamise la peau, l'hydrate, agit contre le dessèchement et le vieillissement de la peau. En soin de nuit, pour tous types de peau, elle régénère la peau durant le sommeil (**Maziane,2011**).

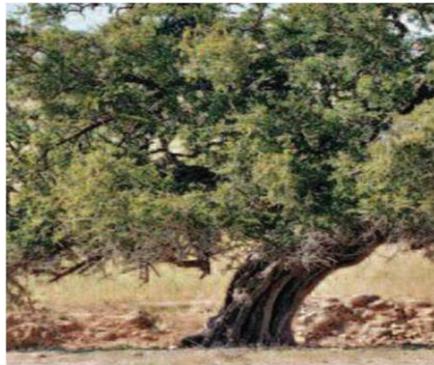


Figure 04: un arganier, région d'Essaouira Maroc (**Maziane, 2011**)

- L'huile essentielle de Géranium rosat, *Pelargonium asperum*, est parfois appelée "l'HE de la peau" en raison de ses propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, astringentes et régénérantes cutanées (**Couic-Marinier et Laurain-Mattar,2018**).

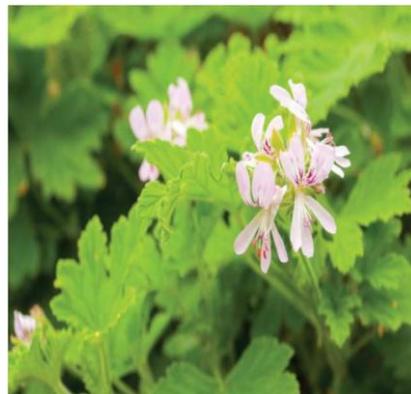


Figure 05 : L'huile essentielle provenant des feuilles et des fleurs du Géranium rosat de l'Île de La Réunion Indien (**Couic-Marinier et Laurain-Mattar, 2018**)

- L'emploi du clou de girofle dans des dentifrices ou bains de bouche est donc justifié pour lutter contre la plaque dentaire et l'apparition de caries (**Barbelet,2015**).



Figure 06 : Allure d'un girofler de Madagascar (**Barbelet, 2015**)

- La cire liquide du Jojoba est utilisée pour traiter la perte de cheveux (**Bodjolle-d'Almeida, 2018**).



Figure 07 : Photo de l'arbre Jojoba (Nom latin: *Simmondsia chinensis* Schneid) (**Bodjolle-d'Almeida, 2018**)

- *Rosmarinus officinalis* (Romarin), est également utilisée pour favoriser la croissance des cheveux en stimulant les follicules pileux (**Jandi,2017**).

Chapitre III : Plante étudiée

Juniperus oxycedrus

1. Description taxonomique.

Le terme *oxycedrus* provient du grec ‘*oxys*’ qui veut dire aïgue et ‘*cedrus*’ qui veut dire cèdre, C’est à dire cèdre à feuilles épineuses (Mazari, 2009).

Systématique du genévrier oxycède

Embranchement : *SPERMAPHYTES*

Sous-embranchement : *GYMNOSPERMAE*

Classe : *VECTRICES* ou *CONIFERES*

Ordre : *CONIFERALES*

Famille : *CUPRESSACEES*

Genre : *JUNIPERUS*

Espèce : *J.OXYCEDRUS. L*

Nom commun : GENEVRIER OXYCEDRE - CADIER

Nom Vernaculaire : TAGA (Bensegueni-Tounsi, 2011).

2. Description botanique:

Arbre ou arbuste aromatique à feuilles opposées ou verticillées en aiguille ou en écaille. Cônes mâles petits terminaux ou axillaires. Feuilles offrant Cônes mâles petits terminaux ou axillaires. Feuilles offrant au dessus une nervure médiane verte avec de part et d’autre une bande blanchâtre. Fruit mûr rougeâtre, de 6–15 mm de diamètre. Fleurs mâles sub globuleuses de 1 mm de diamètre (Miara et al.,2013).

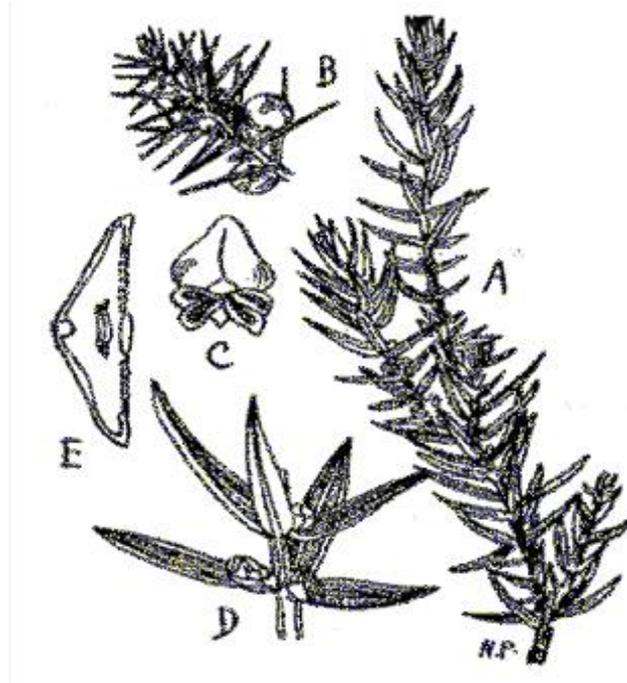


Figure 08 : Morphologie de *Juniperus oxycedrus* L.

A, Rameau avec fleurs ; B, Ramule fructifère; C, Microsporophylle ; D, Feuilles, face inférieure; E, Coupe de la feuille (Djebaili et Zelligui, 2013).

3. Répartition géographique:

C'est une espèce typique de la région méditerranéenne où il représente un élément pionnier très dynamique, surtout en milieu forestier dégradé. On peut le rencontrer dans le Tell associé essentiellement au chêne vert, au chêne liège, voire au Pin d'Alep, et sur les massifs montagneux où il est partout présent et souvent abondant dans les chênaies. Peu exigeant pour le sol, il s'observe surtout sur calcaires, aux étages méso et supra-méditerranéens, en bioclimat sur humide. Il peut apparaître très localement en bioclimat semi-aride où il arrive parfois à former des peuplements presque purs, notamment dans les vallées internes du Haut Atlas (Quezel et Gast,1998).

4. Utilisation thérapeutique de *Juniperus oxycedrus*

J. oxycedrus a été utilisé en médecine populaire pour le traitement de diverses maladies, telles que l'hyperglycémie, l'obésité, la tuberculose, la bronchite et la pneumonie. Une autre utilisation de *J. oxycedrus* consiste à préparer la soi-disant huile de cade, également appelée «goudron de genièvre» (Loizzo et al., 2007). Les huiles aromatiques de genévriers sont utilisées depuis l'antiquité à des fins de parfum, d'arôme et à des fins médicinales, insecticides et cosmétiques (Abdellah et al., 2018). Cette huile empyreumatique a été largement utilisée en dermatologie humaine et vétérinaire pour traiter l'eczéma chronique et d'autres maladies de la peau, et l'huile de cade rectifiée est utilisée comme composant de parfum dans les savons, détergents, crèmes, lotions et parfums (Medini et al., 2009). Les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* L. sont utilisées depuis l'Antiquité à des fins de parfum, de lavage, médicinales, antimicrobiennes insecticides et cosmétiques (Medin et al., 2013). L'extrait de cône bouilli de *J. oxycedrus* est largement utilisé en Turquie dans le traitement des troubles gastro-intestinaux, du rhume, comme expectorant, pour traiter la calcinose des articulations, comme diurétique pour traiter les calculs rénaux, contre les inflammations urinaires, les hémorroïdes et comme hypoglycémique (Hayta et Bagci,2014).

5. Activité antimicrobienne:

Juniperuscc oxycedrus a une activité antimicrobienne selon Derwich et Chabir (2011), Sela et al. (2013) et Karaman et al. (2003). Chaouche et al. (2013) ont étudié le pouvoir antimicrobien des extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *Juniperus oxycedrus* L., récolté en Turquie. Ils ont montré que l'extrait au méthanol de *J. oxycedrus* possède des composés aux propriétés antibactériennes et anticandidales qui peuvent être utilisés comme antimicrobiens agents dans de nouveaux médicaments pour le traitement des maladies infectieuses.

Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes :

Ce travail a été effectué au laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation Biologiques des Plantes (LBPVBP) et le laboratoire pédagogique au département de biologie à la faculté des sciences de l'université Dr. Moulay Tahar de Saida.

1. Matériel:

1.1. Matériel végétal : Le matériel végétal est constitué par les feuilles de *Juniperus oxycedrus*. La récolte des feuilles a été effectuée durant la période décembre 2019 à l'Ain El Hdjar de la wilaya de Saida (Figure09).



Figure 09 : Situation géographique de la zone d'étude

Après le séchage à température ambiante et à l'abri de la lumière, le matériel végétal de la plante étudiée est broyé au mortier jusqu'à obtention d'une poudre fine (Figure 10).

