

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique**  
**Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent**



**Institut des Sciences**

**Département de science de la nature et de la vie**

**Mémoire**

**Pour l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques**

**Option : Microbiologie Appliquée**

**Présenté par :**

**SALEMKOUR Bouchra et RAHAOUI Rania**

**Etude De L'effet Antimicrobien Des Extraits Et De L'huile Essentielle  
D'une Plante Médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*) De La Région de Ain  
Temouchent**

Encadrant : BENNABI Farid

Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 25-06-2019

Devant le jury composé de :

Président : M.CHERIF, nedjib (M.C.B)

Examineurs : Mlle. CHIBANI, hiba ( M.A.B)

Encadrant : M.BENNABI, farid (MCB)

C.U.B.B.A.T

C.U.B.B.A.T

C.U.B.B.A.T



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا

إنك أنت العليم الحكيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## Remerciements

*Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience.*

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à **Mr Bennabi Farid**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qui nous avons été accordée nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous adressons notre sincère remerciement à **Mr Cherif Nadjib** et **Melle Chibani Hiba** qui ont fait l'honneur d'être dans les jurys de notre soutenance.*

*Nous remercions tout le personnel de laboratoires pédagogiques **Mr Mohamedi Walid** et **Mr Rahmeni Khaled** et toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

*Et toutes les promotions de microbiologie appliquée et biochimie.*



## ***Dédicace***

***Nous dédicaçons se travail***

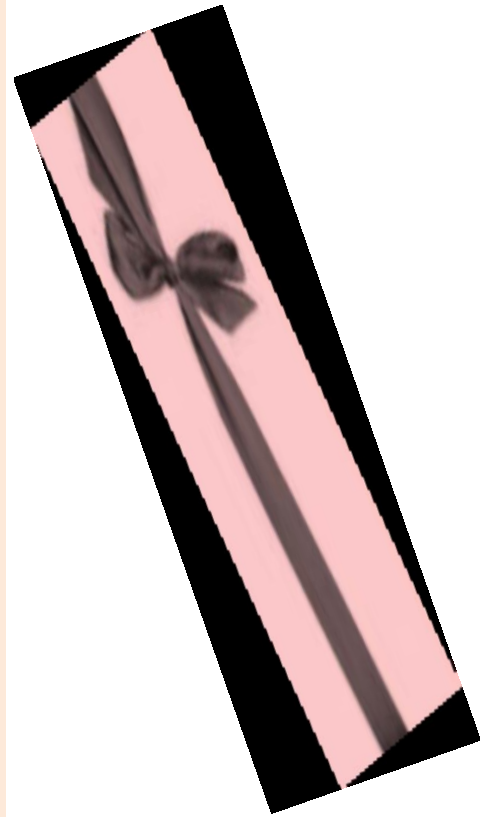
***A nos très chers parents***

***A nos chers frères***

***A tous nous amis :***

***Fatiha,Zoubida, Leila, Chahinez,Hideyet, Imad et said***

***A toutes nos familles, proches ou éloignée.***



# Table des matières

Introduction .....	1
--------------------	---

## Partie I : Synthèse bibliographique

### Chapitre 01 : métabolites secondaire chez la plante

1-Définition .....	5
1-1Métabolites primaires .....	5
1-2Métabolites secondaires .....	5
2-Biosynthèse .....	5
3-Classification .....	6
3-1Polyphénols .....	6
3-1-1Définition .....	6
3-1-2Classification .....	6
3-1-2-1polyphénols monomérique .....	7
3-1-2-2 polyphénols sous forme polymère .....	9
3-1-3 Biosynthèse des polyphénols .....	10
3-2 Les alcaloïdes .....	11
3-2-1 Fonctions des alcaloïdes .....	11
3-2-2 Biosynthèse des alcaloïdes .....	11
3-2-3 Propriétés physico-chimiques et pharmacologiques .....	12
3-2-3-1 Propriétés physico-chimiques .....	12
3-2-3-2 Propriétés pharmacologiques .....	12
3-3 Les terpènes .....	12
3-3-1 Biosynthèse des terpènes .....	13
3-3-2 Classifications des terpenes .....	13

### chapitre 02 : La présentation de la plante

1- Famille de Myrtacées .....	15
1-1 Définition .....	15
1-2 Description .....	15
1.3 Répartition .....	16
1.4 Classification en sous-familles .....	17
1-5 Intérêt biologique de la plante .....	17
2- Eucalyptus .....	19
2-1 Position Systématique .....	19

2-2 Description Botanique .....	19
2-3 L'origine Et La Réparation Géographique .....	20
2-4 Intérêts Socioéconomiques .....	21

### **Chapitre 03 :Généralités sur les huiles essentielles**

1- Définition des huiles essentielles .....	23
2- Localisation chez la plante .....	23
3- La composition chimique des huiles essentielles .....	23
4- L'aromathérapie .....	24
5- Les propriétés pharmacologiques .....	24
5-1 Activité antibactérienne .....	24
5-2 Activité antifongique .....	24
5-3 Activité antivirale .....	25
5-4 Activité antiparasitaire .....	25
6- Mode d'action des HEs sur les microorganismes pathogenes .....	25
7- Méthodes d'extraction .....	26
8- Effets indésirables des huiles essentielles .....	28
9- Conservation des huiles essentielles .....	29

### **Partie II : Matériels et méthodes**

Objectifs de travail .....	31
----------------------------	----

### **Chapitre 01 : préparation des extraits et d'huile essentielle**

1-Matériel .....	31
1-1 Matériel végétal .....	31
1.2. Produits chimiques .....	33
1.3. Appareillage .....	33
2-1 Préparation des extraits .....	33
2-1-1 Extraction par les solvants organiques a polarité croissante .....	34
2-1-2 Extraction aqueuse .....	35
2-1-3 Extraction d'huile totale .....	36
2-1-4 Extrait des tanins .....	36
2-2 Rendement d'extraction .....	37
2-3 Extraction de l'huile essentielle .....	38
2-3-1 Extraction par hydro distillation .....	38

<b>2-3-1-1 Protocole opératoire d'hydrodistillation</b> .....	<b>39</b>
<b>2-3-1-2 Conservation de l'huile essentielle obtenue</b> .....	<b>39</b>
<b>2-3-2 Détermination de rendement en huile essentielle</b> .....	<b>39</b>
<b>Chapitre 02 : Etude de l'activité antimicrobienne</b>	
<b>1- Matériel</b> .....	<b>40</b>
<b>Matériel biologique</b> .....	<b>40</b>
<b>1-1-1 Souches microbiennes pathogènes</b> .....	<b>40</b>
<b>1-1-2 Les extraits</b> .....	<b>40</b>
<b>1-1-3 L'huile essentielle</b> .....	<b>40</b>
<b>1-2 Milieu de culture</b> .....	<b>40</b>
<b>1-3 Antibiotique</b> .....	<b>41</b>
<b>2-Méthodes</b> .....	<b>41</b>
<b>2-1 Conservation des souches étudiées</b> .....	<b>41</b>
<b>2-2 Ensemencement des souches conservées</b> .....	<b>41</b>
<b>2-3 Revivification des suspensions microbiennes</b> .....	<b>41</b>
<b>2-3-1 Revivification des suspensions bactériennes</b> .....	<b>41</b>
<b>2-3-2 Revivification des suspensions fongiques</b> .....	<b>41</b>
<b>2-3-3 Ajustements de la charge microbienne</b> .....	<b>41</b>
<b>2-4 Préparation des disques</b> .....	<b>42</b>
<b>2-5 Préparation des milieux de culture</b> .....	<b>42</b>
<b>2-6 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux</b> .....	<b>42</b>
<b>2-6-1 Souches microbiennes</b> .....	<b>43</b>
<b>2-6-2 Préparation des concentrations des extraits et de l'huile</b> .....	<b>44</b>
<b>2-6-3 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)</b> .....	<b>45</b>
<b>2-6-4 Essais de sensibilité à la dilution</b> .....	<b>46</b>
<b>2-6-4-1 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les microdilutions»</b> .....	<b>46</b>
<b>2-6-4-2 Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)</b> .....	<b>47</b>
<b>2-6-4-3 L'antibiogramme</b> .....	<b>48</b>
<b>2-6-4-4 L'interaction synergique de l'huile et avec quelque antibiotiques</b> .....	<b>48</b>



## **Partie III : Résultats et Discussion**

<b>Chapitre 01 : préparation des extraits et extraction d'huile essentielle</b>	
<b>1- Rendement des extraits</b> .....	<b>51</b>
<b>2- Rendement d'extraction de l'huile essentiel</b> .....	<b>52</b>
<b>2-1 Les principaux composants d'huile essentielle</b> .....	<b>53</b>
<b>Chapitre 02 : étude de l'activité antimicrobienne</b> .....	<b>54</b>
<b>1-1- Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)</b> .....	<b>54</b>
<b>1-1-1- Les extraits</b> .....	<b>54</b>
<b>2-Détermination de la concentration minimale inhibitrice</b> .....	<b>62</b>
<b>3- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB) et (CMF)</b> .....	<b>65</b>
<b>4-Qualification de l'action antibactérienne et antifongique des extraits étudiés</b> .....	<b>68</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>81</b>

<b>Liste des figures</b>	<b>N°</b>
<b>Figure 01</b> : Classification des composés phénoliques	07
<b>Figure 02</b> : feuilles adultes, bouton floraux, fruits (capsules)	16
<b>Figure 03</b> : la répartition de la famille des myrtacées	16
<b>Figure 04</b> : plante <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	19
<b>Figure 05</b> : action des huiles essentielles et leurs constituants sur la cellule bactérienne	26
<b>Figure 06</b> : extraction par hydro distillation	27
<b>Figure 07</b> : extraction par entrainement à la vapeur	27
<b>Figure 08</b> : extraction par expression à froid	28
<b>Figure 09</b> : partie aérienne <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	32
<b>Figure 10</b> : région de récolte	32
<b>Figure 11</b> : broyage de la plante <i>d'eucalyptus camaldulensis</i> sèches	33
<b>Figure 12</b> : macération sous agitation	33
<b>Figure 13</b> : filtration sous vide	34
<b>Figure 14</b> : évaporation	34
<b>Figure 15</b> : extraction aqueuse	34
<b>Figure 16</b> : extraction de l'huile totale	36
<b>Figure 17</b> : six extraits <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	38
<b>Figure 18</b> : le montage utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	39
<b>Figure 19</b> : ajustement de la densité optique des suspensions microbiennes	42
<b>Figure 20</b> : préparation des dilutions des extraits <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	44
<b>Figure 21</b> : méthode de diffusion sur disque (l'aromatogramme)	45
<b>Figure 22</b> : rendement des extraits <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	51
<b>Figure 23</b> : l'huile essentielle après extraction par hydro distillation	53
<b>Figure 24</b> : résultats d'aromatogramme des extraits	54
<b>Figure 25</b> : effet de l'extrait d'éthanol (EEtOH) sur les souches étudiées	55
<b>Figure 26</b> : effet de l'extrait d'éther de pétrole (EEP) sur les souches étudiées	56
<b>Figure 27</b> : effet de l'extrait dichlorométhane (EDCM) sur les souches étudiées	57
<b>Figure 28</b> : effet de l'extrait de tanin N-butanol (ETNB) sur les souches étudiées	58
<b>Figure 29</b> : effet de l'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées	59
<b>Figure 30</b> : effet de l'extrait huile totale (EHT) sur les souches étudiées	60
<b>Figure 31</b> : résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	63
<b>Figure 32</b> : effet de l'huile essentielle <i>d'eucalyptus camaldulensis</i> sur les souches étudiées	66
<b>Figure 33</b> : résultats des concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle	70
<b>Figure 34</b> : résultats des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) de l'huile essentielle	73
<b>Figure 35</b> : Résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide	74

<b>Liste des tableaux</b>	<b>N°</b>
<b>Tableau 01</b> : activité biologique de certaines espèces de <i>mytacées</i> .	18
<b>Tableau 02</b> : organe de certaines plantes riche en huile essentielle.	23
<b>Tableau 03</b> : les principaux composants des extraits.	37
<b>Tableau 04</b> : les caractéristiques des souches microbiennes utilisées.	43
<b>Tableau 05</b> : préparation des dilutions des extraits.	44
<b>Tableau 06</b> : préparation des concentrations de l'huile essentielle.	44
<b>Tableau 07</b> : transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.	46
<b>Tableau 08</b> : les résultats des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits <i>d'eucalyptus camaldulensis</i> .	62
<b>Tableau 09</b> : les résultats des concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicides (CMF) sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.	66
<b>Tableau 10</b> : Valeurs des paramètres antimicrobiens des extraits exprimées en mg/ml	68
<b>Tableau 11</b> : concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) de l'huile essentielle <i>d'eucalyptus camaldulensis</i> sur la croissance des souches bactériennes et fongiques	75
<b>Tableau 12</b> : le rapport CMB/CMI des extraits relatifs aux cinq souches microbiennes.	76
<b>Tableau 13</b> : résultats de l'interaction synergétique d'huile eucalyptus avec les antibiotiques testés	77
<b>Tableau 13</b> : le rapport CMB/CMI de l'huile essentielle	
<b>Tableau 14</b> : résultats de l'association de l'huile essentielle aux antibiotiques	
<b>Tableau 12</b> : résultats des concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle <i>d'eucalyptus camaldulensis</i>	

# Introduction

## **Introduction**

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert Pour se nourrir, Les extraits des plantes étaient, déjà connus et utilisés par les égyptiens, les romains et les grecs, pour leurs propriétés odorantes et médicinales. Les propriétés médicinales des plantes ont été recherchées par de nombreuses études à travers le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique (**Auddy et al.2003**), par ces derniers ; la recherche qui traite le problème qui touche la santé publique est l'émergence la résistance aux antibiotiques.

Suite à l'utilisation massive et parfois abusive de ces derniers (**De Billerbeck, 2007**). Ceci a conduit à une forte demande du consommateur pour de nouveaux antibiotiques contre les germes pathogènes (**Fisher, 2008**), et a incité les scientifiques à recourir à la Phytothérapie, dans le but d'avoir des molécules aux propriétés antioxydants et antimicrobiennes. Cette phytothérapie peut être subdivisée en deux métabolites secondaires et les huiles essentielles.

En effet, il est bien connu que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique, non négligeable (**Kaloustian, 2008**). Elles exhibent une activité antibactérienne (**Bendjilali et al. 1986**), antivirale, antimycotique, antioxydant, antiparasitaire, et aussi un effet insecticide (**Burt, 2004**). Par conséquent, elles peuvent constituer un puissant outil de réduction de développement et de dissémination de la résistance bactérienne (**Stefanakis et al. 2013**).

Beaucoup d'études ont rapporté leur efficacité contre les germes pathogènes et les contaminants dans les aliments. (**Gutierrez et al. 2008;Djenane et al. 2012**).Ce qui concerne les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante (**KONE, 2009**). La variété des produits du métabolite secondaire plus de 200.000 structures définies (**Hartmann, 2007**) marque de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques, ces composés constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Epifano et al. 2007**).

C'est dans ce contexte que se situe l'objectif de notre travail et qui porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle et des extraits de la plante

médicinale eucalyptus et la recherche d'un effet synergique entraîne une meilleure efficacité antibactérienne afin de s'en servir dans divers domaines : médical, pharmaceutique et industriel.

Le genre *Eucalyptus* est un arbre originaire d'Australie où il compose plus de 90 % des forêts naturelles. On le trouve également en Tasmanie (île d'Océanie au sud-est du continent australien) et dans les îles indonésiennes. Le genre est très vaste puisqu'on en dénombre plus de 600 espèces. Dans le monde entier, les eucalyptus présentent un intérêt croissant pour la production renouvelable de biomasse ligneuse. Les *Eucalyptus* ont été introduits dans de nombreux pays, pour la production de bois ou pour assécher les sols. Les feuilles éloignent les insectes, d'où des plantations en Afrique pour diminuer la propagation de la malaria. Il a été introduit en 1857 en Algérie pour drainer les terrains de régions touchées par la malaria **(Treiner, 2000)**.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche de l'effet antimicrobien des substances naturelles en évaluant les propriétés antifongique et antibactérienne des huiles essentielles et des extrais végétaux d'une plante médicinale largement distribuée en Algérie: *Eucalyptus*.

Dans la partie recherche bibliographique de ce manuscrit, nous avons commencé par une Étude bibliographique des huiles essentielles et des extraits, leur extraction, leur composition, ainsi que leur propriétés biologiques pharmacologiques. Ensuite, nous avons procédé à la description de la plante et de ses propriétés biologiques tout en rappelant les travaux antérieurs réalisés sur l'*Eucalyptus*. En dernier lieu, nous avons évoqué quelques généralités sur la phytothérapie et l'intérêt socio-économique.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres distincts :

Le premier illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction, la Détermination de la composition chimique et l'évaluation des activités biologiques (Antifongique, antibactérienne) de l'huile essentielle extraite et les extraits de *Eucalyptus*.

Dans cette partie, Nous avons jugé nécessaire d'estimer certains paramètres tels que :

La concentration minimale inhibitrice (CMI), et la concentration minimale bactéricide (CMB) et le rapport entre ces deux. L'estimation de ces paramètres est justifiée par le fait que l'utilisation des souches bactériennes et des souches fongique.

Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de leur interprétation. La Signification statistique de ces derniers a été aussi examinée. Enfin, nous avons terminé par Une conclusion générale avec quelques perspectives.

# **Partie I : Synthèse bibliographique**

Chapitre 01  
Métabolites Secondaire  
Chez La Plante



## 1-Définition

Les métabolites sont les produits du métabolisme, le terme métabolite est généralement, par définition limité à de petites molécules, les molécules ont diverses fonctions telles que : la défense, la communication intercellulaire, l'énergie, la structure, la signalisation et des effets inhibiteurs sur les enzymes.

Chez les plantes, il existe deux grandes classes de métabolites :

### 1-1 Métabolites primaires

La plante possède un métabolite primaire qui permet à la plante d'élaborer des molécules indispensables à la vie de la plante (croissance et reproduction) : acide organique, protéines, acides aminés, les glucides et les lipides (**Mohammedi, 2013**)

### 1-2 Métabolites secondaires

Le terme « métabolite secondaire » est utilisé pour décrire une vaste gamme des composés chimiques souvent complexes chez les plantes, ces produits sont très dispersés et très différents selon les espèces. (**yezza samiha, 2014**)

## 2-Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse : la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate. (**[Keddar and Belavachi, 2018](#)**)

La variété des précurseurs (issus de la glycolyse ou métabolisme des lipides) qui interviennent dans la biosynthèse des métabolites secondaires est la source de la diversité structurale observée au niveau de ces derniers.

Les métabolites secondaires peuvent être subdivisés en deux catégories : les phyto anticipines qui sont en présence de facteurs de stress ou les constitutions c'est-à-dire synthétiser par la plante de manière permanente (même en absence de facteurs de stress).

### 3-Classification

Les principaux groupes de métabolites secondaires rencontrés dans les plantes et qui possèdent généralement une activité antimicrobienne sont : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et stéroïdes.

On distingue classiquement quatre grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux:

- ✓ Les composés phénoliques([Sancho Garnier, Tamalet et al. 2013](#))
- ✓ Les saponines
- ✓ Les alcaloïdes et composés azotes
- ✓ Les composés terpéniques.

#### 3-1Polyphénols

##### 3-1-1Définition

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules, dérivées en une dizaine de classe chimique, qui présentent toutes un point commun. ([Mohammedi, 2013](#))

Les composés phénoliques sont caractérisés par au moins un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles attachés. Plus de 8000 structures phénoliques ont été rapportées et ils sont largement dispersés dans le règne végétal. Les composés phénoliques vont du simple, de faible poids moléculaire, à un seul cycle aromatique jusqu'aux tanins volumineux et complexes et les dérivés poly phénoliques.

