



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2019

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{lle}. AMARA Nacima

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie fondamentale

THÈME

**Activité antimicrobienne des extraits phénoliques de
Juniperus phoenicea et *Glycyrrhiza glabra***

Soutenue publiquement le 01/10/2019

DEVANT LE JURY

| | | | |
|-----------|-------------|------------|---------------|
| Président | DJIBAOUI R. | Professeur | U. Mostaganem |
| Examineur | CHIBANI A. | Professeur | U. Mostaganem |
| Encadreur | ZERROUKI K. | MAA | U. Mostaganem |

Thème réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de biochimie et de microbiologie à l'université de Mostaganem, département de biologie.

Année universitaire : 2018/2019

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

{فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ (24) أَنَّا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا (25) ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا (26) فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا (27) وَعَيْنًا وَقَضْبًا (28) وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا (29) وَحَدَائِقَ غُلْبًا (30) وَفَاكِهَةً وَأَبًّا (31) مَّتَاعًا لَّكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ (32)}

سورة عبس (24 - 32)

Le véritable voyage de découverte ne consiste pas à chercher de nouveaux paysages mais à avoir de nouveaux yeux.

Marcel Proust

Dédicaces

Louange et gloire à ALLAH le Tout Puissant qui ma permis de mener à bien ce travail.

J'ai le grand honneur de dédier ce fruit de mes années d'études universitaires :

A mes très chers parents, mon bonheur dans cette vie, si je suis arrivée l'âge, c'est bien grâce à vous. Quoique je fasse, je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi.

Je vous dois ma réussite, mon éducation, et ma fierté.

Qu'Allah Tout Puissant vous protège et puisse vous accorder la pleine santé, le plein bonheur et vous donne une longue vie.

*A mes très chers frères **Abd El-wahid, Mohamed El-amine & Kheir El-dine Zakaria**, je vous aime. Qu'Allah vous protège et vous accorde une longue vie et une bonne santé.*

*A mon très cher **oncle Houari**.*

Qu'Allah Tout Puissant vous donne longue vie, beaucoup de santé et vous protège du mal.

A la mémoire de ma grand-mère, paix à son âme. On ne t'oubliera jamais chère Mima.

A mes très chères tantes et cousines.

A toutes mes amies.

A tous mes collègues de promotion.

*A toute la famille **AMARA** et la famille **BELAROUCI**.*

A tous les personnes que j'aime.

A. Nacima

Remerciements

{الحمد لله الذي هدانا لهذا وما كنا لنهتدي لولا أن هدانا الله}

Je remercie tout d'abord **ALLAH** Le Tout Puissant de m'avoir donné la force, la patience et la volonté pour mener à bien ce modeste travail.

Je remercie très chaleureusement ma directrice de mémoire M^{lle} Zerrouki Kheira, Maitre assistante A à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Merci pour votre disponibilité et votre encadrement efficace. Merci pour votre compréhension, votre aide, vos précieux conseils et votre grande gentillesse. Merci pour la confiance que vous m'avaient témoigné tout au long de cette étude, tout en y gardant un œil critique et avisé et merci également d'avoir eu la patience de corriger ce mémoire. Soyez assurée de ma profonde gratitude.

Mes vifs remerciements vont également aux membres de jury qui nous ont fait le grand plaisir d'accepter d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Je remercie M^r Djibaoui Rachid, professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je remercie également M^r Chibani Abdelouahab, professeur à l'université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à l'ensemble des techniciens et ingénieurs au niveau des laboratoires de département de biologie pour leur aide et encouragements

Je profite aussi pour remercier particulièrement tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation pendant mon cursus universitaire.

J'adresse mes remerciements et ma plus profonde gratitude à mes très chers parents et mes frères, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.

En fin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je les remercie du fond du cœur.

الملخص

استناداً إلى حقيقة أن النباتات الطبية تمثل مصدراً لا ينضب من المواد الطبيعية النشطة بيولوجياً و للبحث عن علاج أفضل دون آثار جانبية، ركزت دراستنا أساساً على تقييم الإمكانيات المضادة للميكروبات لنبتتين طبيبتين تنتميان إلى نباتات البحر الأبيض المتوسط الجزائرية، و هما نبات العرعار *Juniperus phoenicea* و نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra*.

أعطت عملية استخلاص المركبات الفينولية ، بالنقع، من الأوراق و الثمار المجففة لنبات العرعار و من الجذور المجففة لنبات عرق السوس عائدات كل من 56.15% ؛ 41.40% على التوالي بالمذيب ميثانول/ماء بنسبة 70% (حجم/حجم) و 52.45% ؛ 42.30% بالمذيب إيثانول/ماء بنسبة 70% (حجم/حجم).

يظهر التحليل الكمي للمركبات الفينولية أن المستخلص الهيدروميثانولي أكثر ثراء من المستخلص الهيدرو إيثانولي، لكلا من النبتتين، بحيث تركيز الفينول الكلي لدى نبات العرعار سجل بقيمة 122.88 ملغ/جم و لدى نبات عرق السوس سجل بقيمة 120.54 ملغ/جم أما بالنسبة لتركيز الفلافونويد لدى كلا من نبات العرعار و عرق السوس سجل بقيمة 15.48 ملغ/جم ؛ 14.01 ملغ/جم على التوالي، بخصوص تركيز العفص(tannin) المكثف لكلا من نبات العرعار و عرق السوس سجل بقيمة 42.34 ملغ/جم ، 40.14 ملغ/جم على التوالي.

أظهرت نتائج تقييم النشاط المضاد للميكروبات أن المستخلص الهيدروميثانولي لنبات العرعار *Juniperus phoenicea* و نبات عرق السوس *Glycyrrhiza glabra* و كذلك المستخلص المدمج (مستخلص نبات العرعار مضاف له مستخلص نبات عرق السوس) أنهم يتمتعون بفعالية مضادة لنوع من البكتريا *S. aureus* في حين تغيب فعاليتهم ضد كل من الأنواع التالية *P. aeruginos* و *E. coli* و *C. albicans*. أعطت نتائج تحديد CMI و CMB قيم 10 ملغ/مل ؛ 80 ملغ/مل على التوالي مع المستخلص الهيدروميثانولي لنبات العرعار و قيم 20 ملغ/مل ؛ 80 ملغ/مل على التوالي مع المستخلص الهيدروميثانولي لنبات عرق السوس و قيم 2.5 ملغ/مل ؛ 20 ملغ/مل مع المستخلص المدمج لكلا من النبتتين الطبيبتين.

الكلمات المفتاحية : *Juniperus phoenicea* ؛ *Glycyrrhiza glabra* ؛ المركبات الفينولية ؛ النشاط المضاد للميكروبات ؛ المستخلص المدمج.

Abstract

Our study focused mainly on the evaluation of the antimicrobial potential of two medicinal plants belonging to the Algerian Mediterranean flora, namely, *Juniperus phoenicea* and *Glycyrrhiza glabra*.

Extraction by maceration of the phenolic compounds from the dried leaves and berries of *Juniperus phoenicea* and dried roots of *Glycyrrhiza glabra* gave respective yields of 56.15%, 47.40% with methanol/water at 70% and 52.45% 42.30% with ethanol/water at 70%. The quantitative analysis of the phenolic compounds shows that the hydromethanic extract of both plants is richer than the hydroethanolic extract with a content of 122.88 \pm 6.64 mg EAG/g dw and 120.54 \pm 3.35 mg EAG/g dw in total phenols, 15.48 \pm 4.97 mg EQ/g dw, 14.01 \pm 8.57 mg EQ/g dw in flavonoids and 42.34 \pm 10.15 mg EC/g dw, 40.14 \pm 14.78 mg EC/g dw in condensed tannins, with *J. phoenicea* and *G. glabra* respectively.

The results of the antimicrobial activity evaluation showed that the hydromethanolic extract of *J. phoenicea*, *G. glabra* and their association were found to be active against *S. aureus* ATCC 33862, and inactive against *P. aeruginosa* ATCC 2785, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231. The results of the determination of MIC and MBC have given values of 10 mg/ml, 80 mg/ml respectively with the hydromethanolic extract of *J. phoenicea* and values of 20 mg / ml. 80 mg/ml respectively with the hydromethanic extract of *G. glabra* and values of 2.5 mg/ml, 20 mg/ml with the associated extract of the two medicinal plants.

Key words: *Juniperus phoenicea*, *Glycyrrhiza glabra*, phenolic compounds, antimicrobial activity, associated extracts.

Résumé

Notre étude s'est focalisée essentiellement sur l'évaluation du potentiel antimicrobien de deux plantes médicinales appartenant à la flore méditerranéenne algérienne, à savoir, *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*.

L'extraction par macération des composés phénoliques des feuilles et baies séchées de *Juniperus phoenicea* et racines séchées de *Glycyrrhiza glabra* a donné des rendements respectifs de 56.15%, 47.40% avec méthanol/eau à 70% et 52.45%, 42.30% avec éthanol/eau à 70%. L'analyse quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait hydrométhanolique, des deux plantes, est plus riche que l'extrait hydroéthanolique avec un taux de 122.88 ± 6.64 mg EAG/g ms et 120.54 ± 3.35 mg EAG/g ms en polyphénols totaux, 15.48 ± 4.97 mg EQ/g ms, 14.01 ± 8.57 mg EQ/g ms en flavonoïdes et des teneurs de 42.34 ± 10.15 mg EC/g ms, 40.14 ± 14.78 mg EC/g ms en tannins condensés, avec *J. phoenicea* et *G. glabra* respectivement.

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antimicrobienne ont montré que l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea*, de *G. glabra* et leur association se sont révélés actifs à l'égard de *S. aureus* ATCC 33862, alors les souches (*P. aeruginosa* ATCC 2785, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231) ont présenté une résistance à ces molécules extraites. Les résultats de la détermination du CMI et CMB ont permis de donner des valeurs de 10 mg/ml, 80 mg/ml respectivement avec l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea* et des valeurs de 20 mg/ml, 80 mg/ml respectivement avec l'extrait hydrométhanolique de *G. glabra* et des valeurs de 2.5 mg/ml, 20 mg/ml avec l'extrait associé des deux plantes médicinales.

Mots clés : *Juniperus phoenicea*, *Glycyrrhiza glabra*, composés phénoliques, activité antimicrobienne, extraits associé.

Table des matières

Table des matières

| | |
|-----------------------------------|----------|
| Dédicaces | |
| Remerciements | |
| المخلص..... | i |
| Abstract..... | ii |
| Résumé..... | iii |
| Liste des abréviations..... | iv |
| Liste des figures..... | v |
| Liste des tableaux..... | vii |
| Introduction générale..... | 1 |

Chapitre I. Revue bibliographique

Partie 1 : Résistance microbienne

| | |
|--|---|
| I.1.1 La résistance aux antibiotiques..... | 3 |
| I.1.1.1 définition de l'antibiorésistance..... | 3 |
| I.1.1.2 Types de la résistance aux antibiotiques..... | 3 |
| I.1.1.2.1 Résistance naturelle..... | 3 |
| I.1.1.2.2 Résistance acquise..... | 3 |
| I.1.1.3 Facteurs contribuant à l'émergence et la propagation de la résistance..... | 4 |
| I.1.1.4 Les antibiotiques..... | 4 |
| I.1.1.4.1 Définition..... | 4 |
| I.1.1.4.2 Principales classes d'antibiotiques..... | 5 |
| I.1.2 La résistance aux antifongiques..... | 6 |
| I.1.2.1 Définition..... | 6 |
| I.1.2.2 Types de la résistance aux antifongiques..... | 6 |
| I.1.2.2.1 Résistance intrinsèque..... | 6 |
| I.1.2.2.2 Résistance acquise..... | 6 |
| I.1.3 Mécanismes de la résistance microbienne..... | 7 |
| I.1.4 Principaux microorganismes pathogènes étudiés..... | 7 |
| I.1.4.1 <i>Escherichia coli</i> | 7 |
| I.1.4.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 7 |
| I.1.4.3 <i>Staphylococcus aureus</i> | 8 |
| I.1.4.4 <i>Candida albicans</i> | 8 |

Partie 2 : Phytothérapie et plantes médicinales

| | |
|--|----|
| I.2.1 Histoire..... | 9 |
| I.2.2 La phytothérapie..... | 9 |
| I.2.2.1 Définition..... | 9 |
| I.2.2.2 Les grands types de la phytothérapie..... | 9 |
| I.2.2.3 Notion de l'aromathérapie..... | 10 |
| I.2.3 Répartition des plantes médicinales en Algérie et dans le monde..... | 10 |
| I.2.4 Composition chimique des plantes..... | 10 |
| I.2.5 Plantes médicinales étudiés..... | 12 |
| I.2.5.1 <i>Juniperus phoenicea</i> L..... | 12 |
| I.2.5.1.1 Description botanique..... | 13 |
| I.2.5.1.2 Taxonomie..... | 13 |
| I.2.5.1.3 Distribution géographique..... | 14 |
| I.2.5.1.4 Les activités biologiques..... | 14 |
| I.2.5.1.5 Usages thérapeutiques..... | 15 |
| I.2.5.2 <i>Glycyrrhiza glabra</i> L..... | 15 |
| I.2.5.2.1 Description botanique..... | 16 |
| I.2.5.2.2 Taxonomie..... | 17 |
| I.2.5.2.3 Distribution géographique..... | 17 |
| I.2.5.2.4 Les activités biologiques..... | 18 |
| I.2.5.2.5 Usages thérapeutiques..... | 18 |

Partie 3 : Les polyphénols

| | |
|---|----|
| I.3.1 Structure chimique..... | 19 |
| I.3.2 Principales classes des polyphénols..... | 20 |
| I.3.2.1 Acides phénoliques..... | 20 |
| I.3.2.2 Flavonoïdes..... | 21 |
| I.3.2.3 Tannins..... | 22 |
| I.3.2.3.1 Tannins hydrolysables..... | 22 |
| I.3.2.3.2 Tannins condensés..... | 22 |
| I.3.3 Extraction des polyphénols..... | 23 |
| I.3.4 L'activité antimicrobienne des polyphénols..... | 23 |
| I.3.5 Le mécanisme d'action des polyphénols..... | 24 |
| I.3.5.1 Action sur les enzymes..... | 24 |
| I.3.5.2 Chélation des métaux..... | 24 |

| | |
|--|----|
| I.3.5.3 Action sur le métabolisme énergétique..... | 24 |
| I.3.6 L'importance des polyphénols en nutrition..... | 24 |
| I.3.7 L'importance des polyphénols en médecine..... | 25 |
| I.3.7. 1 Polyphénols et cancer..... | 25 |
| I.3.7.2 Polyphénols et diabète..... | 25 |
| I.3.7.3 Polyphénols et autres pathologies..... | 26 |

Chapitre II. Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| II.1 Matériel végétal..... | 27 |
| II.1.1 Origine et préparation des plantes étudiées..... | 27 |
| II.1.2 Extraction des polyphénols..... | 29 |
| II.1.2.1 Mode opératoire..... | 29 |
| II.1.2.2 Expression des résultats..... | 29 |
| II.1.3 Dosage des polyphénols totaux..... | 31 |
| II.1.3.1 Principe..... | 31 |
| II.1.3.2 Préparation de la droite étalon d'acide gallique..... | 31 |
| II.1.3.3 Procédure du dosage..... | 31 |
| II.1.3.4 Expression des résultats..... | 32 |
| II.1.4 Dosage des flavonoïdes..... | 32 |
| II.1.4.1 Principe..... | 32 |
| II.1.4.2 Préparation de la droite étalon de la quercétine..... | 33 |
| II.1.4.3 Procédure du dosage..... | 33 |
| II.1.4.4 Expression des résultats..... | 33 |
| II.1.5 Dosage des tannins condensés..... | 34 |
| II.1.5.1 Principe..... | 34 |
| II.1.5.2 Préparation de la droite étalon de la catéchine..... | 34 |
| II.1.5.3 Procédure du dosage..... | 34 |
| II.1.5.4 Expression des résultats..... | 35 |
| II.2 Préparation du matériel biologique..... | 35 |
| II.2.1 Origine et réactivation des souches microbiennes utilisées..... | 35 |
| II.2.2 Les tests de confirmation des souches microbiennes..... | 36 |
| II.3 L'évaluation de l'activité antimicrobienne..... | 36 |
| II.3.1 Préparation des suspensions microbiennes (pré-culture)..... | 36 |

| | |
|--|----|
| II.3.2 Tests de l'évaluation de l'activité antimicrobienne..... | 37 |
| II.3.2.1 Méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme)..... | 37 |
| II.3.2.2 Méthode de macro-dilution en milieu liquide..... | 39 |
| II.3.2.2.1 Détermination de la CMI..... | 39 |
| II.3.2.2.2 Détermination de la CMB..... | 40 |

Chapitre III. Résultats et discussion

| | |
|---|-----------|
| III.1 Résultat de l'extraction et dosage des composés phénoliques..... | 41 |
| III.1.1 Résultat de l'extraction..... | 41 |
| III.1.2 Rendement de l'extraction..... | 41 |
| III.1.3 Teneurs en polyphénols totaux..... | 42 |
| III.1.3.1 Droite d'étalonnage de l'acide gallique..... | 42 |
| III.1.3.2 Résultat du dosage des polyphénols totaux..... | 42 |
| III.1.4 Teneurs en flavonoïdes..... | 45 |
| III.1.4.1 Droite d'étalonnage de la quercétine..... | 45 |
| III.1.4.2 Résultat du dosage des flavonoïdes..... | 45 |
| III.1.5 Teneurs en tannins condensés..... | 48 |
| III.1.5.1 Droite d'étalonnage de la catéchine..... | 48 |
| III.1.5.2 Résultat du dosage des tannins condensés..... | 48 |
| III.2 Résultat du test de confirmation des souches microbiennes étudiées..... | 50 |
| III.2.1 Aspect macroscopique..... | 50 |
| III.2.2 Aspect microscopique..... | 51 |
| III.3 Résultat de l'évaluation de l'activité antimicrobienne..... | 52 |
| III.3.1 Méthode de diffusion sur milieu solide..... | 52 |
| III.3.2 Méthode de macro-dilution en milieu liquide..... | 57 |
| Conclusion..... | 61 |

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

| | |
|---------------------------------------|---|
| AlCl₃ : | Trichlorure d'aluminium |
| ATCC : | American Type Culture Collection |
| BMH : | Bouillon Müller Hinton |
| BN : | Bouillon nutritif |
| CMB : | Concentration minimale bactéricide |
| CMI : | Concentration minimale inhibitrice |
| DMSO : | Diméthyle sulfoxyde |
| DO : | Densité optique |
| <i>G. glabra</i> : | <i>Glycyrrhiza glabra</i> |
| g/l : | Gramme par litre |
| GMH : | Gélose Müller Hinton |
| GN : | Gélose nutritive |
| H₂SO₄ : | Acide sulfurique |
| HCl : | Acide chlorhydrique |
| HSV : | l'herpès simplex virus |
| <i>J. phoenicea</i> : | <i>Juniperus phoenicea</i> |
| MeOH : | Méthanol |
| mg EAG/g ms : | Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche |
| mg EC/g ms : | Milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière sèche |
| mg EQ/g ms : | Milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière sèche |
| mg : | Milligramme |
| MH : | Müller Hinton |
| ml : | Millilitre |
| Na₂CO₃ : | Bicarbonate de sodium |
| NaOH : | Hydroxyde de sodium |
| OMS : | Organisation Mondiale de la Santé |
| PAL : | Phénylalanine Ammoniac Lyase |
| SM : | Solution mère |
| Tr : | Tour |
| UFC : | Unité Formant colonie |
| UV : | Ultraviolet |
| v/v : | volume/volume |
| VRS : | virus respiratoire syncytial |
| λ : | Longueur d'onde |
| µg : | Microgramme |
| µl : | Microlitre |

Liste des figures

| Numéro de la figure : | Titre | Page |
|-----------------------|--|------|
| 1 | Les cibles des antifongiques..... | 6 |
| 2 | Aspect botanique de <i>Juniperus phoenicea</i> | 12 |
| 3 | Racines de <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 16 |
| 4 | Formule générale de dérivés d'acide benzoïque..... | 21 |
| 5 | Formule générale de dérivés d'acide cinnamique..... | 21 |
| 6 | Structure générale des flavonoïdes..... | 21 |
| 7 | Structure de base des tannins hydrolysables..... | 22 |
| 8 | Structure de base des tannins condensés..... | 22 |
| 9 | Localisation géographique de la région d'Ain Nouissy wilaya de Mostaganem..... | 27 |
| 10 | Parties aériennes séchées de <i>Juniperus phoenicea</i> | 28 |
| 11 | Racines séchées de <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 28 |
| 12 | Poudre de la plante <i>Juniperus phoenicea</i> | 28 |
| 13 | Poudre de la plante <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 28 |
| 14 | Schéma représentatif du protocole d'extraction des polyphénols totaux..... | 30 |
| 15 | Protocole du dosage des polyphénols totaux..... | 32 |
| 16 | Protocole du dosage des flavonoïdes..... | 33 |
| 17 | Protocole du dosage des tannins condensés..... | 35 |
| 18 | Principe de la méthode de diffusion par disque..... | 37 |
| 19 | Les étapes suivies pour la réalisation d'un aromatoigramme..... | 38 |
| 20 | Préparation des dilutions des extraits phénoliques de plantes étudiés. | 39 |
| 21 | Inoculation des différents tubes avec la suspension microbienne ajustée..... | 40 |
| 22 | Les extraits obtenus après macération..... | 41 |
| 23 | Rendements de l'extraction des polyphénols totaux (%)...... | 41 |
| 24 | Droite étalon de l'acide gallique..... | 43 |
| 25 | Teneur en polyphénols totaux des différents extraits..... | 44 |
| 26 | Droite étalon de la quercétine..... | 45 |
| 27 | Teneur en flavonoïdes des différents extraits..... | 47 |
| 28 | Droite étalon de la catéchine..... | 48 |

| | | |
|----|--|----|
| 29 | Teneurs en tannins condensés des différents extraits..... | 49 |
| 30 | Aspect des colonies d' <i>E. coli</i> sur gélose MacConkey..... | 50 |
| 31 | Aspect des colonies de <i>P. aeruginosa</i> sur gélose King A..... | 50 |
| 32 | Aspect des colonies de <i>S. aureus</i> sur gélose Chapman..... | 51 |
| 33 | Aspect des colonies de <i>C. albicans</i> sur gélose Sabouraud additionné au chloramphénicol..... | 51 |
| 34 | Aspect microscopique des cellules microbiennes..... | 51 |
| 35 | Diamètres des zones d'inhibition (cm) obtenus par les extraits hydrométhanoliques de <i>Juniperus phoenicea</i> et <i>Glycyrrhiza glabra</i> seuls et en combinaison à l'égard de <i>Staphylococcus aureus</i> | 53 |
| 36 | Effet des extraits JP et GG vis-à-vis d' <i>E. coli</i> | 54 |
| 37 | Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de <i>S. aureus</i> | 54 |
| 38 | Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de <i>P. aeruginosa</i> | 55 |
| 39 | Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de <i>C. albicans</i> | 55 |
| 40 | La CMI de l'extrait hydrométhanolique du <i>Juniperus phoenicea</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 58 |
| 41 | La CMB de l'extrait hydrométhanolique du <i>Juniperus phoenicea</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 58 |
| 42 | La CMI de l'extrait hydrométhanolique du <i>Glycyrrhiza glabra</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 59 |
| 43 | La CMB de l'extrait hydrométhanolique du <i>Glycyrrhiza glabra</i> vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 59 |
| 44 | La CMI de l'extrait combiné vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 59 |
| 45 | La CMB de l'extrait combiné vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 59 |

Liste des tableaux

| Numéro du tableau | Titre | Page |
|-------------------|---|------|
| 1 | Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques..... | 5 |
| 2 | Composition des plantes..... | 11 |
| 3 | Classification botanique de <i>Juniperus Phoenicea</i> | 13 |
| 4 | Activités biologiques du <i>Juniperus Phoenicea</i> | 14 |
| 5 | Classification botanique de <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 17 |
| 6 | Activités biologiques du <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 18 |
| 7 | Les principales classes de composés phénoliques..... | 20 |
| 8 | Les souches microbiennes étudiées..... | 36 |
| 9 | Teneur en polyphénols totaux des différents extraits..... | 43 |
| 10 | Teneur en flavonoïdes des différents extraits..... | 46 |
| 11 | Teneur en tannins condensés des différents extraits..... | 49 |
| 12 | Diamètres des zones d'inhibition (en cm) des extraits..... | 52 |
| 13 | Test de détermination du CMI et CMB des extraits vis-à-vis <i>S. aureus</i> | 57 |

Introduction

Introduction

Partout autour de nous, les agents pathogènes nous guettent. Quand nous venons à nouveau d'attraper un rhume ou une grippe et que nous avons à lutter contre l'infection, le premier réflexe est souvent de recourir à un antibiotique. Mais ce dernier est bien plus rarement qu'on ne le pense la meilleure solution. Les médicaments affaiblissent le système immunitaire et entraînent le risque que les agents pathogènes deviennent résistants à leurs effets (Siewert, 2015). La dernière décennie a vu une augmentation rapide des recherches dans le domaine de la phytothérapie (Chevallier, 2007). À la différence des antibiotiques de synthèse, les remèdes végétaux n'agissent pas seulement contre les bactéries, mais aussi contre les virus et les champignons (Siewert, 2015). L'infection par des bactéries résistantes aux antibiotiques augmente chaque année et le nombre de personnes qui meurent augmente suite à des conséquences directes de ces infections. C'est ce que nous appelons la résistance aux antibiotiques (OMS, 2017). De plus, les substances chimiques antimicrobiennes qui peuvent agir efficacement sur les cellules eucaryotes, comme les levures, ne sont pas disponibles (Xianghong et al., 2007).