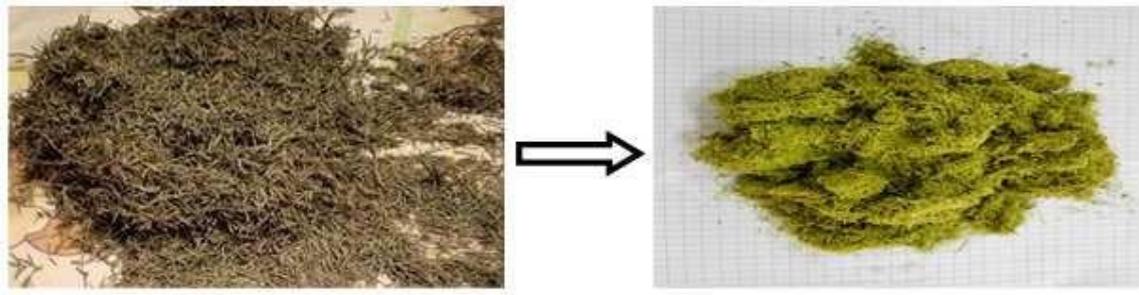


Figure 10: les feuilles de la plante étudiée après séchage

1.2. Microorganismes:

Sept bactéries et deux levures ont été l'objet de l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique (**Tableau 03**). La conservation des souches bactériennes se fait dans des tubes de gélose nutritive (GN) inclinée et les levures dans des tubes de sabouroud gélosé inclinée à une température de 4°C.

Tableau 03: Les différents microorganismes utilisés.

Nom de la souche	Référence	Définition	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	<i>S. aureus</i> est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas, souvent qualifiés de grappes de raisin, bactérie se caractérise par la pigmentation dorée sont immobiles, non sporulés et positifs à la coloration de Gram	(Solène, 2014)
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 22778	Bactéries sporuler, Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatives, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles.	(Benjami n, 2016)
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452	Elles sont des bactéries cocci Gram positif, anaérobies facultatifs, catalase négative, se présentant ou sous forme de paires ou de courtes chainettes.	(MANTIO N, 2015)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée.	(ELMESKINI, 2011)

<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Bacilles à coloration de Gram négative, non sporulés, anaérobies facultatifs et qui ne possèdent pas d'oxydase	(Alpha Amadou, 2013)
<i>Klebsilapneumoea</i>	ATCC 70603	<i>K. pneumoniae</i> est un Bacille Gram Négative (BGN), immobile, commensale de l'intestin et des voies respiratoires	(GADO U, 2019)
<i>Salmonellamonteridea</i>	ATCC 3581	sont des bacilles à Gram négatif (BGN) a possédant les antigènes O et les antigènes H	(WALE WSKI, 2014)
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Elles sont des champignons levuriformes dont l'appareil végétatif peut se présenter sous des formes variées (blastospores ovales de 2 à 5 µm, filaments ou pseudo filaments) et se multipliant par bourgeonnement	(El-Kirat, 2010)
<i>Candida albicans</i>	IP 444		

2. Méthodes:

Notre étude expérimentale comporte trois grandes parties :

- Préparation et extraction du matériel végétal
- Etude phytochimique ; quantitative et qualitative.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait obtenu

La figure 11 montre les différentes étapes de notre travail.

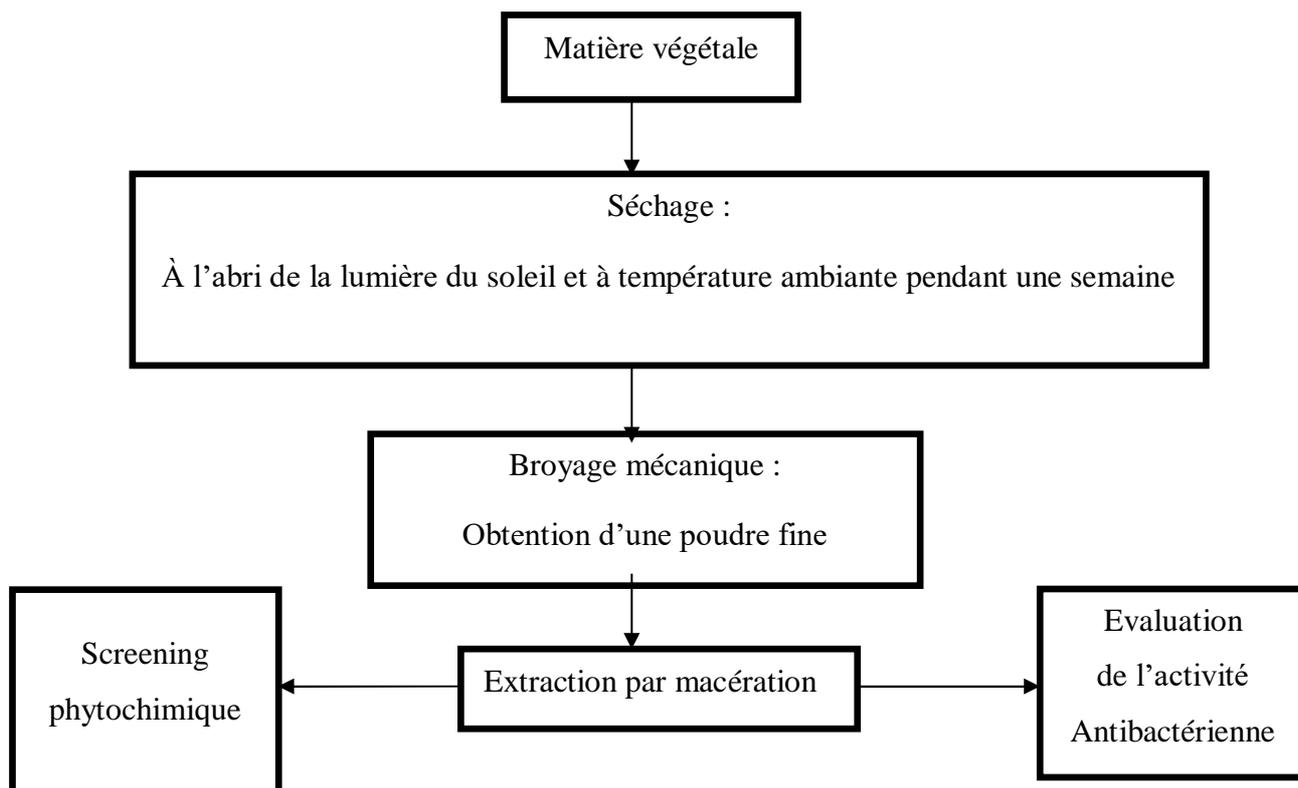


Figure 11: Schéma illustrant la démarche expérimentale

2.1. Préparation d'extrait de la plante : *Extraction par macération*

La macération consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante et qui a l'avantage de préserver les substances thermosensibles. Cette étape consiste à extraire le maximum des substances actives contenues dans les plantes en utilisant le méthanol comme solvant organique auquel nous avons ajouté une quantité d'eau pour en augmenter la polarité (Bouchouka,2016).

Une quantité de 90g de la plante sèche et finement broyée est macérée dans 600 ml Méthanol-eau dans une proportion de 70:30 en volume, sous agitation pendant 24 h à l'ombre et à température ambiante. Les macérations hydrométhanoliques ainsi obtenues sont filtrées sur papier filtre deux fois, puis concentré sous vide à l'aide d'un rotavapeur à 65°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 50°C pendant 72 heures. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon hermétiquement fermé (Figure 12 et13).



Figure 12 : Différentes étapes de la préparation de l'extrait par macération

Ensuite, nous avons a déterminé le rendement des plantes en extrait sec en calculant le rapport suivant selon (Haddouchi et al., 2016) : $\text{Rendement (\%)} = [P1 - P2/P3] \times 100$. Avec, P1 : poids du ballon après évaporation ; P2 : poids du ballon vide avant évaporation ; P3 : poids de la matière végétale sèche de départ.

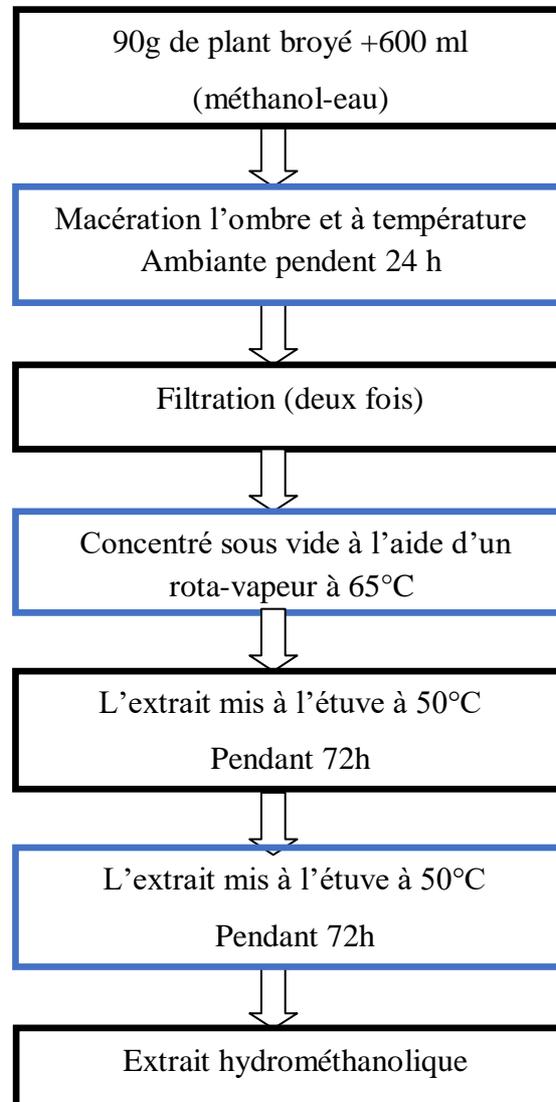


Figure 13: Schéma illustrant l'extraction par macération

2.2. Screening phytochimique:

Le screening phytochimique ou criblage phytochimique est un ensemble de méthodes et de techniques d'analyse physicochimiques qui permettent de détecter la présence des différentes classes de groupes chimiques actifs contenus dans les plantes. Les groupes phytochimiques majeurs responsables des activités biologiques (**Kadri,2017**).