Ils peuvent être classés en fonction du nombre et de l'arrangement de leurs atomes de Carbone et on les trouve couramment conjugués à des sucres et des acides organiques. Les polyphénols composés peuvent être classés en : les flavonoïdes, les stilbènes et les lignanes... ([Djermane et Gherraf, 2013](#))

##### 3-1-2Classification

Les composés phénoliques (ou polyphénols) représentent un groupe de métabolites

Secondaires complexe comportant plusieurs familles: dérivés des acides benzoïque et cinnamique, flavonols ,flavones ,isoflavanones ,flavanes, flavanones, chalcones ,aurones et stilbène.Certains sont des précurseurs de polymères pariétaux, comme la lignine et la Subérine. D'autres sont des polymères intracellulaires tels que les tanins condensés et les Tanins hydrolysables.([Djermane et Gherraf, 2013](#))

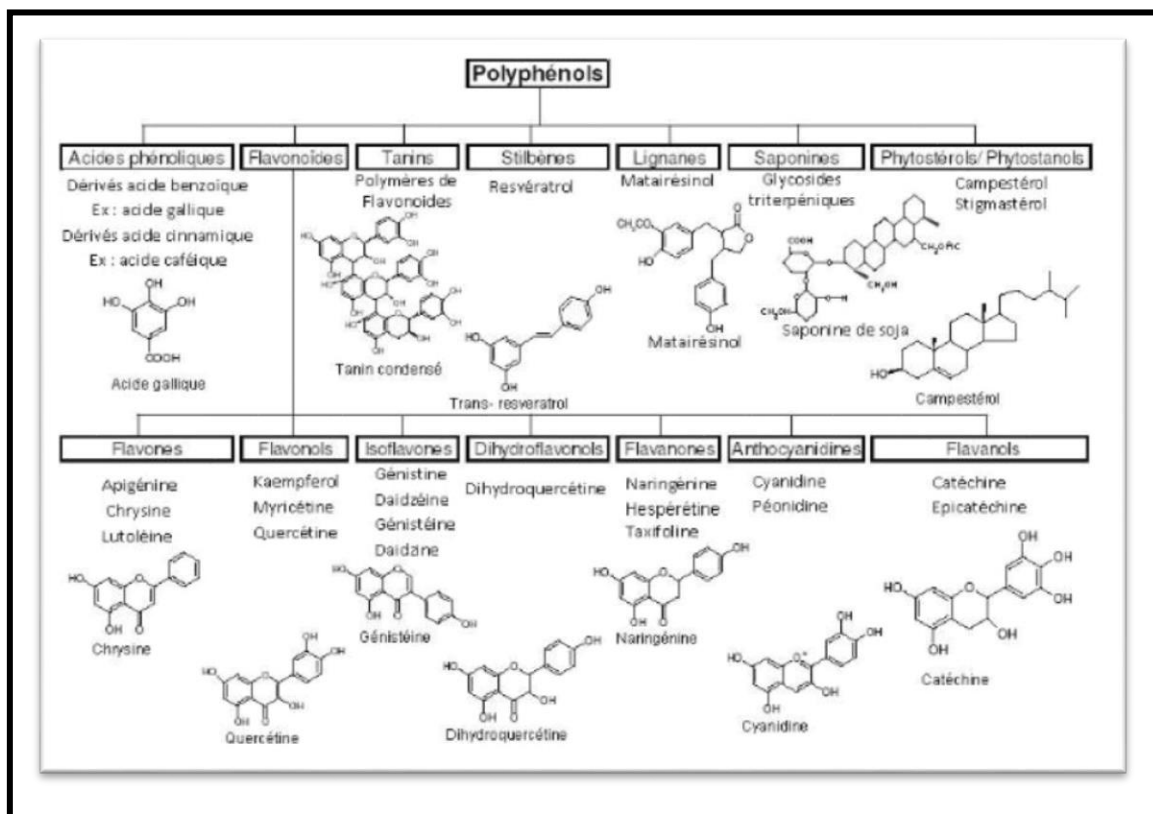


Figure 01:classification des composés phénoliques

### 3-1-2-1 polyphénols monomérique

#### a-Acide phénolique

Ces composés sont universellement rencontrés chez les plantes. Deux sous-groupes

Peuvent être distingués :

- 1) Les acides hydrox benzoïques, dont les plus répandus sont l'acide salicylique et l'acide gallique,
- 2) Les acides hydrox cinnamiques, dont les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide férulique.

Les acides hydrox cinnamiques peuvent exister sous deux formes

diastéréoisomères (présence de la double liaison de la chaîne latérale): cis (Z) et trans (E).

Les formes trans sont les plus abondantes, car thermodynamiquement plus stables.

Les acides hydrox cinnamiques sont naturellement présents associés avec diverses

Molécules provenant de voies métaboliques différentes. On les trouve sous forme :

- d'esters avec des acides-alcools, dont le plus commun est l'acide quinique. L'acide 5-caféoylquinique est l'acide chlorogénique, composé très répandu dans le règne

Végétal et l'alimentation;

- d'esters glycosidiques (sucres liés à la fonction acide);
- d'hétérosides (sucres liés à la fonction phénolique).([Nkhili, 2009](#))

### **b-Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des polyphénols, ils sont des pigments quasiment universels des végétaux, ces composés sont responsables de la coloration des fleurs des fruits et parfois des feuilles. ([Mekkiou, s.d](#))

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. Ce sont des composés en C6-C3-C6 comprenant en plus :

Les catéchols (catéchines). les proanthocyanidols. Les anthocyanes et les iso flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont présent dans tous les organes aériens, ils ont une teneur maximale dans les organes jeunes ils ont un rôle de

Coloration et Co-pigmentation. ([Koné, 2009](#))

### 3-1-2-2 polyphénols sous forme polymère

#### a-Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques présentes dans la nature sous forme polymérisée. On les trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...).

Les tanins peuvent se diviser en deux classes([Doat, 1978](#))

- 1) Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- 2) Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucoses.

#### b- Lignanes

Les lignanes résultent de la condensation d'unités phénylpropaniques. Quatre groupes

Peuvent être considérés([Krief, 2003](#)) : les lignanes (liaison entre deux carbones des chaînes latérales de deux unités dérivées du phénylpropane), les néolignanes (un seul carbone est en jeu), les "Oligomères", (condensation de 2 à 5 unités phénylpropaniques) et enfin les norlignanes avec un squelette en C17. Les néolignanes sont surtout présents chez les espèces primitives (Magnoliales, Pipérales) alors que les lignanes se trouvent souvent dans le bois des Gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les Angiospermes.

#### c -Coumarines

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-7-cinnamiques([Ounis, Boumaza et al. 2018](#)). Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone isolées dans 800 espèces de plantes et de micro-organismes. On les rencontre dans les Alpiaceae, les Asteraceae, fabaceae... du point de vue structural, on les classe comme des coumarines simples avec des substituants sur le cycle de benzène.([Koné, 2009](#))

## d-Stilbenes

Les stilbenes font partie d'un groupe très vaste des polyphénols. Ils sont majoritairement présents dans toutes les sources végétales.

Ils sont composés d'une structure qui est composé de deux cycles aromatiques, les stilbenes sont caractérisés par deux formes isomères qui sont des propriétés chimiques et biologiques différentes. Ces derniers jouent un rôle de défense constitutifs et inductibles (activités antimicrobiennes).

Les stilbenes possèdent un large spectre d'effets pharmacologiques et thérapeutiques. ([Aziza et Hamida, 2018](#))

### 3-1-3 Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont bio synthétisés par trois voies différentes : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate ([Keddar et Belayachi, 2018](#))

- ✓ **La voie shikimique :** est une [voie métabolique](#) aboutissant à la [biosynthèse](#) de certains [acides aminés aromatiques](#). Elle est présente chez des [bactéries](#), des [mycètes](#), des [algues](#), des [protistes](#) et des [plantes](#), mais est absente chez les [animaux](#)

Il s'agit d'une série de [réactions](#) convertissant le [phosphoénolpyruvate](#) et l'[érythrose-4-phosphate](#) en [chorismate](#), [précurseur](#) commun d'[acides aminés aromatiques](#) tels que la [phénylalanine](#), le [tryptophane](#) et la [tyrosine](#). Si les grandes lignes de cette voie métabolique sont communes aux organismes qui l'utilisent, chacun d'entre eux la met en œuvre d'une manière qui lui est propre, de sorte qu'il en existe de nombreuses variantes ([BOUBEKRI, 2014](#)).

- ✓ **Voie de l'acétate / malonate:** cette voie utilise comme précurseur l'acide acétique activé sous forme d'acétyl-S-coenzyme A. Le couplage des unités acétates conduit à la formation des poly-3-cétoesters qui, après cyclisation, donnent naissance aux composés mono ou polycycliques. Les xanthones, et les flavonoïdes en sont des exemples ([Rira, 2006](#))
- ✓ **Voie acétate Mevalonate :** La voie du mévalonate produit des métabolites utilisés dans des processus tels que la synthèse des terpénoïdes et des stéroïdes,

la prénylation des protéines, la maintenance des membranes cellulaires, la synthèse d'hormones, l'ancrage des protéines à la membrane plasmique(**Rohmer, 2000**)

### 3-2 Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose(**djouji, 2012**)

#### 3-2-1 Fonctions des alcaloïdes

Les alcaloïdes jouent un rôle de défense contre les herbivores dans la plante, d'une autre part ils peuvent avoir plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme :

- Antitumoraux
- Antalgiques : morphine, codeïne
- Antiarythmiques : quinidine et ajmaline

Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galanthamine (**Koné, 2009**)

#### 3-2-2 Biosynthèse des alcaloïdes

La biosynthèse des alcaloïdes se fait selon différents voies, ces composés se produit à partir des acides aminés (lysine, l'ornithine, tyrosine et le tryptophane), ce processus se déroule au niveau du réticulum endoplasmique ensuite ils se concentrent dans les vacuoles, le pH acide de ces derniers ionisent les alcaloïdes et cela entraîne une accumulation intra-vacuolaire des alcaloïdes.

Les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, dans les fruits ou les graines (**Afenai et Major, 2017**).

### 3-2-3 Propriétés physico-chimiques et pharmacologiques

#### 3-2-3-1 Propriétés physico-chimiques

- Les alcaloïdes sont peu solubles dans l'eau
- Caractérisés par une forte solubilité dans l'alcool
- Peuvent donner des colorations spécifiques avec certains réactifs (réactifs de Mayer, de Dragendorf, de Wasicky, de Bouchardat)(Yahaioui et Silat, 2018)
- Sont des composés de métabolisme secondaire de masse moléculaire faible et de fonction basique.
- Sont sensible à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène (**Guenfis & Guermoudj, 2018**)

#### 3-2-3-2 Propriétés pharmacologiques

- Les alcaloïdes exercent généralement leur activités pharmacologiques sur les mammifères comme l'Homme, ils sont le principe actif de plusieurs extraits de plantes anciennement utilisés comme médicaments, comme poisons, Les alcaloïdes présentent en fréquemment des propriétés pharmacologiques, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du Système cardiovasculaire(**Guenfis & Guermoudj, 2018**)

### 3-3 Les terpènes

Les terpènes ou les terpenoïdes sont l'une des classes les plus diverses de métabolites. Il a été répertorié plus de 10000 composés dans les très grandes majorités est spécifiques de règne végétal et qui englobe les arômes, les parfums, les hormones végétal et animal, les antibiotiques et les lipides des membranes...

La plupart des terpènes ont des structures cyclique soit des chaînes ouvertes : leur formule brute est  $(C_5H_X)_n$  dans le X est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs 1-8 sauf dans les poly terpènes qui peut atteindre plus de 100(caoutchouc). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoédrique à 5 atomes de carbone ( $C_5H_8$ ). (**Yahaioui et Silat, 2018**)



### 3-3-1 Biosynthèse des terpènes :

L'unité isoprénique est synthétisée à partir de la condensation de 3 molécules d'acide acétique le précurseur universel de ce processus et l'acide mévalonique.

L'acide acétique subit une phosphorylation suivi d'une décarboxylation abouti à la formation des terpénoïdes (**Haib, 2011**)

### 3-3-2 Classifications des terpènes :

Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isoprénique qui les composent :

- Les mono terpènes: Ce sont des produits généralement odorants obtenus par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux entiers ou d'organes de végétaux , Ils constituent la majeure partie des huiles essentielles, Ils comportent dix (10) atomes de carbones et sont issus de la condensation de deux unités isoprène (**Alain, 2015**).
- Les sesquiterpènes : Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures comme le  $\beta$ -Cadinène Les sesquiterpènes forme une série de composés qui renferment 15 atomes de carbones(Yahaioui et Silat, 2018).
- Les diterpènes : sont des substances de 20 atomes de carbone leur formule moléculaire  $C_{20}H_{32}$  ont 4 unités isoprènes ils renferment des activités biologiques significative (activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, anticancéreuse et antifongique) l'exemple le plus commun des diterpènes c'est les vitamines (**Perveen, 2018**)
- Triterpénoïdes et stéroïdes : Les triterpènes sont des molécules à 30 atomes de carbone. Ils ont comme précurseur le squalène, Il y a plus de 1700 triterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme tétracyclique ou pentacyclique, la forme acyclique étant très rare.

La plupart des triterpènes sont à l'état libre sous forme estérifiée ou hétérosidique, on les trouve notamment dans les résines.

- Tetraterpènes : Les caroténoïdes sont des tetraterpènes, les plus typiques étant les apocaroténoïdes, les diapocaroténoïdes, les mégastigmanes (**Malecky, 2008**)

# Chapitre 02

## La Présentation De La Plante

## 1- Famille de Myrtacées :

### 1-1 Définition

La plante utilisée pour fabriquer les extraits et l'huiles essentielles doit être définie par son genre, son espèce et si possible la sous espèce à laquelle appartient. Dans l'exemple des eucalyptus ; ils appartiennent à la famille des Myrtacées grande famille de 72 genres et 300 espèces les eucalyptus comportent environ 600 à 700 espèces et variétés (eucalyptus globulus, eucalyptus radiata.) Les Myrtaceae est une famille de plantes dicotylédones, deux cotylédons sur l'embryon, deux feuilles constitutives de la graine. **(Oued si said, 2014)**

### 1-2 Description

On peut dire en générale que toutes les myrtacées ont :

Les feuilles : sont persistantes alternes le plus souvent ou opposées, simples et généralement à marge entière.

Les fleurs : sont souvent à 5 pétales mais certaines espèces offrent des fleurs aux pétales minuscules voire absent.

Les étamines : sont généralement remarquables nombreuses et de couleurs vive.

L'androcée : comprend un grand nombre d'étamines se développant de façon centripète.

La pollinisation : est caractérisé par un disque nectarifère qui recouvre l'ovaire (la fleur dite entomophile)

Fruits : le fruit présente une baie : surmontée d'un calice dans la sous famille Myrtoideae ou une capsule loculicidée dans la sous famille des Leptospermoideae, ou parfois une drupe. D'une façon générale ; il contient peu de graines voire une dans chaque loge. Ces dernières sont exalbuminées c'est-à-dire au cours de leur maturation l'embryon consomme la totalité de l'albumen. **(Oued si said, 2014)**



**Figure 02** : feuilles adultes, boutons floraux, fruits (capsules) (Melun, 2011)

### 1.3 Répartition

L'aspect général des plantes de cette famille va du petit arbuste à l'arbre de très grande taille, poussant principalement dans les régions équatoriales, subtropicales, tropicales voire tempérées. Les principales espèces des Myrtacées présentent une vaste communauté notamment le bassin méditerranéen, l'Amérique du sud et l'Australie ou la partie tempérée ou ce continent évalue une grande diversité d'espèces. (Chabert, 2013)



**Figure03** : la répartition de la famille des myrtacées

### 1-4 Classification en sous-familles

Parmi les Myrtacées, on peut distinguer 2 sous familles :

- **Les Myrtoideae**

Cette sous famille comporte notamment les genres

- Myrtus.
- Eugenia.
- Syzygium.
- Psidium.
- Calyptranthes.

Leur fruit est une baie, les étamines forment un androcée méristémone, les ovules sont campylotropes et les feuilles sont opposées.

- **Les Leptospermoideae**

Cette sous famille comporte entre autres les genres

- Eucalyptus,
- Melaleuca,
- Leptospermum,
- Metrosideros,
- Callistemon.

Leur fruit est une capsule ou une nucule, les étamines forment un androcée polyadelphie, les ovules sont anatropes, les feuilles sont alternes ou opposées. (**Chabert,2013**).

### 1-5 Intérêt biologique de la plante

Les espèces de cette famille sont caractérisées par des propriétés thérapeutiques diverses qui sont appliqués en médecine traditionnelle. Ces derniers sont expliqués dans des exemples qui ont été validés et confirmé suite à différents travaux. (**Chaouche,s.d.**)

Les exemples :

Espèces	Activités biologiques
<i>Cleistocalyxoperculatus</i>	anti-inflammatoire antiseptique anti-oxydante antimicrobienne cytotoxique anti-tumorale
<i>Cleistocalyxoperculatus</i>	Antibactérienne
<i>Eucalyptus rostrata</i>	anti-oxydante
<i>Psidiumguajava</i>	anti-oxydante anti-hypertensive anti-diarrhique antinociceptive antidiabétique anti-allergique anti-tumorale anti-inflammatoire cytotoxique antispasmodique antigenotoxique

**Tableau 01 : Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées**

## 2- Eucalyptus



**Figure 04** : plante d'eucalyptus

### 2-1 Position Systématique (Ghedira, Goetz et al. 2008)

- Règne : Plantae
- Sous-règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Rosidae
- Ordre : Myrtales
- Famille : Myrtaceae
- Genre : Eucalyptus
- Espèce : Camaldulensis

### 2-2 Description Botanique

Le mot <<Eucalyptus>> : « Eu » est un préfixe d'origine grecque et signifiant « bien » et « Kalyptos » veut dire « couvrir » donc le nom générique signifie bien couvert car les pétales et sépales sont soudés.(Lemarchand, 2008). Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques. Les eucalyptus sont de grands espèces qui peuvent atteindre jusqu'à 100m de hauteur. Mais leur vraie moyenne varie entre 40 et 50 m. Le tronc comprend a la base une écorce foncée et rigoureuse laissant s'exfolier son épiderme.

L'eucalyptus portent des feuilles persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux : les rameaux les plus âgés (adultes) portent des feuilles aromatiques, sont simples et lancéolées verte et verte foncé, mesurent de 12 à 30 cm. Et les feuilles juvéniles sont ovales à légèrement lancéolées, vertes, opposées. Les fleurs naissent à l'aisselle des nouvelles feuilles sont de couleur blanche –crème. Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron lors de sa maturité. Les eucalyptus sont connus pour leurs capacités à une grande casserole papetière et de repousser sans manque de dormance à cause de leurs graines qu'elles sont d'une couleur noire. (Ghedira, Goetz et al. 2008). La croissance de cette espèce est continue du fait qu'ils n'ont pas d'endodormance contrairement aux d'autres espèces ligneuses. Ils sont opportunistes, leur croissance dépend uniquement de la température moyenne. Elle est maximale en condition favorable et ralentie ou nulle en fonction du froid ou de la sécheresse (Stress abiotiques) par exemple, les eucalyptus sont très réactifs après le stress et cette réactivité explique la compétitivité des eucalyptus pour l'occupation de l'espace. (Marque, 2008)

### 2-3 L'origine Et La Répartition Géographique

✓ l'origine d'eucalyptus :

- Australie où il compose 95% des forêts naturelles
- Tasmanie
- Malaisie
- Iles Indonésiennes (Mekelleche, s.d)

✓ le nom vernaculaire :

En Algérie : calitous, calibtus, kaffour

Français: eucalyptus, arbre de la fièvre, gommier bleu.

Anglais: bluegumtree;

Allemand: Eukalyptusblatter;

Arabe: Kalitus, Kalatus (Ghedira, Goetz et al. 2008)

- ✓ l'eucalyptus est originaire de l'Australie en 1863 son introduction en Algérie est faite et leur facilité d'adaptation permet une plantation massive, parmi les espèces les plus répandus dans la région méditerranéenne *E. globulus*, *E. camaldulensis*, *E. gomphocephala*, le transfert génétique entre certaines espèces se fait rapidement et cela complique encore plus leur identification. (Ghenaiet et Aouidet, 2016).



La répartition de la plante compose plus de 90% de forêts naturelles. On le trouve également en Tasmanie (île d'Océanie au sud-est du continent australien) et dans les îles indonésiennes. Le genre est très vaste puisqu'on en dénombre plus de 600 espèces. **(Melun, Sud-ouest et al. 2011)**. Et cette répartition dans différents pays et régions transporte des caractérisations importantes sur son biotope et sa composition chimique. **(Koziol, 2015)**

#### **2-4 Intérêts Socioéconomiques**

L'effet socio-économique des plantations d'eucalyptus ont des conséquences et des intérêts plus larges sur le plan social et économiques. En zone sahélienne, les eucalyptus sont en plantation pures ou mixtes avec d'autres espèces exotique et/ou indigènes. Le bois d'eucalyptus présente de bonnes qualités mécaniques, il est communément utilisé au sahel comme bois de chauffe et des matériaux de construction de maison, de hangars et dans plusieurs besoins. Une plantation d'eucalyptus contribue à la fertilité du sol, donc elle va enrichi le milieu par différents espèces végétale et animale et elle fournit une association symbiotique entre la plante et les champignons ectomycorhiziens comestible qui constituent des nutriments et de revenus pour les populations locales **(Abdoulaye Soumare, 2017)**.

A part la chauffe l'eucalyptus offre d'autres avantages en phytothérapie. Dans certains pays d'Afrique est utilisé aux maux d'estomac, les feuilles sont utilisées pour le rhumatisme, les feuilles séchées puis brulées sont utilisées pour calmer la toux, l'angine, la bronchite et l'asthme. Les feuilles brulées sont aussi utilisées pour chasser les moustiques .Et même pour le choléra, la peste, le paludisme. **(Soumare, Diedhiou et al. 2017)**

Parmi les avantages de la plantation d'eucalyptus sur le plan socio-économique sont :

1. création des emploie
2. connaissances de nouvelles techniques de carbonisation.
3. augmentation des rendements cultureux grâce a la pratique de l'agroforesterie.
4. sélection et diffusion de la meilleure combinaison des essences forestières et culture vivrière
5. fixation de la population. **(onemba,s.d.)**

# Chapitre 03

## Généralités Sur Les Huiles Essentielles

### 1- Définition des huiles essentielles

La définition des huiles essentielles précise leurs origines et leurs modalités d'obtention. Ainsi une huile essentielle est une « substance odorante, généralement de composition complexe, obtenue à partir d'une matière première botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (Bourrain, 2013)

### 2- Localisation chez la plante :

Les huiles essentielles sont présentes en très petite quantité : 1 à 2 % de la matière sèche au maximum, peuvent être stockés dans différents organes végétaux (feuilles, racines, écorces...). (Couderc, 2001)

Organe	Exemples
Feuilles d'Angiospermes, tiges	Eucalyptus
Feuilles d'angiospermes,	Romarin, sauge, menthe
Fleurs	Jasmin, rose
Fruits	Citron

**Tableau 2 : organes de certaines plantes riches en huiles essentielles. (Echchaoui, 2018).**

Elles peuvent être aussi à la fois dans différents organes la composition de l'huile peut varier d'un organe à l'autre. Elles peuvent être localisées dans : des cellules sécrétrices, des poils sécréteurs, des poches sécrétrice, des canaux sécréteurs (Couderc, 2001).