L'emploi des plantes à des fins médicinales remonte à la préhistoire et se perpétue dans tous les peuples. De nombreuses médecines modernes utilisent des composants découverts dans les plantes et bon nombre de médicaments actuels sont issus de matériaux végétaux. Cependant, la grande différence entre la phytothérapie et la médecine moderne est que, si un médicament moderne est basé sur une seule molécule, la nature a doté chaque plante d'une gamme de composants actifs qui fonctionnent en synergie pour produire un effet curatif ne pouvant être reproduit par un produit simple (Chevallier, 2007).

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits «secondaires» dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire (Macheix et al., 2005).

En effet, de nombreux travaux ont pu démontrer l'activité biologique et les modes d'action thérapeutiques des métabolites extraits à partir des plantes. Ces dernières permettent d'aborder les traitements de façon globale et moins agressive en éliminant la plupart des effets secondaires connus chez certains médicaments dits modernes (Kemassi et al., 2014).

Les métabolites secondaires appartiennent à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques...) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelquefois atteindre des valeurs élevées (**Macheix et al., 2005**). Les composés phénoliques suscitent un intérêt considérable dans le domaine de l'alimentaire, de la chimie et de la médecine en raison de leur potentiel antioxydant prometteur (**Kalia et al., 2008**).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème de santé publique dans le monde entier notamment en termes de maladies d'origine alimentaire et les infections nosocomiales. La valorisation des plantes médicinales en vue d'exploiter leurs extraits ou leurs principes actifs représente donc un potentiel économique énorme.

Les recherches actuelles réalisées sur les effets thérapeutiques des extraits de plantes ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine, la pharmacie et l'industrie moderne.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des produits naturellement synthétisés par des plantes médicinales. Nous allons tenter d'évaluer des activités biologiques et pharmacodynamiques des extraits organiques de deux plantes médicinales algériennes réputées par leur fort pouvoir médicinal.

La présente étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques de biochimie et de microbiologie à l'université d'Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem. Dans cette étude expérimentale, nous avons envisagé deux axes :

Le premier axe vise à l'extraction et au dosage des composés phénoliques des deux plantes médicinales *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*

Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'activité antimicrobienne des polyphénols de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* seuls et en association.

Le plan de cette étude est subdivisé en trois chapitres :

- ✓ Le premier chapitre est dédié à une étude bibliographique qui portera sur la connaissance de la résistance microbienne, sur la phytothérapie et plantes médicinales étudiées, ainsi que sur les composés phénoliques.
- ✓ Le deuxième chapitre portera sur une présentation des différentes techniques, matériel et méthodes utilisées.
- ✓ Le troisième chapitre portera sur une présentation des résultats obtenus avec une interprétation et discussion. Enfin le travail s'achève par une conclusion et perspectives.

Chapitre I :

Revue bibliographique

Partie 1 :
La résistance microbienne

I.1 La résistance microbienne

Ce phénomène de résistance est subdivisé en deux grands types ; la résistance de la part des bactéries (résistance aux antibiotiques) et celui de la résistance des levures et moisissures (résistance antifongique).

I.1.1 La résistance aux antibiotiques

I.1.1.1 Définition de l'antibiorésistance (résistance aux antibiotiques)

Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multirésistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes pharmacologiques d'antibiotiques (**Carle, 2009**).

I.1.1.2 Les types de la résistance aux antibiotiques

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques, on parle de résistance naturelle, d'autres bactéries peuvent devenir résistantes quand elles sont soumises à des traitements antibiotiques, on parle alors de résistance acquise.

I.1.1.2.1 La résistance naturelle

Les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance, elle a pour support génétique le chromosome bactérien, mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) (**Lozniewski et al., 2010**).

I.1.1.2.2 La résistance acquise

La résistance acquise résulte d'une modification du génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les

souches sensibles de la même espèce. La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible. La généralisation de l'utilisation des antibiotiques a conduit à une sélection des souches résistantes. Ce phénomène a atteint une telle ampleur que la seule identification bactérienne ne permet plus de prédire le comportement d'une souche isolée vis-à-vis des antibiotiques d'où l'intérêt et la nécessité de réaliser des antibiogrammes (Lozniewski et al., 2010).

I.1.1.3 Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance

L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés que dans les pays en développement. À l'échelle mondiale, la principale cause de cette émergence de résistance est une consommation non raisonnée des antibiotiques (Ouedraogo et al., 2017).

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de microorganismes résistants (Simonsen et al., 2004).

L'exposition à un antimicrobien favorise la survie des souches bactériennes résistantes présentes dans une population. La réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne et préserver le plus longtemps possible l'efficacité des médicaments disponibles (Carle, 2009).

Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentés au tableau 1 :

I.1.1.4 Les antibiotiques

I.1.1.4.1 Définition

Le terme « antibiotique » a été interprété de multiples façons, cependant la définition la mieux acceptée est un composé d'origine biologique qui a le pouvoir d'inhiber ou de tuer des microorganismes en interagissant spécifiquement avec leur cible, sans égard pour la classe ou l'origine du composé (Davies et Davies, 2010).

Tableau 1 : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques (Rybak, 2004).

| Facteurs | Exemples (Liste non exhaustive) |
|--|---|
| Emergence de la résistance | <ul style="list-style-type: none"> • Usage abusif d’antibiotiques ; • Gravite accrue de l’état des malades hospitalisés ; • Manque de fidélité au traitement ; • Durée trop courte à la dose sous-thérapeutique ; • Diagnostic non confirme d’infection bactérienne ; • Utilisation inadéquate d’antibiotiques dans les pays en voie de développement. |
| Propagation des souches résistantes | <ul style="list-style-type: none"> • Mesures d’hygiène inadéquates dans les hôpitaux ; • Non-respect des directives de lutte contre les infections ; • Promiscuité des patients hospitalisés ; • Réduction du personnel infirmier et de soutien ; • Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ; |
| Utilisation d’antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire | <ul style="list-style-type: none"> • Animaux destinés à la consommation ; • Agriculture et aquaculture. |
| Utilisation d’antiseptiques et de désinfectants | <ul style="list-style-type: none"> • Agents antibactériens dans les produits d’entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc. |

Lorsqu’un antibiotique a la capacité d’induire la mort cellulaire, celui-ci est décrit comme étant bactéricide. D’autre part, un antibiotique qui peut seulement inhiber la croissance cellulaire est considéré comme bactériostatique. Afin d’induire l’un ou l’autre de ces effets, les antibiotiques agissent sur des cibles cellulaires spécifiques. Les cibles bactériennes les plus communes sont la synthèse protéique, l’ADN et la paroi ou les membranes cellulaires (Kohanski et al., 2007).

I.1.1.4.2 Les principales classes d’antibiotiques

Selon leur formule chimique, la manière dont-ils agissent sur les microorganismes et leurs effets cliniques, on peut classer les antibiotiques.

Les cinq principales familles d'antibiotiques : β -lactamines ; Glycopeptides ; Aminoglycosides ; Macrolides ; Quinolones (Archambaud, 2009).

I.1.2 La résistance aux antifongiques

I.1.2.1 Définition de la résistance aux antifongiques

L'augmentation de l'utilisation des traitements antifongiques est responsable d'une augmentation du nombre de résistance et nombreux phénomènes entrent en jeu (Virginie, 2017). La résistance microbiologique aux antifongiques peut être définie comme une augmentation de la CMI d'un antifongique vis-à-vis d'un organisme donné, indépendamment de sa capacité à survivre à des concentrations supérieures à la CMI (Delarze et Sanglard, 2015). Elle est causée par des anomalies génétiques (mutations, aneuploïdie) (Garnaud, 2017).

I.1.2.2 Types de résistance des champignons aux antifongiques

I.1.2.2.1 Résistance intrinsèque

Résistance qui se développe en l'absence d'exposition à l'antifongique. Elle concerne toutes les souches de la même espèce et en constitue un trait génétique (Morio, 2015).

I.1.2.2.2 Résistance acquise

Résistance secondaire à une exposition à un antifongique (souche initialement sensible). Elle ne touche que certaines souches d'une même espèce (Morio, 2015). Tout comme les antibiotiques, les antifongiques agissent sur des cibles cellulaires bien définies. Les cibles antifongiques les plus communes sont l'ADN, la paroi et la membrane (figure 1).

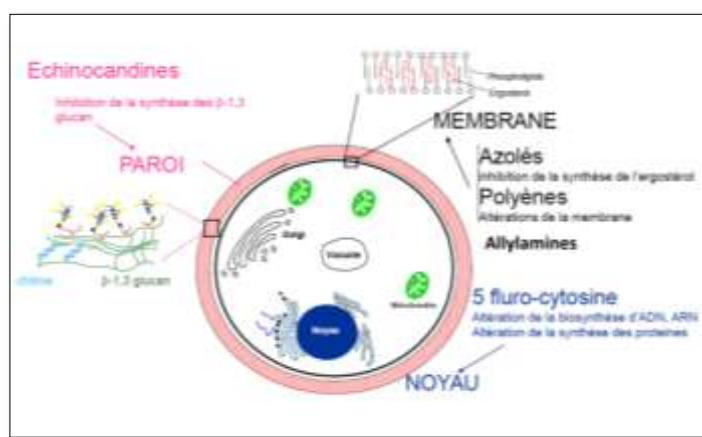


Figure 1 : Les cibles des antifongiques (Virginie, 2017).

I.1.3 Mécanismes de résistance microbienne

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les micro-organismes développent de la résistance :

- **Inhibition enzymatique** : c'est le mécanisme de résistance le plus répandu, le micro-organisme produit une enzyme qui détruit ou inactive l'antibiotique.
- **Réduction de la perméabilité cellulaire** : changements de perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne empêchant le médicament d'atteindre sa cible.
- **Altération des sites de liaison ciblés par l'antibiotique** : baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.
- **Pompes à efflux** : antibiotique éjecté de la cellule par transport actif et site d'action devenant inaccessible (Carle, 2009).

I.1.4 Principaux microorganismes pathogènes étudiés

Avec la diversité des agents pathogènes (bactéries, levures, champignons) responsables des maladies infectieuses plus ou moins graves, et avec l'apparition de la résistance de ces agents à de nombreux antibiotiques et antifongiques, plusieurs études ont été menées pour lutter contre ce phénomène de résistance microbienne.

I.1.4.1 *Escherichia coli*

C'est l'espèce dominante de la flore du tube digestif, se sont des bâtonnets à gram négatif. *E. coli* est habituellement une bactérie commensale, elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers (Nauciel et Vildé, 2005).

Cette espèce est souvent multi-résistante aux antibiotiques (Avril et al., 2000). Ainsi, au moins 30 à 50 % des souches résisteraient à l'ampicilline, 15 % au cotrimoxazole et 30 % aux tétracyclines (Frullani, 2011).

I.1.4.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Le genre *Pseudomonas* est fait de bacilles à gram négatif mobiles aérobies stricts, *P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert des ses colonies (Nauciel et Vildé, 2005). C'est une bactérie ubiquiste qui vit normalement à l'état saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux.

Cette bactérie peut vivre en commensale dans le tube digestif de l'homme et des divers animaux, considérée comme le germe-type des infections hospitalières ou nosocomiales (Avril et al., 2000).

Cette souche est définie par la résistance à au moins trois des quatre principales classes d'antibiotiques anti-*Pseudomonas* (pénicillines/ céphalosporines/ monobactames/ carbapénèmes, aminosides et fluoroquinolones) (Barbier et Wolff, 2010).

I.1.4.3 *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylocoques* sont de cocci à gram positif qui tendent à se grouper en amas irrégulier à la façon d'une grappe de raisin. *S. aureus* un germe qui tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales, possède une coagulase, ce qui le distingue des autres espèces de *Staphylocoques*. Chez l'homme environ un tiers des sujets sont des porteurs sains qui hébergent la bactérie au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides. Cette bactérie développe rapidement de résistance aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides (Avril et al., 2000 ; Nauciel et Vildé, 2005).

I.1.4.4 *Candida albicans*

Candida albicans est un champignon diploïde et encapsulé classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu. *C. albicans* est un microorganisme commensal qui fait partie des flores microbiennes endogènes gastro-intestinale, oropharyngée et génitale féminine (Ryan, 2004). Cependant, il s'agit aussi chez l'humain d'un pathogène opportuniste (Odds, 2010) pouvant causer des affections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés comme immunocompétents (Schell, 2006). *Candida albicans*, également, a développé des mécanismes de résistance aux antifongiques (azolés).

Partie 2 :
Phytothérapie et plantes médicinales

I.2 Phytothérapie et plantes médicinales

I.2.1 Histoire

À la Préhistoire, l'homme vivait proche de la nature, sa perception sensorielle était plus développée que la nôtre. 1550 avant Jésus-Christ (av. J.-C), les papyrus Ebers en Egypte soulignent notamment les bienfaits de la coriandre, du fenouil, du genévrier et du thym. 1000 av. J.-C., la Chine détient une riche pharmacopée qui nous démontre l'intérêt des cinq éléments: le bois, l'eau, le feu, la terre et l'air (**Pirard, 1900**).

A partir du premier millénaire, il y a eu apparition de très nombreuses matières aromatiques en Europe, et la science des Arabes – qui étaient à l'époque les maîtres de la moitié du littoral méditerranéen – pénètre tout l'Occident, par le biais des croisades du XI^e au XIII^e siècle, et par le biais de Venise qui était déjà un centre d'échange actif. C'est par là, qu'arrivent en Europe les épices : poivre, cannelle, muscade, girofle, ainsi que de nombreuses substances aromatiques telles que le musc, la civette, le benjoin, le santal, l'encens, les baumes, les gommes, le camphre...etc. (**Teisseire, 1991**).

Actuellement, une grande majorité de la population se tourne vers les produits naturels. Les gens guérissent beaucoup et bien que dans de nombreux cas ils se tournent vers les drogues synthétiques (**Mazari et al., 2010**).

I.2.2 La phytothérapie

I.2.2.1 Définition

On appelle phytothérapie, la thérapeutique par les plantes, du grec « *Phyto = plante* et *Therapia = soin* » (**Catier et Roux, 2004**). La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies (**Létard et al., 2015**).

I.2.2.2 Les deux grands types de phytothérapie

On peut considérer que la phytothérapie se partage en deux grands types :

A/ Une pratique traditionnelle, parfois très ancienne basée sur l'utilisation de plantes selon les vertus découvertes empiriquement.

B/ Une pratique basée sur les avancées et preuves scientifiques qui recherchent des extraits actifs dans les plantes (**Lebreton, 2014**).

I.2.2.3 Notion de l'aromathérapie

Peut se définir comme une thérapie naturelle qui utilise les extraits de plantes aromatiques pour soigner ou prévenir les maladies, elle s'intègre dans le cadre de la phytothérapie (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

I.2.3 Répartition des plantes médicinales en Algérie et dans le monde

En Algérie, on a longtemps eu recours à la médecine traditionnelle grâce à la richesse et la diversité de sa flore qui compte avec environ 3000 espèces, appartenant à plusieurs familles botaniques (**Krief, 2004**). Cependant cette utilisation ne se base sur aucun critère scientifique, elle tient compte simplement des observations au cours des siècles.

Un inventaire réalisé par l'OMS, vers la fin des années 1970 a estimé que le nombre des espèces ayant des propriétés médicinales était de l'ordre de 21 000 espèces dans le monde (**Ilbert et al., 2016**).

I.2.4 Composition chimique des plantes

Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent des protéines, des lipides, des acides nucléiques et des hydrates de carbone. De plus les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés « Métabolites secondaires » (tableau 2), qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement, la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, ainsi que la défense contre les prédateurs et les pathogènes (**Small et Catling, 2000**).

Tableau 2 : Composition chimique des plantes (Létard et al., 2015).

| Composé | Propriétés |
|---------------------------|--|
| Phénols | Composés organiques aromatiques (acide salicylique, caféique, ester phénolique, coumarine...etc.) dont le rôle est antiseptique, antibactérien et antihelminthique. |
| Coumarine | Antimicrobien et antispasmodique. |
| Tannins | Le plus gros sous-groupe des polyphénols, astringents et asséchants. |
| Anthraquinolones | Entrainant une teinture jaune et aux effets laxatifs. |
| Flavonoïdes | Qui donnent la couleur jaune, orange et rouge aux fruits et aux fleurs. Antioxydants, ils protègent les vaisseaux et le cœur. |
| Terpènes | Le groupe des terpènes avec les sesquiterpènes donnent le goût amer, leur action est anti-inflammatoire et antimicrobienne. Les principes amers de façon générale stimulent aussi les sécrétions digestives, sont sédatifs et relaxants. |
| Huiles volatiles et fixes | Riches en acides gras saturés, mono-insaturés, poly-saturés et essentiels fondamentaux pour la croissance cellulaire (parois cellulaires). |
| Polysaccharides | Les polysaccharides ou grands sucres : fructose, lactose, cellulose incluant gommages, mucilages et fructosane (immunostimulant, anti-inflammatoire et anti-tumoral). |

I.2.5 Plantes médicinales étudiées

I.2.5.1 *Juniperus phoenicea* L.

Le genévrier de Phénicie ou genévrier rouge (*Juniperus phoenicea* L.). C'est certainement l'espèce la plus répandue en Afrique du Nord où elle est présente depuis les dunes littorales jusqu'aux limites sahariennes. Du point de vue écologique, ce genévrier est typiquement méditerranéen (Quezel et Gast, 1998).

Juniperus phoenicea, généralement connu sous le genévrier de Phénicie, est un arbuste adapté au climat méditerranéen aride, il appartient à la famille Cupressaceae classé comme deuxième genre le plus diversifié des Conifères, avec 67 espèces et 34 variétés, toutes les variétés sont limitées à l'hémisphère Nord (Caudullo et Rigo, 2016 ; Becker et al., 1982 ; Adams et al., 2002).

La famille des Cupressaceae comprend deux sous-familles, se divisant chacune en trois tribus, les Cupressoideae et les Callitroideae qui sont essentiellement et respectivement des hémisphères nord et sud (Haluk et Roussel, 2000).



Figure 2 : Aspect botanique de *Juniperus phoenicea* (Busti et al., 2010)

I.2.5.1.1 Description botanique

Le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) est un arbre branchu appartenant à la section de sabina, il peut atteindre 08 mètres de hauteur possédant un tronc court qui peut mesurer deux mètre de circonférence possédant une écorce épaisse de couleurs brun rougeâtre ou grisâtre, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante, ces fruits allons de la couleur verte au bruns rouge et luisants à maturité et leur diamètre est compris entre 7 à10 mm (Akrou, 2004) à feuilles persistantes, étroites, linéaires, épineuses ressemblant à des aiguilles. Ses fleurs donnent des fruits improprement qualifiés de baies, globuleux et charnus (Bruneton, 2009 ; Huguet, 2008).

Le système racinaire est profond, les rameaux sont fins et de forme arrondie ayant des bourgeons nus et des ramilles cylindriques, cette espèce est divisée en trois sous espèces : *J. phoenicea* subsp *phoenicea*, *J.phoenicea* subsp *eu-mediterranea* et *J. phoenicea* var *turbinata* (Adams et al., 1996). Cet arbuste a une longévité qui peu accéder jusqu'à 1000 ans (Croissance très lente) (Adams, 2014).

I.2.5.1.2 Taxonomie

La classification botanique du *Juniperus Phoenicea* est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Classification botanique de « *Juniperus Phoenicea* » (Adams ,2014).

| Catégorie | Classement |
|-------------------|----------------------------|
| Règne | Plantae |
| Sous-règne | Trachiobionta |
| Division | Pinophyta |
| Classe | Pinopsida |
| Ordre | Pinales |
| Famille | Curpressaceae |
| Genre | <i>Juniperus</i> |
| Espèce | <i>Juniperus Phoenicea</i> |

I.2.5.1.3 Distribution géographique

Juniperus Phoenicea est distribué dans toute la région méditerranéenne où il pousse dans les endroits rocaillieux : Algérie, Tunisie, Maroc, Libye, France, Italie, Espagne, Turquie, Grèce, Albanie, Égypte (Sinaï), Chypre, et au Liban. Il pousse également en Roumanie, Portugal, Allemagne, Andorre, Bulgarie, Bosnie-Herzégovine, Croatie, Jordanie, Arabie Saoudite (le long de la mer Rouge), et au Macaronésie (Iles Canaries et de Madère Arquipelago) (Adams et al., 2002)

En Algérie, le genévrier rouge occupe une superficie estimée à 227.000 ha, soit 10% de la surface forestière algérienne. Il est commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranaï, de l'algérois et du constantinois. Il est assez rare ailleurs, on le trouve surtout sur les dunes littorales, dans les collines, sur les cotes de Barbarie et il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, notamment dans le sud de ce massif où il occupe une superficie de 1950 ha (Abdelli, 2017).