Tanins:

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée à 1% L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins. L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques. L'apparition d'une coloration bleu-verte indique la présence des tanins galliques(**Hamid et al.,2018**).

Saponines (Indice de mousse) :

Dans une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2,3,...,10ml de la solution à analyser. Ajuster le volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée. Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

L'indice de mousse (I) est calculée par la formule suivante : $I = 1000 / N$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm (**Hamid et al., 2018**)

Composés réducteurs :

Leur détection consiste à introduire 2ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Hamid et al.,2018**).

Quinones :

Les substances quinoniques ont été recherchées à partir du réactif de Bornstraëgen. Deux (2) ml de l'extrait évaporé à sec. Le résidu est trituré dans 5 ml d'acide chlorhydrique au 1/5.

Le triturât est versé dans un tube à essais. Le triturât est porté ensuite au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement, il est extrait par 20 ml de chloroforme. L'ammoniaque diluée 2 fois (0,5 ml) a été ajouté à la solution chloroformique. Une coloration rouge ou violette constituait le signe de la présence de quinones (Koffi et al.,2009).

3. Evaluation de l'activité antimicrobienne:

Nous avons évalué l'activité antimicrobienne de l'extrait vis-à-vis sept souches bactérienne et deux souches de levure par deux méthodes :

- Méthode des disques: diffusion sur gélose Muller Hinton
- Méthode de micro-dilution: détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) sur microplaque.

3.1. Préparation des solutions des extraits

Les extraits méthanoïques secs ont été dissouts dans le diméthyle sulfoxyde (DMSO) pour obtenir une solution mère de 1000 mg/ml (Tableau 04).

Tableau 04: Différentes dilutions préparées pour l'activité antimicrobienne

Concentration	L'extrait pur (µl)	DMSO (µl)
1/1	1000	1000
½	500	1000
¼	250	1000
1/8	125	1000
1/16	62,5	1000
1/32	31,25	1000
1/64	15,6	1000
1/128	7,8	1000
1/256	3,9	1000

3.2. Préparation des souches testées :

3.2.1. Milieux de culture:

Le bouillon nutritif est utilisé pour la vérification de la vitalité des bactéries. La gélose nutritive est utilisée pour l'isolement et la conservation des souches, c'est un milieu adéquat pour la majorité des bactéries. La gélose Mueller Hinton est utilisée dans les tests de sensibilité des bactéries à l'extrait de la plante. Mueller Hinton liquide est utilisée dans les tests de sensibilité des bactéries à l'extrait de la plante. La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien de la levure et l'étude de sa sensibilité à l'extrait. Sabouraud liquide pour la détermination de CMI pour les levures (Halla,2010).

3.2.2. Préparation des pré-cultures :

L'activité antimicrobienne doit être réalisée sur des souches microbiennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches microbiennes est effectuée par repiquages à la surface de la gélose nutritive pour les bactéries et Sabouraud gélose pour les levures pré coulée en boîte de Pétri, et ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24 h pour les bactéries et pour les levures 30 C° pendant 48 h (Hellal,2011).

3.2.3. Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture jeune et pure sur milieu d'isolement on prépare une suspension microbienne dans 10 ml l'eau physiologique stérile (0.9% NaCl) nous avons prélevé quelques colonies (5 colonies des bactéries et 2 colonies des levures) bien isolées et morphologiquement identiques et les agitées à l'aide d'un agitateur vortex pendant quelques secondes. De façon à obtenir un inoculum d'une opacité équivalente à une DO de 0.08 à 0.1, lue à 625 nm pour les bactéries et gélose pour les levures 10^6 cellules/ml à longueur d'onde de 580 nm pour les levures (Lammi,2011).

3.3. Méthode de Diffusion en milieu gélosé:

L'étude de l'activité antimicrobienne est effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé qui est largement répandue du fait de sa simplicité et de son faible coût. Elle permet de déterminer la sensibilité des bactéries vis-à-vis des agents antibactériens (Kadri, 2017).

Principe :

Le principe de cette technique consiste à diffuser une substance antibactérienne dans un milieu de gélose en réalisant un gradient de concentration, L'apparition d'une zone claire autour des disques, indique l'action antibactérienne de l'extrait de la plante vis-à-vis de la souche microbienne testée (**Kadri, 2017**). Cependant, le principe de la technique de diffusion en puits est similaire à celui de la diffusion sur disque. Elle consiste à creusé un trou de 6 à 8 mm de diamètre dans la gélose. Un volume fixe d'extrait végétal est ensuite introduit dans le puits d'agar perforé et incubé à une température et une durée optimales en fonction du microorganisme testé (**Das et al.,2010**).

Ensemencement :

Après avoir introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum de la souche tester, rejeter l'excès de bouillon par pression sur les parois du tube. Ensemencer la gélose. L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface en tournant la boîte 3 fois de 60° afin d'assurer une bonne répartition de l'inoculum.

- Pour les bactéries nous avons utilisé la technique de diffusion en puits:

Les puits ont été préparés à l'aide de pipettes Pasteur (l'extrémité épaisse de 6 mm) et chaque puits contient un volume de 50 µl. Les boîtes sont laissées pendant 15 minutes à la température ambiante avant d'être mises à incuber dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- Pour les levures nous avons utilisé la technique de diffusion de disques:

Les boîtes de Pétri contenant de la gélose sabouraud sont ensemencées aseptiquement par écouvillonnage, elles sont ensuite séchées à proximité de la flamme. Des disques de 6 mm de diamètre sont préparés à l'aide de papier filtre puis stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Ces derniers, sont ensuite imprégnés de l'extrait à tester (environ 50 µl) et placés sur la gélose préalablement ensemencée avec la levure à tester. Les disques sont préparés en extemporané.

Les boîtes sont laissées pendant 15 minutes à la température ambiante avant d'être mises à incuber dans une étuve à 30°C pendant 48 heures. Après l'incubation, une zone ou un halo

clair apparaît. La lecture des résultats est faite par mesure des diamètres des zones d'inhibitions en (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires (**Halla, 2010**).

Selon **Halla (2010)** l'activité antimicrobienne est exprimée en zones d'inhibition comme suit :

- Diamètres inférieurs à 7 mm : aucune activité antimicrobienne(-)
- Diamètres de 7 à 9,9 mm : activité antimicrobienne faible(+)
- Diamètres de 10 à 11,9 mm : activité antimicrobienne modeste (++)
- Diamètres de 12 à 15 mm : activité antimicrobienne élevée (+ ++)
- Diamètres supérieurs à 15 mm : activité antimicrobienne forte (+ + ++)

3.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice CMI par la méthode de micro-dilution :

La CMI est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 h (**Toty et al., 2013**). DéTECTÉE par un manque de turbidité visuelle, correspondant à un contrôle négatif inclus avec le test, est connue sous le nom de MIC. La CMI de chaque agent antimicrobien est enregistrée en milligrammes par millilitre (mg/ml) (**Richard et al.,2007**).

Principe la méthode de micro-dilution

Le principe de cette méthode est d'évaluer la capacité des bactéries et les levures à produire une croissance visible dans les puits d'une microplaque à fond rond (à 96 puits) contenant le milieu de culture liquide, en présence de concentrations en cascade de l'extrait de la plante (**Halla,2010**).

Mode opératoire :

Pour les bactéries : Le Bouillon Mueller Hinton (MH) (pH de 7,2 à 7,4) est largement utilisé comme milieu standard pour la micro-dilution en plaque. Il permet une meilleure croissance de la plupart des bactéries pathogènes non exigeantes, en plus de son faible effet antagoniste vis-à-vis des antibiotiques. Pour chaque ligne de la microplaque, nous avons déposés 50µl de l'inoculum dans les 12 puits à l'exception du puits N°12 qui servira de puits de contrôle de

contamination, qui contient seulement le Bouillon Muëller Hinton, comme témoin positif (100 μ l).

Nous avons ensuite ajouté 50 μ l de la solution de l'extrait dans les 12 puits à l'exception du puits N°11 puits N°12. le puits (N°11 servira de témoin négatif croissance sans extrait) et le puits N°12. Les plaques sont recouvertes d'un papier d'aluminium stérile et placées dans une étuve à 35°C pendant 24 heures (Figure 14) (Richard et al.,2007).

Pour les levures : Il s'agit de la même méthode que pour les bactéries mais le milieu de culture des levures est le sabouraud liquide. Les plaques sont recouvertes d'un papier d'aluminium stérile et placées dans une étuve à 30°C pendant 48 heures (Richard et al., 2007). La lecture des résultats se fait par une évaluation visuelle de la turbidité des différent puits de la microplaque. Cette technique fournit des résultats quantitatifs (Soares, 2015).