### 3- La composition chimique des huiles essentielles

Quelques études ont été réalisées sur le genre eucalyptus ont montré que son l'HE renferme une teneur de celle-ci comprise entre 0,5% à 3,5% cette l'huile est considérée comme médicinale parce que le 1-8 cineol ou l'eucalyptol présente le composant majoritaire [70%-

80%] (**Ghenaïet et Aouidet, 2016**)le 1-8 cineol est le principale constituant pour qu'une HE soit médicinale (**Samate, 2002**). Eucalyptus globulus c'est une espèce connue de la famille myrtaceae, l'analyse des feuilles et des fruits d'eucalyptus globulus révèle que cet espèce renferme environ 30 composés majoritairement son : 1-8 cineol, comphene, alpha pinene, globule, beta pinene,..... (**Ould si said, 2014**).Grâce à cette richesse au niveau de la composition chimique, l'HE d'eucalyptus peut se classer comme une essence qui contient à la fois des propriétés antibactériennes, antifongique et antivirales (**Ghenaïet et Aouidet, 2016**)

#### **4- L'aromathérapie**

Se définit comme une thérapie naturelle utilise les huiles essentielles végétales par voie interne ou externe pour soigner ou prévenir les maladies(**Deschepper, 2017**),donc on peut définir cette thérapie comme le traitement des pathologie par les arômes, l'origine de cette photothérapie repose sur les propriétés pharmacologiques qui renferme l'HE.

#### **5- Les propriétés pharmacologiques**

En plus des propriétés pharmacologiques des huiles essentielles la plante possède sa propre activité, donc il est important de ne pas confondre entre ces deux notions.d'une autre part il est très fréquent qu'on accorde aux HES des propriétés qui ne sont pas prouvées scientifiquement soit sont spécifiques pour certaines plantes tel que l'activité lipolytique ou l'action antihistaminique ; nous allons donc nous centrer sur les propriétés fondamentales (**Nicolas, 2017**)

##### **5-1 Activité antibactérienne :**

L'activité antibactérienne des HES à une relation étroite avec sa composition chimique (**Chemloul, 2014**)par exemple grâce à la présence de 1-8 cineol, l'HE d'eucalyptus va être douée de propriété antibactérienne et cicatrisante.

##### **5-2 Activité antifongique :**

Le pouvoir antiseptique de certaines l'HE est active également sur les champignons responsables de mycoses et les levures (candida albican) (**Benzeggouta, 2005**), cette activité est due à la présence de certaines fonctions chimique principalement les phénols qui sont plus antifongique que les aldéhydes(**Chemloul, 2014**)

**5-3 Activité antivirale :**

Les infections virales font parties des pathologies les plus dangereux et les plus variées qui peuvent être mortelles dans plusieurs cas, les huiles essentielles présentent une thérapie naturelle qui limitent leur propagations puisque les virus sont sensibles aux molécules aromatiques, donc les HEs constituent une opportunité pour traiter ces fléaux infectieux **(Bessedik majdeddine larbi, 2015)**

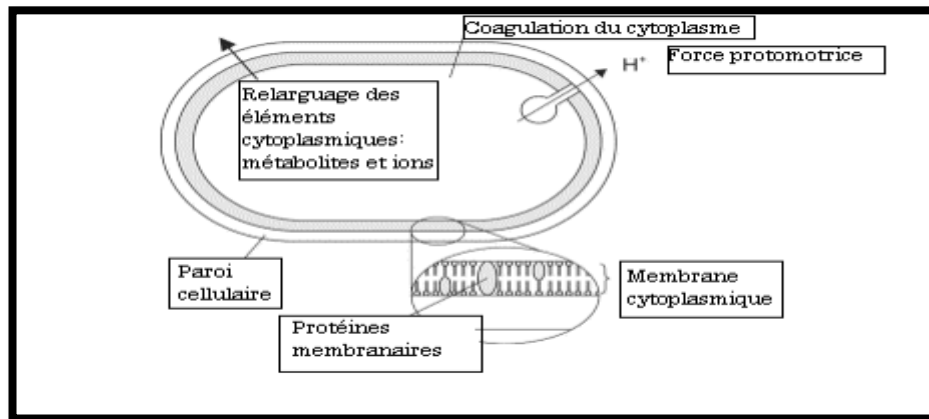
**5-4 Activité antiparasitaire :**

Les groupements phénoliques sont les composés antiparasitaire les plus puissant suivi par les alcools monoterpéniques certains oxydes et cétones ont ainsi une activité antiparasitaire **(Raymond, 2005)**.

**6- Mode d'action des HEs sur les microorganismes pathogènes :**

Les huiles essentielles ou certains de leur composés ont un effet efficace contre une grande variété d'organismes (bactéries, champignons, virus et parasites) **(Randrianarivelo, 2010)**, du fait de la variabilité des quantités des composants des huiles essentielles leur activité antimicrobienne est due à plusieurs mécanismes d'action au niveau cellulaire

- Perturbation de la membrane cytoplasmique et la perturbation de la force motrice de proton **(Toure, 2015)** provoque un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire et perturbe le transport membranaire des substances nutritives **(Boukerrouche, 2018)**.
- D'autres mécanismes sont liés à la coagulation des constituants cellulaire **(Toure, 2015)**.



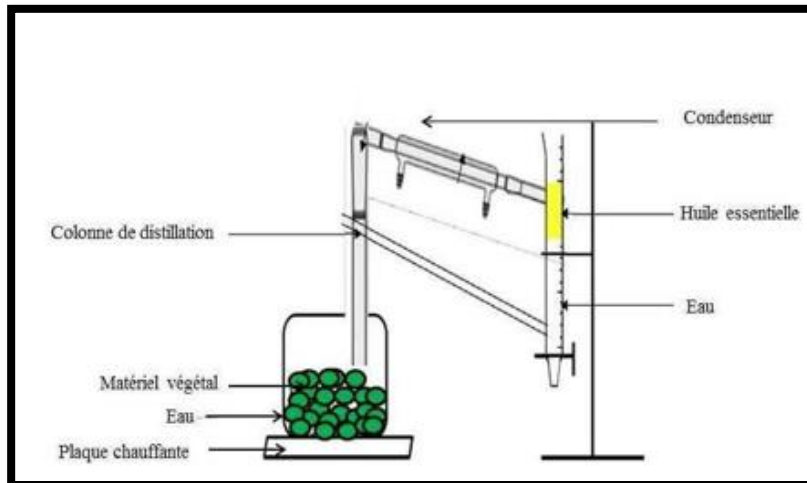
**Figure5 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Guinoiseau, 2010)**

- Les HEs agissent ainsi sur une grande variété de moisissures et de levures par différent action en inhibant la croissance des levures, la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation ou la production des toxines chez les moisissures, ce pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HEs (Boukerrouche, 2018).
- Au niveau génétique des études ont montrés que les huiles essentielles ou leur composés principaux n'ont pas induit une mutation nucléaire vis-à-vis les bactéries ou les levures (Randrianarivelo, 2010).

## 7- Méthodes d'extraction

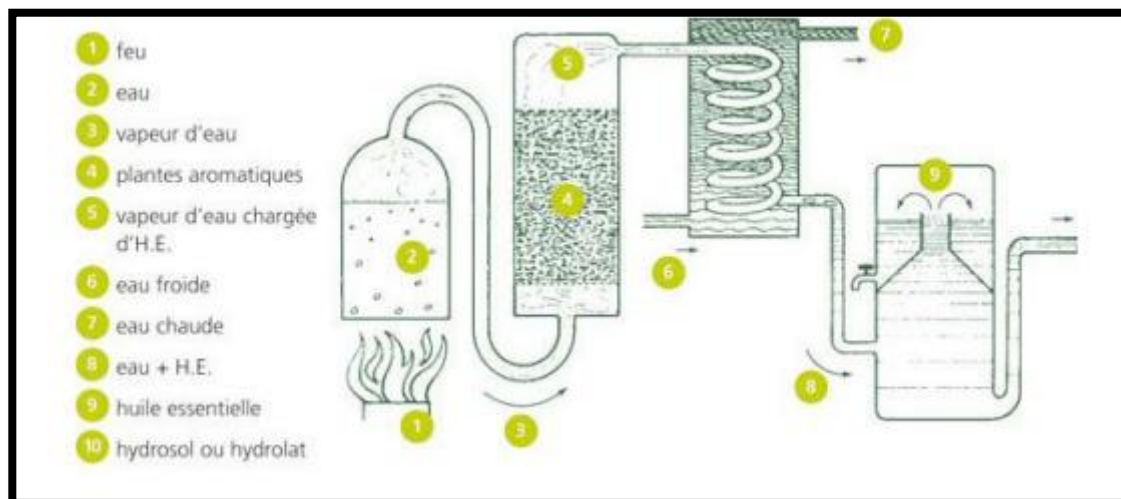
De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction des substances aromatiques cet opération a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles sans altérer la qualité, le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation (Nejia, 2013).

- L'hydro distillation : c'est la méthode d'extraction la plus simple son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à ébullition, elle est généralement conduite à pression atmosphérique, le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale, les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Le système utilise pour l'extraction des HEs au laboratoire c'est le Dean starck (Haib, 2011)



**Figure 6 : extraction par hydro distillation**

Entrainement à la vapeur :cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter, de la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille entraine l'éclatement des cellules et libération de l'huile essentielle.(Herzi, 2013)



**Figure 7 : entrainement à la vapeur d'eau (Herzi 2013)**

Expression à froid : l'expression à froid est une extraction sans chauffage réservé aux agrumes, le principe de ce procédé mécanique consiste à éclater les minuscules vésicules et les poches à essence, l'essence ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau (Attou, 2017).

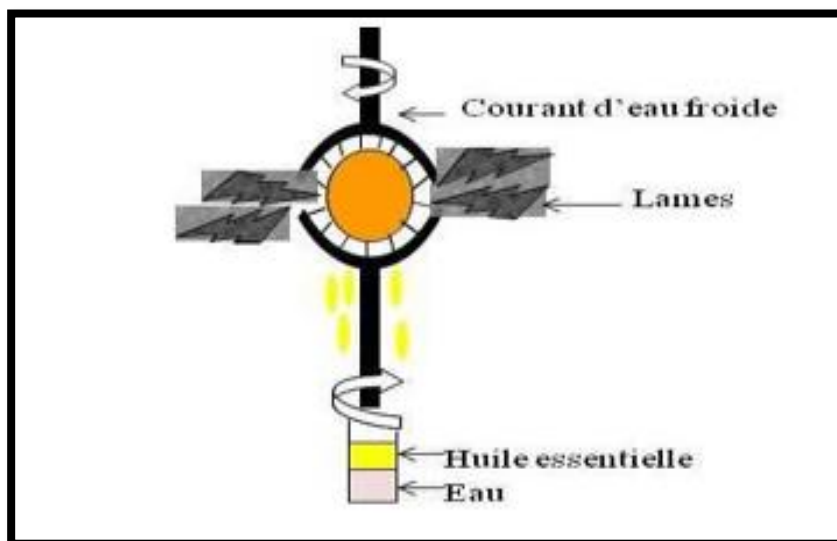


Figure 8 : extraction par expression à froid

### 8- Effets indésirables des huiles essentielles

En plus des bienfaits des HEs leur mauvais usage par certaines voies contre indiquées tel que la voie oculaire, intraveineuse, intramusculaire (**Poirot, 2016**) ainsi que l'utilisation avec des doses extrêmes peut provoquer des effets secondaires ou indésirables chez la personne.

Photosensibilité : furanocoumarine est parmi les composés principaux des HEs, l'utilisation d'une HE contenant ce composé par voie cutanée peut provoquer des réactions érythémateuses voire favoriser la carcinogénèse, donc il est recommandé de ne pas s'exposer au soleil pendant 6h suivant l'HE par voie cutané ou orale (**MEYER, 2016**). Reactions allergique : avant utilisation il est conseillé de tester la sensibilité de la personne envers l'HE d'intérêt en appliquant 1 a 2 gouttes au pli du coude, si aucune réaction allergique n'est observée après 10 mn l'HE pourra être utilisé largement (**Meyer, 2016**)

Femme enceinte et allaitante : par précaution l'utilisation d'HE pendant la grossesse est fortement déconseiller pendant le 1<sup>er</sup> trimestre puisque à ce moment ce déroule l'organogénèse de l'embryon (**Poirot, 2016**), et pendant le trimestre suivant et l'allaitement est à limiter car certains constituants des HEs comme la cétone à des propriétés neurotoxiques à haute dose (**Meyer, 2016**).



## 9- Conservation des huiles essentielles

La conservation des HEs peut durer plusieurs années sous certaines conditions :

- Il faut fermer les flacons puisque les HEs sont volatiles
- Garder à l'abri de la lumière a une température ambiante jusqu'à 20°C. (**Mayer, 2012**)

# Partie II : Matériels et Méthodes

### • Objectifs de travail

Le but de cette étude comparative est de démontrer «*In vitro*» l'effet antimicrobien de huit extraits et de l'huile essentielles d'eucalyptus sur différents souches bactériennes et fongique.

La première partie est destinée à la préparation de l'extrait par macération avec des solvants et l'extraction de l'huile essentielle par la méthode de l'hydro distillation.

La deuxième partie consiste à l'étude de l'effet antimicrobien des extraits et de l'huile préparés sur des souches microbiennes et une souche fongique.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique du Département de Science de la Nature et de la Vie - Centre Universitaire Belhadj Bouchaïbe - Ain Témouchent.

1. Préparation des extraits à partir de la partie aérienne de la plante.
2. Préparation d'huile essentielle à partir de la partie aérienne de la plante.
3. Etude *in vitro* de l'effet antimicrobien des extraits et l'huile préparé sur des souches microbienne

## Chapitre 01 : préparation des extraits et d'huile essentielle

### 1-Matériel :

#### 1-1 Matériel végétal :

Le matériel végétal *Eucalyptus camaldulensis* qui a fait l'objet de ce travail est constitué dans la région d'Ain Témouchent dans l'ouest d'Algérie. Les échantillons ont été récoltés dans la région de Sidi Safi le 08 février 2019.

Les échantillons ont été bien séchés à une température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant une période de 10 jours afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules après séchage, les échantillons sont récupérés dans un sac en plastique.



Figure09 : partie aériennes d'eucalyptus



Figure 10 : région de récolte

### 1.2. Produits chimiques

- ✓ Ether de pétrole.
- ✓ Ethanol.
- ✓ Dichlorométhane.
- ✓ Eau distillé.
- ✓ Méthanol.
- ✓ Hexane.

### 1.3. Appareillage

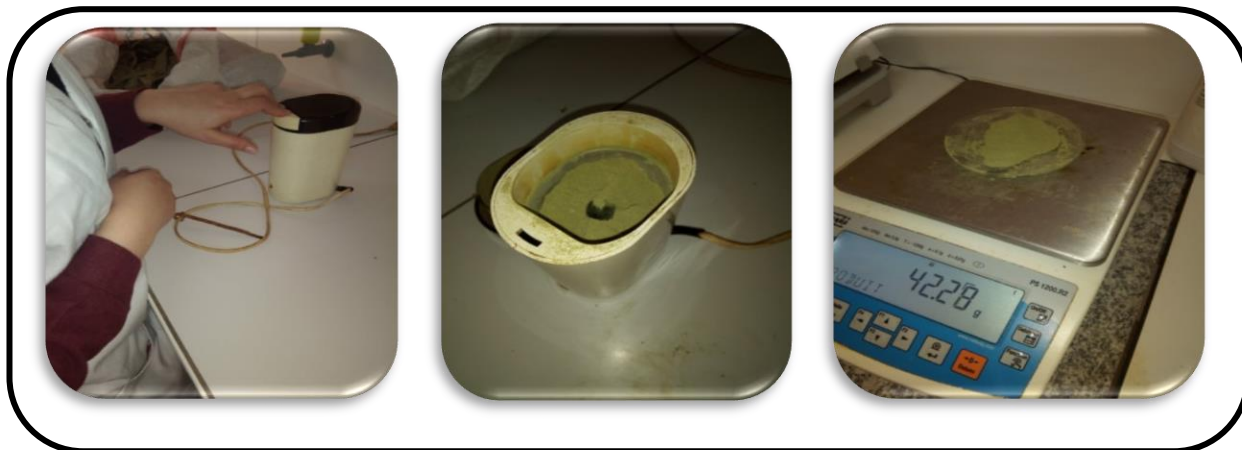
- ✓ Agitateur.
- ✓ Rota-vapeur.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Etuve.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Hotte chimique.
- ✓ Dean Stark.

## 2- Méthode

### 2-1 Préparation des extraits

L'extraction des extraits a été obtenue par macération (24h) les échantillons séchés d'*Eucalyptus camaldulensis* sont broyés à l'aide d'un moulin électrique des céréales jusqu'à leur réduction en poudre.

Après le broyage nous avons préparés les extraits organiques (éther de pétrole, éthanol, Dichlorométhane), extrait aqueux, l'huile totale et l'huile essentielle.

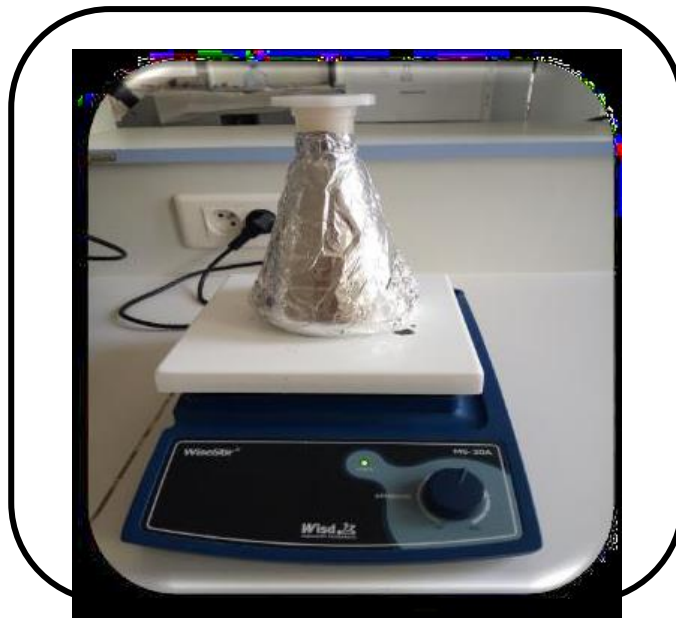


**Figure 11** : broyage de la plante eucalyptus sèche

**2-1-1 Extraction par les solvants organiques a polarité croissante :**

Suivant le protocole d'extraction décrit par **(Diallo, Sanogo et al. 2004)** une prise d'essai de 40g de poudre de la matière végétale a été mélangée avec 200ml de chaque solvant (EP, ETOH, DCM) sous agitation magnétique durant 24h à une température ambiante.

Une filtration sur papiers whatman n1 du macérât est ensuite réalisé, le filtrat est alors évaporé à sec à l'aide d'un rotavapor est séché a poids constant. **(Khedidja, 2015)**



**Figure 12** : Macération sous agitation



Figure 13 :Filtration sous vide



Figure 14 : Evaporation

### 2-1-2 Extraction aqueuse

50g de poudre est extraite a reflux dans 500ml d'eau distillée et mis a macérés a une température ambiante sous agitation pendant 24h puis filtrés, le filtrat a ensuite été séchés a 50 c° à l'étuve jusqu'à l'obtention du poids constant (Diallo, Sanogo et al. 2004; LA, LOUKOU et al. 2008)

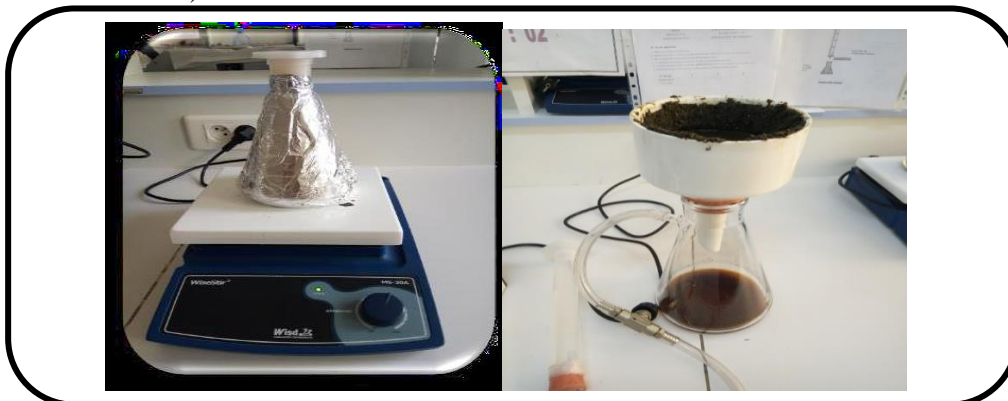


Figure15 : Extraction aqueuse

### 2-1-3 Extraction d'huile totale

D'abord nous avons préparé l'extrait métabolique puis il a été filtré après une macération (24h) sous agitation. Le filtrat est mélangé dans une ampoule à décompter avec 50ml d'hexane et nous avons agité et laissé quelque minute nous avons obtenus de deux phases : une phase aqueuse plus dense qui apparait au-dessous et une phase organique contenant des lipides. La phase supérieur (organique) a été récupéré et répété trois fois avec renouvellement du solvant, nous avons séparé l'hexane du l'extrait par le rotavapor donc l'hexane est évaporé, l'extrait récupéré et considéré comme huile totale d'*Eucalyptuscamaldulensis*. Finalement nous avons obtenir une série d'extraction : un extrait aqueux (AQ), trois extraits organique : EP, ETOH, EDCM et huile totale et huile totale. Les extraits secs sont conservés à l'obscurité jusqu'à l'utilisation.