I.2.5.1.4 Les activités biologiques

Plusieurs activités biologiques sont attribuées à cette espèce, et diverses études ont été menées sur les activités de *Juniperus phoenicea*, ces dernières sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Activités biologiques du *Juniperus phoenicea*.

| Activités biologiques | Références |
|--|------------------------|
| Activité anti-oxydante Activité antidiabétique Activité anti-obésité | (Keskes et al., 2014) |
| Activité hépato-protectrice | (Laouar et al., 2017) |
| Activité anticancéreuse | (Cairnes et al., 1980) |
| Activité anti-inflammatoire Activité antibactérienne | (Derwich et al., 2010) |
| Activité antimicrobienne Activité antifongique | (Mansouri, 2011) |

I.2.5.1.5 Usages thérapeutiques de *Juniperus Phoenicea*

Cette espèce est considérée comme une importante plante médicinale, largement utilisée dans la médecine traditionnelle dans de nombreux pays (**Dawidar et al., 1991 ; Adams et al., 1996**). Ses feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner diabète, diarrhée, rhumatisme et troubles digestifs (**Seigue, 1985 ; Bellakhdar, 1997 ; Allali et al., 2008**). En revanche, le mélange des fruits (baies) et des feuilles est utilisé pour traiter l'hypoglycémie (**Amer et al., 1994 ; Mazari et al., 2010**).

Outre, les feuilles séchées et réduites en poudre peuvent guérir les affections broncho-pulmonaires et agir comme agent diurétique (**Bellakhdar, 1997**). Les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (**Abdelli, 2017**).

Juniperus phoenicea, une plante qui contient une large variété des composés biochimiques. Des études phytochimiques ont montré que l'espèce contient de la résine, des acides gras, des tanins, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des stérols et triterpènes (**Medini et al., 2013; Alzand et al., 2014; El-Sawi et al., 2014**). Cette variété offre la possibilité d'incorporer ces composés dans les préparations pharmaceutiques.

I.2.5.2 *Glycyrrhiza glabra* L.

L'étymologie de son nom botanique nous renseigne sur ses propriétés. En grec, *glykyrrhidza* ou *glycyrrhiza* se décompose en *glycys-* et *-rhidza* qui signifient respectivement « doux, sucre » et « racine ». Le nom du genre, *glabra*, dérive du latin *glaber* qui signifie « glabre » et se rapporte à la gousse imberbe. La réglisse désigne aussi la racine de cette plante utilisée en pharmacie et en confiserie. (**Caël, 2009**).

La lettre L. est un hommage à Linné, nom du botaniste suédois ayant décrit cette espèce. Elle a été nommée ainsi en raison de la saveur sucrée de son bois (**Couplan, 2000 ; Ferrari, 1984 ; Garnier, 1992**).

La première trace de l'emploi de la réglisse fut retrouvée dans les tombes des pharaons égyptiens. Dans la médecine traditionnelle chinoise, la réglisse est connue depuis des millénaires (**Girre, 1997**).

I.2.5.2.1 Description botanique

La réglisse est une plante vivace de la famille des Fabacées qui possède des racines aromatiques possédant plusieurs propriétés biologiques et thérapeutiques (**Petit, 2011**).

La réglisse est vivace par un rhizome. Cette racine est peu ramifiée (**Wichtl et Anton, 2003**). Les bâtons de réglisse trouvés en pharmacie ou dans le commerce sont donc les rhizomes. Ces mêmes bâtons peuvent être réduits en poudre qui sera de couleur jaune clair légèrement grisâtre.

L'espèce *Glycyrrhiza glabra* L. est une plante spontanée, vivace par un rhizome stolonifère, elle présente des tiges de 1,50 mètre, bien dressées, rigides et creuses. Ses feuilles sont alternes, glabres, composées d'un nombre impair de folioles ovales lancéolées, bien vertes. Ses racines sont rampantes, atteignant 1 à 2 m, brunes à l'extérieur, jaunes à l'intérieur, à saveur sucrée. Ils apparaissent des petites fleurs violettes ou bleu pâle de juin à juillet, et des fruits gousses très aplaties, glabres et bosselées (**Jacob, 1988**).

La plante *Glycyrrhiza glabra* L. contient de nombreux principes actifs. Les racines de cette espèce représentent la partie de la plante la plus utilisée et qui contient de nombreuses molécules dont certaines possèdent des propriétés thérapeutiques. Ces principes actifs sont aujourd'hui isolés et identifiés. Cependant, la composition chimique de la plante entière reste encore à l'étude afin de trouver de nouvelles molécules (**Girre, 2001 ; Montoro et al., 2010**).



Figure 3 : Racines de *Glycyrrhiza glabra*.

I.2.5.2.2 Taxonomie

La classification botanique du *Glycyrrhiza glabra* est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 5 : Classification botanique de « *Glycyrrhiza glabra* » (Ghedira et al., 2010).

| Catégorie | Classement |
|---------------------------|---------------------------|
| Règne | Plantae |
| Sous-règne | Trachiobionta |
| Embranchement | Magnoliophyta |
| Sous-embranchement | Magnoliophytina |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous-classe | Rosidae |
| Ordre | Fabales |
| Famille | Fabaceae |
| Genre | <i>Glycyrrhiza</i> L. |
| Espèce | <i>Glycyrrhiza glabra</i> |

I.2.5.2.3 Distribution géographique

Plusieurs variétés de réglisse de type *Glycyrrhiza glabra* L. ont été décrites. Celles-ci sont originaires essentiellement de la région méditerranéenne, du centre et du sud de la Russie, de l'Anatolie, de l'Iran, du Turkestan, de la Syrie et du sud-ouest de l'Asie. En Europe, on la trouve plus particulièrement le long des côtes espagnoles, en Calabre et en Sicile, en Angleterre (Yorkshire), en France et en Allemagne. On en trouve également aux Etats-Unis (Caël, 2009).

La réglisse pousse un peu partout, parfois à l'état sauvage ou, très souvent cultivée (Meyer et al., 2004). La réglisse se plaît particulièrement dans les sols sablonneux à sous-sol frais. En Orient, la réglisse préférera les cours d'eau desséchés, les bords de rivières et les terrains régulièrement inondés à la période des pluies. Cette vivace pousse dans les prairies, sur le bord des fosses et dans des endroits frais. Nous pouvons donc l'apercevoir parmi les herbes et dans des fourrés clairsemés. Nous la trouvons parfois dans les zones pré collinaires chaudes, argileuses et sèches (Fintelmann et Weiss, 2004 ; Girre, 1980 ; Caël, 2009).

I.2.5.2.4 Les activités biologiques de *Glycyrrhiza glabra*

Les activités biologiques de *Glycyrrhiza glabra* sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Activités biologiques du *Glycyrrhiza glabra*.

| Activités biologiques | Référence |
|-----------------------------|---------------------|
| Activité anti-inflammatoire | (Caël, 2009) |
| Activité antiulcéreuse | |
| Activité antibactérienne | |
| Activité antivirale | |
| Activité anticancéreuse | |

I.2.5.2.5 Usages thérapeutiques de *Glycyrrhiza glabra*

La richesse de *Glycyrrhiza glabra* par différents composés biologiquement actifs a fait que cette plante a été et reste encore utilisés dans différents domaines. En thérapeutique, cette plante a été recommandée traditionnellement dans la prophylaxie des ulcères gastriques et duodénaux, et en tant qu'agent anti-inflammatoire au cours des réactions allergiques (**Ammosov et Litvinenko, 2003**), elle est aussi utilisée comme laxatif, contraceptif, galactagogue, antiasthmatique et agent antiviral (**Saxena, 2005**).

La réglisse est surtout connue pour ses propriétés 'pectorales', c'est-à-dire pour son efficacité dans le traitement des maladies de 'poitrine' comme la bronchite, la grippe, le rhume et la toux (**Caël, 2009**). La réglisse possède des propriétés expectorantes car elle exerce une activité sécrétolytique et fluidifiante. Depuis des siècles, celle-ci est utilisée dans le traitement de la toux, des bronchites et des inflammations des voies respiratoires supérieures (laryngites et pharyngites) (**Girre, 1980 ; Wichtl et Anton, 2003**).

Ainsi, l'effet adoucissant, anti-inflammatoire, antiallergique, antitussif et expectorant de la réglisse est attribué à l'action de la glycyrrhizine (un saponoside présent sous forme d'un mélange de sels de calcium, de magnésium et de potassium) qui a la même activité que les corticoïdes (**Caël, 2009**).

Partie 3 :

Les polyphénols

I.3 Les polyphénols

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et sont présents dans toutes les parties de la plante (**Lugasi et al., 2003**). Sont donc des molécules indirectement essentielles à la vie d'où la dénomination de « métabolites secondaires ».

La désignation générale «*composés phénoliques*» concerne à la fois les mono-, di et polyphénols dont les molécules contiennent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques (**Macheix et al., 2005**).

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections (**El Gharras, 2009**). Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales (**Gee et Johnson, 2001**).

De nombreuses études sont en faveur d'un impact positif de leur consommation sur la santé. En effet, les polyphénols pourraient permettre de prévenir de nombreuses pathologies comme le cancer (**Brown et al., 1998**), les maladies dégénératives et cardio-vasculaires (**Paganga et al., 1999**).

I.3.1 Structure chimique

De très nombreux composés phénoliques ont été caractérisés à ce jour. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (**Macheix et al., 2005**), ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester, glycoside...) (**Bruneton, 2009**).

Les polyphénols 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 (**Macheix et al., 2005**).

Les polyphénols, qui forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables (**Dacosta, 2003**).

Le tableau 7 regroupe les principales classes de ces molécules phénoliques selon la structure chimique.

Tableau 7 : Les principales classes de composés phénoliques (Macheix et al., 2005).

| Squelette carboné | Classe | Exemple | Sources alimentaires |
|--|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| C ₆ | Phénol simple | Catéchol | |
| C ₆ -C ₁ | Acides hydroxybenzoïques | p-Hydroxybenzoïque | Epices, fraise |
| C ₆ -C ₃ | Acides hydroxycinnamiques | Acides caféique et férulique | Pomme de terre, Pomme |
| | Coumarines | Scopoléine, esculéatine | Agrumes |
| C ₆ -C ₄ | Naphtoquinones | Juglone | Noix |
| C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbènes | Resvératrol | Vin, Raisin |
| C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes | | |
| | ▪ Flavonols | Kaempférol, quercétine | Fruits, légumes |
| | ▪ Anthocyanes | Cyanidine, pélargonidine | Fruits rouges |
| | ▪ Flavanols | Catéchine, épicatechine | Pomme, raisin |
| | ▪ Flavanones | Naringénine | Agrumes |
| | Isoflavonoïdes | Daidzéine | Soja, pois |
| (C ₆ -C ₃) ₂ | Lignanes | Pinorésinol | Pin |
| (C ₆ -C ₃) _n | Lignines | | Bois, noyau des fruits |
| (C ₁₅) _n | Tannins | | Raisin rouge, kaki |

I.3.2 Principales classes des polyphénols

I.3.2.1 Acides phénoliques

On distingue deux principales classes d'acide phénolique : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique (**Guignard et Dupont, 2015**).

La concentration de l'acide hydroxybenzoïque (figure 4) est généralement très faible chez les végétaux comestibles. Ces dérivés sont assez rares dans l'alimentation humaine par contre ceux d'acides hydroxycinnamiques (figure 5) sont très présents (**Macheix et al., 2005**). Il se présentent sous forme d'esters, soit solubles s'accumulant dans les vacuoles, ou bien insolubles comme constituants de la paroi cellulaire (**Manach et al., 2004**).

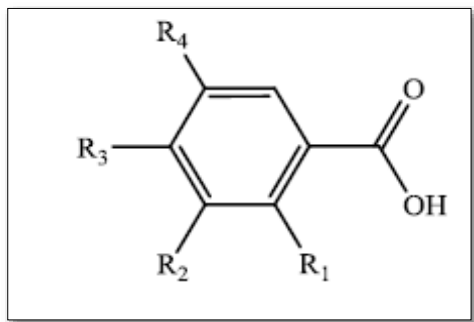


Figure 4 : Formule générale de dérivés d'acide benzoïque.

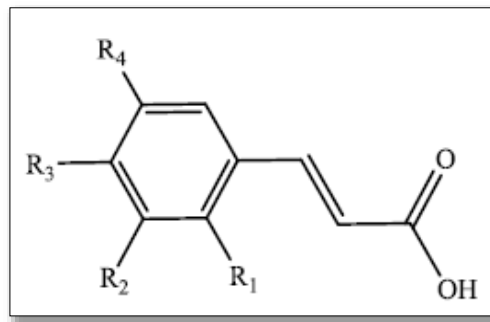


Figure 5 : Formule générale de dérivés d'acide cinnamique.

I.3.2.2 Flavonoïdes

Le terme flavonoïde regroupe une très large gamme de composés naturels polyphénoliques. Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6) (figure 6) ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C (**De Rijke et al., 2006**).

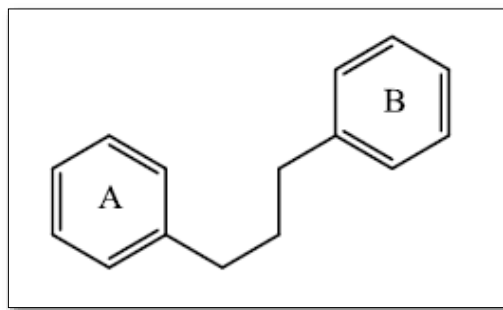


Figure 6 : Structure générale des flavonoïdes.

Selon **De Rijke et al., 2006**, les flavonoïdes sont classées en 6 familles qui impliquent les flavonols, les flavones, les flavanes, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols. Au sein de ces six familles, deux types de structures ont été relevés, celui des flavonoïdes au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 3 sur la chaîne C3 et celui des isoflavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 2 sur la chaîne C3.

I.3.2.3 Tannins

Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (Alkurd *et al.*, 2008).

On distingue classiquement deux grands groupes de tannins chez les végétaux, basés sur des différences structurales :

I.3.2.3.1 Les tannins hydrolysables

Se sont des esters d'un sucre (glucose) et d'un nombre variable de molécules d'acide phénol, ces tannins sont de deux types : les tannins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acide gallique ; les tannins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagique (Talbi, 2015).

I.3.2.3.2 Les tannins condensés

De structure plus complexe, ce sont des polymères de flavan-3-ols (catéchine) et de flavan-3,4-diols (leucoanthocyanidines), ou un mélange des deux (Talbi, 2015).

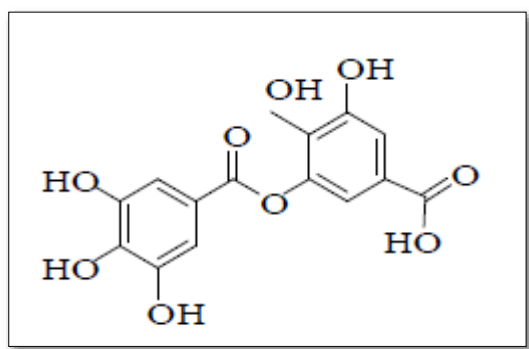


Figure 7 : Structure de base des tannins hydrolysables.

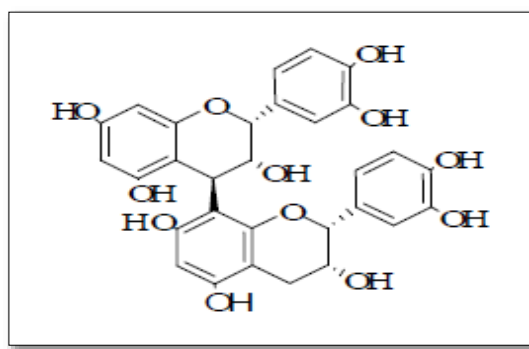


Figure 8 : Structure de base des tannins condensés.

I.3.3 Extraction des polyphénols totaux

L'extraction des principes actifs à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques (**Mahmoudi et al., 2013**), elle dépend de leur structure chimique, de la méthode d'extraction, de la granulométrie et du temps de macération (**Levizou et al., 2004**).

La plupart des phénols simples présents dans la vacuole peuvent aisément être extraits avec des mélanges méthanol/eau (80/20, v/v) (**Macheix et al., 2005**). La solubilité des composés phénoliques dépend de leur nature chimique dans la plante, qui varie de composés simples à fortement polymérisés. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, phénylpropanoïdes, anthocyanines, et tanins (**Garcia-Salas et al., 2010**). Cette diversité structurale est responsable de la grande variabilité des propriétés physico-chimiques influençant l'extraction des polyphénols (**Koffi et al., 2010**).

I.3.4 L'activité antimicrobienne des polyphénols

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes, est souvent corrélée avec leur teneur en métabolites secondaires tels les polyphénols (**Bahorun, 1997**). Ces métabolites secondaires peuvent conduire à la diminution de l'activité enzymatique ainsi qu'à la croissance microbienne (**Karou et al., 2004**).

D'après **Cowan (1999)**, les acides caféique et cinnamique sont très efficaces contre les virus, les bactéries et les champignons.

Les propriétés antibactériennes des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont été mises en évidence (**Miller et al., 1995 ; Puupponen-Pimiä et al., 2001**) ils atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire de plusieurs virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Middleton et al., 2000**).

Quant aux tanins plusieurs travaux ont démontré leurs toxicités vis à vis des champignons filamenteux, levures et bactéries et certains d'entre eux sont même capables d'inhiber la réplication de quelques virus (**Henis et al., 1964 ; Scalbert, 1991**).

I.3.5 Le mécanisme d'action des polyphénols

Le mécanisme d'action des composés phénoliques est sans doute très complexe et plusieurs hypothèses ont été avancées afin d'élucider leur activité contre de nombreux microorganismes parmi elles : l'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes (protéases, carbohydrases), la séquestration de substrat nécessaire à la croissance microbienne ou chélation de métaux et l'inhibition du métabolisme microbien (**Cowan, 1999; Scalbert, 1991**).

I.3.5.1 Action sur les enzymes

Les composés phénoliques sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de nombreuses enzymes (**Cowan, 1999**). Ils sont capables de se complexer avec les protéines et par voie de conséquence bloquer les sites actifs des enzymes inhibant ainsi leur activité (**Haslem, 1998 ; Huang et al., 2004**).

Tout comme les tanins condensés les tanins hydrolysables ont la capacité de se complexer avec les protéines. Ce processus peut inhiber et/ou immobiliser les enzymes microbiennes extracellulaires (**Maie et al., 2003**).

I.3.5.2 Chélation des métaux

Les composés phénoliques peuvent limiter la croissance des bactéries grâce à leur capacité à chélater le fer, ce dernier est un nutriment indispensable à la survie des microorganismes. Il joue un rôle important dans plusieurs fonctions y compris sa nécessité pour la respiration et pour la synthèse de l'ADN (**Akiyama et al., 2001**).

I.3.5.3 Action sur le métabolisme énergétique

Les composés phénoliques sont capables de chélater les ions métalliques largués provoquant un déséquilibre dans le métabolisme énergétique des microorganismes.

I.3.6- L'importance des polyphénols en nutrition

Des effets protecteurs de la consommation d'aliments riches en polyphénols vis-à-vis de différentes pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, diabète...) ont été mis en évidence tant d'un point de vue épidémiologique qu'expérimental. De nombreuses études se sont penchées sur l'analyse du mode d'action des polyphénols dans la prévention de ces pathologies, qui met en cause les propriétés réductrices des polyphénols et/ou leur affinité

pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription) (**Achat, 2013**).

Diverses études épidémiologiques ont montré l'existence d'une corrélation inverse entre la consommation de polyphénols ou d'aliments riches en polyphénols et le risque de développement de maladies cardiovasculaires (**Peters et al., 2001**)

Il s'avère notamment que de fortes prises de quercétine et de kaempférol réduisent le taux de mortalité due à des accidents cardiaques (**Knekt et al., 2002**)

Le développement récent de nouveaux outils et méthodes pourrait permettre des avancées importantes dans les années à venir. C'est notamment le cas de la nutriginomique qui vise à mettre en évidence les gènes dont l'expression est régulée (à la hausse ou à la baisse) par les composants de l'alimentation. La difficulté réside ensuite dans l'analyse et l'interprétation de ces données biologiques complexes (**Achat, 2013**).

I.3.7 Importance des polyphénols en médecine

I.3.7.1 Polyphénols et cancer

Les propriétés anticancéreuses des polyphénols ont été mises en évidence dans de nombreuses études *in vitro*, utilisant des cultures cellulaires cancéreuses ou des animaux prétraités par des réactifs chimiques carcinogènes. Cependant, les données disponibles sur les effets des polyphénols vis-à-vis des cancers chez l'homme sont plus disparates (**Achat, 2013**).

L'effet des polyphénols sur les lignées de cellules cancéreuses humaines est fréquemment protecteur et induit une réduction du nombre de tumeurs et de leur croissance (**Scalbert et al., 2005**).

I.3.7.2 Polyphénols et diabète

L'administration aiguë ou chronique de polyphénols chez des modèles animaux a montré des effets sur la glycémie : les polyphénols agissent par différents mécanismes dont l'inhibition de l'absorption du glucose au niveau intestinal (**Dembinska-Kiec et al., 2008**), ou encore son assimilation dans les tissus périphériques (inhibition de la gluconéogenèse, de la stimulation adrénergique de l'absorption du glucose ou stimulation de la libération de l'insuline par les cellules β du pancréas) (**Scalbert et al., 2005**).

I.3.7.3 Polyphénols et autres pathologies

Les polyphénols ont montré des effets protecteurs dans d'autres pathologies, telle que la sclérose en plaque (**Gonzalez-Gallego et al., 2010**), l'ostéoporose (**Scalbert et al., 2005**) et les pathologies liées au vieillissement cérébral (maladie d'Alzheimer, autres types de démences, maladie de Parkinson...) (**Spencer, 2010**). Les composés phénoliques peuvent aussi atténuer les infections d'origine virale ou bactérienne (**Ghedia, 2005**).

Chapitre II :

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.1 Matériel végétal

II.1.1 Origine et préparation des plantes étudiées

Dans notre étude, nous avons utilisé deux plantes réputées médicinales, *Juniperus phoenicea* (Genévre) et *Glycyrrhiza glabra* (Régliasse).