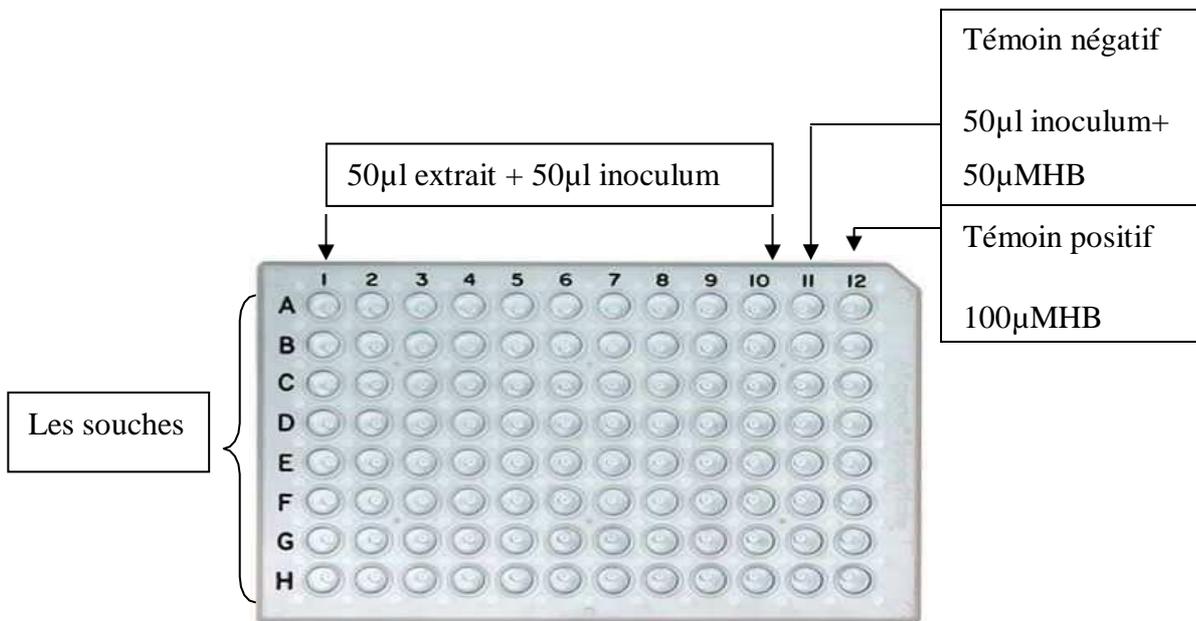


Figure 14 : montre la méthode d'utilisation de la microplaque à 96 puits

Résultats et discussion

1. Rendement des extraits:

Les plantes étudiées dans ce travail ont été macérées une seule fois dans le Méthanol-eau pendant 24h. La quantité obtenue de résidus secs 15,66g. Le rendement de extrait est exprimé en pourcentage de masse d'extrait par rapport à la masse de la plante séchée est : 17,4%.

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée et avec les compositions de la plante qui varient selon la période, le lieu de la récolte et la durée de séchage.

2. Aspect physique de l'extrait:

L'aspect physique ainsi que la couleur obtenue lors de l'extraction *Juniperus oxycedrus* est représenté dans le tableau 05.

Tableau 05 : Aspect physique de l'extrait *Juniperus oxycedrus*

Extrait	Aspect	Couleur	
Hydrométhanolique	Pâteux, collant	Vert brunâtre foncé	

3. Screening phytochimique:

L'analyse qualitative de la poudre des plantes qui a pour but la mise en évidence la présence de certains types de métabolites secondaires, a été faite par des réactions de colorations en tubes à essai. Quant aux alcaloïdes, leur présence est détectée par une réaction de précipitation (Bouchouka,2016).

Les tests préliminaires de caractérisation, réalisés sur les feuilles de la plante *Juniperus oxycedrus*, nous ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs groupes de

métabolites secondaires ou groupes phytochimiques. Tous les résultats sont repris dans le tableau 06 et la figure 15.

Tableau 06: Résultats des tests phytochimiques

Métabolites secondaires	Présence/Absence	Coloration
Tanins	+	Verte foncée
Composés réducteurs	+	Rouge brique
Quinones	+	Rouge
Saponines (Indic de mousse)	-	/

(+) = présence;(-) = absence.

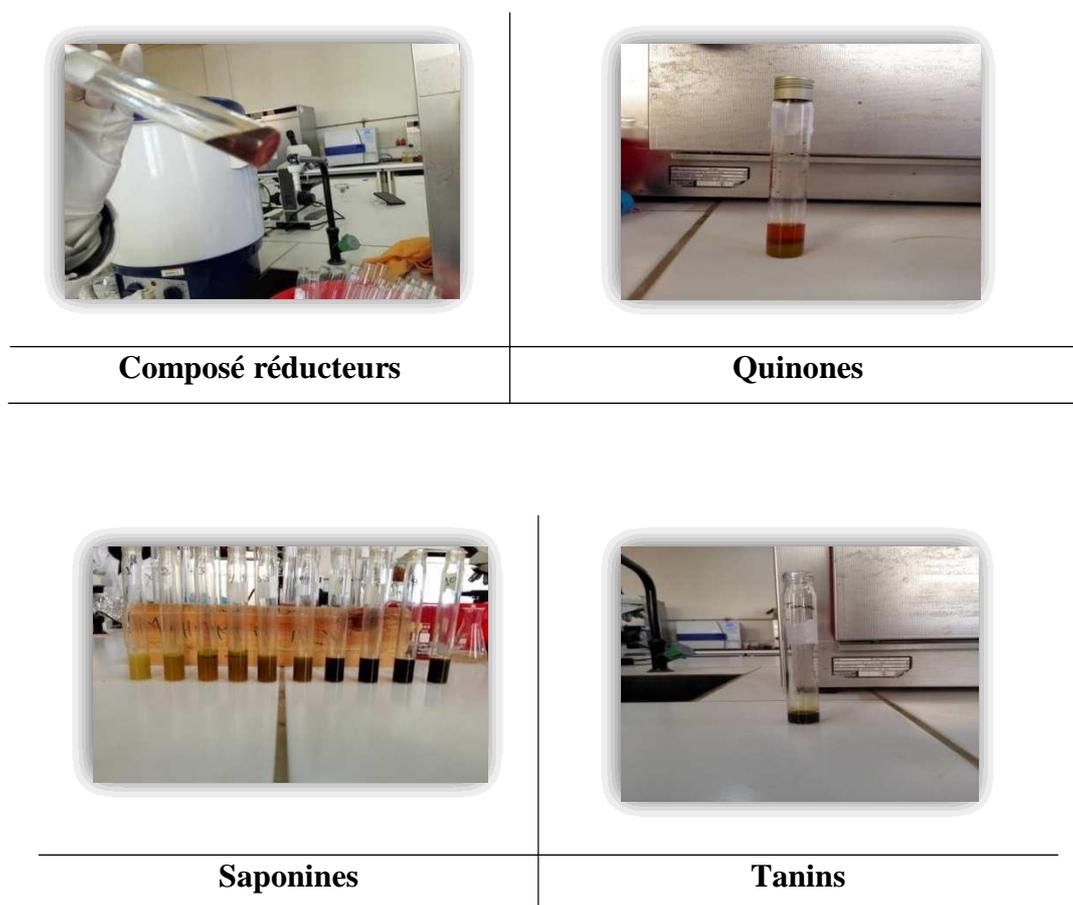


Figure 15: Résultats obtenus de screening phytochimique

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que la plante étudiée est plus ou moins riche en métabolites secondaires. Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis

d'avoir une idée générale sur la composition chimique des plantes étudiées. Nous avons marqué la présence des les tannins, les quinones et les composés réducteurs dans notre extrait et l'absence des Saponines. Dans d'autre étude dans d'autre région **Mazari (2009)** elle est obtenu une présence des tanins par une quantité important et d'autre part, une absence des composé réducteur.

4.Evaluation de l'activité antimicrobienne:

4.1. Méthode de diffusion sur disques:

Les résultats de l'activité antibactérienne in vitro l'extrait hydrométhanoliques de la plante étudiée sont confiés dans le tableau 07 et la figure 16.

Tableau 07: Diamètres de zone d'inhibition obtenues par différentes concentrations de l'extrait de *Juniperus oxycedrus* vis-à-vis des les souches microbiennes testées.