**Figure 16 :** Extraction d'huile totale

### 2-1-4 Extrait des tanins

L'extraction des tanins des feuilles et tiges d'eucalyptus, est réalisé selon la méthode de **Zhang et coll., 2008**. Les broyats de la matière végétale (2.5 g) ont été extraites par 50ml du mélange acétone/ED (35/15 : v/v) durant trois jours à une température ambiante. La solution obtenue est filtrée et évaporée a 40c° par un rotavapor type bouché R-200 pour éliminer l'acétone, puis la phase aqueuse est lavée par le dichlorométhane afin d'éliminer les pigments et les lipides après élimination de la phase organique, la phase aqueuse a été traitée trois fois avec l'acétate d'éthyle (v/v). Les 3 phases organiques obtenues sont réunies et évaporées à sec



## Partie II : Matériels et méthodes

à 40 °C par rotavapor. La phase aqueuse restante est traitée trois fois par le N-butanol les phases n-butanol sont évaporées sec, afin de récupérer l'extrait sous forme de poudre.

Extraits	Constituants probables	Références
EEP	des saponines, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes, des glucides et des glycosides cardiaques, et non anthraquinones	<b>(Chuku et al., 2016)</b>
EET	des saponines, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes, des glucides et des glycosides cardiaques, et non anthraquinones	<b>(Chuku et al., 2016)</b>
EDCM	Terpenoides, polyphenols aglycones (flavonoides, coumarines, tanins) chlorophylle	<b>Ciulei, (1981).</b>
EAQ	Flavonoides, aminoacides, tanins, terpenes, cires	<b>Ciulei, (1981)</b>
ETNB	Hétérosides, polyglucosylés, flavonols	<b>Ribereau et Gayon, (1968)</b>
HEX	Alcaloides, flavonoides, sterol, polyphenols	<b>Touré, (2011)</b>

**Tableau 03 : les principaux composants des extraits**

### 2-2 Rendement d'extraction

Rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$R\% = 100M_{ext} / M_{ech}$$

Où : R est le rendement en %

$M_{ext}$  est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en mg

$M_{ech}$  est la masse sèche de l'échantillon végétal en mg (Mahmoudi, Khali et al. 2013)



**Figure17** : les six extraits d'eucalyptus.

### 2-3 Extraction de l'huile essentielle

Le procédé d'extraction est réalisé sans aucun prétraitement sur la plante, mais le matériel végétal a subi un semi broyage.

#### 2-3-1 Extraction par hydro distillation

- ✓ La méthode d'extraction utilisée pour récupérer l'huile essentielle d'*eucalyptuscamaldulensis* c'est l'hydro distillation qui consiste à utiliser un montage de type Dean Stark composé par un ballon, de taille variable, contient de l'eau que l'on fait bouillir et la plante à extraire. La vapeur monte dans le montage jusqu'à un condensateur et le condensat retombe dans une burette. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale. Après 2 h d'extraction, on peut mesurer directement dans la burette le volume d'huile recueilli.



**Figure 18** : Le montage utilisé pour l'extraction d'huile essentielle (d'*eucalyptuscamaldulensis*)

### 2-3-1-1 Protocole opératoire d'hydrodistillation

- ✓ Une masse des feuilles de la plante de 100g et une quantité de l'eau de 500ml sont immergées dans un ballon. Ce dernier est installé au dispositif de Dean Stark pendant 2h, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, le mélange (huile essentielle + eau) se sépare par différence de densité. L'huile récupérée, est placée dans un petit flacon opaque et conservée au réfrigérateur.

### 2-3-1-2 Conservation de l'huile essentielle obtenue

L'huile essentielle étant volatil et peut être cohésive dans certains cas donc sa conservation nécessite certains conditions pour cela. L'huile essentielle ainsi obtenue est conservée à 4 °C dans des flacons en verre brun jusqu'à son analyse. (Mzabri, Amar et al.)

### 2-3-2 Détermination de rendement en huile essentielle

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle et la masse du matériel végétal utilisé pour cent grammes de matière végétale Sèche. Après récupération d'huiles essentielles, le rendement est calculé par la méthode suivante :

$$R_{HE}\% = \frac{M_{HE}}{M_s} \cdot 100$$

**R<sub>HE</sub>** : Rendement en huile essentielle en (g) pour 100 g de la matière sèche

**M<sub>HE</sub>** : Masse d'huiles essentielles récupérées (g)

**M<sub>s</sub>** : Prise d'essai du matériel végétal (g). (Saadi, Adjir et al. 2018)

### Chapitre II : Etude de l'activité antimicrobienne

#### 1- Matériel

##### 1-1 Matériel biologique

###### 1-1-1 Souches microbiennes pathogènes

L'activité antimicrobienne de l'HE ainsi que des extraits ont été évalué sur 5 souches de références de collection internationale ATCC qui ont toutes été fournis par le laboratoire de microbiologie du Centre Universitaire d'Ain Témouchent.

Les germes qui ont été testés sont les suivants :

- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- ✓ *Escherichia coli* ATCC 25922.
- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 43300.
- ✓ *Candida albicans* ATCC 10231

###### 1-1-2 Les extraits

Les extraits testés sont les suivants : EEP, EEtOH, EDCM, EAQ, EHT, ETDCM, ETNB, ETAE

###### 1-1-3 L'huile essentielle

L'huile essentielle testée est celle obtenue par hydrodistillation de la matière végétale *d'eucalyptuscamaldulensis*

##### 1-2 Milieu de culture

- Milieu de culture liquide
  - ✓ Bouillon Muller-Hinton (BMH)
  - ✓ Bouillon PDA
- Milieu de culture solide
  - ✓ Gélose Mueller Hinton (MH)
  - ✓ Gélose PDA.

### 1-3 Antibiotique

Antibiotiques : (Gentamycine « GEN », Erythromycine « E », vancomycine « VANC »).

## 2-Méthodes

### 2-1 Conservation des souches étudiées

La conservation des souches a été faite dans des tubes stériles contenant 10ml de milieu de culture incliné de MH pour les bactéries et PDA pour la souche fongique (*candida albicans*) dans un réfrigérateur à 4°C.

### 2-2 Ensemencement des souches conservées

L'ensemencement est réalisé dans un endroit stérile à partir des souches conservées

- ✓ Les souche bactériennes sont ensemencées dans un milieu gélosé MH et incubés à 37°C pendant 24h
- ✓ Concernant la souche fongique est ensemencé dans milieu gélose PDA et incubé 48h jusqu'à 5 jours à 25°C

### 2-3 Revivification des suspensions microbiennes

#### 2-3-1 Revivification des suspensions bactériennes

Des colonies pures sont repiquées dans un milieu BMH et incubées à 37°C pendant 18h pour favoriser leur croissance, ces cultures vont servir à la préparation de l'inoculum.

#### 2-3-2 Revivification des suspensions fongiques

La souche fongique a été revivifiée dans un bouillon PDA et incubée à 30°C pendant 48h dont le but de favoriser sa croissance.

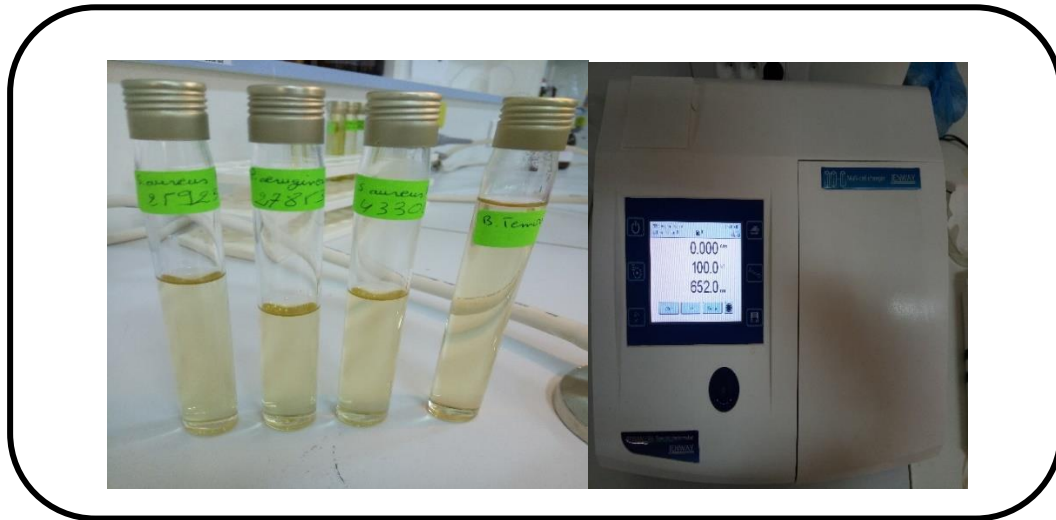
#### 2-3-3 Ajustements de la charge microbienne

Les colonies qui ont été bien isolées à partir des cultures jeunes sur BMH pour les bactéries et bouillon PDA pour les levures. Elles sont transférées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile. Afin de préparer des suspensions ayant une turbidité équivalente au standard McFarland 0.5 ce qui correspond à  $1,2 \times 10^8$  UFC/ml pour les bactéries (D.O = 0.08 à 0.1 /  $\lambda = 625\text{nm}$ ) (Kherraf 2018) et  $1,5 \times 10^6$  UFC/ml pour la levure *C. albicans* (D.O= 0.12

## Partie II : Matériels et méthodes

à  $0.15 / \lambda = 530 \text{ nm}$ )(**Kherraf 2018**) L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture si la DO est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile si elle est trop forte

- ✓ La densité optique est ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre.



**Figure 19** : ajustement de la densité optique des suspensions microbiennes

### 2-4 Préparation des disques

On a coupé le papier buvard en disque de 6mm ( $0.28\text{cm}^2$  de surface) par l'emporte-pièce, ces disques doivent posséder un contour régulier pour donner une zone d'inhibition que l'on peut mesurer facilement. Les disques sont ensuite stérilisés dans un autoclave pendant 20min à  $120^\circ\text{C}$ , et stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé)

### 2-5 Préparation des milieux de culture

La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stériles de 90 mm de diamètre. L'épaisseur de la gélose est de 4 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

### 2-6 Méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits végétaux

Pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne *in vitro* de l'HE et des extraits d'eucalyptus, nous avons utilisé la méthode de diffusion sur disques (aromatogramme) c'est un criblage qui vise à mettre l'activité antimicrobienne sans pour autant la quantifier(**El Kolti**

## Partie II : Matériels et méthodes

2018), et ensuite par la méthode de micro-dilution (Sarraf and Djihad 2018) pour déterminer les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) suivi par un étalement sur milieu solide pour déterminer la concentration minimale bactéricide (CMB).

### 2-6-1 Souches microbiennes

Nous avons utilisé quatre souches bactériennes *Staphylococcus aureus* ATCC43300, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC25922, et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, et un seul type de levure : *Candida albicans* ATCC10231. Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées sont représentées dans le tableau suivant :

Espèce microbienne	Code génétique	Caractéristiques	Maladie provoquée
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Bacilles, Gram-, mobile, pathogène	Les infections (nosocomiale, pulmonaires, urinaire)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	coques, immobile, Gram+ .	Infection cutanées, toxiinfection alimentaire. infection nosocomiales
	ATCC25923		
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Bacille, mobile, Gram-, pathogène.	Diarrhée, infection urinaire, méningite.
<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	Champignon (levure unicellulaire, hétérotrophe)	Candidose

**Tableau 04** : Les caractéristiques des souches microbiennes utilisées. (Sarraf and Djihad 2018)

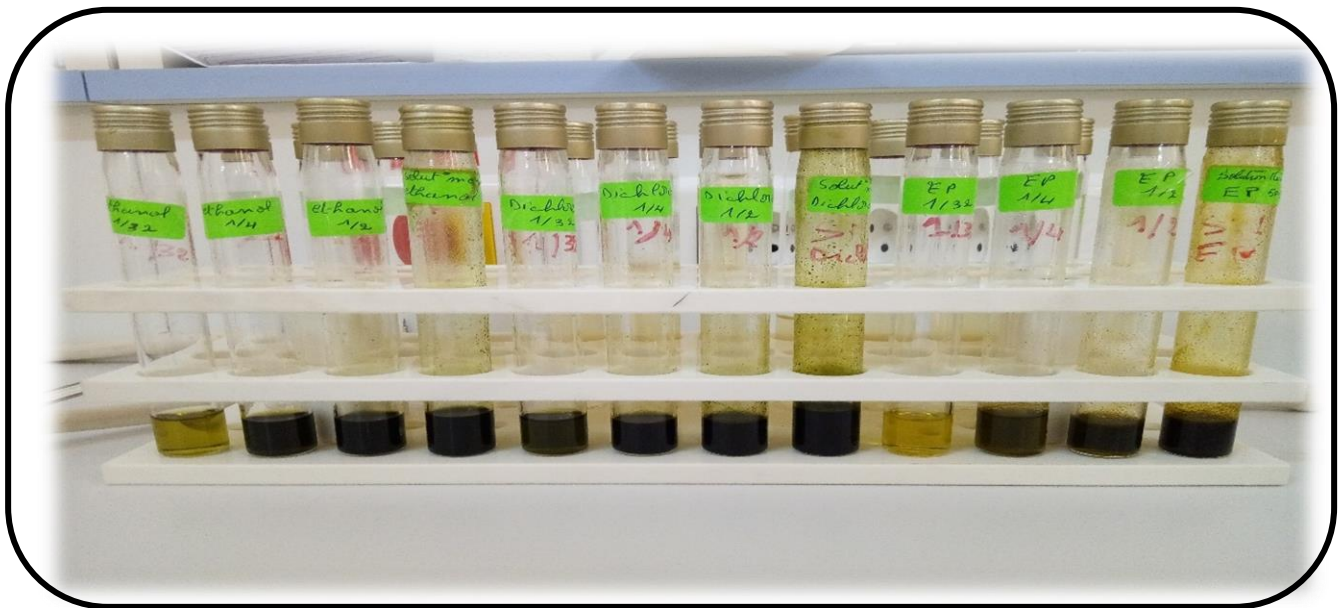
## Partie II : Matériels et méthodes

### 2-6-2 Préparation des concentrations des extraits et de l'huile

Les extraits et l'huile se sont utilisés pour tester l'effet antimicrobien qu'après préparation d'une série de concentration (SM, 1/2,1/4) dans des tubes stériles en utilisant le DMSO comme diluant puisque il n'a pas d'effet sur l'inoculum, les tableaux suivants résume le protocole de préparation de différent des extrait ainsi que l'huile :

Concentration	Solution mère (S0)	1/2	1/4
DMSO	1000µl	500µl	750µl
Extraits	12.5mg	500µl (S0)	250µl (S0)

**Tableau05 : préparation des dilutions des extraits**



**Figure 20 : préparation des dilutions des extraits**

Concentration	C1	C2	C3	C4
DMSO	800µl	900µl	950µl	975µl
L'huile	200mg	100mg	50mg	25mg

**Tableau06 : préparation des concentrations de l'huile essentielle**



### 2-6-3 Méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

La méthode de diffusion ou aromatogramme consiste à déposer un disque de 6 mm de diamètre stérile découpé à partir du papier Wattman n° 40, et imbibé d'un volume donné du produit à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri., un volume de 20 ml de milieu gélosé Muller Hinton est coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification, la gélose est inondée avec l'inoculum bactérien à tester d'une densité de  $10^7$ - $10^8$  ufc/ml (Khrich et Nassik al. 2018)

#### ➤ Protocole expérimental

- ✓ Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Mueller Hinton dans des boîtes de Pétri pour les bactéries et gélose PDA pour *Candida*.
- ✓ Préparer l'huile essentielle et les extraits d'*eucalyptus camaldulensis*.
- ✓ Des disques stériles en papier (6 mm de diamètre) sont imprégnés avec 20  $\mu$ l d'HE ainsi que des extraits de différentes concentrations en mettant seulement en contact le bout du disque
- ✓ Les boîtes de Pétri étaient maintenues pendant 15 min à température ambiante puis incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C durant 48 h pour la levure.



**Figure 21** : méthode de diffusion sur disque (Aromatogramme)

#### ➤ Lecture des résultats

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition formée autour de chaque disque. Les diamètres des zones d'inhibition sont ensuite mesurés au millimètre

## Partie II : Matériels et méthodes

Selon (Moreira, Ponce et al. 2005), la sensibilité des bactéries à l'huile essentielle et aux extraits a été classée selon le diamètre des halos d'inhibition, comme le résume le Tableau suivant

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
<8	-	Résistant
9-14	+	Sensible
15-19	++	Très sensible
>20	+++	Extrêmement sensible

**Tableau07** : Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés

(Moreira, Ponce et al. 2005)

### 2-6-4 Essais de sensibilité à la dilution

L'efficacité de l'huile essentielle et les extraits testés est évaluée par la mesure de 2 concentrations : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide.

#### 2-6-4-1 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) « Les microdilutions »

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance microbienne à 90%. Sa détermination a été réalisée par la méthode de micro-dilution en milieu liquide. (Bendjelloul 2018), Cette technique Consiste à ensemencer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI) (El Kolli 2018)

### ➤ Protocole

La CMI de chacun des extraits végétaux et de l'huile a été déterminée à l'aide d'une microplaque de 96 puits. Les tests ont été effectués de façon stérile. Les colonnes de la microplaque ont été divisées en trois zones distinctes ; colonne N°11 étant le témoin stérile (TS), la colonne N°12 le témoin de croissance (TC) et les colonnes suivantes utilisées pour la détermination de la CMI des extraits végétaux ou de l'huile.

Chacun des puits a reçu 100 µl de milieu BMH pour les bactéries et bouillon PDA pour la levure auquel un volume de 100 µl de l'huile ou des extraits végétaux à l'étude ont été ajoutées (colonnes 1-10). Les puits des colonnes N°11 et N°12 n'ont reçu aucune addition de l'huile ou d'extraits végétaux. La suspension bactérienne ( $5 \times 10^6$  UFC/ml, 20µl) (**Tremblay 2019**) a par la suite été déposée dans les puits des colonnes 1-12 sauf colonne N°11. La microplaque a été fermée hermétiquement avec du parafilm et incubée 24 heures à 37°C pour les bactéries et 48h à 25°C pour la levure.

### ➤ Lecture des résultats

La lecture des résultats se fait à l'œil nu par observation du changement de turbidité dans les puits après incubation et par comparaison avec le témoin (**Nouadri, Remache et al. 2018**).

### 2-6-4-2 Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB et CMF)

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la plus concentration de HE ou des extraits capable de tuer 99.9% de l'inoculum bactérien initial, elle définit l'effet bactéricide de l'HE ou des extraits végétaux (**Brahimi, Merzouk et al. 2018**).

### ➤ Protocole

Le contenu des puits de microplaque dans lesquels aucun trouble n'a été observé, a servi à ensemercer le milieu gélosé M.H et ce, par des stries de 5 cm de long à l'aide d'une anse en commençant par le puit correspondant à la CMI. La boîte de Pétri est ensuite incubée à 37°C pendant 24H pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour la levure (**Okou, Yapo et al. 2018**).

### ➤ **Lecture des résultats**

La CMB est déduite à partir de premier puit dépourvu de croissance microbienne.

#### **2-6-4-3 L'antibiogramme**

L'étude de sensibilité aux antibiotiques est réalisée par la méthode d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton. Son principe consiste de placer des souches bactérienne en présence du ou plusieurs antibiotiques dans le but de voir la résistance ou la sensibilité de ces derniers sur les bactéries. **(Salah and Yessaed 2018)**

### ➤ **Protocol**

#### • **Milieu d'ensemencement**

Le milieu utilisé pour la réalisation de l'antibiogramme est le milieu Muller-Hinton

#### • **Technique utilisé d'ensemencement**

L'ensemencement du milieu Muller-Hinton a été fait par inondation, l'excès de l'inoculum est éliminé. Les boîtes de pétri sont mises en position inclinée pendant 3 à 4 minutes afin d'éliminer tous les résidus

#### • **Incubation**

L'incubation des antibiogrammes se fait à 37°C pendant 18-24 heures

### ➤ **Lecture des résultats :**

La lecture de l'antibiogramme et son interprétation se fait conformément aux recommandations des experts du comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). Après incubation a 37°C pendant 18h à 24h on a obtenue soit un pousse de souche soit une zone d'inhibition les diamètres de ces zones nous permet déterminer le comportement de chaque germes vis-à-vis ces antibiotiques et dire si elle est sensible, intermédiaire ou résistante en se référant aux valeurs données par le comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. **(Solbi 2013)**.