Nous avons utilisé les parties aériennes : feuilles et fruits (cônes) de *Juniperus phoenicea* qui ont été récoltées durant le mois de Février 2019 à partir de la région d'Ain Nouissy wilaya de Mostaganem (figure 9), les racines de *Glycyrrhiza glabra* nous ont été fournies par le marché (régliasse commerciale). Après la collecte, les différents échantillons des plantes médicinales étudiées ont été lavées pour se débarrasser des débris et de toute sorte de poussières, puis elles ont été séchées à l'air libre pendant quinze jours afin d'obtenir un meilleur broyage et garder les substances bioactifs recherchés. Les figures 10 et 11 illustrent les échantillons étudiés.



Figure 9 : Localisation géographique de la région d'Ain Nouissy wilaya de Mostaganem.



Figure 10 : Parties aériennes séchées de *Juniperus phoenicea*.



Figure 11 : Racines séchées de *Glycyrrhiza glabra*.

Les parties séchées des deux plantes médicinales étudiées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre très fine (figures 12 et 13).



Figure 12 : Aspect de la poudre de *Juniperus phoenicea*.



Figure 13 : Aspect de la poudre de *Glycyrrhiza glabra*.

La poudre obtenue a été conservée dans des récipients en verre et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à l'utilisation.

II.1.2 Extraction des polyphénols

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés phénolique, la méthode choisie dans cette étude expérimentale est celle de l'extraction par macération (extraction solide-liquide). En utilisant des solvants polaires afin d'obtenir des extraits enrichis en molécules d'intérêt (polyphénols) (Venturini, 2010)

La macération est une méthode d'extraction liquide-solide similaire à l'infusion qui s'effectue à température ambiante. Elle est généralement utilisée pour l'extraction de composés sensibles à la chaleur (Muanda, 2010). Comme le cas des composés phénoliques qui sont des molécules très fragiles et facilement hydrolysables.

II.1.2.1 Mode opératoire

Afin d'extraire les polyphénols des plantes étudiées, nous avons adopté le protocole décrit par Romani et al. (2006), en y apportant quelques modifications : 10 g de la poudre des plantes médicinales étudiées sont macérées à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une nuit avec 100 ml des solutions : méthanol, éthanol à 70 % (v/v). Ensuite on a procédé une filtration sur une bande de gaz, les filtrats sont centrifugés pendant 20 min à 4000 t/min à température ambiante. Les surnagent sont filtrés sur papier filtre (100 mm), ensuite concentrés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapeur). Enfin conservés à 4 °C jusqu'à utilisation.

II.1.2.2 Expression des résultats

Les rendements des extractions sont calculés suivant la formule ci-dessous :

$$\text{Rendement \%} = (m_0/m_1) \times 100$$

- ✓ m_0 : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé ;
- ✓ m_1 : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche.

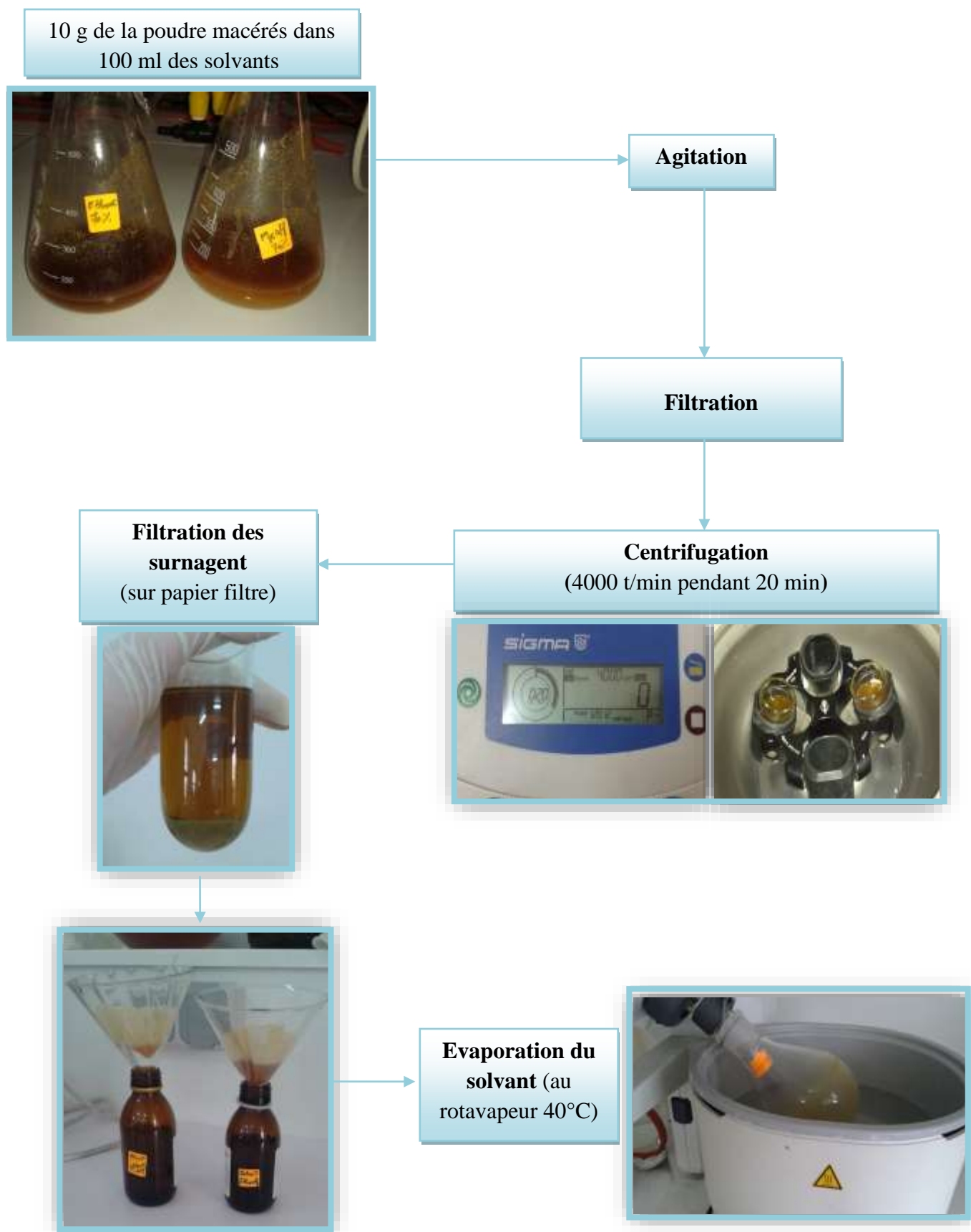


Figure14 : Schéma représentatif du protocole d'extraction des polyphénols totaux (Romani et al., 2006).

II.1.3 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux de nos extraits a été déterminée par spectrophotométrie selon la méthode colorimétrique décrit par **Singleton et Rossi (1965)** utilisant le réactif Folin Ciocalteu. Cette méthode consiste à quantifier la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans les extraits.

II.1.3.1 Principe

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 765 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**).

II.1.3.2 Préparation de la droite étalon d'acide gallique

La droite d'étalon d'acide gallique a été réalisée selon **Waterhouse (2002)**, 0.5g d'acide gallique est dissoute dans 10 ml d'éthanol, ensuite le mélange est dilué dans 100 ml d'eau distillée (concentration final : 5g/l). À partir de la solution mère, on a fait dilué 1, 2, 5, et 10 ml dans 100 ml d'eau distillée afin de créer des concentrations comprises entre 50, 100, 250 et 500 mg/l respectivement.

II.1.3.3 Procédure du dosage

Un volume de 200 μ l des différents extraits et de même pour les étalons d'acides gallique, a été mélangé avec 1 ml de réactif de Folin Ciocalteu dilué 10 fois. Par la suite on a ajouté 800 μ l de solution de bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5 %. On a bien agité les tubes à l'aide d'un vortex. Après une incubation pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 765 nm par rapport au blanc préparé de réactif (**Singleton et Rossi, 1965**). Chaque procédure est répétée trois fois.

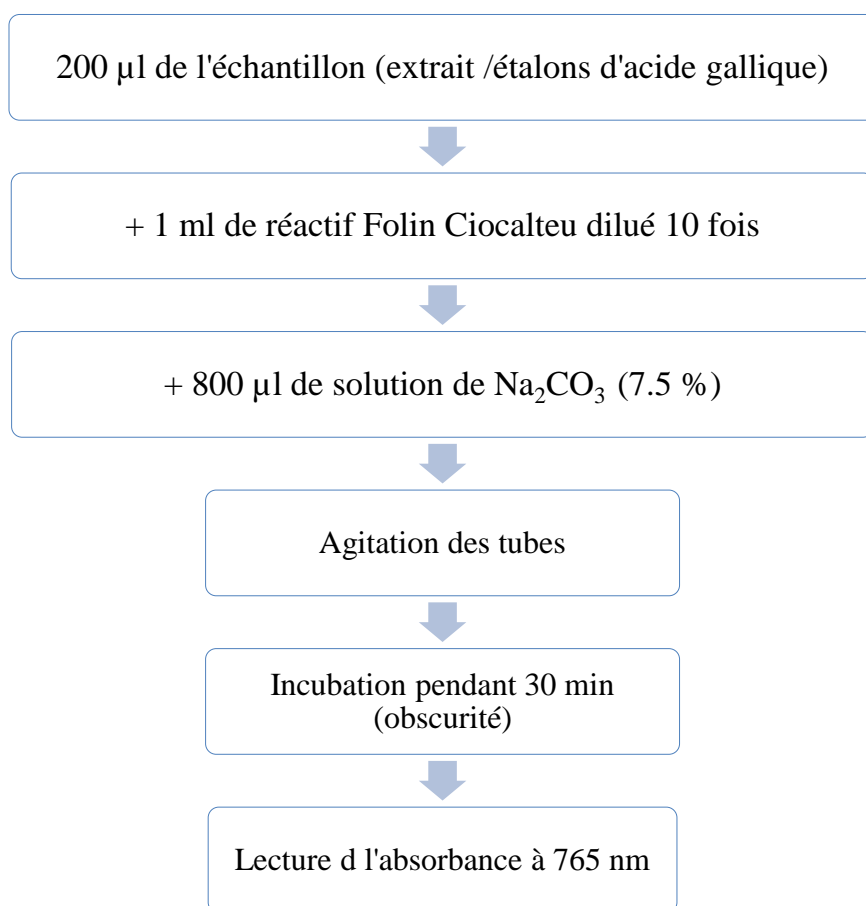


Figure 15 : Protocole du dosage des polyphénols totaux (Singleton et Rossi, 1965).

II.1.3.4 Expression des résultats

La droite étalon préalablement établie nous a servi à exprimer les résultats de tout les échantillons étudiés et qui exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g ms).

II.1.4 Dosage des flavonoïdes

II.1.4.1 Principe

Le dosage des flavonoïdes repose sur la capacité de ces derniers à former des complexes jaunâtre flavonoïde-aluminium par chélation des métaux. La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribéreau-Gayon, 1968).

II.1.4.2 Préparation des étalons de la quercétine

La droite étalon de la quercétine **Waterhouse (2002)**, 0.5g de quercétine est dissoute dans 10 ml d'éthanol, ensuite le mélange est dilué dans 100 ml d'eau distillée (concentration final : 5g/l). À partir de la solution mère, on a fait dilué 1, 2, 5, et 10 ml dans 100 ml d'eau distillée afin de créer des concentrations comprises entre 50, 100, 250 et 500 mg/l respectivement.

II.1.4.3 Procédure du dosage

Le dosage des flavonoïdes et les étalons de quercétine a été réalisé selon la méthode de **Djeridane et al. (2006)**, 0,5 ml de l'échantillon mélangé avec 0,5 ml $AlCl_3$ à 2%, après incubation de 15 min à température ambiante, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 430 nm par rapport au blanc préparé de réactif. Chaque analyse est répétée trois fois.

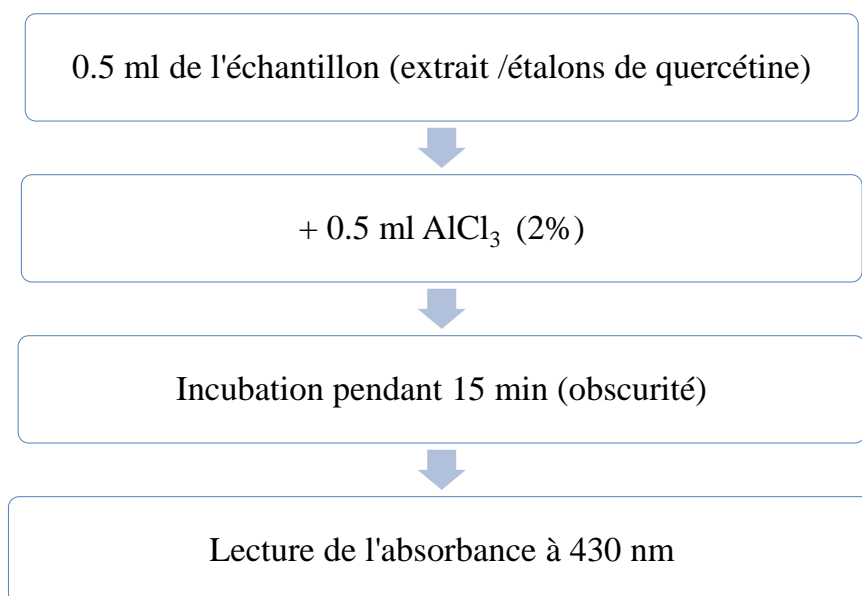


Figure 16 : Protocole du dosage des flavonoïdes (**Djeridane et al. 2006**).

II.1.4.4 Expression des résultats

La concentration des flavonoïdes, a été déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de quercétine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g ms).

II.1.5 Dosage des tannins condensés

II.1.5.1 Principe

Le dosage des tanins condensés a été réalisé par la méthode de la vanilline décrite par **Julkumen-Titto (1985)**. En effet, la vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines donnant une coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm de longueur d'onde.

II.1.5.2 Préparation des étalons de la catéchine

La préparation des étalons de catéchine a été réalisée selon **Waterhouse (2002)**, une masse de 0.5g de catéchine est dissoute dans 10 ml d'éthanol, ensuite le mélange est dilué dans 100 ml d'eau distillée (concentration final : 5g/l). À partir de la solution mère, on a fait dilué 1, 2, 5, et 10 ml dans 100 ml d'eau distillée afin de créer des concentrations comprises entre 50, 100, 250 et 500 mg/l respectivement.

II.1.5.3 Procédure du dosage

Le dosage des tannins condensés et les étalons de catéchine a été réalisé selon la méthode de **Mole et Waterman (1987)**, 500 µl de l'échantillon mélangé avec 1 ml de la solution vanilline à 1%, après incubation de 15 min à température de 20°C dans un bain marie, l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 500 nm par rapport au blanc préparé de réactif. Chaque analyse est répétée trois fois.

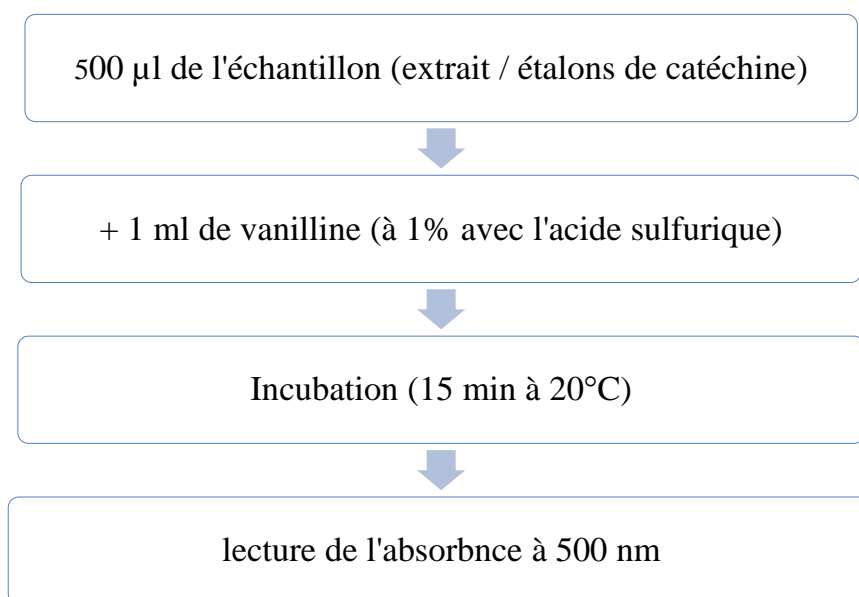


Figure 17 : Protocole du dosage des tannins condensés (Mole et Waterman, 1987).

II.1.5.4 Expression des résultats

La concentration des tannins condensés, est déterminée à partir d'une équation de la régression linéaire déduite de la courbe d'étalonnage de catéchine. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents de catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g ms).

II.2 Préparation des souches microbiennes étudiées

II.2.1 Origine et réactivation des souches microbiennes utilisées

Les différentes souches microbiennes utilisées pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits préparés de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*, sont des souches d'origine de l'American Type Culture Collection (ATCC). Nous ont été fournis par le laboratoire de LMBAFS de l'université de Mostaganem (tableau 8).

Tableau 8 : Les souches microbiennes étudiées.

| Souches | Famille | Références |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | Enterobacteriaceae | ATCC 25922 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Pseudomonadaceae | ATCC 27853 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Micrococcacea | ATCC 33862 |
| <i>Candida albicans</i> | Saccharomycetaceae | ATCC 10231 |

Les quatre souches étudiées sont maintenues en vie par des repiquages continus et conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de bouillon nutritif (Annexe 2).

II.2.2 Les tests de confirmation des souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées sont des souches identifiées et référencées. Nous avons tenu à vérifier leur pureté par ensemencement sur des milieux sélectifs (Annexe 2) pour chaque souche étudiée, la coloration de Gram a été réalisée après 24 heures d'incubation, ce qui a permis ainsi l'observation de la forme et le mode de regroupement de ces souches bactériennes.

II.3 L'évaluation de l'activité antimicrobienne

II.3.1 Préparation des suspensions microbiennes (pré-cultures)

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne, les suspensions microbiennes sont préparées 24 h avant l'ensemencement de sorte à obtenir des colonies juste confluentes (**Muanda, 2010**). La turbidité a été ajusté à 0,5 McFarland, ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries (D.O = 0,08 à 0,1/ $\lambda = 625$ nm), $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour *C. albicans* (D.O = 0,12 à 0,15 / $\lambda = 530$ nm) (**Haddouchi et al., 2016**). L'ajustement de la concentration de l'inoculum est essentiel pour la qualité de l'analyse (**Muanda, 2010**).

Le milieu de culture utilisé pour déceler l'activité antimicrobienne des différents extraits est : Muller Hinton (MH) (Annexe 2), parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens (**Gachkar et al., 2006**).

II.3.2 Test de l'évaluation de l'activité antimicrobienne

Le test d'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits a été réalisé par deux méthodes :

- Par la méthode de diffusion sur milieu solide, dans une première étape pour mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des extraits vis-à-vis des souches utilisées.
- Dans la deuxième étape, par la méthode de dilution en milieu liquide (méthode de macro-dilution), afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB).

II.3.2.1 Méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme)

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Cette méthode est similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche microbienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs produits (**Djahra et al., 2012**).

La technique utilisée est celle décrite par **Bauer et al. (1966)**, et reprise par **Ananil et al. (2000)**. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'un extrait, sur un tapis microbien au tout début de sa croissance et de mesurer la zone où les bactéries n'ont pas pu se développer. Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antimicrobienne de l'extrait, est ainsi déterminé (figure 31).

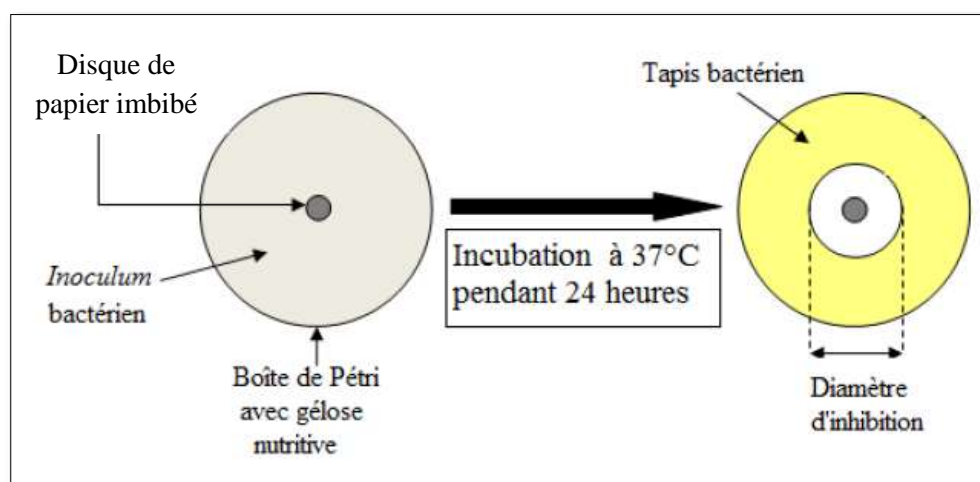


Figure 18: Principe de la méthode de diffusion par disque (**Guinoiseau, 2010**).

• Mode opératoire

À l'aide d'un écouvillon stérile bien imbibé de la suspension microbienne ajustée, les surfaces du milieu gélosé Mueller-Hinton des boîtes de Pétri ont étéensemencées. Des disques de papier Wattman stériles sont imbibés de 10 μ l de chaque extrait et sont déposés à la surface du milieuensemencé.

On a préparé des disques imprégnés d'eau distillée stérile et de solvant méthanol (v/v). Cette dernière préparation de disque servira de contrôle négatif.

Les boîtes de Pétri ont été conservés à 4 °C pendant 2 h et ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24h. Les diamètres des zones d'inhibition sont donné en cm (Biyiti et al., 2004) L'expérience est répétée trois fois pour chaque espèce microbienne.