Concentration(mg/ml)		Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
		Solution mère	125	50	25
Gram +	<i>S.aureus</i>	0	0	0	0
	<i>B.cereus</i>	19	16	Largeur:20	16
				Longueur : 17	
<i>E.faecalis</i>	0	0	0	0	
Gram -	<i>E. coli</i>	0	0	0	0
	<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0
	<i>K. pneumonia</i>	0	0	0	0
	<i>S. monteridea</i>	0	0	0	0
<i>C. albicans</i> ATCC10231		0	0	0	0
<i>C. albicans</i> IP 444		0	0	0	0

0 : aucune zone d'inhibition

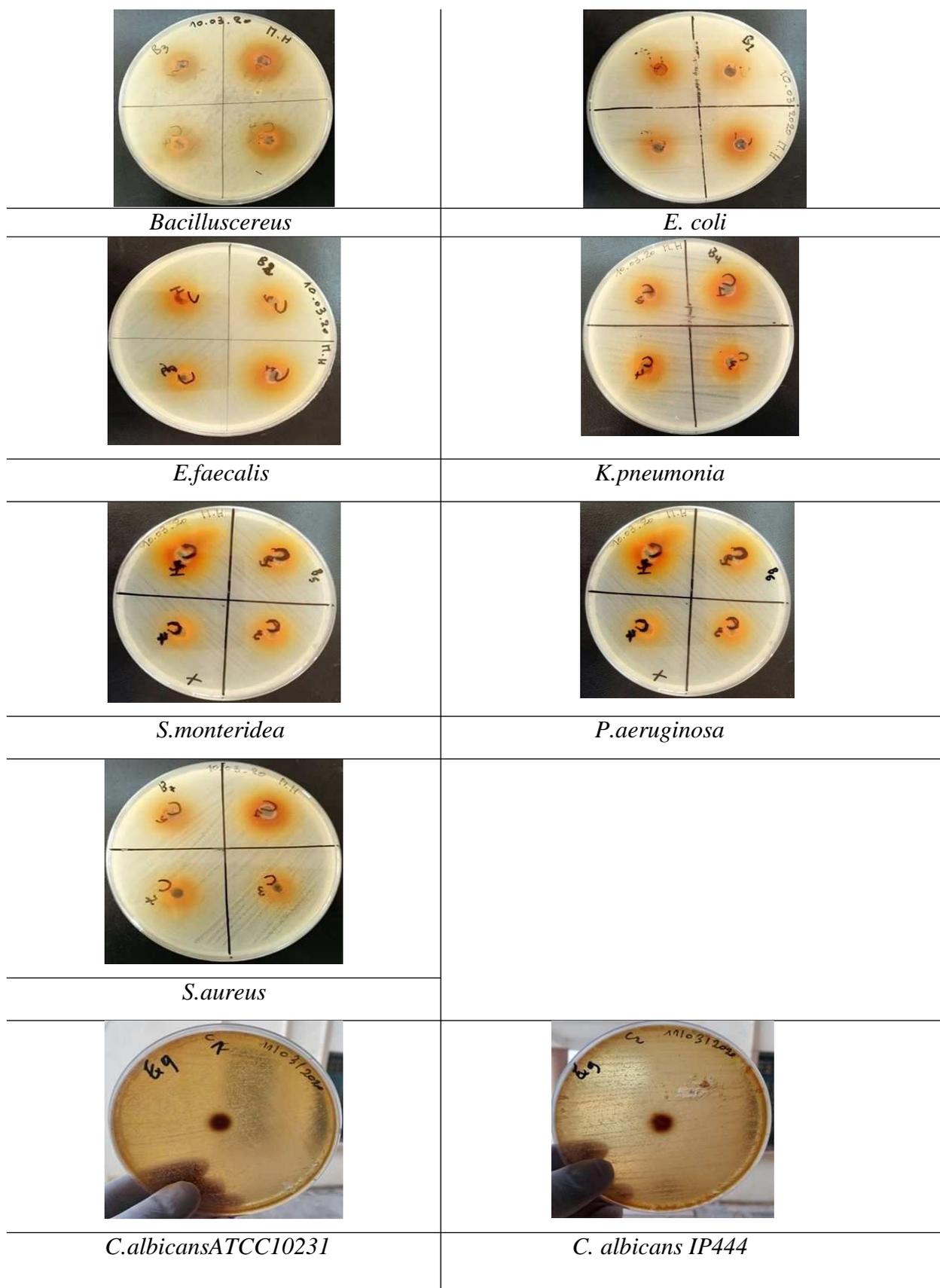


Figure 16: Résultats obtenus par la méthode de diffusion des disques de l'extrait hydrométhanolique à différentes concentrations vis-à-vis des souches bactériennes testées

Les résultats obtenus montrent que la souche *Bacillus cereus* est la seule souche sensible à l'extrait de la plante étudiée, estimée par une zone d'inhibition de 19 mm à la concentration mère (500mg/ml), une zone d'inhibition de 16 mm à la concentration (125mg/ml), et une zone d'inhibition de 20mm à la largeur et de 17mm de longueur à la concentration (50mg/ml), une zone d'inhibition de 16mm à la concentration (25mg/ml). Dans d'autre étude **Bensegueni (2001)** sur l'huile de cade de *Juniperus oxycedrus* trouvé une inhibition très importante de la croissance aussi bien de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d inhibition de 24 mm et d'*Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition de 22 mm, et une action inhibitrice complète sur la croissance de *Candida albicans*. Ils ont montré aussi que l'huile de cade de *Juniperus oxycedrus* est un excellent agent bactéricide et fongicide, qui confirme les indications justifiées de cette drogue dans son utilisation traditionnelle très répandue en Afrique du Nord.

4.2. Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques:

Les antibiotiques sont utilisés comme des références. Les résultats ont montré une absence de l'activité inhibitrice de croissance de toutes les souches bactériennes testés à l'exception de l'antibiotique Gentamicine. Les résultats sont résumés dans le tableau 08. Nous avons enregistré une zone d'inhibition de l'ordre de 17 mm de Gentamicine vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 11778. En revanche, aucune zone n'a été détectée pour les autres antibiotiques vis-à-vis toutes les souches testées (Figure 17).

Tableau 08: Diamètres de zone d'inhibition obtenues par différentes concentrations de l'extrait hydrométhanolique vis-à-vis les souches testées.

Concentration(mg/ml)		Diamètres des zones d'inhibition (mm)			
		Gentamicine	Lincomycine	Amoxyciline	Ampiciline
Gram +	<i>S.aureus</i>	16	0	0	0
	<i>B.cereus</i>	17	0	0	0
	<i>E.faecalis</i>	13	0	0	0
Gram -	<i>E. coli</i>	14	0	0	0
	<i>P. aeruginosa</i>	14	0	0	0
	<i>k. pneumonia</i>	13	0	0	0
	<i>S. monteridea</i>	14,5	0	0	0
<i>C. albicans ATCC10231</i>		0	0	0	0
<i>C. albicans IP 444</i>		0	0	0	0

0 : aucune zone d'inhibition

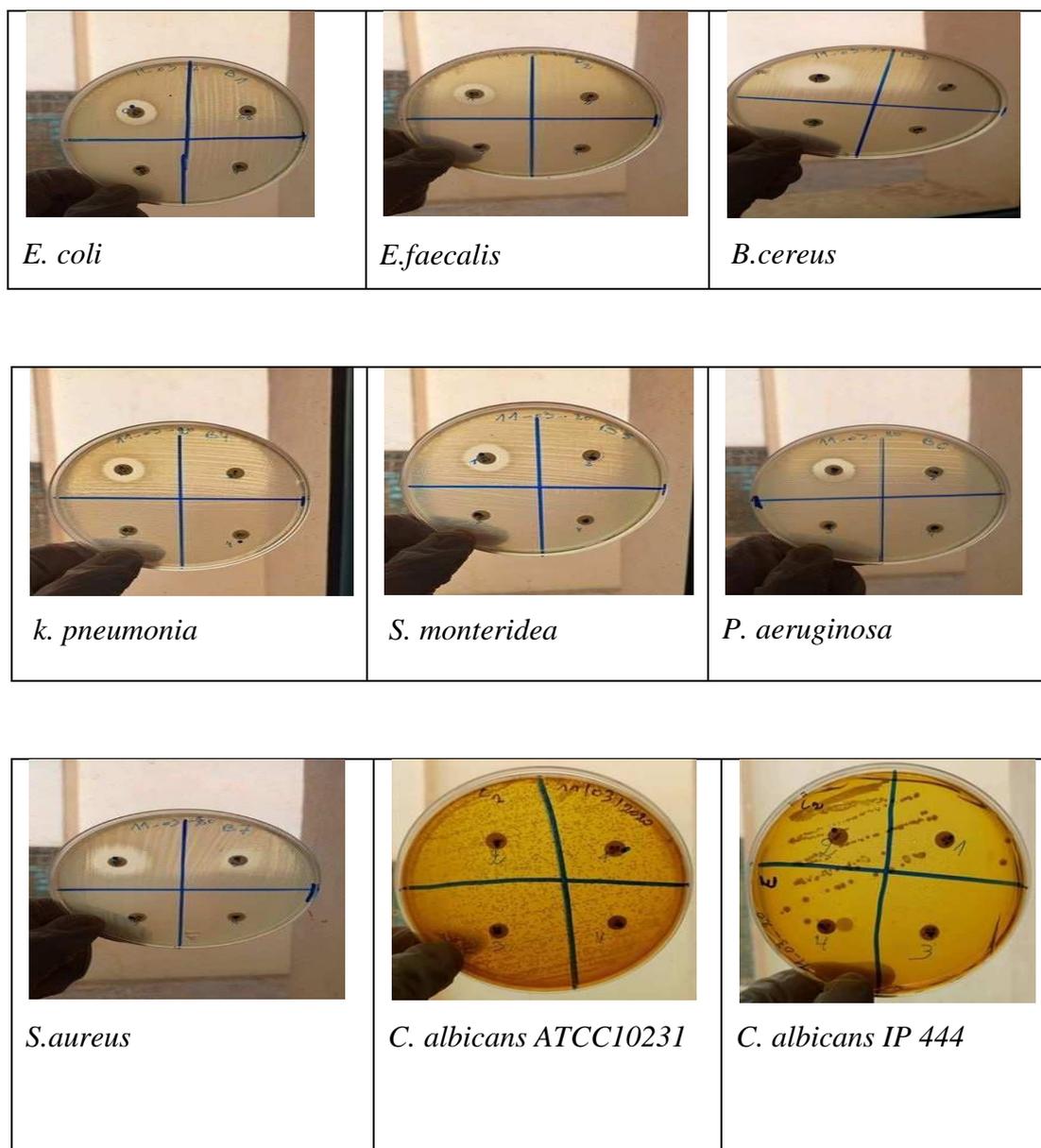


Figure 17: les zones d'inhibition par l'antibiotique.