#### **2-6-4-4 L'interaction synergique de l'huile et avec quelque antibiotiques**

L'objectif de ce test de développer des molécules alternatives efficaces contre ces microorganismes ont la même fonction que les antibiotiques mais qui ce sont des molécules bioactifs naturels extraites de plantes médicinales.

## Partie II : Matériels et méthodes

Le test synergétique d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* est évalué par la méthode de diffusion sur disque sur les quatre souches bactériennes et une souche fongique.

20 boîtes pétries ont été coulées par la gélose MH. Après l'ensemencement de ces boîtes par l'inoculum standardisé de chaque souche un disque d'antibiotique et un mélange entre les huiles et les antibiotiques ont été déposés sur la surface de gélose de chaque boîte comme suite:

*E.coli* ATCC 25922, Genta, Genta HE, EUCALYPTUS Vanca HE, EUCALYPTUS, Er, HE, EUCALYPTUS,

*P.aeruginosa* ATCC 27853, Genta, Genta, HE, EUCALYPTUS, Vanca, HE, EUCALYPTUS, Er, HE, EUCALYPTUS.

*S. aureus* ATCC 25923, Genta, Genta, HE, EUCALYPTUS Vanca, HE, EUCALYPTUS, Er HE, EUCALYPTUS E.

*S.aureus* ATCC 43300. Genta, Genta HE, EUCALYPTUS, Vanca, HE d'eucalyptus, Er, HE eucalyptus ont été déposés sur la surface de gélose de chaque boîte comme suite :

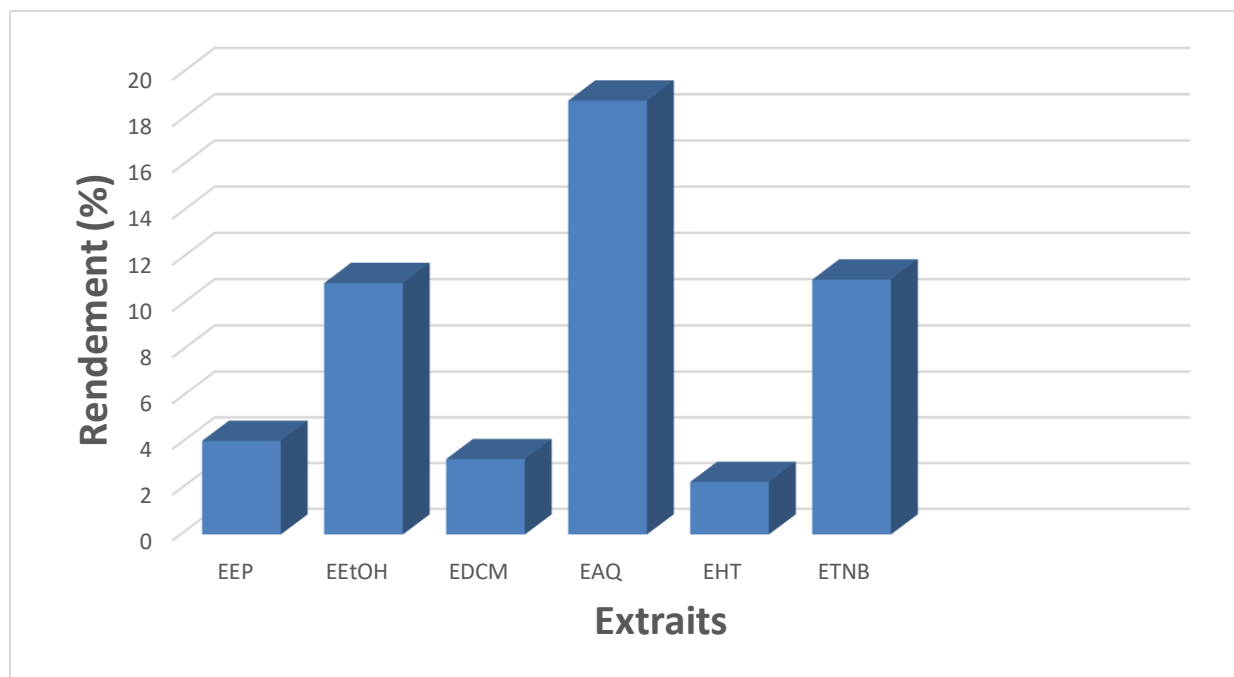
Puis des disques de 20µl d'huile essentielle ont été déposés sur l'un de chaque antibiotique tant que le disque d'antibiotique dépourvu d'huile essentielle.

# Partie III : Résultats et Discussion

### Chapitre 1 : préparation des extraits et extraction d'huile essentielle

#### 1- Rendement des extraits

Les résultats obtenus sont rapportés dans la figure suivante



**Figure 22 :** Rendement des extraits d'*E.camaldulensis*.

D'après les résultats présentés dans la figure la plante *E.camaldulensis* donne des rendements légèrement différents en fonction du solvant utilisé. L'extrait EAQ est le plus élevé avec 18,84% suivi de l'ETNB qui a un rendement de 11,1%, puis l'EEtOH qui a donné un rendement de 10,95%, ensuite, 4,1% pour l'EEP. Enfin les extraits EDCM, EHT ont donné le plus faible rendement 3,3%, 2,3%, respectivement.

On conclut que les extraits « EAQ, ETNB, EEtOH » ont des proportions plus élevées par rapport aux autres extraits « EEP, EDCM, EHT ». Ce rendement pourrait être amélioré car certains auteurs ont rapporté que le rendement en extrait serait influencé par les conditions environnementales, la période de récolte, l'âge du matériel végétal et/ou le type de solvant utilisé. (ouattara, 2018)

## Partie III : Résultats et Discussion

Extraits	Constituants probables	Références
EP	des saponines, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes, des glucides et des glycosides cardiaques, et non anthraquinones	<b>(Chuku et al., 2016)</b>
ET	des saponines, des tanins, des flavonoïdes, des stéroïdes, des glucides et des glycosides cardiaques, et non anthraquinones	<b>(Chuku et al., 2016)</b>
DCM	Terpenoides, polyphenols aglycones (flavonoides, coumarines, tanins) chlorophylle	<b>Ciulei, (1981).</b>
AQ	Flavonoides, aminoacides, tanins, terpenes, cires	<b>Ciulei, (1981)</b>
TNB	Hétérosides, polyglucosylés, flavonols	<b>Ribereau et Gayon, (1968)</b>
HEX	Alcaloides, flavonoides, sterol, polyphenols	<b>Touré, (2011)</b>

### 2- Rendement d'extraction de l'huile essentiel

Une extraction de 50g de notre plante sèche dans 500ml d'eau distillé à donner 0,3g d'huile essentiel au mois de février. Apres le calcule de rendement à l'aide de la formule précédente

$$R\% = 0,6\%$$

**PHOTO**

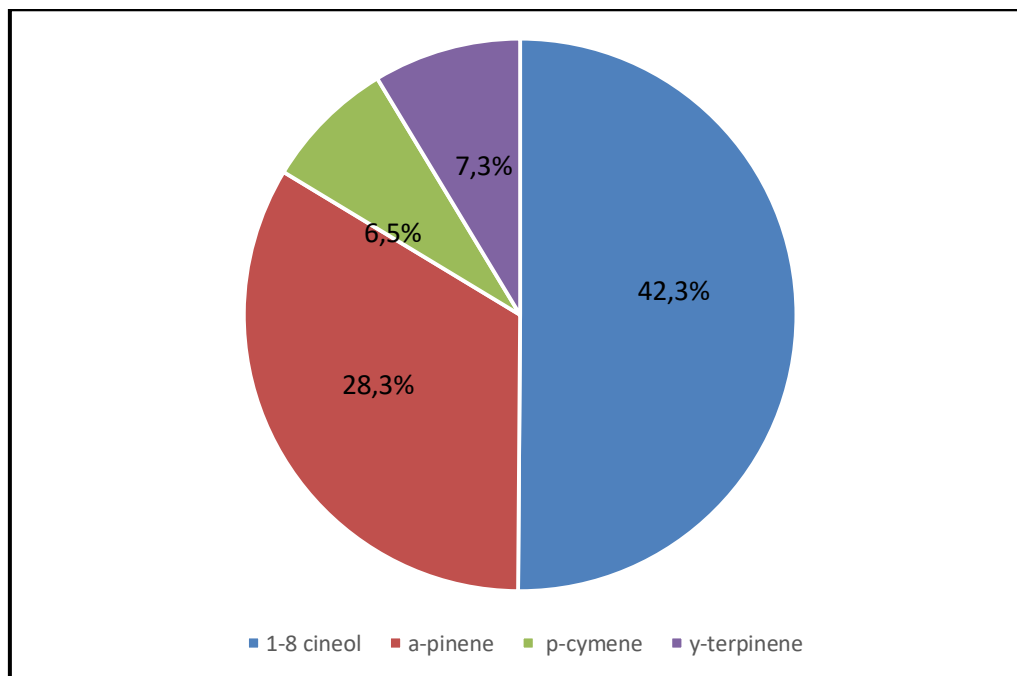


## Partie III : Résultats et Discussion

Nous avons trouvé que le rendement en l'huile essentielle d'eucalyptus est équivalent à (0,6%), la comparaison de nos résultats avec d'autres travaux sur la même espèce, nous a amené à dire que notre résultat est similaire à celui de **Moudachirou et al. (1999)** qui ont trouvé( 0,6%-1,4%) par rapport à différents endroits de Bénin, tandis que une étude réalisée par **Ashraf et al., 2010 ; Farah et al., 2002** sur des feuilles d'eucalyptus originaire de Pakistan et du Maroc ont révélé une teneur en HE légèrement élevée et comprise entre (0,90% - 0,98%), notre résultat est supérieur à celui rapporté par **CHALCHAT et al., 2000** estimé à ( 0,5%), un rendement en l'huile significativement plus élevé a été signalé pour l'eucalyptus de Taiwan (2,3%-3% )par rapport à différentes saisons ( **Shieh, 1996** ), par contre il est inférieur de celle de l'espèce de Bejaia obtenu par (**Said, 2016**) équivalent à( 3,1% ).

Ces divergences entre les différents résultats sont dues aux différents facteurs : les espèces, les saisons, les régions géographiques, les produits et les réactifs utilisés dans l'extraction, les organes, le géotype des plantes, la période de récolte, le degré des conditions le temps et la température de séchage et la présence des mauvaises herbes (**Ghasemian, 2019**)

### 2-1-Les principaux composants d'huile essentielle



**Figure 23** : cercle relatif présente le pourcentage des principaux composants d'huile essentielle d'eucalyptus

## Partie III : Résultats et Discussion

Selon cette figure on peut conclure que le 1-8 cineol est le composé majoritaire de l'HE d'eucalyptus 42,3% suivi par  $\alpha$ -pinene avec un pourcentage de 28,3%, enfin p-cymene et  $\gamma$ -terpinene sont détectés dans l'HE avec une teneur de 6,5%, 7,3% respectivement.

Des études réalisées par (Abdellah., 2013) afin de déterminer la relation entre la composition chimique de l'HE et son efficacité antimicrobienne ont montré que celle-ci est due à la nature et à la teneur de ces différents constituants qui peuvent agir en synergie donc le phénomène de sensibilité ne dépend pas uniquement du constituant majoritaire (1,8-cineole), mais aussi des autres constituants.

### Chapitre 2 : étude de l'activité antimicrobienne

#### 1-1- Méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

##### 1-1-1- Les extraits

L'effet antimicrobien des extraits se traduit par une zone d'inhibition autour du disque, l'extrait est considéré comme bactériostatique selon le diamètre de la zone d'inhibition les résultats obtenus sont représentés dans la figure ci-dessus

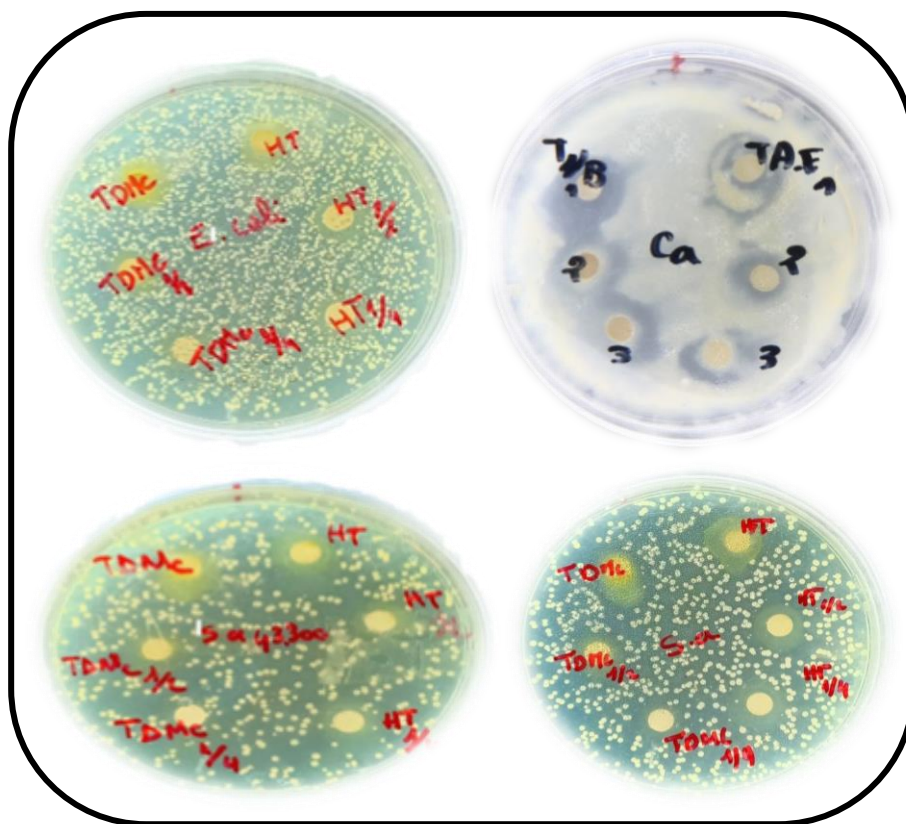
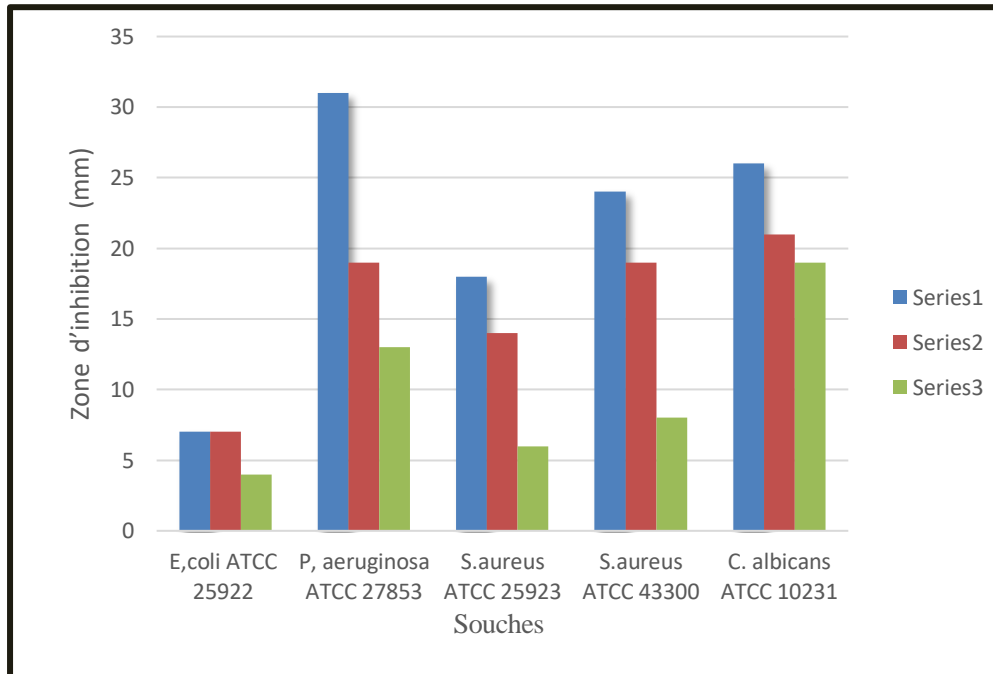


Figure24 : résultats d'aromatogramme

## Partie III : Résultats et Discussion

Les résultats obtenus indiquent que les souches microbiennes examinés ont des sensibilités différentes vis-à-vis les extraits étudiés selon le diamètre de la zone d'inhibition

### 1- Extrait d'éthanol



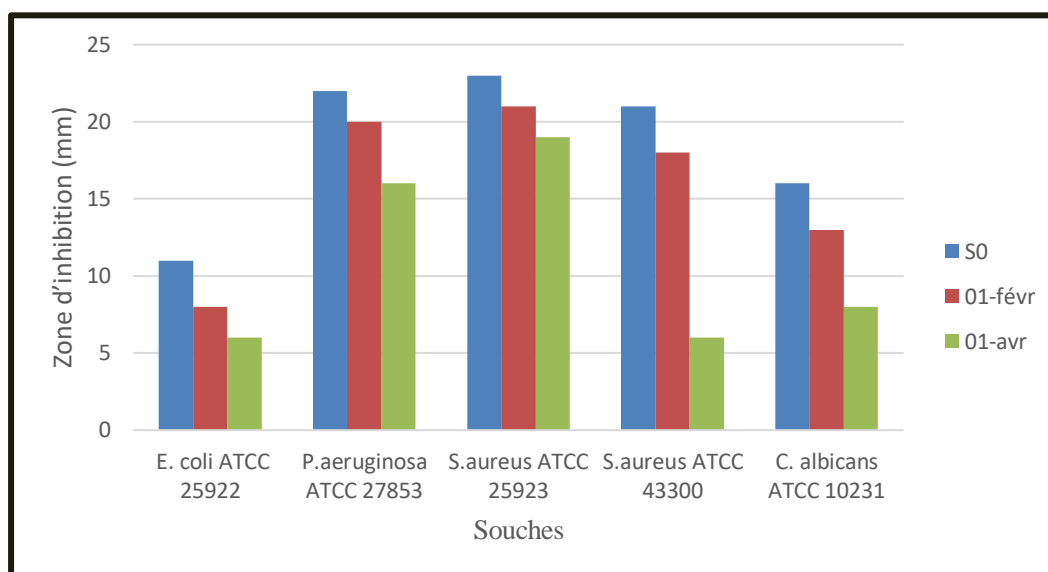
**Figure 25 :** Effet d'extrait de l'éthanol(EEtOH) sur les souches étudiée

La figure ci-dessous montre que les souches *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *C. albicans* sont les plus sensibles au EEtOH et dans différentes concentrations, la grande zone d'inhibition est marquée par la souche *P.aeruginosa ATCC27853* (31mm) cette souche est extrêmement sensible à l'EEtOH, suivie par *C.albicans ATCC 10231*(26mm), puis *S.aureus ATCC43300* (24mm) et enfin *S.aureus ATCC 25923* avec un diamètre de (18mm) et aucun effet n'a été décelé contre *E.coli ATCC 25922* puisque celle-ci a marqué un diamètre de (7mm)

Les résultats de (**Bouharb et al. J. Appl. Biosci. 2014**) sont approximatifs à ceux que nous avons trouvés pour *P. aeruginosa ATCC27853*. D'autre part l'effet bactéricide de la plante est inhérent à sa richesse en composés chimiques (**Eman sayed et al. 2012**). (**Premkumar, 2010**).

Des études de l'effet antifongique de l'extrait éthanolique de la plante *E. camaldulensis* réalisé par (**Siramon et al... 2013 ; Nasir et al. 2015**) ont montré une sensibilité considérable pour *Condida .Sp.*

### 2- Extrait éther de pétrole



**Figure 26 :** Effet d'extrait d'éther de pétrole (EEP) sur les souches étudiées

La figure montre que l'efficacité antimicrobienne de l'EEP s'avérée la plus cohérente avec *S.aureus ATCC 25923*, *P. aeruginosa ATCC 27853* avec une zone d'inhibition de (23mm), (22mm) respectivement, suivi par des zones d'inhibition de 21mm pour *S.aureus ATCC 43300* et (16mm) pour la souche fongique, par contre la souche *E.coli ATCC 25922* est la plus résistante a diffèrent concentration de l'extrait par rapport aux autres souches dont la zone d'inhibition (11mm) . Les présents résultats permettent de dire que le pouvoir inhibiteur à une relation proportionnelle avec l'augmentation des concentrations des extraits, or la souche *S.aureus ATCC 25923* a marqué les plus grande zones d'inhibition et les plus faibles sont enregistrées par *E.coli ATCC25922*.

Nos résultats vont dans le même sens à ceux trouvé par (**Hassine, 2013**) qui ont montré que l'EEP d'euclyptus gilli a la plus forte activité contre *S.aureus* et *P.aeruginosa* tandi que *E.coli* était la plus résistante a l'EEP.