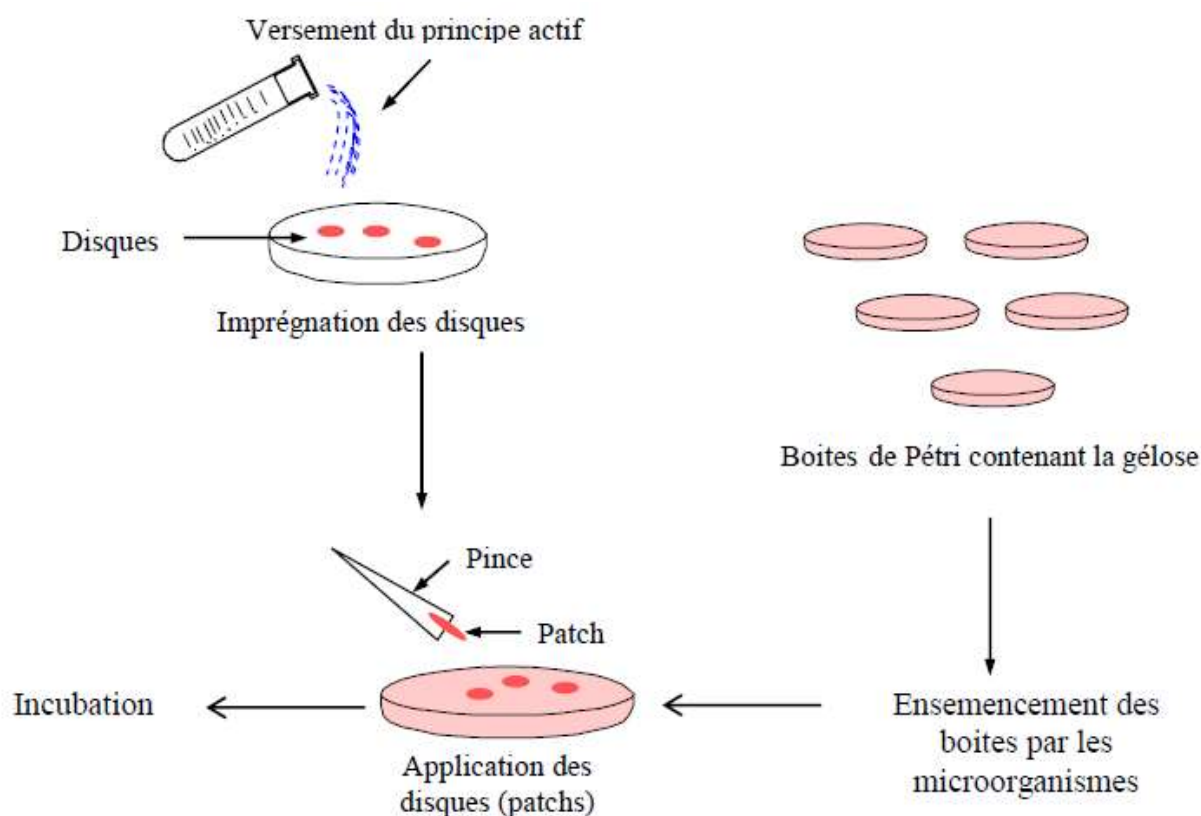


Figure 19 : Les étapes suivis pour la réalisation d'un aromatoگرامme.

II.3.2.2 Méthode de macro-dilution en milieu liquide

II.3.2.2.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La mesure de la CMI en milieu liquide est effectuée de la manière suivante, on distribue dans un premier temps dans une série de tubes à essai stériles un même volume des concentrations décroissantes des extraits (habituellement en progression géométrique de raison 2). Puis on ajoute dans chacun de tubes, un même volume de culture bactérienne en phase exponentielle de croissance, (inoculum bactérien optiquement invisible). La CMI des extraits sur la souche étudiée est définie comme la plus faible concentration inhibant toute croissance bactérienne visible à l'œil nu après 18 ou 24 h de contact à 37°C (Muanda, 2010).

• Mode opératoire

400 µl de chaque extrait à tester, solubilisé dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), sont placés dans un tube stérile contenant 4,6 ml de milieu bouillon M-H (BMH). Une dilution en cascade est effectuée dans du milieu BMH de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 80 mg/ml et 0,3 mg/ml (Guinoiseau, 2010).

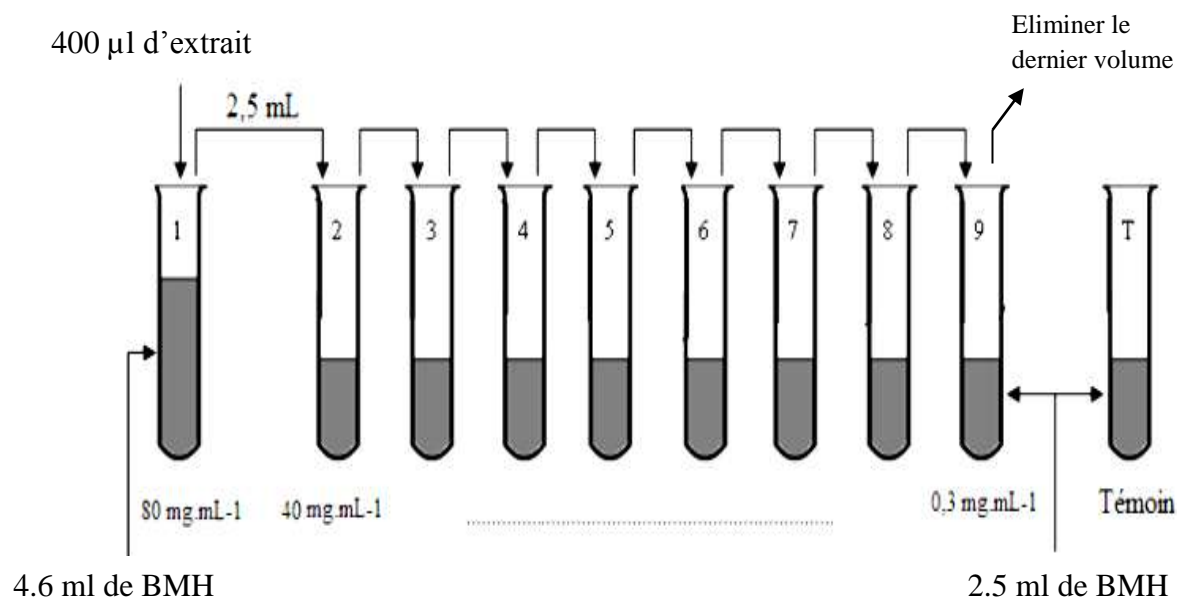


Figure 20 : Préparation des dilutions des extraits phénoliques de plantes étudiés (Guinoiseau, 2010).

13 μ l d'un *inoculum* microbien, de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (10^8 UFC/ml), sont déposés dans chacun des tubes de la gamme, et sont ensuite incubés à 37°C, pendant 24 heures. Un témoin de la croissance microbienne, pour lequel 13 μ l de l'*inoculum* ajusté ont été déposés dans du milieu BMH additionné au DMSO est également réalisé.

Après incubation, La CMI des extraits testés est déduite à partir du premier tube de la gamme dépourvu de croissance microbienne (Guinoiseau, 2010).

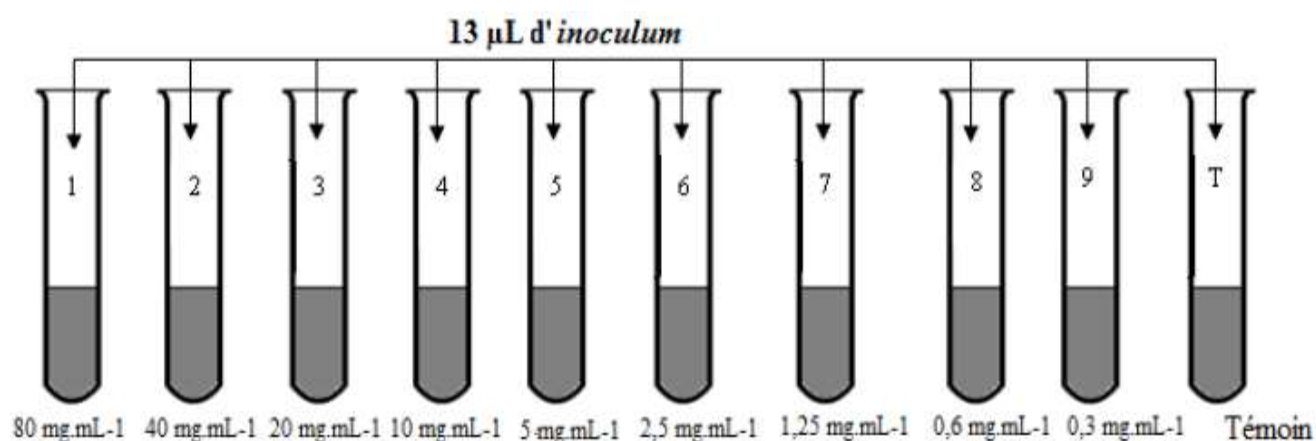


Figure 21 : Inoculation des différents tubes avec une suspension microbienne ajustée (Guinoiseau, 2010).

II.3.2.2.2 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en extraits capable de tuer plus de 99,9 % de l'*inoculum* microbien initial (soit moins de 0,01 % de survivants), elle définit l'effet bactéricide. La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macro-dilution en milieu liquide (CMI), est utilisée pour déterminer la CMB des extraits à tester (figure 21). Des prélèvements sont effectués dans chacun des tubes dépourvus de culot microbien puis déposés « en strie » sur gélose MH. Chaque strie correspond à une concentration donnée de l'extrait. Les boîtesensemencées sont incubées pendant 24 heures à 37°C. La CMB des extraits est déduite à partir de la strie dépourvue des bactéries (Guinoiseau, 2010).

Chapitre III :

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1 Résultat de l'extraction et dosage des composés phénoliques

III.1.1 Résultat de l'extraction

La macération des poudres des plantes *Juniperus phoenicea* (Genévrier) et *Glycyrrhiza glabra* (Réglisse) a permis de donner les extraits reportés sur la figure 22.

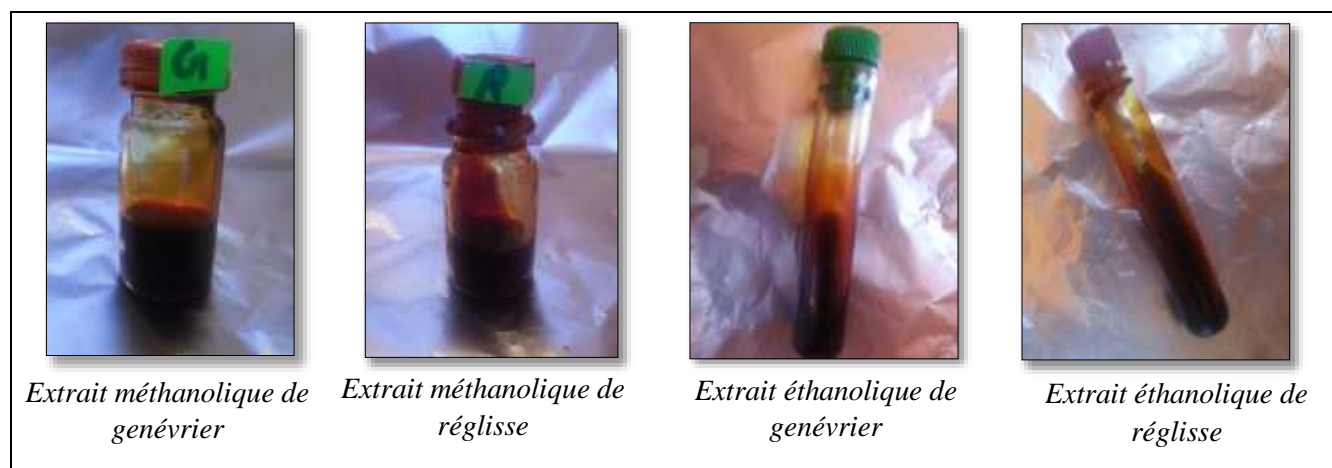


Figure 22 : Les extraits obtenus après macération.

III.1.2 Rendement de l'extraction

Les rendements des extractions calculés sont présentés sur la figure suivante :

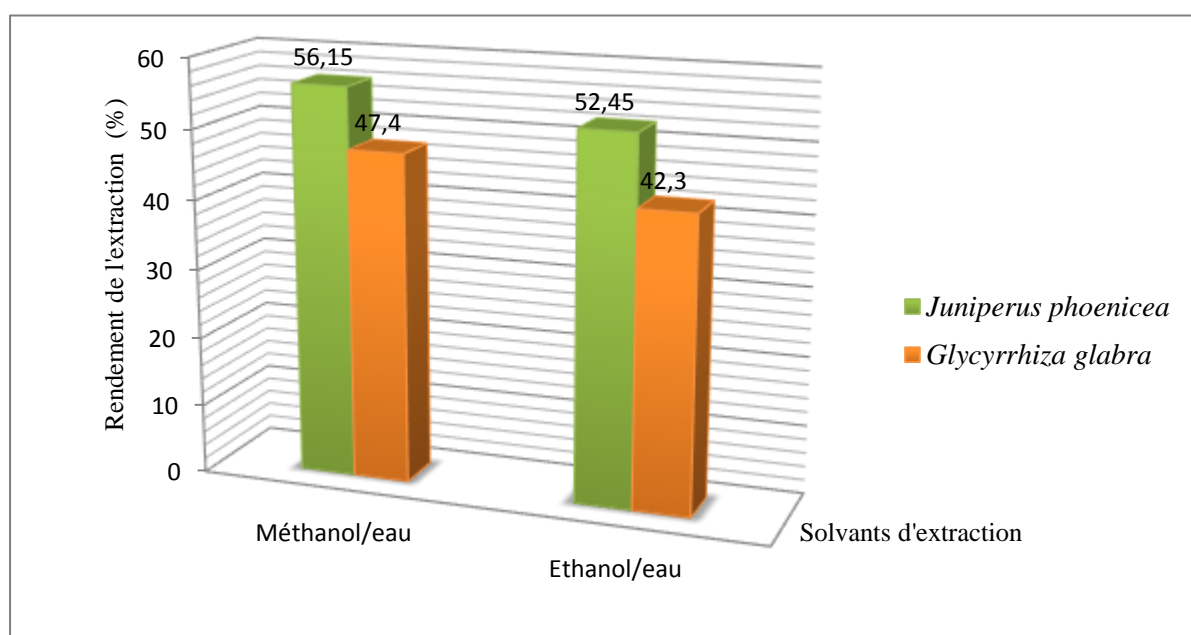


Figure 23 : Rendements de l'extraction des polyphénols totaux (%)

L'extraction des polyphénols totaux à partir des deux plantes a donné des rendements assez importants avec les deux solvants utilisés. Nous avons enregistré des valeurs relativement élevées avec le solvant méthanol/eau, 56.15% pour *Juniperus phoenicea* et 47.40% pour *Glycyrrhiza glabra* ; par rapport au solvant éthanol/eau (52.45% et 42.30%).

Il a été rapporté par **Bouchouka (2016)** que la combinaison méthanol/eau en (70 : 30) en volume a donné le meilleur rendement de l'extraction.

On constate également que la plante *Juniperus phoenicea* a donné le meilleur rendement avec les deux solvants.

Le rendement d'extraction est tributaire de plusieurs facteurs qui peuvent influencer les performances de l'extraction, tels que la taille des particules, la nature du solvant, la température, le temps d'extraction et le degré d'agitation (**Bouckouka, 2016**).

L'utilisation d'un mélange hydroalcoolique comme solvant donne toujours des résultats satisfaisants dans un processus d'extraction (**Perva-Uzunalic et al., 2006**).

III.1.3 Teneurs en polyphénols totaux

III.1.3.1 Droite d'étalonnage de l'acide gallique

Afin de doser les polyphénols totaux des différents extraits on a réalisé une gamme d'étalonnage d'acide gallique.

Les différentes concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique, La formule de la régression linéaire de cette courbe est de : $y = 0.0007x + 0.0026$ avec un facteur de corrélation R^2 égale à 0.9989 (figure 24) Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de matière sèche (mg EAG/g ms).

III.1.3.2 Résultat du dosage des polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux des échantillons sont donnés en mg EAG/g ms et sont reportés sur le tableau 9.

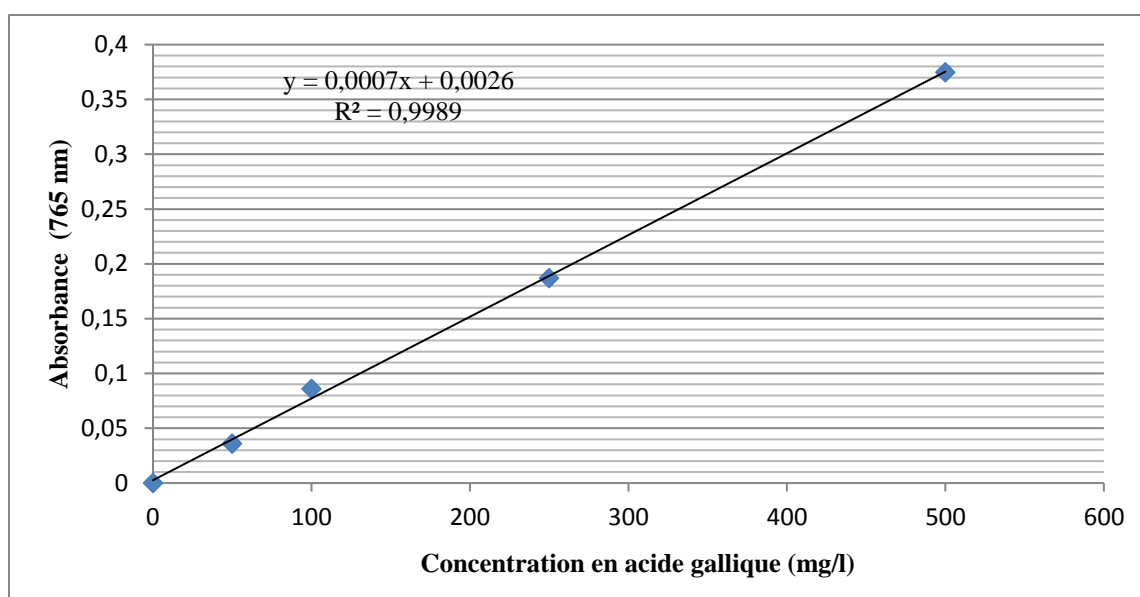


Figure 24 : Droite étalon de l'acide gallique.

Tableau 9 : Teneurs en polyphénols totaux des différents extraits.

| Extraits | Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g ms) |
|-------------|--|
| EHMG | 122.88 ± 6.64 |
| EHMR | 120.54 ± 3.35 |
| EHEG | 119.38 ± 7.85 |
| EHER | 110.46 ± 13.34 |

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EHEG : Extraits hydroéthanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHER : Extrait hydroéthnologique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

± : écart type.

La comparaison des teneurs en polyphénols totaux entre les différents extraits des deux plantes (tableau 9) montre que l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea* contient la concentration la plus élevée de polyphénols totaux avec 122.88 ± 6.64 mg EAG /g ms, vient juste après celle de l'extrait hydrométhnologique de *G. glabra* avec 120.54 ± 3.35 mg EAG/g ms. Les résultats de l'extrait hydroéthanolique de *J. phoenicea* sont de l'ordre de 119.38

± 7.85 mg EAG /g ms. Alors que l'extrait hydroéthanolique de *G. glabra* a donné une valeur relativement faible (110.46 ± 13.34 mg EAG /g ms) en comparant avec les autres extraits. Ces résultats sont illustrés graphiquement dans l'histogramme suivant :

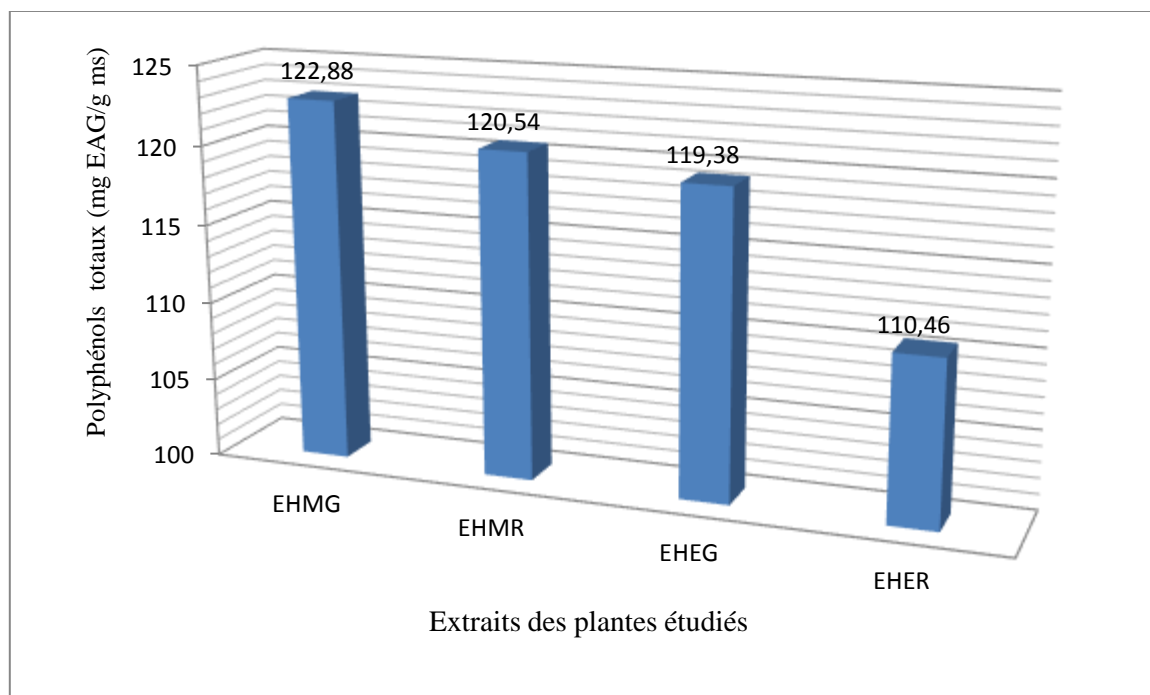


Figure 25 : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits.

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EHEG : Extraits hydroéthanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHER : Extrait hydroéthanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*).

Une étude menée par **Keskes et al. (2014)** qui ont travaillé sur le même extrait végétal hydrométhanolique de *Juniperus phoenicea*, nous avons constaté que la concentration en polyphénols totaux de la présente étude (122.88 ± 6.64 mg EAG/g ms) est nettement inférieure à celle trouvée par ces auteurs qui est de l'ordre de 201 ± 5.8 mg EAG/g. Quant à l'extrait hydroéthanolique de *Juniperus phoenicea*, **Menaceur et al. (2013)** ont mené la même étude sur cette espèce végétale. Les teneurs en polyphénols étaient de l'ordre de 308 mg EAG/g pour l'extrait hydroéthanolique de genévrier, qui est un résultat supérieur à celui de notre étude (119.38 ± 7.85 mg EAG/g ms).

Concernant l'espèce *Glycyrrhiza glabra*, **Rahmouni et Reghis (2016)** ont travaillé sur l'extrait hydrométhanolique de cette espèce et ont rapporté que la concentration des

polyphénols totaux été de $118,75 \pm 23,68$ mg EAG/g, ce résultat reste inférieur à celui ($120,54 \pm 3,35$ mg EAG/g ms) rapporté par le présent travail.

Les valeurs de polyphénols totaux des extraits dosés ont révélé que l'extrait hydroéthanolique renferme une teneur nettement inférieure ($110,46 \pm 13,34$ mg EAG/g ms) à celle de l'extrait hydrométhanolique dans la même plante (*Glycyrrhiza glabra*).

III.1.4 Teneurs en flavonoïdes

III.1.4.1 Droite d'étalonnage de la quercétine

Les différentes concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine, La formule de la régression linéaire de cette courbe est de : $y = 0,034X + 0,0206$ avec un facteur de corrélation R^2 égale à 0,9971. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de quercétine par un gramme de matière sèche (mg EQ/g ms). Chaque essai a été répété trois fois ainsi que, et les valeurs reportées représentent les moyenne qui ont servi à tracer la droite étalon illustrée sur la figure 39.