4.3. Comparaison de l'activité d'extraits à celle d'antibiotiques témoins

Nous avons testé la sensibilité des souches étudiées à certains antibiotiques couramment utilisés comme produits de référence. Gentamicine se caractérise par une forte activité inhibitrice de croissance sur la bactérie *Bacillus cereus*, laquelle est matérialisée par des diamètres d'inhibition moins importants de 17 mm comparativement à ceux obtenus avec l'extrait hydrométhanolique de 20 mm.

La Gentamicine était inactive sur *Staphylococcus aureus* ATCC 259231292, *Bacillus cereus* ATCC11778, *Enterococcus faecalis* ATCC49452, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCCP27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC70603, *Salmonella*

monteridea ATCC3581. Il donne respectivement un diamètre d'inhibition de 16 mm au *Staphylococcus aureus* ; 17 mm au *Bacillus cereus* et 13 mm au *Enterococcus faecalis* ; 14 mm au *Escherichia coli* ; 14 mm au *Pseudomonas aeruginosa* ; 13 mm au *Klebsiella pneumoniae* ; 14.5 mm au *Salmonella monteridea*, tandis que l'ampicilline, l'amoxicilline et le lincomycine n'ont exercé aucune action antibiotique sur les bactéries et les levures. L'extrait hydrométhanolique a montré une zone d'inhibition supérieur à celle obtenue de l'antibiotique standard, la Gentamicine vis-à-vis de la souche *Bacillus cereus* ATCC11778 (Figure18)

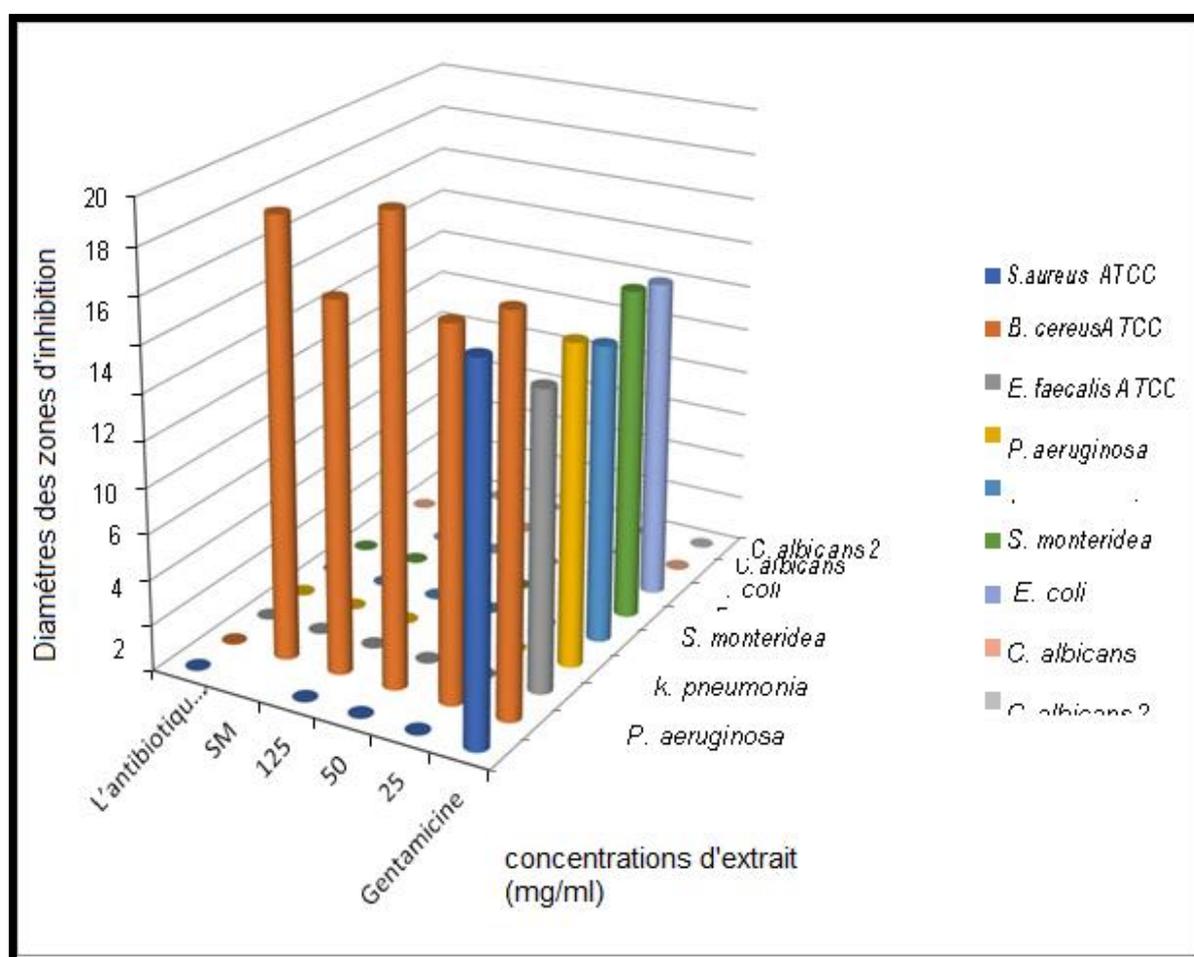


Figure 18 : Effet antimicrobien d'antibiotique Gentamicine et les différentes concentrations d'extrait hydrométhanolique

4.4. Détermination de la CMI:

Après la mise en évidence de l'activité microbiennes de nos extrait hydrométhanolique par la méthode de diffusion sur gélose, nous avons essayé de déterminer les concentrations minimales inhibitrices CMI relatives aux extraits (Tableau09).

Tableau 09: Les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait hydrométhanolique de *Juniperus oxycedrus*

Microorganismes	CMI (mg/ml)
<i>E. coli</i>	250
<i>E. faecalis</i>	500
<i>B. cereus</i>	250
<i>K. pneumonia</i>	500
<i>S. monteridea</i>	250
<i>P. aeruginosa</i>	250
<i>C. albicans ATCC10231</i>	1000

D'après les résultats consignés dans le tableau 08 les concentrations minimales inhibitrices obtenues de l'extrait méthanolique de *Juniperus oxycedrus* varient de 250 à 1000 mg/ml pour les bactéries à gram positif et les bactéries à gram négatif et levures. L'extrait exerce une activité inhibitrice vis-à-vis des bactéries testées.

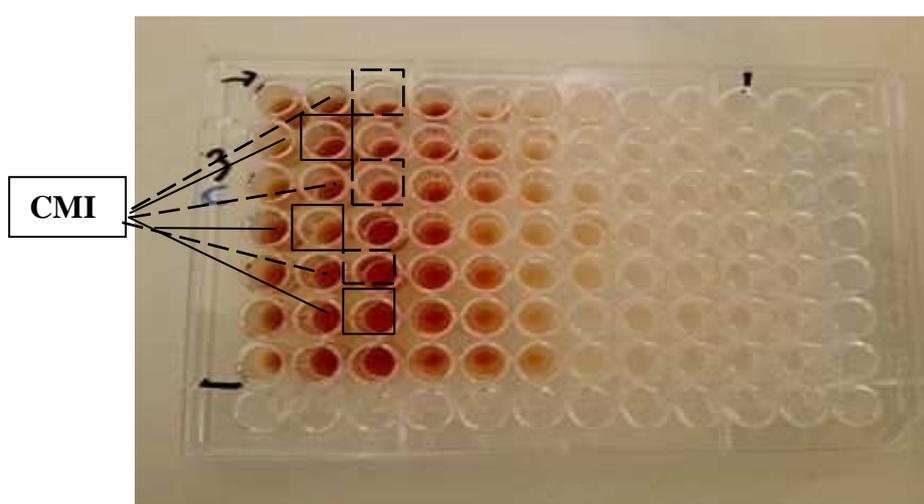


Figure 19: Les concentrations minimales inhibitrices de l'extrait méthanolique sur les souches bactériennes

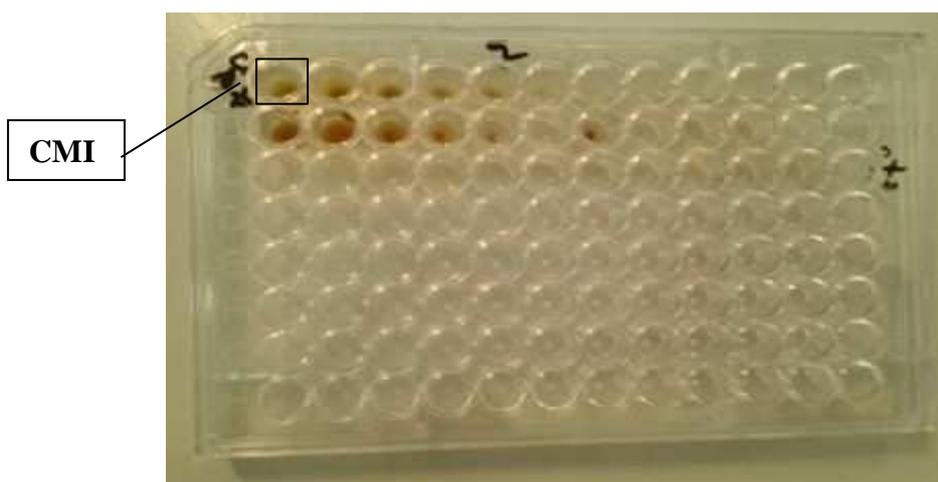


Figure 20: La concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique sur la *C. albicans*.