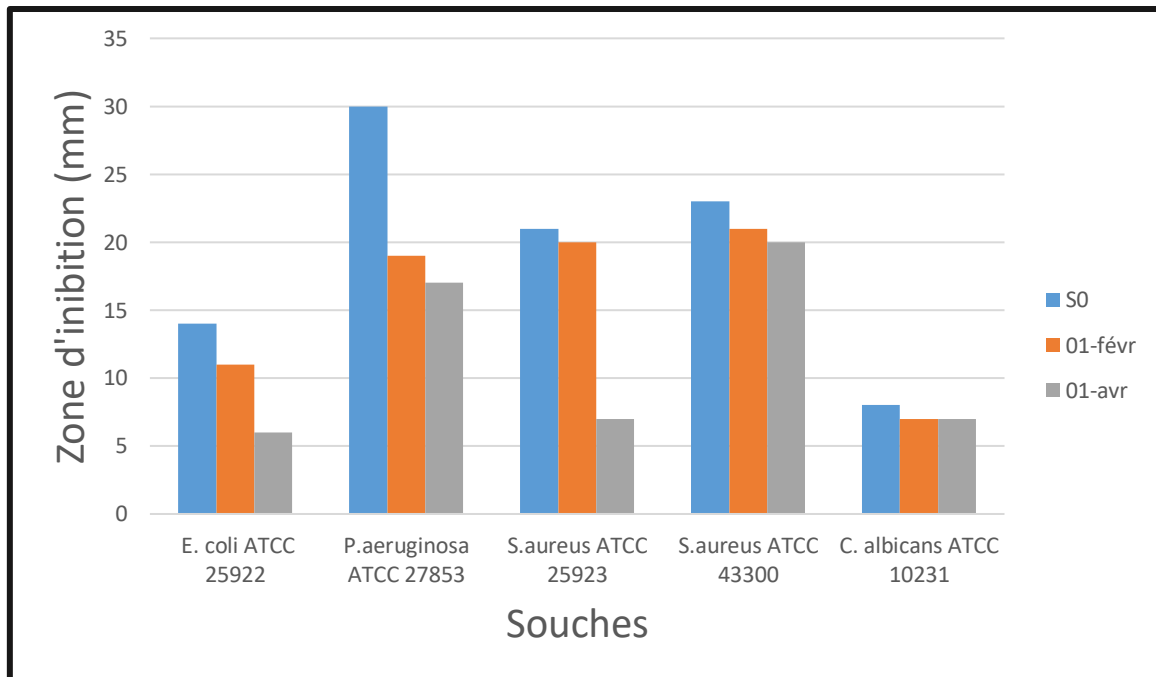
Par contre nos résultats sont différents a ceux rapporté par (**ABIRAMI, 2017**) qui ont testé l'activité antimicrobienne d'EEP d'eucalyptus globulus sur une vaste gamme de bactéries gram+ et gram- et ils ont remarqué que la souche *E.coli* s'est révélée la plus sensible avec un

### Partie III : Résultats et Discussion

diamètre de zone d'inhibition de 20mm et la zone minimale d'inhibition et marqué par *S.aureus* 13mm

L'extraction d'*eucllyptus globulus* à éther de pétrole semble être un remédiant potentiel pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses et également être utilisé comme conservateur alimentaire naturel selon (Bello; et al 2013) et (Lupo; et al 2001)

#### 3- Extrait dichlorométhane



**Figure 27** : Effet d'extrait de dichlorométhane (DCM) sur les souches étudiées

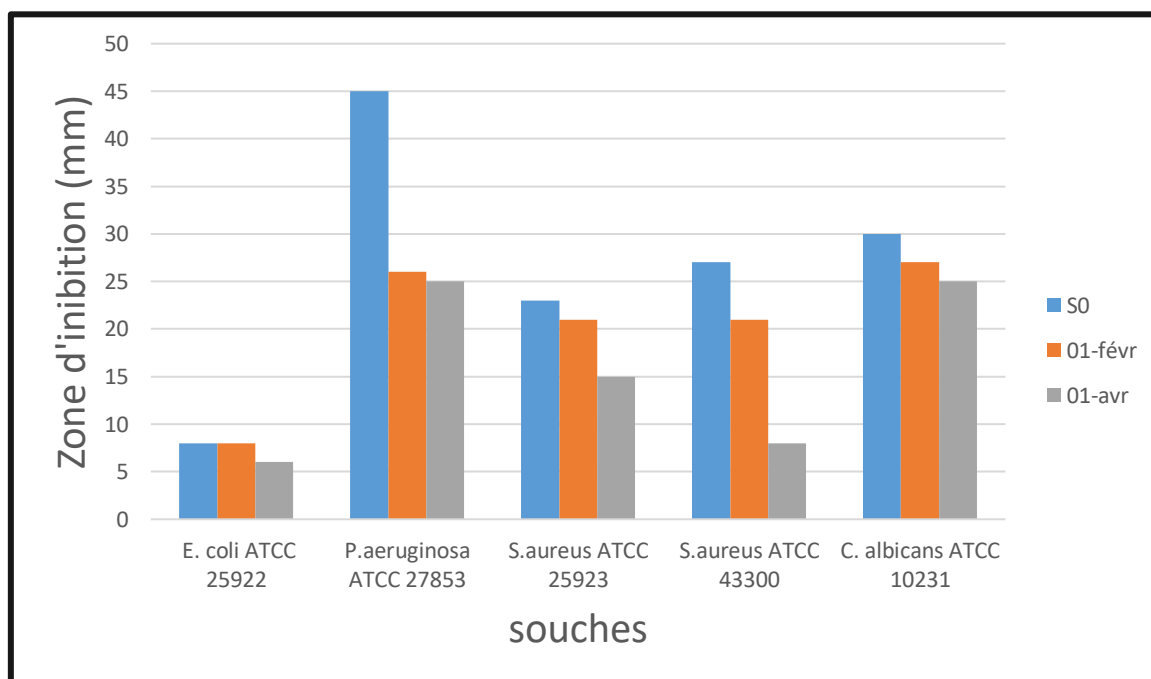
L'activité antimicrobienne de l'EDCM obtenu par macération d'eucalyptus évaluée par la méthode de diffusion sur gélose, a permis de révéler l'activité sur la croissance de toutes les souches microbiennes testées, La souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 se révèle la plus sensible vis-à-vis de cet extrait dont laquelle la plus grande zone d'inhibition est (30mm) suivi de *S.aureus* ATCC 43300 (23mm) et enfin *S. aureu* ATCC 25923 (21mm). D'après les résultats obtenus ; les zones d'inhibition les plus faible varie entre (14-8mm) ont été enregistré pour la souche *E.coli* ATCC 25922 et la souche fongique respectivement, donc cette dernière est la plus résistante a l'EDCM quel que soit la concentration.

### Partie III : Résultats et Discussion

Les diamètres des halos d'inhibition montrent que le pouvoir antimicrobien est proportionnel à la dilution.

Du point de vue de l'effet antimicrobien d'eucalyptus présent un pouvoir inhibiteur satisfaisant envers toutes les souches microbiennes la comparaison de nos résultats avec d'autres travaux sur l'espèce *eucalyptus camaldulensis* nous a amené à dire que nos résultats sont éloigné aux résultats obtenus par (ayepola, 2008) ou ils ont trouvé des zones d'inhibition de (13-14mm) pour les souches *S.aureus* et *P.aeruginosa* respectivement, également une études réalisée par (Pathmanathan, 2010) indique que l'EDCM est inactive sur *E.coli* contrairement à nos résultats.

#### 4- Extrait des tanins N-butanol



**Figure 28:** Effet d'extrait des tanins N-butanol (ETNB) sur les souches étudiées

Cette figure présente l'activité antimicrobienne d'ETNB d'eucalyptus, ces résultats montrent que la meilleure activité bactérienne est obtenue avec *P.aeruginosa* ATCC 27853 avec (45mm), puis *C.albicans* ATCC 10231(30mm) et *S.aureus* ATCC 43300 (27mm), ensuite *S.aureus* ATCC25923 (23mm). Cependant l'ETNB n'a aucune activité sur *E.coli* ATCC 25922 qui présente un diamètre (8mm), nous pouvons tout de même noter que *P.aeruginosa*

### Partie III : Résultats et Discussion

ATCC 27853 est la plus sensible dont laquelle la plus grande zone d'inhibition est enregistré, par contre le plus faible halo d'inhibition est marqué pour E.coli ATCC25922 donc cette dernière est la plus résistante.

Nos résultats concordent avec ceux enregistré par (Ghareeb, 2018) qui ont étudié l'activité antimicrobienne d'ETNB d'eucalyptus camaldulensis qui a révélé que les souches P.aeruginosa, S.aureus, C.albicans ont une sensibilité vis-à-vis l'ETNB.

Des études antérieures ont indiqué que les composés poly phénoliques sont responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes (Funatogawa et al. 2004 ; Buzzini et al. 2008 ; Min et al. 2008).

#### 5- Extrait aqueux

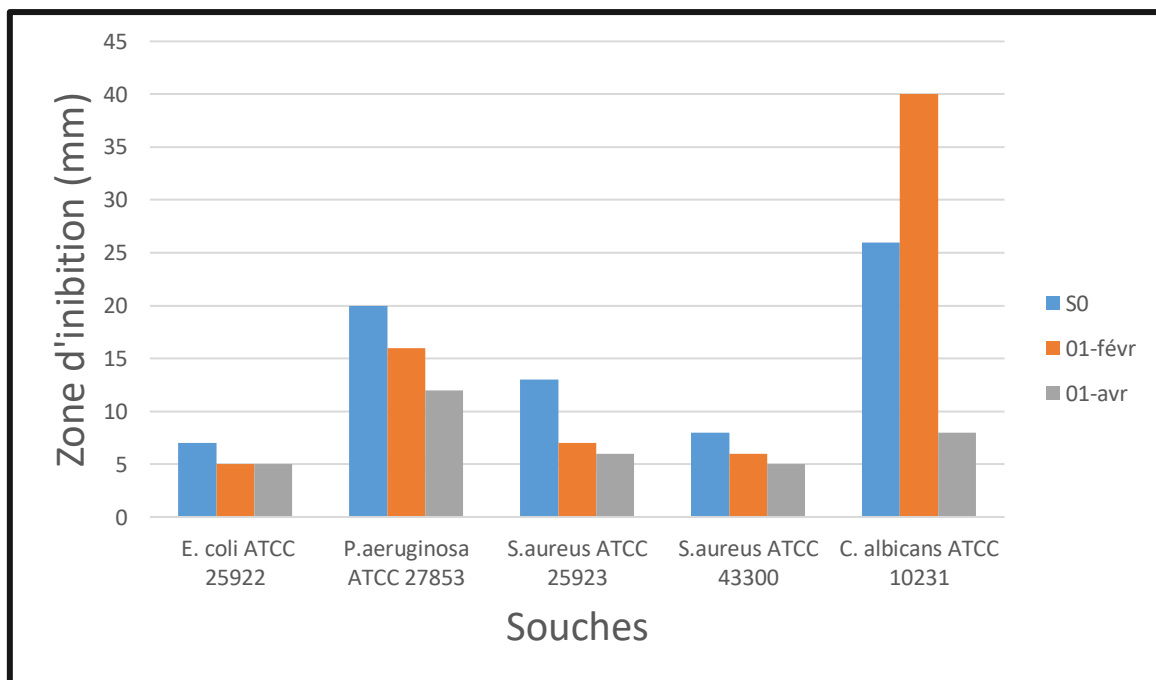


Figure 29 : effet de l'extrait aqueux (EAQ) sur les souches étudiées.

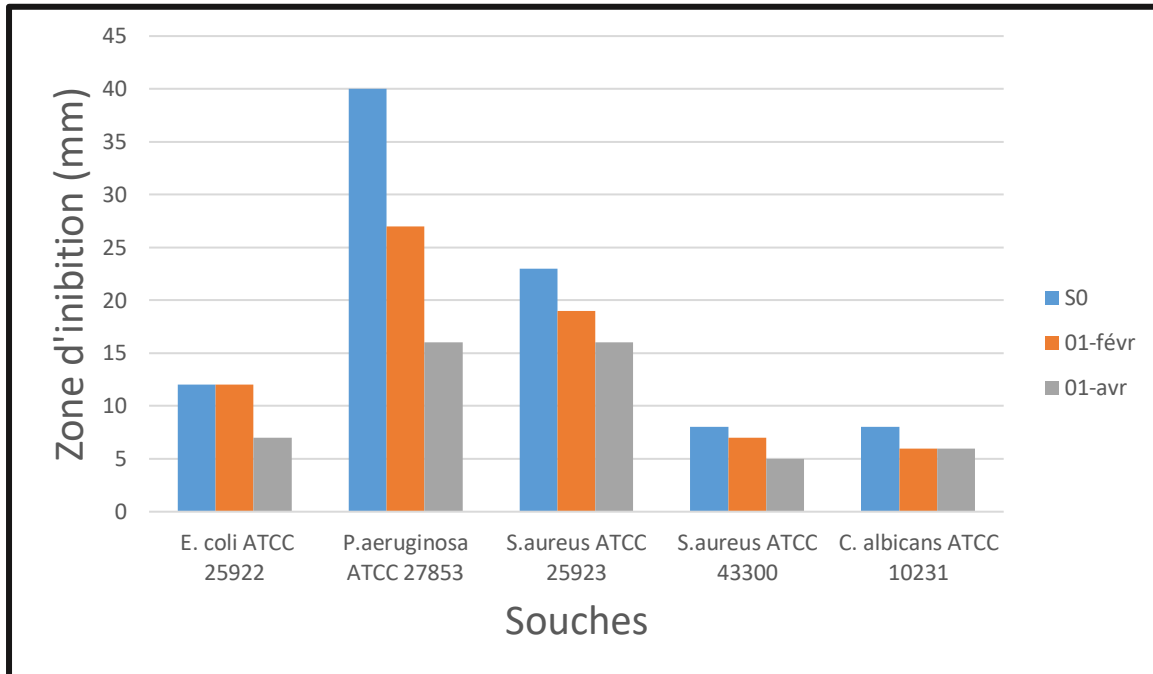
D'après les résultats obtenus la souche fongique est la plus sensible à l'EAQ d'eucalyptus que les bactéries. Elle a enregistré la plus grande zone d'inhibition (40mm) suivi de P.aeruginosa ATCC 27853 avec un halo d'inhibition de (20mm) et puis S.aureusATCC25923 qui a marqué un faible diamètre (14mm).

Les souches S.aureus ATCC 25923, S.aureus ATCC 43300 et E.coli ATCC 25922 sont révélées les plus résistants vis-à-vis l'EAQ d'eucalyptus camaldulensis.

### Partie III : Résultats et Discussion

Nos résultats sont concorde à ceux trouvé par (Hassine, 2013) qui ont remarqué que les *E.coli* et *S.aureus* sont résistant à l'EAQ d'eucalyptus gilli, en revanchent, ils ont marqué également une résistance de *C.albicans* et *P.aeruginosa* contrairement à nos résultats.

#### 6- Extrait l'huile totale



**Figure 30 :** effet de l'extrait l'huile totale (EHT) sur les souches étudiées

L'extrait hexanique d'eucalyptus a enregistré des résultats spectaculaires dans le cas de la souche *P.aeruginosa* ATCC 27853 avec un diamètre de (40mm) qui se révèle la plus sensible, suivi de *S.aureus* ATCC 25923 qui est très sensible à l'EHT puisque elle a marqué une zone de (23mm), par contre l'EHT n'avait aucun pouvoir inhibiteur sur *C.albicans* ATCC 10231 et *S.aureus* ATCC 43300 (8mm) pour chacune. La souche *E.coli* ATCC 25922 est faiblement sensible à cet extrait (12mm).

Ces résultats sont confirmés par l'étude de (Hassine, 2013) ont trouvé que l'extrait hexanique d'*eucalyptus gilli* n'avait pas d'effet bactériostatique sur la plus part des souches étudiées sauf *P.aeruginosa*.

Les résultats émanant dans les histogrammes des tests de l'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits obtenus par des solvants de différentes polarités ont été testés contre des souches bactériennes *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *E.coli* et la souche fongique



### Partie III : Résultats et Discussion

*C.albicans* par la méthode des diffusions des disques ont montré que les extraits organiques (EEtOH, EEP, ETNB) possèdent une activité inhibitrice contre *P.aeruginosa*, *C.albicans* et les souches de *S.aureus* sauf que les extraits (EDCM, EHT) qui présentent une activité modérée qui varie entre (6-40mm) contre les souches testées. En revanche, que l'extrait aqueux a décelé une activité antimicrobienne moyenne, cette activité dépend de la nature du solvant utilisé pour l'extraction. Selon (Merghache, 2012) les extraits obtenus par des solvants de faible et moyenne polarité sont les plus actifs, l'EEP est le plus actif de tous les extraits suivi de l'EDCM, ETNB, cette efficacité sera liée au pouvoir du solvant à solubiliser plusieurs composés contenus dans le broyat de la plante, à l'exception de l'EHT qui a marqué une faible activité malgré que cet extrait est le plus hydrophobe, il apparaît donc l'EHT diffuse mal dans les géloses, c'est forcément la seule raison, d'autre part l'EEtOH obtenu par un solvant fortement polaire est doué d'une bonne activité inhibitrice sur les souches testées ce phénomène peut être expliqué par le fait qu'il y a des composés qui sont actifs, mais qui sont solubilisés après un certain temps de contact avec le solvant.

Le pouvoir antimicrobien est non seulement en fonction de la nature chimique et la composition de l'extrait (Singh, 1997), mais aussi des méthodes utilisées pour l'extraction et pour l'évaluation de l'activité antifongique et antibactérienne (Guillot, 1999) et (Tudela, 2003)

## Partie III : Résultats et Discussion

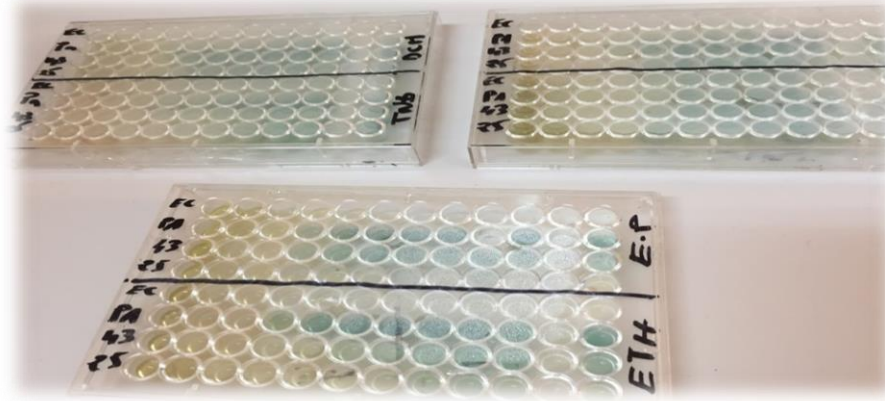
### 2-Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Les résultats sur le **tableau** indiquent les valeurs des CMI de nos extraits lors de l'étude en milieu liquide

	Concentration minimale inhibitrice (mg/ml)					
	EEP	EDCM	EETOH	EHT	EAQ	ETNB
<i>P.aeruginosa</i> ATCC27853	6.25	3.12	3.12	3.12	6.25	6.25
<i>E.coli</i> ATCC25922	0.78	1,56	1.56	0.78	0.78	1.56
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1.56	1.56	1.56	0.78	0.78	0.78
<i>S.aureus</i> ATCC 43300	3.12	3.12	1.56	1.56	1.56	0.78
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	3.12	0.19	0.09	1.56	3.12	1.56

**Tableau 08** : les résultats des CMI des extraits d'*Eucalyptus Camaldulensis*

Les résultats montrent que les extraits végétaux d'eucalyptus Camaldulensis ont une activité antibactérienne et antifongique acceptable contre les souches testées dans une gamme de CMI varie entre (6.25 -0.09 mg/ml).



**Figure 31:** Résultat de la concentration minimal inhibitrice des extraits d'*eucalyptus Camaldulensis*

Nous remarquons que les souches étudiées n'ont montré aucune croissance en présence de la concentration mère donc cette dernière est une concentration inhibitrice pour tous les germes fongiques et bactériens.

Nous observons d'après nos résultats que l'EDCM a un effet inhibiteur sur *Paeruginosa ATCC 27853* et *S.aureus ATCC 430300* dont la (CMI = 3.12mg/ml) et une moyenne activité contre *E.coli ATCC 25922* et *S.aureus ATCC 25923* qui semblait être les plus sensibles dont la (CMI=1.56mg/ml) ensuite tanin N butanol qui a marqué une bonne activité contre *S.aureus ATCC 430300*, *S.aureus ATCC 25923* et *E.coli ATCC 25922* dont la (CMI=0.78mg/ml) et un faible effet inhibiteur contre *P.aeruginosa ATCC 27853* CMI égal (6.25mg/ml), tandis que une activité moyenne d'EETHO contre toutes les souches testés dont la cmi varie entre (1.56,3.12 mg/ ml), les résultats montrent aussi un niveau de sensibilité élevé des extraits EP,AQ et HT contre *E.coli ATCC 25922* et *S.aureus ATCC 25923* dont la (CMI=0.78mg/ml) et une sensibilité modéré qui varie entre( 1.56 , 3.12 mg/ml) pour les *S.aureus ATCC 430300* et *P.aeruginosa ATCC 27853* sauf que l'EEP a un pouvoir faible contre *P.aeruginosa ATCC 27853* qui a enregistré une (CMI = 6.25mg/ml .) on conclut alors que la plupart des souches présentent une sensibilité vis-à-vis les différents extraits.