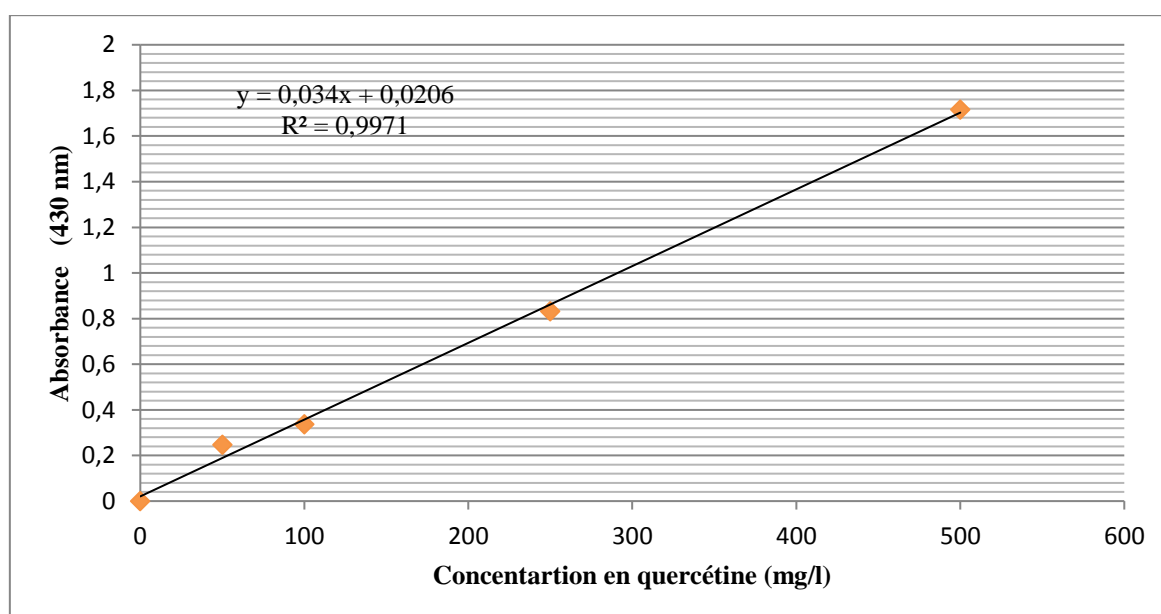


Figure 26 : Droite étalon de la quercétine.

III.1.4.2 Résultat du dosage des flavonoïdes

Après les dosages des composés phénoliques totaux, nous avons effectué la quantification des flavonoïdes qui constituent une partie intégrante des polyphénols totaux.

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits étudiés, contiennent des flavonoïdes mais avec des concentrations qui varient d'une espèce végétale à une autre.

Les valeurs de cette analyse sont consignées dans le tableau 10 :

Tableau 10 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits.

| Extraits | Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g ms) |
|-------------|------------------------------------|
| EHMG | 15.48 ± 4.97 |
| EHMR | 14.01 ± 8.54 |
| EHEG | 6.31 ± 1.30 |
| EHER | 5.16 ± 3.91 |

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EHEG : Extraits hydroéthanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHER : Extrait hydroéthanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

± : écart type.

Il est clair que les résultats des flavonoïdes varient d'une espèce végétale à une autre. D'une manière générale, la teneur en flavonoïdes est inférieure par rapport à la teneur en polyphénols totaux.

Les concentrations en flavonoïdes les plus importantes ont été enregistrées avec l'extrait hydrométhanolique et hydroéthanolique de *J. phoenicea* avec 15.48 ±4.97 mg EQ/g ms et 6.31 ±1.30 mg EQ/g ms respectivement. En revanche, on a enregistré une concentration de 14.01 ±8.54 mg EQ/g ms avec l'extrait hydrométhanolique de *G. glabra*. La concentration la plus faible (5.16 ±3.91 mg EQ/g ms) a été enregistrée pour l'extrait hydroéthanolique de la même espèce.

D'après ces résultats, on s'aperçoit clairement que la plus forte teneur en flavonoïdes revient à l'espèce *Juniperus phoenicea*.

Cette différence dans la teneur en flavonoïdes est probablement liée à leur diversité structurale (Bahorun et al., 2004). Où ils se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides (Pietta, 2000 ; Heim et al., 2002). Ceci est selon l'espèce végétale.

Les résultats du tableau 10 sont illustrés graphiquement dans l'histogramme suivant :

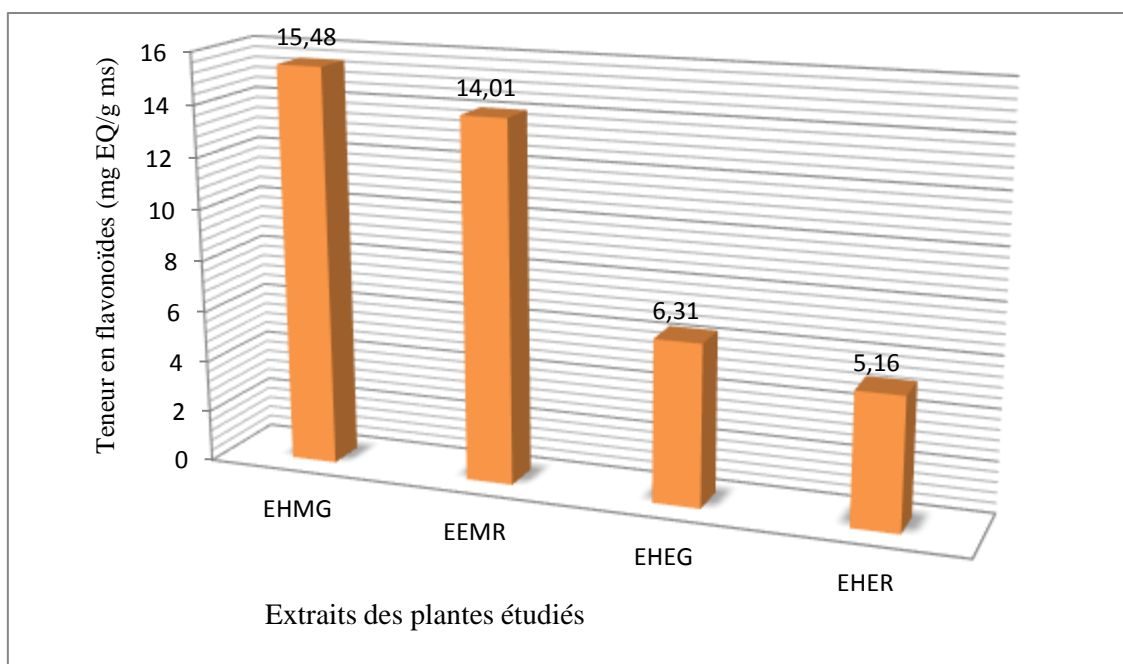


Figure 27 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits.

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EEMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EHEG : Extraits hydroéthanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHER : Extrait hydroéthnolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*).

Keskes et al. (2014), ont analysé la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique du genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*). Ils ont rapporté une valeur de 176 mg EC/g ms qui est nettement plus élevée que celle obtenue dans cette étude (15.48 ± 4.97 mg EQ/g ms).

Une autre étude menée par **Soltani et al. (2017)** sur l'extrait éthanolique du genévrier rouge a montré que la teneur en flavonoïdes était de l'ordre de 140,10 mg EC/g ms, cette valeur est également supérieure à notre valeur signalée (6.31 ± 1.30 mg EQ/g ms). Cette différence de résultats peut être due à la zone géographique d'où la plante est récoltée, car ces auteurs ont travaillé avec des plantes de la même espèce et qui sont issues de différentes zones.

Quant à l'espèce *Glycyrrhiza glabra*, on a enregistré une concentration de 14.01 ± 8.54 mg EQ/g ms avec l'extrait hydrométhanolique, cette valeur est supérieure à celle rapportée par **Alioui (2016)** (0.012 mg EC/g). Les teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique et éthanolique du *Glycyrrhiza glabra* ont montré un grand écart dans les valeurs avec (14.01 ± 8.54 mg EQ/g et 5.16 ± 3.91 mg EQ/g) respectivement.

III.1.5 Teneur en tannins condensés

III.1.5.1 Droite d'étalonnage de la catéchine

Les différentes concentrations des tannins condensés sont calculées à partir de la gamme d'étalonnage établie avec la catéchine, La formule de la régression linéaire de cette courbe est de : $y = 0.0041x + 0.00624$ avec un facteur de corrélation $R^2 = 0.9969$. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de catéchine par un gramme de matière sèche (mg EQ/g ms). Les valeurs reportées représentent la moyenne de ces trois répétitions.

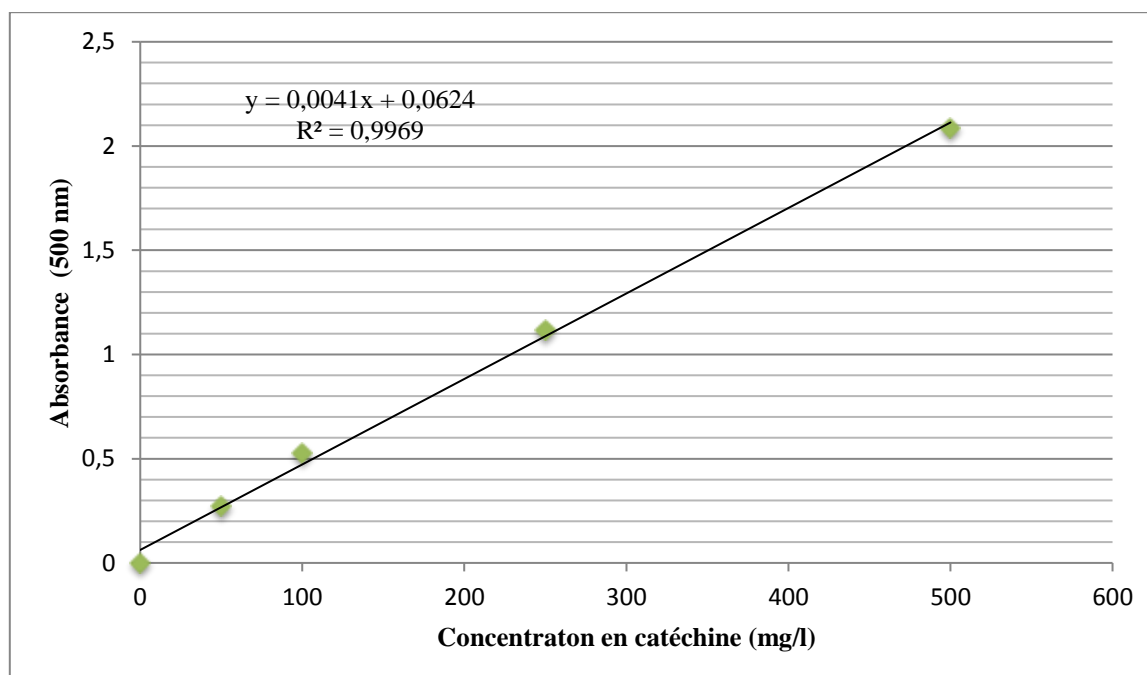


Figure 28 : Droite étalon de la catéchine.

III.1.5.2 Résultat du dosage des tannins condensés

Nous avons tenté de quantifier les tannins condensés qui constituent une classe importante des polyphénols et reconnus par leur effet antimicrobien. Les résultats de dosage sont représentés dans le tableau 11 et illustrés sur la figure 29.

Tableau 11 : Teneur en tannins condensés contenu dans les différents extraits.

| Extraits | Teneur en tannins (mg EC/g ms) |
|-------------|--------------------------------|
| <i>EHMG</i> | 42.34 ± 10.15 |
| <i>EHMR</i> | 40.14 ± 14.78 |
| <i>EHEG</i> | 30.88 ± 12.31 |
| <i>EHER</i> | 27.71 ± 9.56 |

EHMG : Extrait hydrométhanolique de *Genévrier* (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de *Réglisse* (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EHEG : Extraits hydroéthanolique de *Genévrier* (*Juniperus phoenicea*) ;

EHER : Extrait hydroéthanolique de *Réglisse* (*Glycyrrhiza glabra*) ;

± : écart type.

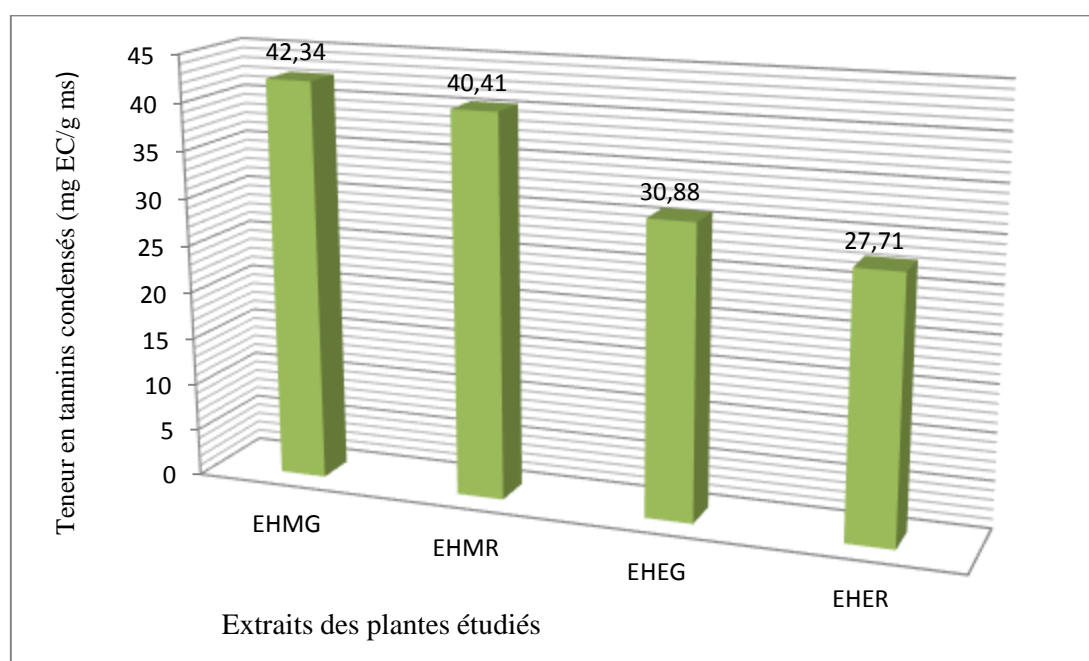


Figure 29 : Teneurs en tannins condensés des différents extraits.

L'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea* a donné la concentration la plus élevée de tannins condensés 42.34 ± 10.15 mg EC/g ms, suivie par celle de l'extrait hydrométhanolique *G. glabra* (40.14 ± 14.78 mg EC/g ms). L'extrait hydroéthanolique de *J. phoenicea* a donné une teneur de 30.88 ± 12.31 mg EC/g ms qui est un peu supérieure à celle de l'extrait hydroéthanolique de *G. glabra* (27.71 ± 9.56 mg EAG /g ms).

Ces teneurs en tannins condensés dans les différents extraits sont nettement supérieures à celles des flavonoïdes.

Il est important de souligner que la méthode utilisée, le choix des solvants, ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols, flavonoïdes, tannins et par conséquent affecte les activités biologiques médiées par ces métabolites (Lee et al., 2005). De plus, les résultats du dosage des composés phénoliques ne donnent pas des valeurs exactes des teneurs en polyphénols, en effet le réactif Folin Ciocalteu peut réagir avec d'autres molécules telles que les acides aminés (tyrosine, tryptophane) et les sucres réducteurs (glucose). Donc, malgré la grande sensibilité de la méthode Folin Ciocalteu, elle peut présenter des problèmes d'interférences.

De plus, on peut déduire que la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, tannins condensés) enregistré avec les deux plantes médicinales *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* a été meilleure avec le solvant méthanol/eau, pour cette raison, on a privilégié l'utilisation de l'extrait hydrométhanolique des deux plantes médicinales pour évaluer l'activité antimicrobienne.

III.2 Résultat du test de confirmation des souches microbiennes étudiées

III.2.1 Aspect macroscopique

L'aspect des colonies de différentes souches microbiennes étudiées est représenté dans les figures 30, 31, 32, 34.

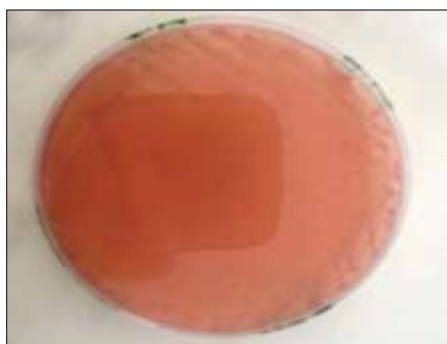


Figure 30 : Aspect des colonies d'*E. coli* sur gélose MacConkey



Figure 31 : Aspect des colonies de *P. aeruginosa* sur gélose King A



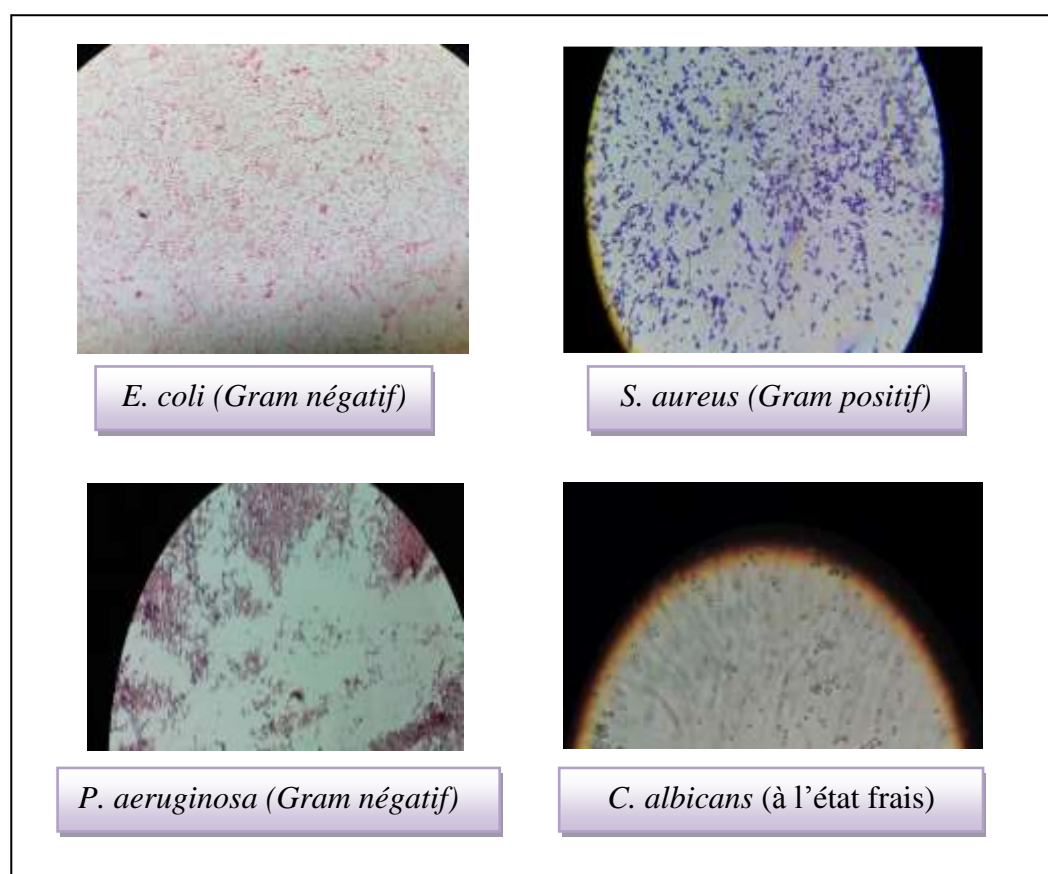
Figure 32 : Aspect des colonies de *S. aureus* sur gélose Chapman



Figure 33 : Aspect des colonies de *C. albicans* sur gélose Sabouraud additionné au chloramphénicol

III.2.2 Aspect microscopique

L'aspect microscopique des cellules microbiennes (grossissement $\times 100$) est représenté dans la figure 34.



E. coli (Gram négatif)

S. aureus (Gram positif)

P. aeruginosa (Gram négatif)

C. albicans (à l'état frais)

Figure 34 : Aspect microscopique des cellules microbiennes.

III.3 Résultat d'évaluation de l'activité antimicrobienne

La présente étude vise à montrer la présence ou l'absence d'une activité antimicrobienne, vis-à-vis des souches microbiennes pathogènes, en présence des extraits de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* seuls et en combinaison.

Deux méthodes ont été utilisées afin d'évaluer l'activité antimicrobienne ; la méthode de diffusion sur milieu solide et celle de macro-dilution en milieu liquide.

III.3.1 Méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme)

Cette étude est réalisée *in vitro* par la méthode de diffusion sur milieu solide. L'activité antimicrobienne s'est manifestée par l'apparition des zones claires appelées zones d'inhibition autour des disques imprégnés de l'extrait à étudier. Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition obtenues sont reportées sur le tableau 12.

Tableau 12 : Diamètres des zones d'inhibition (en cm) des extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* seuls et en association à l'égard des souches microbiennes étudiées.

| | | Diamètre des zones d'inhibition en cm | | | |
|-----------------|-----------------|--|----------------------|------------------|--------------------|
| Souches | | <i>E. coli</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. aureus</i> | <i>C. albicans</i> |
| Extraits | | | | | |
| | EHMG | Absence | Absence | 3 ±0.74 | Absence |
| | EHMR | Absence | Absence | 2.5 ±0.39 | Absence |
| | EC (v/v) | Absence | Absence | 5.5 ±1.52 | Absence |

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EC: Extrait combiné de Genévrier et la Réglisse (v/v).

± : écart type.

Les résultats reportés sur le tableau 13 ont montré une variabilité des effets des extraits sur les souches microbiennes utilisées. Il a été remarqué que la souche bactérienne *S. aureus* était très sensible vis-à-vis des deux extraits ; hydrométhanolique de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* avec des diamètres évalués à $(3 \pm 0.74 \text{ cm}$ et $2.5 \pm 0.39 \text{ cm}$) respectivement. Par conséquent, l'extrait associé des deux plantes médicinales a donné un diamètre de $5.5 \pm 1.52 \text{ cm}$ (figure 30).