Karaman et al. (2003) ont trouvé que la concentration minimale inhibitrice de l'extrait méthanolique de *Juniperus oxycedrus* est :

- 250 mg/ml pour : *E. coli*, *B. cereus* et *S.aureus*.
- 125 mg/ml pour *P.aeruginosa*.
- 31,25 mg/ml pour *C.albicans*..

Il ont montré que l'extrait au méthanol de *J. oxycedrus* possède des composés aux propriétés antibactériennes et anticandidales qui peuvent être utilisés comme agents antimicrobiens dans de nouveaux médicaments pour le traitement des maladies infectieuses.

Conclusion

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de l'extrait des feuilles de *Juniperus oxycedrus* L. dans la cosmétique. Cette étude nous a permis de mettre en évidence la présence des différentes familles de composés chimiques dans les feuilles *Juniperus oxycedrus* L., ainsi que l'évaluation de activités antimicrobienne de l'extrait méthanolique. L'extraction hydrométhanolique des métabolites secondaires a révélé un rendement de 17,4%. Un screening phytochimique, en tant qu'analyse qualitative, a montré la présence dans l'organe étudié des plantes, les tanins, les composés réducteurs et les quinones.

D'autre part, l'activité antimicrobienne de l'extraits hydrométhanolique est évaluée par la méthode des diffusion sur gélose contre les nef souches microbiennes suivantes: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* , *Escherichia coli.*, *Salmonella monteridea*, *Klebsila peneumoea*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *candida albicans ATCC 10231* et *c.albicans IP 444*. Nous retenons que le macéré de Juneperus oxycedrus a une activité antibactérienne élevé sur la bactérie *Bacillus cereus*, Ce germe fait partir des principaux germes responsables des ulcères cutané tel que l'eczéma chronique et d'autres maladies de la peau. Par la suite, les CMI ont été déterminées par la méthode de micro-dilution montré un effet inhibiteur notable contre les souches utilisées à l'exception de *Staphylococcus aureus* et *C. albicans IP 444* qui sont les plus résistantes à extrait testé.

La concentration minimale inhibitrice déterminée de l'extrait hydrométhanolique vis-à-vis des souches étudiées a été varié entre 250 à 1000 mg /ml.

Nous allons faire du goudron de bois de notre plant puis extraire de l'huile de cade, et on fait une activité antioxydant de l'extrait hydrométhanolique et d'huile de cade puis l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile de cade. Dans le but de faire une crème de traitement de l'eczéma à base d'un conservateur naturel constitue par l'huile de cade et extrait hydrométhanolique.

Références bibliographiques

Abdellah, F., Laid, B., Hammoudi, S. M., and Benaraba, R.(2018). In vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant activities of *juniperus oxycedrus* essential oil (Cade oil).

Accarias, S. (2014). *Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Aharoni, A., Jongsma, M. A., and Bouwmeester, H. J. (2005). Volatile science? Metabolic engineering of terpenoids in plants. *Trends in plant science*, 10(12), 594-602.

Badiaga,M.(2011).*Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali* (Doctoral dissertation).

Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1),191-203.

Barbelet, S. (2015). Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle.

Barry, A. L. (2007). An overview of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and its impact on antimicrobial susceptibility tests. *Antimicrobial susceptibility testing protocols*, 1.

Beddou,F.(2015).Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes sahariennes de *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur

Belaoufi, F. E. (2016). dans les produits cosmétiques: quelles alternatives, quelle place des cosmétiques bio.

Benoît,M.(2015). enterocoques résistants à la vancomycine (ERV) : de grandes épidémies vers une gestion en routine.

Bensegueni-Tounsi, L.(2011). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de *Insula viscosa-Lawsonia inermis-Asphodelus microcarpus-Aloe vera-Juniperus oxycedrus*.

Bodjolle-d'Almeida, L. (2018). Intérêt des plantes issues de la biodiversité brésilienne et africaine dans les soins capillaires.

Bouakkaz, S. (2013). *Métabolites secondaires du figuier Ficus Carica L., Isolement, identification structurale, dosage par HPLC couplée à la spectrométrie de masse et activités biologiques* (Doctoral dissertation).

Boufellous, M., Lrhorfi, L. A., Berrani, A., Haoud, H. E., Zaher, A., Bouhaddioui, B., and Bengueddour, R. (2017). Phytochemical screening of a medicinal plant: *Lavandula stoechas* (Lamiaceae). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 56-62.

Boyom, F. F., Ngouana, V., Zollo, P. H. A., Menut, C., Bessiere, J. M., Gut, J., and Rosenthal, P. J. (2003). Composition and anti-plasmodial activities of essential oils from some Cameroonian medicinal plants. *Phytochemistry*, 64(7), 1269-1275.

Buzek, J., and Ask, B. (2013). SANTÉ ET CONSOMMATEURS: RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. *Revue du Droit de l'Union Européenne*, (4), 827.

Buzek, J., and Ask, B. (2013). SANTÉ ET CONSOMMATEURS: RÈGLEMENT (CE) No 1223/2009 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques. *Revue du Droit de l'Union Européenne*, (4), 827.

Chabrier, J. Y. (2010). *Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).

Chanforan, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation: études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Avignon.

Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., and Atik-Bekara, F. (2013). In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus*. *Phytothérapie*, 11(4), 244-249.

Chern, L. Y. (2013). Monoterpenes in plants-a mini review. *Asian Journal of Plant Biology*, 1(1), 15-19.

Cohen, Y., and Gleitz, C. (2009). *Les conservateurs dans les produits cosmétiques: cas des parabens et du phénoxyéthanol. Et que penser des produits cosmétiques"*

biologiques"? (Doctoral dissertation, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Université Joseph Fourier, Faculté de Grenoble).

Couic-Marinier, F., and Laurain-Mattar, D. (2018). Huile essentielle de Géranium rosat. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(581),57-59.

DE, P. L. D. D. E. (2018). *LES DERMO-COSMÉTIQUES STÉRILES: STÉRILISATION ET MAINTIEN DE LEUR STÉRILITÉ* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE TOULOUSEIII).

DE, P. L. D. D. E. (2018). *LES DERMO-COSMÉTIQUES STÉRILES: STÉRILISATION ET MAINTIEN DE LEUR STÉRILITÉ* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE TOULOUSEIII).

Debacker,M.(2018). CONSERVATION DES PRODUITS COSMETIQUES :EVOLUTIONS, RISQUES ASSOCIES ET STRATEGIES D'OPTIMISATION.

Degenhardt, J., Köllner, T. G., and Gershenzon, J. (2009). Monoterpene and sesquiterpene synthases and the origin of terpene skeletal diversity in plants. *Phytochemistry*, 70(15-16), 1621-1637.

Derwich,E.L.H.O.U.S.S.I.N.E.,andChabir,R.A.C.H.I.D.A.(2011).Identification of the volatile constituents of the essential oil of *Juniperus oxycedrus* (Cupressaceae) from the north centre region of Morocco. *Asian J Pharm Clin Res*, 4(1),50-54.

Desplan, D. (2018). *Caractérisation rhéologique multi-échelle des émulsions cosmétiques pour leur stabilité et leur conservation* (Doctoral dissertation).

Dev, S. (1989). Terpenoids. In *Natural products of woody plants* (pp. 691-807). Springer, Berlin, Heidelberg.

Dixon, R. A., and Pasinetti, G. M. (2010). Flavonoids and isoflavonoids: from plant biology to agriculture and neuroscience. *Plant Physiology*, 154(2), 453-457.

El Hachimi, F., El Antari, A., Boujnah, M., Bendrisse, A., and Alfaiz, C. (2015). Comparaison des huiles des graines et de la teneur en acides gras de différentes populations marocaines de jujubier, de grenadier et de figuier de barbarie. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(5), 1488-1502.

El Kirat, S. (2010). *Développement d'outils cellulaires et moléculaires pour l'étude des interactions Candida-phagocytes; Application à la caractérisation du gène OLE2 codant une désaturase chez C. lusitaniae* (Doctoral dissertation, Bordeaux 2).

Glasset, B. (2016). *Approche combinatoire pour la caractérisation des souches de Bacillus cereus à l'origine d'infections chez l'Homme* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).

Goetz, P. (2007). Introduction: de la cosmétique à la phytocosmétologie thérapeutique. *La phytocosmétologie thérapeutique*, 1-9.

Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-Sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-Salam, E. M., Qahtan, A. A., Alatar, A. A ; Cantini, C ; Cai, G ; Hausman, J-F ;and Siddiqui, K. S. (2018). Production of plant secondary metabolites: Examples, tips and suggestions for biotechnologists. *Genes*, 9(6), 309.

HADDOUCHI, F., and BENMANSOUR, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).

Haddouchi, F., Chaouche, T. M., and Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.

Halla, N., Fernandes, I. P., Heleno, S. A., Costa, P., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Rodrigues, A.E ; Ferreira, C. F. R. and Barreiro, M. F. (2018). Cosmetics preservation: a review on present strategies. *Molecules*, 23(7), 1571.

Hellal Z, (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extradites des Citrus. Application sur la sardine (Sardine pilchardus). Mémoire magister option ; Biochimie Appliquée et Biotechnologies. Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

Hayta, S., and Bagci, E. (2014). Essential oil constituents of the leaves, bark and cones of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus L. from Turkey. *Acta botanica gallica*, 161(2), 201-207.

Hind Djebaili, H., and Zellagui, A. (2013). L'Effet des facteurs d'environnement sur la variation de quelques métabolites secondaires chez deux espèces médicinales.

Jandi, M. (2017). Plantes médicinales en dermatologie et en cosmétologie: Enquête au près des herboristes de la région de Béni Mellal

- Kadri,H.(2015).** Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne
- Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., and Adıgüzel, A. (2003).** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of ethnopharmacology*, 85(2-3), 231-235.
- Kerdudo, A. (2014).** *Optimisation de la conservation des cosmétiques: impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation* (Doctoral dissertation).
- Koné, D. (2009).** *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d' alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante* (Doctoral dissertation).
- Koul ,H ;Khier,A.(2019).** inventaire et caractérisation des plantes spontanées médicinales dans la région cherchale la -wilaya de Tipaza-(Doctoral dissertation).
- Krief, S. (2003).** *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées* (Doctoral dissertation, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).
- Lammi, S.(2011).** Recherche de substances à activités antimicrobiennes (antibactériennes et anticandidoses) produites par des souches levuriennes isolées des sols sahariens.
- Legrand, G. (2015).** *Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniqueschezlachicorée:approchesbiochimiqueetmoléculaire*(Doctoraldissertation, Lille1).
- Loizzo,M.R.,Tundis,R.,Conforti,F.,Saab,A.M.,Statti,G.A.,andMenichini,F.(2007).** Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chemistry*, 105(2), 572- 578.
- Loizzo,M.R.,Tundis,R.,Conforti,F.,Saab,A.M.,Statti,G.A.,andMenichini,F.(2007).** Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food Chemistry*, 105(2), 572- 578.

Lundov, M. D., Moesby, L., Zachariae, C., and Johansen, J. D. (2009). Contamination versus preservation of cosmetics: a review on legislation, usage, infections, and contact allergy. *Contact Dermatitis*, 60(2), 70-78.

Manolaraki, F. (2011). *Propriétés anthelminthiques du sainfoin (Onobrychis viciifoliae): Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués* (Doctoral dissertation).

Mansouri,N.,Satrani,B.,Ghanmi,M.,ElGhadraoui,L.,Guedira,A.,andAafi,A.(2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de Juniperus communis du Maroc. *Bulletin de la société royale des sciences deliège*.

MAZARI, K.(2009).*Etude phytochimique et pouvoir antîmicrobien de Juniperusphoenicea L., Juniperus oxycedrus L. et Cupressus sempervirens L. de la région de Tlemcen* (Doctoral dissertation).

Maziane, A. (2011). *Cosmetique et cosmeceutiques* (Doctoral dissertation).

Medini, H., Manongiu, B., Aicha, N., Chekir-Ghedira, L., Harzalla-Skhiri, F., and Khouja,M.L.(2013).ChemicalandAntibacterialPolymorphismofJuniperusoxycedrusssp. oxycedrus and Juniperus oxycedrus ssp. macrocarpa (Cupressaceae) Leaf Essential Oils from Tunisia. *Journal ofChemistry*.

Medini, H., Marzouki, H., Chemli, R., Khouja, M. L., Marongiu, B., Piras, A. L. E. S.S.A. N. D. R. A.,Porcedda,S ;and Tuveri, E. (2009). Comparison of the antimicrobial activity and the essential oil composition of Juniperus oxycedrus subsp. macrocarpa and J. oxycedrus subsp. rufescens obtained by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide extraction methods. *Chemistry of natural compounds*, 45(5), 739.

Miara, M. D., Hammou, M. A., and Aoul, S. H. (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11(4), 206-218.

Moutier,L(2018). les substances à risque dans les produits cosmétiques (Doctoral disserta-tion).

Muhammed, H. J. (2011). Bacterial and fungal contamination in three brands of cosmetic marketed in Iraq. *Iraqi Journal of Pharmaceutical Sciences (P-ISSN: 1683-3597, E-ISSN: 2521-3512)*, 20(1), 38-42.

Mussard, J. (2006). *Les parabens, des conservateurs omniprésents: un risque pour la santé* (Doctoral dissertation, Thèse doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Nante, France).

N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., and Aké-Assi, L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).

Neza, E., and Centini, M. (2016). Microbiologically contaminated and over-preserved cosmetic products according Rapex 2008–2014. *Cosmetics*, 3(1), 3.

Pham, H. N. (2017). *Impact des métabolites secondaires de plantes sur des bactéries pathogènes de la rhizosphère: existe-t-il un lien entre la résistance aux métaux et la modulation de la résistance aux antibiotiques?* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).

Quezel, P., and Gast, M. (1998). Genévrier. *Encyclopédie berbère*, 3016-3023.

Rakotondrazafy, B. N., and Ittah, B. E. (2007). *Cosméto Scientifique*.

Ramawat, K. G., and Mérillon, J. M. (Eds.). (2013). *Natural products: phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes* (pp. 1541-2662). Heidelberg, Germany:: Springer.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

ROSADO, C., and MONTEIRO RODRIGUES, L. (2006). Assessment of dry skin using dynamic methods. *Journal of applied cosmetology*, 24(4), 149-157.

Royer, M. (2013). *Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs* (Doctoral dissertation).

Sanchez de Medina F, Gamez M. J, Jimenez I, Jimenez J, Osuna J. I, Zarzuelo A, (1994). Hypoglycemic activity of juniper berries. *Planta Medica* (60) :197-200.

Swanston-Flatt S. K, Day C, Bailey C. J, Flatt P. R, (1990). Traditional plant treatments for diabetes. Studies in normal and streptozotocin diabetic mice. *Diabetologia*(33) :462-464.

Seigler, D. S. (2012). *Plant secondary metabolism*. Springer Science & Business Media.

Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G., Cvetkovikj, I., Trajkovska-Dokikj, E., Kaftandzieva, A., and Kulevanova, S. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of berry essential oil of *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae) grown wild in Republic of Macedonia. *Македонско фармацевтско друштво, ул. Маршал Тито 13б/8, Скопје, Македонија Macedonian Pharmaceutical Association, Marshal Tito 13b/8, Skopje Macedonia*, 41.

Soares, A. (2015). Sensibilité de 291 souches de *Escherichia coli* urinaires à l'amoxicilline-acide clavulanique: quels résultats pour quelles méthodes?.

Springob, K., and Kutchan, T. M. (2009). Introduction to the different classes of natural products. In *Plant-Derived Natural Products* (pp. 3-50). Springer, New York, NY.

Sumit, K., Vivek, S., Sujata, S., and Ashish, B. (2012). Herbal cosmetics: used for skin and hair. *Inven. J*, 2012, 1-7.

Swamy, M. K., Akhtar, M. S., and Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Takaichi, S. (2013). Tetraterpenes: carotenoids. *Natural products. Springer, Berlin*, 3251-3283.

Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. In *Biotechnology of isoprenoids* (pp. 63-106). Springer, Cham.

Toty, A. A., Guessennd, N., Bahi, C., KRA, A. K. M., Tokore, D. A., and Dosso, M. (2013).

Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de l'écorce de tronc de *Harungana madagascariensis* sur la croissance de souches multi-résistantes. *Bulletin de la société royale des sciences de Liège*.

Varvaresou, A., Papageorgiou, S., Tsirivas, E., Protopapa, E., Kintziou, H., Kefala, V., and Demetzos, C. (2009). Self-preserving cosmetics. *International journal of cosmetic science*, 31(3), 163-175.

Wilson, L. A., and Ahearn, D. G. (1977). Pseudomonas-induced corneal ulcers associated with contaminated eye mascaras. *American journal of ophthalmology*, 84(1), 112-119.

Wink, M. (2008). Plant secondary metabolism: diversity, function and its evolution. *Natural Product Communications*, 3(8), 1934578X0800300801.

Annexe

→ Muller Hinton Agar

Infusion de viande de bœuf.....	04g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5
Amidon	1,5g
Agar	17g
Eau distillée.....	1000ml
PH.....	6,8

→ Bouillon Muller Hinton

Infusion de viande de bœuf.....	02g
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5g
Amidon	1.5g
Eau distillée.....	1000ml
PH.....	7.4

→ Eau physiologique

Nacl.....	09g
Eau distillée.....	1000 ml