ET pour la souche fongique *C.albicans ATCC 10231* a montré une meilleure sensibilité pour les extraits testés pour que la plus faible sensibilité est marqué pour l'EEP et l'EAQ (CMI=3.12mg/ml) suivi par une moyenne sensibilité pour l'EHT et l'ETNB (CMI=1.56mg/ml) et une très forte sensibilité pour extrait éthanolique et Dichlorométhane avec une concentration inhibitrice varie entre (0.19 ,0.03mg/ml).

### Partie III : Résultats et Discussion

Nous avons déduit après ces résultats que la souche *C.albicans ATCC 10231c* est la souche la plus sensible par rapport les autres souches étudié dont une gamme de CMI comprise entre (3.12, 0.09 mg/ml) et celle qui a marqué une très bonne sensibilité pour les extraits dans les plus faibles concentrations donc ces extraits végétaux sont des bons antifongiques.

Selon les résultats obtenus, l'activité antimicrobienne maximale enregistrée par l'essai de l'EEP, l'ETNB, l'EAQ, l'EHT contre toutes les souches suggère que la substance active réside dans ces extraits avec un effet à large spectre.

L'efficacité d'EEP s'explique par la présence des huiles essentielles, des coumarines et des Triterpènes (**Bouزيد, 2011**). Tandis que l'EDCM renferme différents constituants, notamment les flavonoïdes, les tanins, les acides phénoliques, les terpènes et les pectines. (**Bouزيد, 2011**). Une étude menée par (**yekhleف, 2010**) montre que l'*E.coli* et *S.typhimirium* sont insensible à l'action de l'extrait EP de *L.nobilis*, et peu sensible à l'action de celui de *Thymus vulgaris* (CMI=2500µg/ml), par contre nos études montrent que EEP d'*Eucalyptus Camaldulensis* a un effet inhibiteur fort contre *E.coli ATCC 25922*.

L'effet antimicrobien des extraits aqueux et hexanique sont pratiquement négligeable malgré sa richesse en composés actifs, cela peut s'expliquer par le simple fait que l'eau est un solvant connu pour extraire une large gamme des molécules, tels que les polyphénols, ainsi l'extrait hexanique avec une proportion élevé de ces derniers. Ceci confirme que l'efficacité d'un extrait dépend plus de la qualité des principes actifs, qu'il renferme que leur quantité elle-même (**Essawi, 2000**). Concernant l'extrait éthanolique possède un pouvoir inhibiteur modéré cela peut s'expliquer par la présence de son caractère très polaire, des travaux sur l'extrait aqueux et éthanolique d'*E. Camaldulensis* montrent que cette dernière présente un fort effet antibactérien contre *P.aurogenosa* malgré son pouvoir pathogène et par rapport à plusieurs types de plante médicinal (**discussion extrait aqueux**) et ils ont enregistré une CMI égal 0.05mg/ml. Les résultats que nous avons obtenus avec l'ETOH des feuilles d'Eucalyptus ont montré que cette dernière est avéré moyennement efficace dont la CMI varie entre (1.56, 3.12 mg/ml). en effet des études montrent d'autres extraits d'*E.globulus* ont un très bon effet inhibiteur contre les bactéries et les champignons tel que l'extrait d'acétone qui porte une meilleure activité antimicrobienne par rapport à l'éthanol et extraction à l'éther de pétrole (**ABIRAMI, 2017**).

D'autre part une forte activité est marquée aussi par l'extrait des tanins d'*E. Camaldulensis* contre les souches testée.

## Partie III : Résultats et Discussion

Des études sur *E. camaldulensis* décèlent que ce pouvoir inhibiteur pourrait être expliqué par la présence des tanins et qui se base sur leur capacité à précipiter également les protéines microbiennes, rendant ainsi les protéines nutritionnelles indisponibles pour la croissance microbienne (Ayepola, 2008).

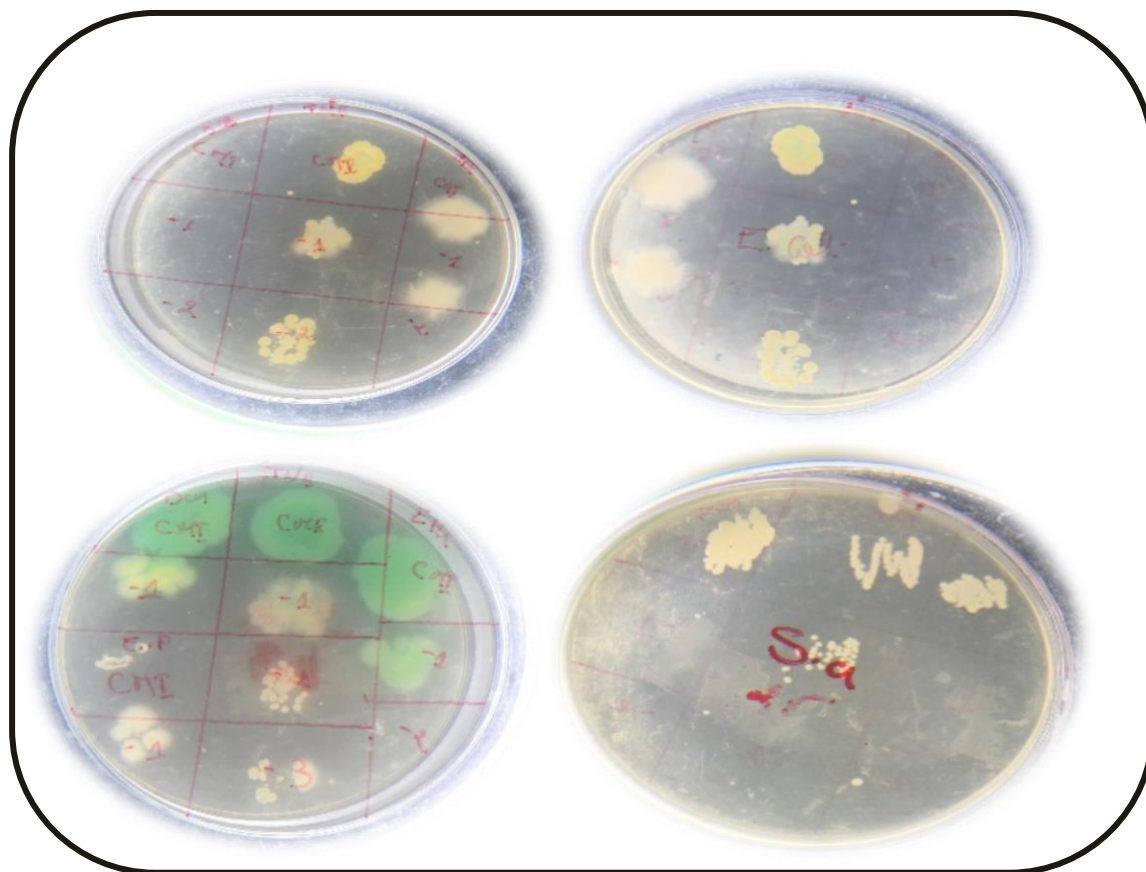
En ce qui concerne l'activité des extraits (EEP, ETOH, EHT, EAQ, EDCM, ETNB) contre *C.albicans ATCC 10231* était la plus forte dont la CMI varie entre (3.12, 0.09mg/ml), nous avons remarqué dans des autres travaux sur *E.gilii* que l'effet inhibiteur pour les levures et les champignons dont la CMI varie entre (3.12, 3.90mg/ml) est moyennement fort à ce que nous avons décelés dans notre analyse (Hassine, 2013)

Il faut souligner que ces divergences dans les résultats de l'activité antibactérienne et antifongique d'une substance végétale dépendent de plusieurs facteurs qui peuvent influencer la composition chimique d'une plante telle que la nature de l'espèce, l'origine géographique, le solvant et le mode d'extraction et même le degré de sensibilité des bactéries et de levure testées vis-à-vis d'un même extrait végétal est supposé varier selon le Gram (Ait-ouazzou, 2011 ; Burt, 2004 et Tehami, 2017).

A la lumière de ces aboutissements on peut déduire que ces extraits végétaux sont connus pour inhiber une large gamme des microorganismes et les CMI les plus importantes sont observées avec EEP, EDCM, EAQ, EHT, TNB variant entre 0.09mg/ml et 0.78mg/ml.

### 3- Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB) et (CMF)

La détermination de (CMB) en milieu solide c'est le paramètre qui nous permet de déterminer l'effet bactéricide de nos extraits. Les résultats des concentrations minimales bactéricides et fongicides des extraits vis-à-vis les souches bactériennes et fongique sont présentées dans la



**Figure 32:** Résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide

	Concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB) et (CMF)					
	EEP	EEtOH	EDCM	EHT	EAQ	ETNB
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	3,12	6,25	3,12	6,25	12.5	6,25
<i>S.aureus</i> ATCC43300	12.5	6,25	12.5	12.5	12.5	12.5
<i>E.coli</i> ATCC 25922	1,56	6,25	1,56	6,25	3,12	12.5
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5

**Tableau 09 :** Concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) des extraits d'eucalyptus sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.

### Partie III : Résultats et Discussion

Selon le tableau la concentration minimale bactéricide (CMB) est identique à la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour l'EEP, ETNB, EAQ contre la souche *P.aeruginosa ATCC 27853* (CMB=CMI=6,25mg/ml) ainsi que l'EDCM a marqué un effet bactéricide a la concentration (1,56mg/ml) équivalente à la CMI de cet extrait, tandis que les autres extraits présentent des CMB supérieurs à la CMI varie de (1,56-6,25mg/ml). D'autre part la souche *S.aureus ATCC 43300* était résistante aux différents extraits même à la plus grande concentration testé (CMB=12,5 mg/ml), sauf l'extrait éthanolique a provoqué sa lyse a une concentration (CMB=6,25mg/ml), les mêmes résultats sont obtenus pour l'ETNB contre *E.coli ATCC 25922* et l'EAQ contre *S.aureus ATCC 25923* ou la CMB est supérieur à (6,25mg/ml).

La concentration minimale fongicide (CMF) de tous les extraits végétaux d'*E. camaldulensis* est supérieure à (6,25mg/ml) selon les résultats représentés dans le tableau.

Nos résultats sont différents à ceux indiqués par **(El-Mahmood, 2009)** qui ont trouvé que la concentration minimale bactéricide (CMB) de l'EAQ d'*E. camaldulensis* égale à (100mg/ml) pour *E.coli* et (50mg/ml) *S.aureus*, dans le cas de l'extrait éthanolique la CMB enregistré était de (50mg/ml) pour *E.coli* ainsi que pour *S.aureus*. Ces résultats nous permettons de dire que l'extrait aqueux et éthanolique de notre plante sont plus efficaces aux extraits testés durant cette étude puisque nos extraits ont provoqués un effet bactéricide à des concentrations inférieure à celle des extraits d'*E. camaldulensis*.

L'un des problèmes habituellement rencontrés dans l'utilisation des plantes médicinales est la quantité d'extrait nécessaire pour améliorer la guérison efficace. Dans la plupart des cas d'utilisation traditionnelle des plantes indigènes, la quantité d'extrait prise est inconnue. Cependant, cela ne pose pas de problème sérieux puisque les produits à base de plantes sont relativement plus sûrs que soit les médicaments à base microbienne ou synthétiques. Les valeurs de CMB obtenues pour les bactéries d'essai entiers ont été élevés allant de (1,56-6,25mg/ ml), par rapport aux valeurs de CMB de (0.01-10 mg / ml) fréquemment enregistré pour les antibiotiques classiques. **George et al. (2002)** expliquent que les différences observées peuvent être dû au fait que les antibiotiques de synthèse sont sous une forme pure, les extraits bruts de plantes contiennent des substances impures qui peuvent être inerte et ne pas avoir des activités antibactériennes.

**Hugo et Russell (1984)** ont rapporté que les valeurs de CMB peuvent soit être identiques ou supérieures aux valeurs de CMI. Dans cette étude, les valeurs de CMB étaient identiques ou

### Partie III : Résultats et Discussion

légèrement supérieurs aux valeurs CMI, semblables aux résultats de **Karou et al. (2006)**. Les valeurs de CMI et CMB sont prédictifs de l'efficacité des agents in-vivo.

#### 4-Qualification de l'action antibactérienne et antifongique des extraits étudiés

La détermination du rapport CMB, CMF/CMI des extraits d'*E. camaldulensis* a été effectuée sur les germes ayant présenté une sensibilité par le test d'aromatogramme. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau si dessous :

Les souches	(CMB, CMF/CMI) des extraits						Activité
	EEP	EETOH	EDCM	EHT	EAQ	ETNB	
<i>P.aeruginosa</i> A TCC27853	1	2	2	2	2	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> ATCC25922	2	4	1	8	4	8	Bactéricide/ Bactériostatique
<i>S.aureus</i> ATCC430300	4	4	4	8	8	16	Bactéricide/ Bactériostatique
<i>S.aureus</i> ATCC25923	2	4	2	8	16	8	Bactéricide/ Bactériostatique
<i>C.albicans</i> ATC C 10231	4	138	65	8	4	8	Fongicide/ Fongistatique/résistants

**Tableau 10** : Valeurs des paramètres antimicrobiens des extraits exprimées en mg/ml

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique et enfin si CMB, CMF/CMI >32 l'effet est résistant (**Baradan 1996, Sicklinger, 2003**)



### Partie III : Résultats et Discussion

Nous avons calculé par la suite le rapport CMB, CMF/CMI afin de déterminer le caractère bactéricide, fongicide et/ou résistant de nos extraits donc les extraits végétaux d'eucalyptus sont des bactéricide envers la souche *P.aeruginosa* ATCC27853 cela traduit par la détérioration de la paroi et la membrane cytoplasmique de la cellule bactérienne ce qui permet le passage des extraits végétaux et fragilisé la structure cellulaire (**Bendjelloul, 2018**), Pour les autres souches bactériennes *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 430300 et *E.coli* ATCC 25922 les extraits ont agi différemment et même sur la même espèce où le rapport CMB/CMI varie entre (1 et 16), pour que sur *E.coli* ATCC 25922. EEP, EDCM, EETOH, EAQ sont considéré comme des bactéricides, tandis que EHT, ETNB ont un effet bactériostatique. Suivie par *S.aureus* ATCC 430300 qui a enregistré seulement une inhibition envers les extrais héxanique et tanin N-butanol et une lyse cellulaire envers EEP, EDCM, EETOH, EAQ. En effet les extrais éthanolique, éther de pétrole et dichlorométhane ont un effet bactéricide contre *S.aureus* ATCC 25923 et bactériostatique pour extrait hexanique, extrait tanin n-butanol et l'extrait aqueux.

A l'exception est noté pour *C.albicans* ATCC 10231 où le rapport CMF/CMI comprise entre (4 et 138) à travers ces résultats les extraits ont considéré comme des fongicides, des fongistatique et des résistants, elles sont placé comme suite :

- ✓ Effet fongicide pour EEP, EAQ
- ✓ Effet fongistatique pour EHT, ETNB
- ✓ Effet résistants pour EETOH, EDCM

Nous résultats affirment que la souche la plus sensible vis-à-vis les extraits étudié est celle des grammes négatif *P.aeruginosa* ATCC 27853 par contre les autres souches bactériennes ou bien fongiques chacune est marqué un degré de sensibilité selon chaque extraits. D'autre travaux nous confirment que seul les extraits d'eucalyptus gomphocephala qui ont montré un effet remarquable sur toutes les souches de *P.aeruginosa* et revêt une grande importance car les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentent de grandes résistances aux antibiotiques utilisés en pratique courante et cela indique la forte sensibilité de cette souche vers la plante eucalyptus gomphocephala (**Bouharb et El Badaoui, 2014**)

De cette étude, nous pouvons confirmer d'après les tests biologiques, la validité des espèces de la famille myrtacées; ce sont des espèces à activité biologique intéressante antimicrobienne.

## Partie III : Résultats et Discussion

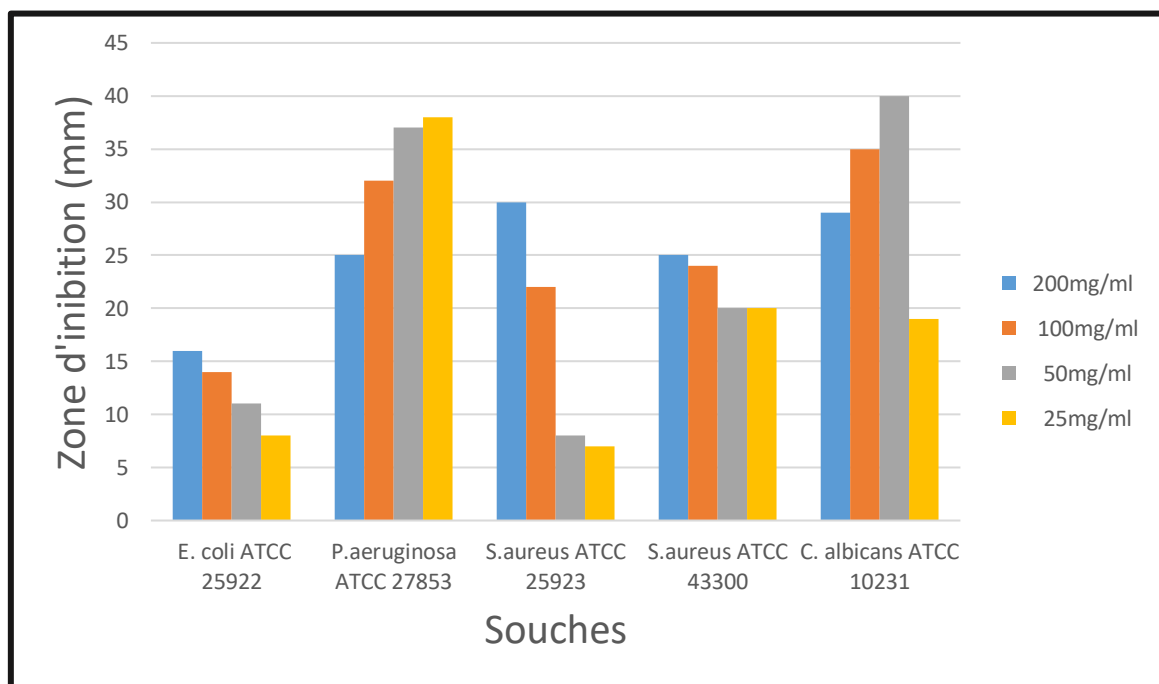
En fin notre pays enferme une grande richesse floristique (biodiversité végétale), qu'on peut préserver ces ressources naturelles et les mesures destinés à améliorer l'accès à l'utilisation

Traditionnelle des plantes et aux connaissances scientifiques, leur interprétation et leur application dans le domaine de traitement.

Alors comment en protège cette richesse et amélioré la qualité de ces plantes Par :

- La définition des meilleurs moyens de déterminer les effets des plantes sur la santé.
- L'élaboration de stratégies de prévention des problèmes de santé entrainés par les plantes.
- L'élaboration des méthodes d'extraction pour l'évaluation des risques de toxicité.

### 2-1-2 l'huile essentielle



**Figure 33:** effet de l'huile essentielle (HE) d'eucalyptus sur les souches étudiées

A la lumière des résultats obtenus, la sensibilité des différents micro-organismes d'HE d'*E. camaldulensis* est marquée dans la concentration (200mg/ml) avec des zones d'inhibitions (30mm) pour *S. aureus ATCC 43300* (25m) pour *S. Aureus ATCC25923* et pour *E. coli ATCC 25922* (16mm) donc nous avons remarqué que les diamètres des zones d'inhibition augmente

### Partie III : Résultats et Discussion

avec l'augmentation des concentrations d'HE pour la majorité des espèces. D'autre part les zones les plus faibles sont marquées chez *E.coli* ATCC 25922 quelle que soit la concentration. L'effet d'huile essentielle étudié sur *P.aeruginosa* ATCC 27853 et *C.albicans* ATCC 10231 a montré des résultats hétérogènes pour que *P.aeruginosa* ATCC 27853 a enregistré un diamètre de (38mm) dans la concentration la plus faible (25mg/ml) par contre une zone d'inhibition de (40mm) a été marquée par *C.albicans* ATCC10231 dans la concentration (50mg/ml), on déduit que les plus grandes zones sont observées chez la souche fongique.

D'après les résultats représentés dans la figure précédente, nous ne constatons que l'HE d'*E.camaldulensis* a une très bonne activité antibactérienne donc nous observons que les deux souches *P.aeruginosa* ATCC 27853 et *S.aereus* ATCC 43300 sont extrêmement sensibles suivie par *S.aereus* ATCC 25923 qui est très sensibles puis une sensibilité modéré pour *E.coli* ATCC 25922. La comparaison de notre résultat avec d'autres travaux, nous a amené à dire que ces derniers concordent à l'étude de (CHIBAH, 2018) sur l'espèce *Eucalyptus globulus* qui possède un effet inhibiteur sur toutes les souches étudiés. Le pouvoir inhibiteur le plus élevé a été enregistré chez la souche fongique *C.albicans* ATCC 10231.

Ces résultats sont confirmés par l'étude (Abdellah., 2013) qu'ils ont constaté que les champignons sont plus sensibles que les bactéries vis-à-vis l'HE de *E.camaldulensis*, contrairement aux nos résultats les souches *C.albicans* ATCC 10231 s'est montré très résistante pour différents types d'huiles essentielles selon (M. Benabderrahmane, 2009) .