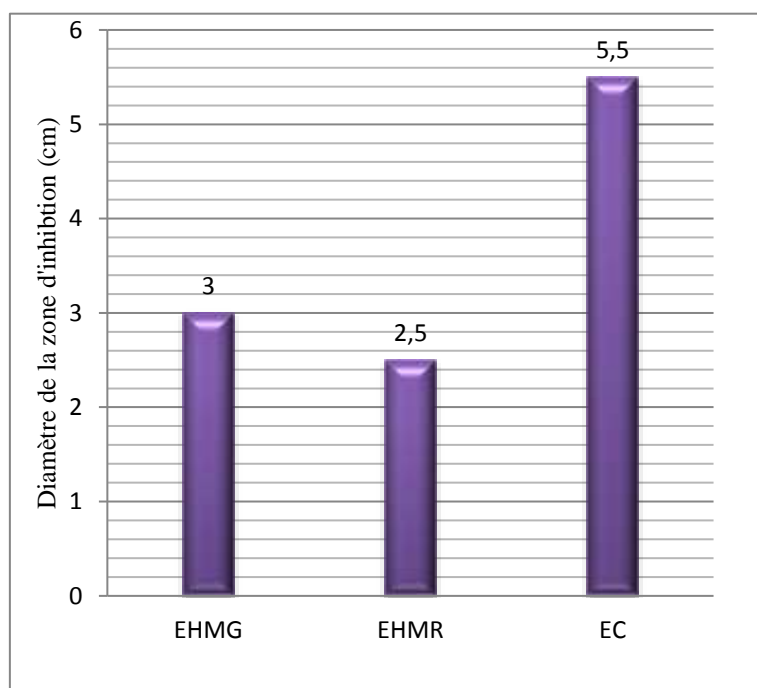


Figure 35 : Diamètres des zones d'inhibition (cm) obtenus par les extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* seuls et en combinaison à l'égard de *Staphylococcus aureus*.

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EC : Extrait combiné de Genévrier et la Réglisse (v/v).

Tandis que les deux autres souches ; *E. coli*, *P. aeruginosa* et également la souche fongique, *Candida albicans* ont montré une résistance vis-à-vis de tous les extraits étudiés.

Sur les figures : 31, 32, 33, 34, sont reportés les résultats de l'aromatogramme (méthode de diffusion sur milieu solide) des extraits hydrométhanolique des plantes étudiées (*Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*) pris séparément et en combinaison.



Figure 36 : Effet des extraits JP et GG vis-à-vis d'*E. coli*.

(E1 : extraits seuls ; E2 : extrait combiné).



Figure 37 : Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de *S. aureus*.

(S1 : extraits seuls ; S2 : extrait combiné).

Extrait JP : extrait de *Juniperus phoenicea* ;

Extrait GG : extrait de *Glycyrrhiza glabra* ;

T- : témoin négatif. ;

1 : premier disque imprégné dans l'extrait combiné JP + GG (v/v) ;

2 : deuxième disque imprégné dans l'extrait combiné JP + GG (v/v).

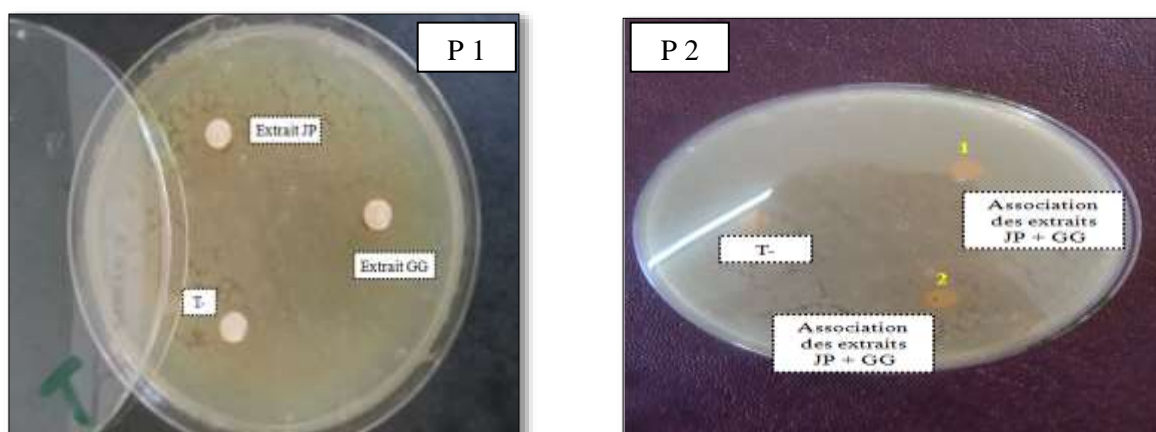


Figure 38 : Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de *P. aeruginosa*.
(P1 : extraits seuls ; P2 : extrait combiné).

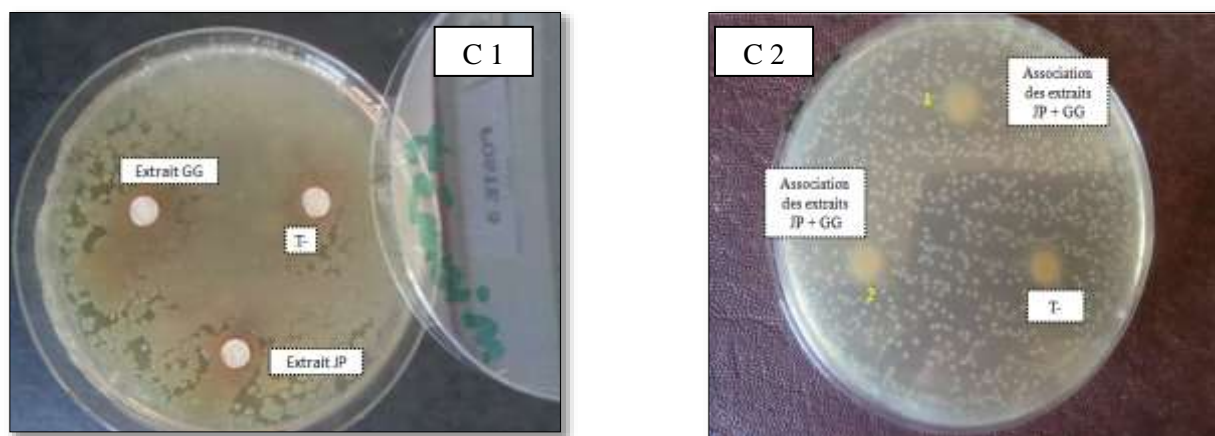


Figure 39 : Effet des extraits JP et GG vis-à-vis de *C. albicans*.
(C1 : extraits seuls ; C2 : extrait combiné).

Extrait JP : extrait de *Juniperus phoenicea* ;

Extrait GG : extrait de *Glycyrrhiza glabra* ;

T- : témoin négatif ;

1 : premier disque imprégné dans l'extrait combiné JP + GG (v/v) ;

2 : deuxième disque imprégné dans l'extrait combiné JP + GG (v/v).

L'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend surtout du type de bactéries, Gram positif ou Gram négatif (Cowan, 1999 ; Liu et al., 2004 ; Bekhechi et al., 2008).

Il ressort de cette évaluation que les extraits testés ont présenté des variabilités en fonction des souches étudiées ; où nous avons enregistré une absence totale d'un effet antimicrobien vis-à-vis des souches (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*), alors la souche *Staphylococcus aureus* était très sensible.

Quant à l'extrait hydrométhanolique de *Juniperus phoenicea*, les résultats obtenus ont indiqué un effet inhibiteur à l'égard de *Staphylococcus aureus* (gram positif) avec une zone d'inhibition, son diamètre est estimé à 3 ± 0.74 cm, ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Hayouni et al. (2007). En revanche, aucune zone d'inhibition, donc aucune activité antibactérienne de cet extrait est signalée vis-à-vis *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, et ceci contrairement aux résultats obtenus dans l'étude menée par Hayouni et al. (2007). En effet Hayouni et al. (2007), ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer sur l'activité antibactérienne des composés phénoliques de *J.phoenicea*.

Aucune activité antifongique des trois extraits n'a été enregistrée sur *C. albicans*, Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie car l'utilisation de différentes méthodes d'extraction réduisent la fiabilité de la comparaison entre les études.

Staphylococcus aureus (Gram positif) a montré une sensibilité vis-à-vis l'extrait hydrométhanolique de *Glycyrrhiza glabra*, alors, aucune activité n'a été marqué par l'extrait vis-à-vis de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif), ce qui est en accord avec les résultats obtenues par Ercisli et al. (2008). Par conséquent l'association des deux extraits a révélée un effet synergique et en même temps inhibiteur sur la croissance de *S. aureus*. Haraguchi et al. (1998) rapportent que deux type de flavonoïdes (licochalcone A et C) sont capables d'inhiber l'activité de *Staphylococcus aureus* mais inactifs vis-à-vis d'*Escherichia coli* selon ces auteurs, ces groupes de flavonoïdes s'avèrent de puissant inhibiteur de la NADH-cytochrome *c* réductase empêchant ainsi la consommation de l'oxygène et par conséquent le métabolisme énergétique est déséquilibré.

Par le fait, l'organisation architecturale de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif est riche en protéines, cette structure est moins complexe que celle des bactéries à Gram négatif, qui est surtout assemblée en lipopolysaccharides, la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace (Hogan et Kolter, 2002).

Cette différence structurale rend les bactéries à Gram positif plus sensibles à l'action de divers composés naturels tels que les extraits de plantes (**Kalemba et Kunicka, 2003**).

Une autre caractéristique des bactéries à Gram négatif est la présence de porines dans la membrane externe qui permettent de faire circuler des molécules hydrophiles de tailles limitées vers l'espace périplasmique, et qui empêchent les molécules (tels que les antibiotiques, et agents antimicrobiens) lipophiles d'entrer dans la cellule. En plus de posséder des pores qui empêchent l'entrée de certains composés, les bactéries à Gram négatif ont des systèmes qui permettent de faire sortir des éléments, comme des déchets métaboliques. Toutes ces propriétés de la membrane externe sont autant d'atouts contre l'action des agents antibactérien (**Wax et al., 2008 ; Fernandez et Hancock, 2012**).

De ce fait, l'extrait combiné n'a révélé aucune inhibition vis-à-vis d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram négatif).

III.3.2 Méthode de macro-dilution en milieu liquide

Pour déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) et Bactéricide (CMB) des extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* seuls et en association à l'égard de *S. aureus*, nous avons suivi la méthode de macro-dilution en milieu liquide. Les résultats sont repris dans le tableau ci-dessous. Ce tableau inclus, d'une part, les valeurs en mg/ml de la CMI et la CMB et d'autre part les valeurs qui correspondent au rapport CMB/CMI.

Tableau 13 : Test de détermination du CMI et CMB des extraits vis-à-vis *S. aureus*.

| <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |
|------------------------------|-----------|-----------|---------|
| | CMI mg/ml | CMB mg/ml | CMB/CMI |
| EHMG | 10 | 80 | 8 |
| EHMR | 20 | 80 | 4 |
| EC | 2.5 | 20 | 8 |

EHMG : Extrait hydrométhanolique de Genévrier (*Juniperus phoenicea*) ;

EHMR : Extrait hydrométhanolique de Réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) ;

EC : extrait de Genévrier combiné avec l'extrait de la Réglisse (v/v).

D'après nos résultats illustrés dans le tableau ci-dessus, la CMI la plus faible est celle de l'extrait combiné, elle est de 2.5 mg/ml, suivi par celle de l'extrait hydrométhanolique de *Juniperus phoenicea*, elle est de 10 mg/ml, enfin vient celle de l'extrait hydrométhanolique de *Glycyrrhiza glabra* estimée à 20 mg/ml. En conséquence, la CMB la plus basse (2.5 mg/ml) revient à l'extrait combiné, en revanche la CMI des extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* est identique (80 mg/ml).

L'aspect des résultats de détermination de la CMI et CMB est représenté sur les figures 35 à 40.



Figure 40 : La CMI de l'extrait hydrométhanolique du *Juniperus phoenicea* vis-à-vis *S. aureus*.



Figure 41 : La CMB de l'extrait hydrométhanolique du *Juniperus phoenicea* vis-à-vis *S. aureus*.

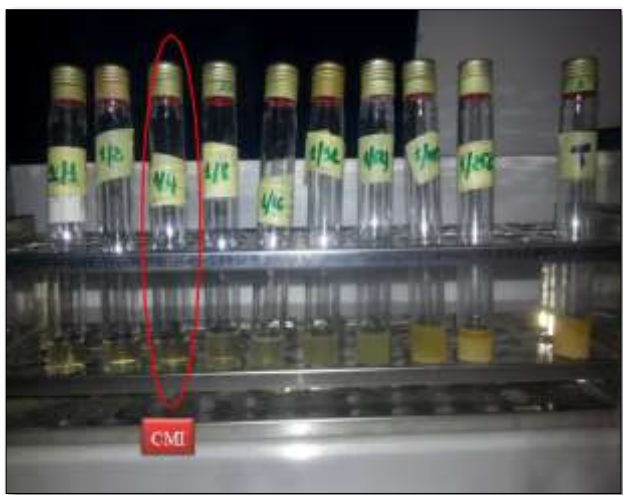


Figure 42: La CMI de l'extrait hydrométhanolique du *Glycyrrhiza glabra* vis-à-vis *S. aureus*.



Figure 43 : La CMB de l'extrait hydrométhanolique du *Glycyrrhiza glabra* vis-à-vis *S. aureus*.



Figure 44 : La CMI de l'extrait combiné vis-à-vis *S. aureus*.



Figure 45 : La CMB de l'extrait combiné vis-à-vis *S. aureus*.

$1/1 = 80 \text{ mg/ml}$; $1/2 = 40 \text{ mg/ml}$; $1/4 = 20 \text{ mg/ml}$; $1/8 = 10 \text{ mg/ml}$; $1/16 = 5 \text{ mg/ml}$;
 $1/32 = 2.5 \text{ mg/ml}$; $1/64 = 1.25 \text{ mg/ml}$; $1/128 = 0.6 \text{ mg/ml}$; $1/265 = 0.3 \text{ mg/ml}$.

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'un extrait (Guinoiseau, 2010). En effet, l'effet bactériostatique c'est une activité bactérienne au cours de laquelle il ne se manifeste aucune destruction bactérienne, on remarque une inhibition de la croissance bactérienne, croissance qui reprend dès que la

substance disparaît. L'effet bactériostatique d'un médicament est évalué par la concentration minimale inhibitrice. Pour une souche donnée, la CMI est la plus faible concentration d'antibiotique inhibitrice pour la quelle il n'a plus des germes microbiens visibles. Outre, l'effet bactéricide est un effet qui se manifeste par une accélération de la mort des bactéries *in vivo* ou *in vitro* (**Muanda, 2010**).

En revanche, lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur à 4, l'extrait est considéré comme 'bactéricide' (**Guinoiseau, 2010**).

Le rapport CMB/CMI des trois extraits est supérieur à 4, donc on peut déduire que les extraits étudiés ont un effet bactériostatique à l'égard de *Staphylococcus aureus*.

Conclusion

Conclusion

Actuellement, la recherche de nouvelles substances antimicrobiennes purement naturelles est la préoccupation suprême de la plupart des gens ainsi que la majorité des chercheurs. Avec plusieurs dizaines de milliers d'espèces de plantes différentes, le territoire algérien est un immense gisement de molécules actives d'origine végétale.

Notre travail avait pour objectif principale de doser certaines molécules bioactives de deux plantes médicinales appartenant à la flore méditerranéenne algérienne à savoir *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*, ainsi que de tester le potentiel antimicrobien de leurs extraits dans le but de contribuer modestement à la résolution du problème de la résistance développée par les microorganismes vis-à-vis des agents antimicrobiens (antibiotiques et antifongiques).

L'extraction par macération des composés phénoliques, à partir des deux plantes médicinales choisies, a montré d'importants rendements. Le résultat obtenu révèle que l'extrait hydrométhanolique a présenté le rendement le plus élevé, estimé à 56.15% avec *Juniperus phoenicea* et 47.40% avec *Glycyrrhiza glabra*, par rapport à l'extrait hydroéthanolique.

L'évaluation du contenu des polyphénols totaux, des différents extraits, en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités intéressantes en polyphénols. Les résultats du dosage des polyphénols de l'extrait hydrométhanolique du *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* ont donné des teneurs respectifs de 122.88 ± 6.64 mg EAG/g ms, 120.54 ± 3.35 mg EAG/g ms.

De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 et les tannins condensés avec la méthode de la vanilline. Les résultats du dosage des extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* ont indiqué des teneurs de 15.48 ± 4.97 mg EQ/g ms, 14.01 ± 8.57 mg EQ/g ms, respectivement pour les flavonoïdes et des teneurs de 42.34 ± 10.15 mg EC/g ms, 40.14 ± 14.78 mg EC/g ms, respectivement pour les tannins condensés.

L'évaluation du potentiel antimicrobien par la méthode de diffusion sur milieu solide (aromatogramme), a montré un grand effet inhibiteur des deux extraits hydrométhanoliques de *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra* vis-à-vis la souche référentielle, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862 avec des zones d'inhibition leur diamètre estimé de 3

± 0.74 cm, 2.5 ± 0.39 cm respectivement. Par ailleurs, ces extraits n'ont présenté aucun effet sur les autres souches étudiées (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231).

La détermination du CMI et CMB par la méthode de macro-dilution en milieu liquide des extraits étudiés à l'égard de *S. aureus* ATCC 33862 a indiqué les valeurs suivantes : 10 mg/ml, 80 mg/ml respectivement avec l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea* et des valeurs respectives de 20 mg/ml, 80 mg/ml avec l'extrait hydrométhanolique de *G. glabra*.

L'étude de l'association des deux extraits (recombinaison des extraits v/v) par la méthode de l'aromatogramme a permis d'obtenir un effet assez important vis-à-vis *S. aureus* ATCC 33862 avec une zone d'inhibition son diamètre estimé de 5.5 ± 1.52 cm, tandis que cette association n'a pas exercé un effet à l'égard du reste des souches référentielles étudiées (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *C. albicans* ATCC 10231). La méthode de macro-dilution en milieu liquide a permis d'obtenir une CMI de 2.5 mg/ml, et une CMB de 20 mg/ml avec l'extrait associé et à l'égard de *Staphylococcus aureus* ATCC 33862. Cette association a donné un effet synergique.

L'alliance de la connaissance traditionnelle et de la recherche scientifique peut ouvrir de nouvelles perspectives passionnantes sur le plan de la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. À la suite de ces résultats, il serait donc intéressant d'étendre l'éventail de ce travail :

- ✓ Une étude *in vivo* est souhaitable, pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités antimicrobiennes des extraits.
- ✓ De plus, une étude de la composition chimique des extraits est nécessaire et ce afin d'identifier et de préciser les différents principes actifs et pour mieux comprendre leur mode d'action.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoire et anticancéreuse.
- ✓ L'identification des principes actifs responsables de l'activité antimicrobienne par des techniques analytiques performantes telle que HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdelli W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Thymus vulgaris*. Thèse de Doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem. 214p.

Adams R-P., Barrero A-F., Lara A. (1996). Comparisons of the leaf essential oils of *Juniperus phoenicea*, *J. phoenicea* subsp. *eu-mediterranea* Lebr. et *Thiv.* and *J. phoenicea* var. *turbinata* (Guss) Parl. *J. Essent. Oil Res*, Vol. 8. pp. 367-371.

Adams R-P., Pandey N., Rezzi S., Casanova J. (2002). Geographic variation in the Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs) of *Juniperus phoenicea*, *J. p.* var. *canariensis*, *J. p.* subsp. *eumediterranea*, and *J. p.* var. *turbinata*. *Biochemical Systematic Ecology*, Vol. 30: pp. 223-229.

Adams R-P. (2014). Junipers of the World: The genus *Juniperus*. 4^{ème} Edition, Trafford, Canada, 422p.

Akiyama H., Fujii K., Yamasaki O., Ooni T., Iwatsuki K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 48. pp. 487 - 491.

Akrout A. (2004). Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). *CIHEAM, Options méditerranéennes*, n° 62. pp. 289-292.

Alioui K. (2016). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de deux extraits de la plante *Glycyrrhiza glabra* L. Mémoire de Master, Université Abou-Bekr Belkaïd, Tlemcen. 63p.

Alkurd A., Hamed T-R., Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*. Vol. 4. pp. 265 - 274.

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

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

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

Ammosov A-S., Litvinenko V-I. (2003). Triterpenoids of Plants of *Glycyrrhiza glabra* L. and *Meristotropis Fisch. et Mey* Genuses. *Pharmaceutical Chemistry, Vol. 37.* pp. 83-94.

Ananil K., Hudson J-B., de Souzal C., Akpaganal K., Towe G-H., Amason J-T., Gbeassor M. (2000). Investigation of medicinal plants of TOGO for antiviral and antimicrobial activities. *Phannaceutical Biology, Vol.38.* pp. 40-45.

Archambaud M. (2009). Les antibiotiques. Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil, Toulouse.

Avril J-L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. 2^{ème} Edition, *Ellipses*, Paris. 602p.

B

Bahorun T. (1997). Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *AMAS. Food and Agricultural Research Council*, pp. 83-94.

Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A., Aruoma O-I. (2004). Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 84.* pp.1553–1561.

Barbier F., Wolff M. (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* : Vers l'ipasse thérapeutique ? *J. Med Sci, Vol. 23.* pp. 960-968.

Bauer A-W., Kirby W-M., Sherris J-C., Tuck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized disc diffusion method. *Am. J. Clin. Pathol, Vol. 45.* pp.493-496.

Becker M., Picard J-E., Timbal J. (1982). Larousse des arbres : arbustes et arbrisseaux de l'Europe occidentale, *Edition Librairie Larousse.* 344p.

Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouahid D-E. (2008). Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie, Vol. 6.* pp. 153-159.

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

Biyiti L-F., Meko'o D-J-L., Tamzc V., Amvam Z-P-H. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharm. Méd. Trad. Afr, Vol.13*. pp.11-20.

Boizot N., Charpentier J-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *J. Cahier des techniques de l'INR*. pp.97-82.

Bouchouka E., 2016. Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydantes et antibactériennes de quelques plantes sahariennes. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba. 126p.

Brown J-E., Khodr H., Hider R-C., Rice-Evans C. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu²⁺ ions. *J. Biochem.Vol. 330*. pp. 1173-1178.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} Edition, Lavoisier, Paris. 1269p.

Busti D., Thomas R., Mandin J-P. (2010). Le Genévrier de Phénicie parmi les genévriers de France. Département de biologie, ENS de Lyon.

C

Caël D. (2009). Contribution à l'étude de la Réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.) : ses utilisations thérapeutiques et alimentaires. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré – Nancy 1, France. 124p.

Cairnes D-A., Ekundayo O., Kingston D-G. (1980). Plant anticancer agents. X. lignans from *Juniperus phoenicea*. *Journal of Natural products, Vol. 43*. pp 7- 495.

Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel. Vol. 42*. pp. 6-21.

Catier O. et Roux D. (2004). Botanique Pharmacognosie Phytothérapie. 2^{ème} édition Groupe Liaison, France. 142p.

Caudullo G., Rigo D. (2016). *Juniperus phoenicea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: European Atlas of Forest Tree Species. *San-Miguel-Ayanz J., de Rigo D., Caudullo G., Houston Durrant T., Mauri A., (Eds.), Publication Office of the European Union, Luxembourg*. pp. 12-63.

Chevallier A. (2007). Les plantes médicinales. *Editions Gründ, Paris*. 288p.

Cowan M-M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12. pp. 564-582.

D

Dacosta Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs. *Edition Yves Dacosta*. Paris. 318p.

Davies J., Davies D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* Vol.74. pp. 417-433.

Dawidar A-M., Ezmirly S-T., Abdel-Mogib M. (1991). Sesquiterpenes and diterpenes from *Juniperus phoenicea* L. *Pharmazie*, Vol. 46. pp. 472-473.

De Rijke E., Out P., Niessen W-M., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U-A. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*. Vol. 1112. pp. 31 - 63.

Delarze E., Sanglard D., 2015. Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resist Updat Rev Comment Antimicrob Anticancer Chemother.* Vol. 23. pp. 9-12.

Dembinska-Kiec A., Mykkänen O., Kiec-Wilk B., Mykkänen H. (2008). Antioxidant phytochemicals against type 2 diabetes. *British Journal of Nutrition*, Vol. 99. pp. 109-117.

Derwich E., Benziane Z., Boukir A. (2010). Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 12. pp. 199-204.

Diallo D. (2000). Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Mali and phytochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Aizoaceae), *Diospyros* Thèse de doctorat, Lausanne, 148-176.

Djahra A-B, Bordjiba O., Benkherara S. (2012). Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare* L. de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Rev. Sci. Technol., Synthèse*, Vol. 24. pp. 29-37.

Djeridan A., Yousfi M., Nedjmi D., Boutassouna D., Stoker P., Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some medical plants extracts containing phenolic compounds. *J. foods chemistry*, Vol. 97. pp. 654-660.

E

El Gharras H. (2009). Polyphenols : Food sources, properties and applications - A review. *International Journal of Food Science and Technology*. Vol. 44. pp. 2512-2518.

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

Ercisli S., Coruh I., Gormez A., Sengul M., Bilen S. (2008). Total phenolics, mineral contents, antioxidant and antibacterial activities of *Glycyrrhiza glabra* L. roots grown wild in Turkey. *Italian Journal of Food Science*, Vol. 20. pp. 91-99.

F

Fernandez L., Hancock R-E. (2012). Adaptive and mutational resistance: role of porins and efflux pumps in drug resistance. *Clin Microbiol Rev*, Vol. 25. pp. 661-681.

Fintelmann V., Weiss R-F. (2004). Manuel pratique de phytothérapie. *Edition Vigot*, Paris. 438p.

Frullani Y. (2011). *Escherichia coli* : la résistance aux antibiotiques en questions. J. *Actualités pharmaceutiques*, Vol. 50. pp. 1-8.

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M-B., Taghizadeh M., Astaneh S-A., Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *J. Food Chem*, Vol. 102. pp. 898-904.

Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2010). Phenolic compound. Extraction systems for fruit and vegetables samples. *Molecules*. Vol. 15. pp 8813-8826.

Garnaud C. (2017). Tolérance et résistance aux antifongiques chez *Candida spp.* : caractérisation de nouvelles cibles thérapeutiques. Thèse de Doctorat, Université Grenoble Alpes, France. 247p.

Garnier, Delamare V., Delamare J., Delamare R. (1992). Dictionnaire des termes de médecine. *Editions Maloine*, Paris. pp. 1058.

Gee J-M., Johnson I-T. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 8. pp. 1-182.

Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. (2010). *Glycyrrhiza glabra* L. (Fabaceae) Réglisse. *Phytothérapie*, Vol. 8. pp. 185-190.

Girre L. (198). Connaitre et reconnaître les plantes médicinales. *Edition Rennes*, Ouest France. 333p.

Girre L. (2001). Les plantes et les médicaments. L'origine végétale de nos médicaments *Edition, Delachaux et Niestle*, Paris. 253p.

Gonzalez-Gallego J., Garcia-Mediavilla M.V., Sanchez-Campos S., Tunon M.J. (2010). Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*, Vol. 104. pp.15-27.

Guignard J-L., Dupont F. (2015). Botanique. La famille des plantes. *Edition Masson*, Paris. 336p.

Guinoiseu E. (2010). Molécule antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse, France. 194p.

H

Haddouchi F., Zerhouni K., Sidi-Yekhelef A., Chaouche M-T. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 85. pp.152 – 159

Haluk J-P., Roussel C. (2000). Caractérisation et origine des tropolones responsable de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois. *Ann. For. Sci.*, Vol. 57. pp. 819-829.

Haraguchi H., Tanimoto K., Tamura Y., Mizutani K., Kinoshita T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata* . *Phytochemistry*, Vol. 48. pp. 9-125.

Haslam E. (1998). Practical polyphenolics; from structure to molecular recognition and physiological action. *Edition Cambridge University Press*. 422p.

Hayouni E-A., Abedrabba M., Bouix M., Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, Vol. 10. pp. 10-16.

Heim K-E., Tagliaferro A-R., Bobilya D-J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol.13. pp. 572-584.

Henis Y., Tagari H., Volcani R. (1964). Effect of Water Extracts of Carob Pods, Tannic Acid, and Their Derivatives on the Morphology and Growth of Microorganisms. *Applied Microbiology*, Vol. 12. pp. 204-209.

Hogan D., Kolter R. (2002). Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current opinion in microbiology*, Vol. 5. pp. 472-477.

Huang H-H., Kwok K-C., Liang H-H. (2004). Effect of tea polyphenols on the activities of soybean trypsin inhibitors and trypsin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 84. pp. 121-126.

Huguet M. (2008). La route des épices, aromatisants, condiments et mélange d'épices. *Edition, sang de la terre*, Paris. 190p.

I

Iberr H., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A. et Chailan C. (2016). Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Montpellier : CIHEAM / FranceAgriMer. 222p.

J

Jacob C. (1988). Contribution à l'étude de la réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.). Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy 1, France. 152p.

Julkunen-Titto R. (1985). Phenolic constituent in the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. *J Agric Food Chem*, Vol. 33: pp. 7-213.

K

Kalemba D., Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, Vol. 10. pp. 813-829.

Kalia L-V, Kalia S-K, Salter M-W. (2008). NMDA receptors in clinical neurology: excitatory times ahead. *Lancet Neurol*, Vol. 7. pp. 742-755.

Karou F-D., Dicko M-H., Simporé J., Traore A-S. (2004). Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina African. *Journal of Biotechnology*, Vol. 4. pp. 823-828.

Keskes H., Mnafigui K., Haden K. , Damak M., El Feki A., Allouche N. (2014). In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol. 4. pp. 649-655.

Knekt P., Kumpulainen J., Jarvinen R., Rissanen H., Heliovaara M., Reunanen A et al. (2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol.76. pp. 560-568.

Koffi E., Sea T., Dodehe Y., Soro S. (2010). Effect of solvent type on extraction of polyphenols from twenty three Ivorian plants. *J. Animal & Plant Sci.* Vol. 5. pp 550-558.

Kohanski M-A., Dwyer D-J., Hayete B., Lawrence C-A., Collins J-J. (2007). A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell.* Vol. 130. pp. 797-810.

ℒ

Laouar A., Klibet F., Bourogaa E., Benamara A., Boumendjel A., Chefrour A., Messarah M. (2017). Potential antioxidant properties and hepatoprotective effects of *Juniperus phoenicea* berries against CCl₄ induced hepatic damage in rats. *Asian Pacific journal of Tropical Medicine*, Vol. 10. pp. 263–269.

Lebreton E. (2014). Plantes à usage cutané chez l'enfant. Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, Saint-Martin-d'Hères, France. 171p.

Lee J., Koo N., Min D-B. (2004). Reactive oxygen species, aging, and antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 3. pp. 21-33.

Lee K-W., Hur H-J., Lee C-Y. (2005). Antiproliferative effects of dietary phenolic substances and hydrogen peroxide. *J. Agric. Food Chem*, Vol. 53. pp. 1990-1995.

Létard J-C., Canard J-M., Costil V., Dalbiès P., Grunberg B., Lapuelle J. (2015). Phytothérapie - Principes généraux. *J. Hegel*. Vol.5. pp. 29-35.

Levizou E., Petropoulou Y. et Manetas Y. (2004). Total carotenoid amount in crude twig extracts may be overestimated due to interference by high contents of co-extracted phenolics. *Photosynthetica*. Vol. 42. pp 295-297.

Liu J., Dehbi M., Moeck G., Arhin F., Bauda P., Bergeron D., DuBow M. (2004). Antimicrobial drug discovery through bacteriophage genomics. *Nature biotechnology*, Vol. 22. pp.185-191.

Lozniewski A., Rabaud C., Nancy. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. CCLIN Sud-Est.

Lugasi A., Hovari J., Sagi K-V., Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *J. Acta Biologica Szegediensis*. Vol. 47. pp. 119-125.

M

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allmand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *Presses Polytechniques et universitaires*. Romandes. 192p.

Mahmoudi S., Khali M., Mahmoudi N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) *Revue, Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, n° 09. pp. 35-40.

Maie N., Behrens A., Knicker H., Kögel-Knabner I. (2003). Changes in the structure and protein binding ability of condensed tannins during decomposition of fresh needles and leaves. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 35. pp. 577-589.

Manach, C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphénols: foodsources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 79. pp. 727-747.

Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Aafi A. (2011). Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* ssp.lycia et *Juniperus phoenicea* ssp.turbinata du Maroc. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, Vol. 15. pp. 1-10.

Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4. pp. 959-964.

Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi Ch., Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research*. Vol.4.pp. 959-964.

Medini H., Elaissi A., Khouja M-L., Chemli R. (2013). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea* ssp. *phoenicea* L. extracts from two Tunisian locations. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, Vol. 1. pp. 77-82.

Menaceur F., Benchabane A., Hazzit M., Baaliouamer A. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian *Juniperus phoenicea* L. extracts. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, Vol. 3. pp. 87-96.

Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. (2004). Botanique : biologie et physiologie végétales. *Edition Maloine*, Paris. 461p.

Middleton E-JR., Kandaswami C., Theoharides T-C. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Review*, Vol. 52. pp 673–751.

Miller N-J., Diplock A-T., Rice-Evans C-A. (1995). Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Vol. 43. pp. 1794-1801.

Mole S., Waterman P-G. (1987). A critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies. *J. Oecologia*, Vol. 72. pp. 137-147.

Montoro P., Maldinia M., Russob M., Postorinoc S., Piacentea S., Pizza C. (2010). Metabolic profiling of roots of liquorice (*Glycyrrhiza glabra*) from different geographical areas by ESI/MS/MS and determination of major metabolites by LC-ESI/MS and LC-ESI/MS/MS. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 54. pp. 535-544.

Morio F. (2015). Détermination de la sensibilité aux antifongiques : Pourquoi ? Quand ? Comment ? In : 44^{ème} colloques National des Biologistes des Hôpitaux, Nantes, 23/25 Septembre. pp. 1-55.

Muanda F-N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-metz, France. 295p.

N

Nauciel C., Vildé J-L. (2005). Bactériologie médicale. 2^{ème} édition, Masson. Paris. p272.

O

Odds F-C. (2010). Molecular phylogenetics and epidemiology of *Candida albicans*. *Future Microbiology*, Vol. 5. pp. 67-79.

P

Paganga G., Miller N., Rice-Evans C-A. (1999). The polyphenolic content of fruit and vegetables and their antioxidant activities. *Free Radic Res*. Vol. 30. pp. 62-153.

Perva-Uzunalic A., Skerget M., Knez Z., Weinreich B., Otto F., Grunner S. (2006). Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. *Food Chemistry*. Vol. 96. pp. 597-605.

Petit A-C. (2011). Toxicité et utilisation de quelques Fabaceae alimentaires et médicinales. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy1, France. 205p.

Pietta P-G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Product*, Vol. 63. pp.1035-1042.

Pirard M. (1900). Initiation à la phytothérapie. Guide pratique d'une herboriste. *Editions Edilivre*, Paris. 19p.

Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A., Oksman-Caldentey K-M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 90. pp. 494-507.

Q

Quezel P., Gast M. (1998). Genévrier. *Encyclopédie berbère, Gauda-Girrei*, Vol. 20. pp. 3016-3023.

R

Rahmouni S., Reghis S. (2016). Etude phytochimique et évaluations des activités anti-oxydantes et anti-bactériennes des espèces : *Lavandula steochas*, *Glycyrrhiza glabra* L., *Crocus sativus* L. et *Linum usitassimum* L. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine. 95p.

Ribereau-Gayon J. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques. *In* : Les composés phénoliques des végétaux. *Edition Dunod*. Paris. pp. 1-27.

Romani, A., Pineli, C., Cantini, A., Cimato, D. et Heimler. (2006). Characterization of violetto di Toscana. Typical italian variety of artichoke (*Cynarascolymus* L). *J. Food Chem.* Vol. 95. pp 221-225.

Ryan K-J. (2004). Candida, Aspergillus, and other opportunistic Fungi. *In*: Sherris Medical Microbiology. 4^{ème} edition, McGraw-Hill, USA. pp. 659-668.

Rybak M-J. (2004). Resistance to antimicrobial agents: an update. *Pharmacotherapy*. Vol.24. pp 15-203.

S

Saxena S. (2005). *Glycyrrhiza glabra*: Medicine over the millennium. *Natural Product Radiance*, Vol. 4. pp. 358-367.

Scalbert A., Manach C., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 45. pp. 287-306.

Schell W-A. (2006). Mycotic agents of human disease. *In: Biological Safety: Principles and Practises*. 4^{ème} édition, QSM Press. Washngton. pp. 163-178.

Seigue A. (1985). La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. *Edition Maisonneuve et larose, Paris*. 502p.

Siewert A.M. (2015). Antibiotiques naturels. L'arme secrète de la nature. *Editions Médicis*, Paris. 127p.

Simonsen G-S., Tapsall J-W., Allegranzi B., Talbot E-A., Lazzari S. (2004). The antimicrobial resistance containment and surveillance approach - a public health tool. *Bulletin of World Health Organization*. Vol. 82. pp. 928- 934.

Singleton VL. et Rossi J-A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. Vol.16. pp.144-158.

Soltani Y., Ali-Bouzidi M., Toumi F., Benyamina A. (2017). Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien. *Pharmacognosie*, Vol.10. pp. 1-7.

Spencer J.P. (2010). Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. *The Proceedings of the Nutrition Society*, Vol. 69. pp. 244–260.

T

Talbi M. (2015). Dosage des polyphénols de la plante D'*Artemisia campestris* L. par chromatographie HPLC. Mise en évidence de l'activité biologique. Thèse de Magister, Université d'Oran 1 Ahmed benbella, Oran, Algérie. 104p.

Teisseire P-J. (1991). Chimie des substances odorantes. *Editions Tech et Doc. Lavoisier*. Paris. 480p.

V

Venturini N., Curk F., Desjobert J.M., Karp D., Costa J. et Paolini J. (2010). Chemotaxonomic investigations of peel and petit grain essential oils from 17 citronncultivrs. *chemistry and biodiversity*. Vol.7. pp 736-751.

Virginie B. (2017). Mécanismes de résistance aux antifongiques. Laboratoire de Parasitologie et mycologie médicale. 67p.

W

Waterhouse A-L. (2002). Determination of Total Phenolics. *J. Current Protocols in Food Analytical Chemistry, Vol. 6.* pp. I1.1.1- I1.1.8.

Wax R-G., Lewis K., Salyers A., Taber H. (2008). Bacterial resistance to antimicrobials. *2^{ème} edition.* CRC press, Floride, USA. 448p.

Wichtl M. et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques : traditions pratique, officinale, sciences et thérapeutique. *2^{ème} Editions Tech et Doc.* Paris. 364p.

X

Xianghong W., Zhenming C., Lixi Y., Jing L., Meiju L., Longfei W. (2007). A marine killer yeast against the pathogenic yeast strain in crab (*Portunus trituberculatus*) and an optimization of the toxin production. *Microbiological Research, Vol. 162.* pp.77-85.

Annexes

Annexe N° 1

Appareils et verreries utilisées :

| <i>Appareils et équipements</i> | <i>Verreries et petit matériel</i> |
|---------------------------------------|------------------------------------|
| Agitateur horizontale (SHAKER) | Tube à essai |
| Bain marie (Gerhardt) | Béchers |
| Balance (KERN KB) | Erlenmeyers |
| Etuve (Memmert) | Pipettes graduées |
| Évaporateur rotatif (Rotavapor BUCHI) | Micropipettes |
| Plaque chauffante (Stuart) | Les embouts |
| Microscope optique (ZEISS) | Cuves |
| Centrifugeuse (SIGMA) | Spatules |
| Spectrophotomètre UV-V (JENWAY) | Boîtes de pétri |
| Broyeur électrique (moulin à café) | Flacons |
| Vortex (Stuart) | Pipettes Pasteur |
| Réfrigérateur (Condor) | Anse de platine |
| | Bec Bunsen |
| | Papier aluminium |
| | Gants |
| | Seringue |

Produits chimiques :

Les produits chimiques utilisés pour réaliser l'extraction des composés phénoliques et leur dosage proviennent de **Sigma-Aldrich** :

- Les solvants de l'extraction : méthanol, éthanol à 70%.
- Les étalons des polyphénols : acide gallique, quercétine, catéchine.
- Réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois).
- Solution de bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5%.
- Solution de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) à 2%.
- Vanilline à 1% (avec l'acide sulfurique).

Annexe N°2

Milieux de culture utilisés :

| | |
|--|--|
| <p>Bouillon nutritif (BN) (g/l)</p> <p>Peptone.....10 g Extrait de viande.....5 g Chlorure de sodium.....5 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.3 ±0.2</p> | <p>Bouillon Muller Hinton (BMH) (g/l)</p> <p>Extrait de viande.....3 g Hydrolysate acide de caséine.....15.5 g Amidon.....1.5 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.3</p> |
| <p>Gélose nutritive (GN) (g/l)</p> <p>Peptone.....10 g Extrait de viande.....3 g Extrait de levure.....3 g Chlorure de sodium.....5 g Agar.....18 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.3 ±0.2</p> | <p>Gélose Muller Hinton (BMH) (g/l)</p> <p>Extrait de viande.....3 g Hydrolysate acide de caséine.....15.5 g Amidon.....1.5 g Agar.....16 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.3</p> |
| <p>Gélose MacConkey (g/l)</p> <p>Digestion pancréatique de gélatine.....17 g Digestion pancréatique de caséine.....1.5 g Digestion peptique de tissu animal.....1.5 g Lactose.....10 g Sels biliaires.....1.5 g Chlorure de sodium.....5 g Rouge neutre.....0.03 g Cristal violet.....0.001 g Agar.....13.5 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.1 ±0.2</p> | <p>Gélose Chapman au mannitol (g/l)</p> <p>Tryptone.....5 g Peptone pepsique de viande.....5 g Extrait de viande.....1 g Mannitol.....10 g Chlorure de sodium.....75 g Rouge de phénol.....0.25 g Agar.....15 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.4 ±0.2</p> |
| <p>Gélose Sabouraud + chloramphénicol (g/l)</p> <p>Peptone.....10 g Glucose.....20 g Agar.....15 g Chloramphénicol.....0.5 g Eau distillée.....1000 ml pH = 6</p> | <p>Gélose King A (g/l)</p> <p>Peptone.....20 g Sulfate de potassium.....10 g Chlorure de magnésium.....1.4 g Agar.....15 g Eau distillée.....1000 ml pH = 7.2 ±0.2</p> |

(Les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave pendant 20 min à 120°C).

Résumé

Notre étude s'est focalisée essentiellement sur l'évaluation du potentiel antimicrobien de deux plantes médicinales appartenant à la flore méditerranéenne algérienne, à savoir, *Juniperus phoenicea* et *Glycyrrhiza glabra*.

L'extraction par macération des composés phénoliques des feuilles et baies séchées de *Juniperus phoenicea* et racines séchées de *Glycyrrhiza glabra* a donné des rendements respectifs de 56.15%, 47.40% avec méthanol/eau à 70% et 52.45%, 42.30% avec éthanol/eau à 70%. L'analyse quantitative des composés phénoliques montre que l'extrait hydrométhanolique, des deux plantes, est plus riche que l'extrait hydroéthanolique avec un taux de 122.88 ±6.64 mg EAG/g ms et 120.54 ±3.35 mg EAG/g ms en polyphénols totaux, 15.48 ±4.97 mg EQ/g ms, 14.01 ±8.57 mg EQ/g ms en flavonoïdes et des teneurs de 42.34 ±10.15 mg EC/g ms, 40.14 ±14.78 mg EC/g ms en tannins condensés, avec *J. phoenicea* et *G. glabra* respectivement.

Les résultats relatifs à l'évaluation de l'activité antimicrobienne ont montré que l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea*, de *G. glabra* et leur association se sont révélés actifs à l'égard de *S. aureus* ATCC 33862, alors les souches (*P. aeruginosa* ATCC 2785, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231) ont présenté une résistance à ces molécules extraites. Les résultats de la détermination du CMI et CMB ont permis de donner des valeurs de 10 mg/ml, 80 mg/ml respectivement avec l'extrait hydrométhanolique de *J. phoenicea* et des valeurs de 20 mg/ml, 80 mg/ml respectivement avec l'extrait hydrométhanolique de *G. glabra* et des valeurs de 2.5 mg/ml, 20 mg/ml avec l'extrait associé des deux plantes médicinales.

Mots clés : *Juniperus phoenicea*, *Glycyrrhiza glabra*, composés phénoliques, activité antimicrobienne, extraits associés.

Abstract

Our study focused mainly on the evaluation of the antimicrobial potential of two medicinal plants belonging to the Algerian Mediterranean flora, namely, *Juniperus phoenicea* and *Glycyrrhiza glabra*.

Extraction by maceration of the phenolic compounds from the dried leaves and berries of *Juniperus phoenicea* and dried roots of *Glycyrrhiza glabra* gave respective yields of 56.15%, 47.40% with the solvent methanol/water at 70% and 52.45% 42.30% with ethanol/water at 70%. The quantitative analysis of the phenolic compounds shows that the hydromethanolic extract of both plants is richer than the hydroethanolic extract with a content of 122.88 ±6.64 mg EAG/g ms and 120.54 ±3.35 mg EAG/g dw in total phenols, 15.48 ±4.97 mg EQ/g dw, 14.01 ±8.57 mg EQ/g dw in flavonoids and 42.34 ±10.15 mg EC/g dw, 40.14 ±14.78 mg EC/g dw in condensed tannins, with *J. phoenicea* and *G. glabra* respectively.

The results of the antimicrobial activity evaluation showed that the hydromethanolic extract of *J. phoenicea*, *G. glabra* and their association were found to be active against *S. aureus* ATCC 33862, whereas are completely inactive against *P. aeruginosa* ATCC 2785, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC 10231. The results of the determination of MIC and MBC have given values of 10 mg/ml, 80 mg/ml respectively with the hydromethanolic extract of *J. phoenicea* and values of 20 mg / ml, 80 mg/ml respectively with the hydromethanolic extract of *G. glabra* and values of 2.5 mg/ml, 20 mg/ml with the associated extract of the two medicinal plants.

Key words: *Juniperus phoenicea*, *Glycyrrhiza glabra*, phenolic compounds, antimicrobial activity, associated extracts.