A travers l'évaluation in vitro et sur milieu Muller Hinton du pouvoir antimicrobien d'HE face aux différents souches testées, il paraît évident qu'il y a une énorme hétérogénéité dans les résultats obtenus de *P.aeruginosa* ATCC 27853 et *C.albicans* ATCC 10231 Les souches ont réagi plus ou moins bien selon la concentration des huiles essentielles isolées. Les meilleures zones d'inhibition sont enregistrées avec la solution (HE 25mg/ml) pour *P.aeruginosa* ATCC 27853 et une concentration de (HE 50mg/ml) pour *C.albican* ATCC 10231. De l'ensemble des résultats obtenus par (Benkherara, 2011) prouver le même aboutissement que notre travail dont lequel ils ont marqué les meilleurs zones d'inhibitions avec la solution ¼. qui ont cité le cas de la souche *P.aeruginosa* ATCC 27853 qu'elle s'est révélé très sensible avec plus de 30mm de diamètre. Cet effet est traduit par des phénomènes de synergies entre les constituants minoritaires et peuvent être l'origine d'une activité beaucoup plus prononcés que celle prévisible pour les composés majoritaire ((Franchomme, 1981 ; Gueldner et al. 1985). Et on peut dire alors que la sensibilité des

### Partie III : Résultats et Discussion

micro-organismes dépend de la composition chimique et la concentration en huiles essentielles utilisées et le type des microorganismes testés (Abdellah., 2013)

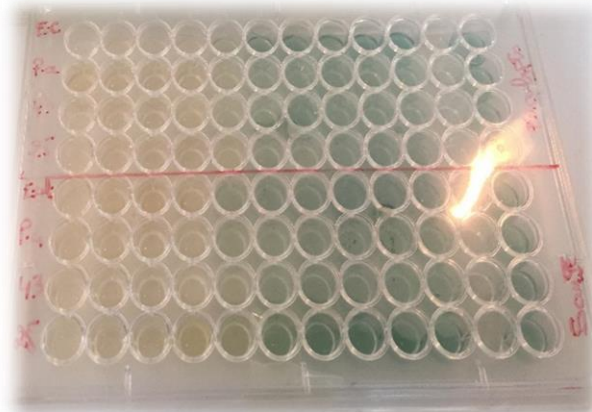
L'effet bactériostatique de substances naturelles s'explique par la lyse des membranes bactériennes; les HE pourraient induire une fuite d'ions potassium au niveau de la membrane et par voie de conséquences des lésions irréversibles au niveau de cette membrane. Cette perméabilité au potassium est un effet précurseur de leur mort (BENKHERARA S., 2013)

#### Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* par la technique de micro-dilution. Les résultats des (CMI) d'HE vis-à-vis les souches bactériennes et souches fongiques sont présentées dans le tableau ci-dessus :

Les concentrations (mg/ml)									
Les souches	100	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	T(N)	T(P)
S.aureus25923	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S.aureus43300	-	-	-	+	+	+	+	-	+
P.aeruginosa27853	-	+	+	+	+	+	+	-	+
E.coli25922	-	-	-	-	+	+	+	-	+
C.albicans10231	-	+	+	+	+	+	+	-	+
T : Témoin									
N : Négatif									
P : Positif									
-: inhibition									
+ : croissance									

De façon générale, nos résultats montrent que l'huile d'*E camaldulensis* présente un pouvoir Antibactérien et antifongique remarquable. En effet les cinq souches étudiées, la gamme des CMI comprises (12,5-100 mg/ml).



**Figure 34:** Résultat de la concentration minimal inhibitrice

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antibactérienne d'huile essentielle de la plante d'*E. camaldulensis* sur la croissance *in-vitro* des cinq souches, quatre bactériennes *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *S.aureus* ATCC 43300, *E.coli* ATCC 2592 et une souche fongique *C.albican* ATCC 10231.

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement aux témoins de contrôle de croissance, il y a une diminution du nombre de colonies de ces germes dans les puits des microplaques expérimentaux au fur et à mesure que la concentration de l'extrait augmente. Ainsi, nos résultats montrent que l'HE est actif à divers degrés et manifeste une activité antimicrobienne en inhibant la croissance *in-vitro* des germes bactériens et fongique selon une relation dose-réponse.

Les plus faibles valeurs des paramètres antibactériens ont été obtenues avec la souche d'*Escherichia coli* (CMI=12.5mg/ml), la moyenne valeur avec *S.aureus*ATCC43300 (CMI=25mg/ml) suivi par la forte valeur par *P.aeruginosa* ATCC 27853 (CMI=100mg/ml) et *S.aureus* ATCC 25923 (CMI=100mg/ml). Nous avons remarqué aussi une inhibition contre la souche fongique *C.albicans* ATCC 10231 dont la CMI=100mg/ml.

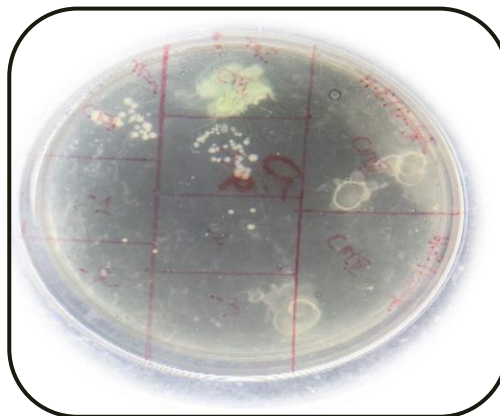
D'autres chercheurs ont constaté que l'activité antimicrobienne *E. globulus* huile essentielle (à partir Monténégro) était CMI= 0,9 mg/ml contre *E.coli* et *S.aureus*, CMI=0.36mg/ml contre *C.albicans* et 3.13mg/ml contre *P.aeruginosa*..

En comparant nos résultats à ces résultats, nous pouvons déduire que L'huile essentielle de notre plante a montré une bonne activité antimicrobienne et antifongique. (Hassine, 2013)

Bien que l'activité antibactérienne des huiles essentielles de différente herbe étudiée par différents chercheur. Leurs mécanismes antimicrobiens n'ont pas été signalés dans de grands détails (**Rios et Recio, 2005**). D'autre étude ont prouvé les mêmes résultats que nous dont l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* Labill., *Myrtaceae* (Tasmanian Blue Gum) développée au Monténégro possède plutôt une activité importante contre différents micro-organismes : les bactéries et les champignons *C.albicans* (**Delaquis et al. 2002**)

### **Détermination de la concentration minimale bactéricide et fongicide (CMB/CMF) en milieu solide**

La détermination de (CMB) en milieu solide c'est le paramètre qui nous permet de déterminer l'effet bactéricide de notre huile essentielle. Les résultats des concentrations minimales bactéricides d'HE vis-à-vis les souches bactériennes et la souche fongique sont présentées dans la (figure)



**Figure 35** : Résultats de la concentration minimale bactéricide et fongicide

Souches	Concentration minimale bactéricide et fongicide d'HE (CMB, CMF)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	100mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	100mg/ml
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	>100mg/ml
<i>E.coli</i> ATCC 25922	>100mg/ml
<i>C.albicans</i> 10231	100mg/ml

**Tableau 11** :Concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF) de l'huile essentielle d'eucalyptus sur la croissance des souches bactériennes et fongiques.

La concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMB) signifie à la concentration minimale inhibitrice (CMI) 100mg/ml pour l'huile essentielle contre la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923 et *C.albicans* ATCC 10231. Tandis que les autres souches bactériennes (*S. aureus* ATCC 43300, *E.coli* ATCC 25922 ) présentent une concentration minimale bactéricide (CMB) plus élevé que la concentration minimale inhibitrice (CMI) = 200mg/ml, donc on peut déduire que notre HE possède une activité bactéricide et fongicide contre les germes testées. Notre HE a généralement intégré une lyse cellulaire contre deux souches bactérienne une gramme positive et l'autre gramme négative et même les levures donc c'est une huile qui agit sur différent micro-organisme. Alors ces derniers sont les plus sensibles vis-à-vis l'HE.

En comparant nos résultats avec d'autres analyse, on outre qu'ils sont différent car les chercheurs ont montré l'activité la plus élevé (3.13mg/ml) est observé contre *S. aureus*, *E. coli*, et *S. pyogènes* et la plus basses (0.09mg/ml) contre les bactéries infectieuse (**Barel et al. 1991**). ) Par contre notre analyse montre que la concentration mois basse (100mg/ml) et marqué contre *P.aeruginosa* ATCC27853, *S.aureus* ATCC 25923 et même pour *C.albicans*

## Partie III : Résultats et Discussion

ATCC 10231 et la plus élevée doit être égale à (200mg/ml) pour obtenir une CMB contre les germes *S.aureus* ATCC 43300 et *E.coli*.

D'après cette comparaison on peut conclure que notre huile essentielle possède un effet bactéricide important avec des valeurs de CMB dissemblable à celle de ces travaux.

### Qualification de l'activité antibactérienne de l'HE

Il nous semble nécessaire dans une deuxième étape de notre travail de déterminer le rapport CMB/CMI ou CMF/CMI qui permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide de l'huile essentielle d'*E. camaldulensis*. Les résultats de rapport CMB/CMI sont présentés dans le tableau

CMB/CMI, CMF/CMI				
Les souches microbiennes				
S. aureus 25923	S. aureus 43300	P.aeruginosa27853	E.coli 25922	C.albicans 10231
1	2	1	2	1
CMB : concentration minimale bactéricide				
CMF : concentration minimale fongicide				
CMI : concentration minimale inhibitrice				

**Tableau 12 :** Le rapport CMB, CMF/CMI relative aux cinq souches microbiennes.

Selon **Marmonier (1990)**, si le rapport d'activité CMB/CMI ou CMF/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à 4, cette dernière est qualifiée de substance bactéricide ou fongicide et si le rapport est supérieur à 4, elle est alors dite bactériostatique ou fongistatique. On se référant aux résultats obtenus dans les tableaux, nous constatons que l'huile d'*E. camaldulensis* est bactéricide et/ou fongicide.

Nos résultats concordent à ceux trouvés par (**Pankey et Sabath, 2004**) qui ont testé l'activité antimicrobienne d'*E.camaldulensis* sur une vaste gamme de bactéries à gram+ et gram-, et ils



### Partie III : Résultats et Discussion

ont remarqué que le rapport CMB, CMF/CMI de cette huile est inférieur à 4 et cela indique que l'HE d'*E.camaldulensis* peut être utilisée comme agent bactéricide.

#### Effet de l'association « huile essentielle/antibiotique » vis-à-vis les souches étudiées

L'association des HEs aux différents antibiotiques présentent des effets qui sont statistiquement différents, les diamètres des zones d'inhibition de l'HE, des antibiotiques et de leurs associations sont rapportés dans le tableau

Les souches bactériennes														
S. aureus 25923			S. aureus 43300			P.aeruginosa27853			E.coli 25922			C .albicans 10231		
Diamètres des zones d'inhibition en (mm)														
A			A			A			A			A		
GEN, E, VANC			GEN, E, VANC			GEN, E, VANC			GEN, E, VANC			GEN, E, VANC		
21	11	8	29	8	8	24	29	12	20	8	8	13	8	8
B			B			B			B			B		
HE			HE			HE			HE			HE		
22			24			32			14			35		
C			C			C			C			C		
GEN+HE, E+HE, VANC+HE			GEN+HE, E+HE, VANC+HE			GEN+HE, E+HE, VANC+HE			GEN+HE, E+HE, VANC+HE			GEN+HE, E+HE,VANC+HE		
20	16	8	28	20	12	26	12	10	21	10	8	15	12	10
A : diamètre d'inhibition de l'antibiotique														
B : diamètre d'inhibition de l'HE														
C : diamètre d'inhibition de l'association de l'HE et l'antibiotique														

**Tableau 13** : résultats de l'interaction synergétique d'huile eucalyptus avec les antibiotiques testés

L'analyse des résultats montrent que l'association de l'HE d'*E. camaldulensis* avec la GEN, E, VANC a donné des interactions antagonistes vis-à-vis *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* 25922 et la souche fongique *C. albicans* ATCC 10231 par rapport à celle de l'huile seule, tandis que un effet synergique est obtenu avec un diamètre de zone d'inhibition 28mm pour GEN+HE et de 24mm pour l'huile seule vis-à-vis la souche *S. aureus* ATCC 43300 par contre l'association de E avec l'HE a induit un effet presque indifférent traduit par une diminution de diamètre de la zone d'inhibition de 24mm pour l'huile seule à 20mm pour E+HE, une interaction antagoniste s'est révélée lors de l'association de VANC avec l'HE qui a induit une résistance de la souche *S. aureus* ATCC 43300 qui été extrêmement sensible.

L'effet de l'association des antibiotiques avec l'HE a été comparé également par rapport l'effet inhibiteur de l'antibiotique seul, cette comparaison nous a permis de dire que cette association présente des effets qui sont statiquement différents selon la souche testée ainsi que l'antibiotique ajouté, en outre les résultats obtenus montrent que l'association de VANC, n'a aucun effet vis-à-vis toutes les souches testées ainsi que l'association de GEN a induit un effet indifférent pour *S. aureus* ATCC 25923 et *S. aureus* ATCC 43300 et *E. coli* ATCC 25922, une interaction antagoniste est observée lors de l'association E + HE avec un diamètre d'inhibition de 29mm pour l'antibiotique seul et un diamètre de 12mm pour E+HE vis-à-vis la souche *P. aeruginosa* ATCC 27853, cependant l'interaction synergique est obtenue avec la GEN sur *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *C. albicans* ATCC 10231 (24mm-26mm) (13mm-15mm) respectivement, également avec l'association de E sur toutes les souches microbiennes sauf *P. aeruginosa* ATCC 27853.

L'effet synergique des combinaisons HES/ATBs contre les bactéries Gram+ a été rapporté par **Betoni et al. (2006)** qui ont observé des interactions synergiques entre les extraits de quelques plantes médicinales brésiliennes et huit antibiotiques sur *S. aureus*. De même **Darwish et al. (2002)** ont démontré que l'efficacité de la gentamycine et du chloramphénicol contre les staphylocoques dorés a été considérablement améliorée en association avec les huiles essentielles.

**Gallucci et al. (2006)** ont montré également dans leur étude que l'utilisation des terpènes combinés avec la pénicilline a augmenté l'activité de cette dernière contre les

### Partie III : Résultats et Discussion

---

staphylocoques résistants à la méticilline, l'interaction entre le carvone et la pénicilline a donné une interaction synergétique très intéressante.

L'association des huiles essentielles aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antimicrobien (**Fadli et al., 2012**), empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire au minimum la toxicité et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique (**Lv et al., 2011**), ce qui pourrait être une alternative à la monothérapie pour des patients présentant des infections envahissantes difficile à traiter, comme ceux dues aux espèces multi résistantes (**Aiyegoro et Okoh, 2009**).

**Conclusion**

## Conclusion

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet les plantes constituent de véritables produits naturels dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien-être des populations.

Au terme de notre étude et à la lumière des résultats de l'expérimentation obtenue il apparaît nettement que les espèces microbiennes étudiées à s'avoir *P.aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 25923, *C.albicans* ATCC 10231 sont très sensibles aux différents extraits et l'huile essentielle d'eucalyptus qui semblent présenter un effet de type bactéricide et fongicide de l'huile essentielle sur la croissance des germes microbiennes étudiées, les six extraits testés ont marqués un effet bactéricide contre *P.aeruginosa*, par contre l'EEP, EEtOH, EDCM ont marqués un effet bactéricide contre *E.coli* ATCC25922, *S.aureus* ATCC 43300, *S.aureus* ATCC 25923, et un effet fongicide contre *C.albicans* ATCC 10231, cette dernière a manifesté une résistance contre l'EDCM, EEtOH, on effet l'ETNB, EHT représentent un effet à la fois bactéricide et fongicide contre les souches étudiées, à l'exception l'EAQ qui possède un pouvoir bactéricide contre *E.coli* ATCC 25922, un pouvoir bactériostatique contre les deux souches *S.aureus*, ainsi influence la croissance des levures en inhibant la germination des spores et l'élongation du mycélium. Le degré d'inhibition s'avère être influencé par la concentration des extraits est importante plus le degré d'inhibition des souches microbiennes est intéressant.

L'étude a montré que les extraits préparés ( EEtOH, EEP, EDCM, EAQ, EHT, ETNB) d'eucalyptus présentent une activité antimicrobienne contre les souches étudiées avec des diamètres des zones d'inhibition variantes de (5-45mm), et l'huile essentielle présente une activité antimicrobienne contre les souches étudiées avec des diamètres des zones d'inhibition variante de (7-40mm).

L'huile essentielle présente une activité antimicrobienne forte contre les souches et parfois moyenne et diminution ou augmentation de zone d'inhibition de la croissance microbienne pour l'association de l'HE et les antibiotiques (GEN, E, VANC).

L'ensemble des résultats obtenus in vitro ne présentent qu'une première ébauche dans la recherche sur les effets inhibiteurs des principales substances naturelles biologiquement actives d'eucalyptus sur les germes hospitalières les deux souches de **Staphylococcus aureus**, **Pseudomonas aeruginosa**, **Escherichia coli**, **Candida albicans**. Il est très intéressant donc

d'essayé d'approfondir nos connaissances sur le mécanisme d'action bactéricide et/ou bactériostatique des principaux composants constituant l'espèce végétale eucalyptus vis-à-vis des nombreux autres germes responsables des maladies infectieuses.

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre tout fois plusieurs avantages qui possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent leurs applications dans divers domaines savoir en médecine, cosmétique, agriculture et en pharmacie.

# **Références**

## **Bibliographiques**

1. **Auddy B**, Ferreira M., Blasina F., Lafon L., Arredondo F., Dajas F., Tripathi P.C., Seal T., Mukherjee B. (2003). Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases. *Journal of Ethnopharmacology* 84 (2003) 131-138
2. **Abdellah**, e. a. (2013). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583).
3. **Abdellah**, e. a. (2013). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583).
4. **ABIRAMI, S.** (2017). ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF THE LEAF EXTRACTS OF *EUCALYPTUS GLOBULUS*.
5. **ABIRAMI, S.** (2017). ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF THE LEAF EXTRACTS OF *EUCALYPTUS GLOBULUS*.
6. **AFENAI, Z. S.** (2017). *etude de l'activité anti-inflammatoire et intestinale d'une plante medicinale locale.*
7. **Ait-Ouazzou A, Lorán S** (2011a) *Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Thymus algeriensis, Eucalyptus globulus and Rosmarinus officinalis from Morocco. J Sci Food Agricult 91(14):2643–51. doi: 10.1002 / jsfa.450*
8. **Aiyegoro OA et Okoh AI.** (2009). Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy. *Journal of Medicinal Plants Research*.
9. **Alain, B.** (2015). BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (\*) II - La chaîne isoprénique.
10. **Ashraf, M., Ali, O., Anwar, F., Hussain, A.I.,** 2010. Composition of leaf essential oil of *V. Aleksic Sabo* and *P. Knezevic Eucalyptus camaldulensis*. *Asian J. Chem.* 22 (3), 1779–1786.
11. **Attou, a.** (2017). *Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne.*
12. **AYEPOLA.** (2008). The Antibacterial Activity of Leaf Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae).
13. **AYEPOLA.** (2008). The Antibacterial Activity of Leaf Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* (Myrtaceae).
14. **AZIZA, A. and B. HAMIDA** (2018). "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf (in vitro)."
15. **Baradan 1996, Sicklinger ,2003 ;** Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales-techniques et documentation, Lavoisier.
16. **Barel S., Segal R., Yashphe J.** (1991): The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 33: 187–191. **3(13)**, 1147-1152.
17. **Bello M, Olabanji I, Ibrahim A, T Yekeen, Oboh L.** nutraceutiques dans feuilles de *Eucalyptus citriodora* et *Eucalyptus camandulensis*. *Int J Biol Chem Environ Sci* 2013; 3: 2320-87.
18. **Bendjelloul, F.** (2018). "Détermination du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. sur quelques microorganismes phytopathogènes."
19. **Bendjelloul, F.** (2018). Détermination du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. sur quelques microorganismes phytopathogènes.
20. **Bendjelloul, F.** (2018). Détermination du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. sur quelques microorganismes phytopathogènes.
21. **Benjlal.B. ; Tantaoui-Elara. A. ; Ismaïli-Alaou. M. ; Avadi.A.** (1986). Méthode d'étude des Propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes*



Médicinales et phytothérapie 1986, Tome XX, n° 2, p. 155-167

22. **BENKHERARA S., B. O.** (2013). ACTION DES PRINCIPES ACTIFS NATURELS D'UNE PLANTE AROMATIQUE ALGERIENNE VIS-A-VIS DES ENTEROBACTERIES PATHOGENES.
23. **BENKHERARA S., B. O.** (2013). ACTION DES PRINCIPES ACTIFS NATURELS D'UNE PLANTE AROMATIQUE ALGERIENNE VIS-A-VIS DES ENTEROBACTERIES PATHOGENES.
24. **Benkherara, S.** (2011). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes.
25. **Benkherara, S.** (2011). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes.
26. **Benkherara, S.** (2011). Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Sauge officinale : *Salvia officinalis* L. sur quelques entérobactéries pathogènes.
27. **Benrokia et Aouar, K. e.** (2015). Etude de l'activité Antibactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus*.
28. **Benzeggouta, N.** (2005). *étude de l'activité antibactérienne des huiles infusés de quatre plantes médicinales connues comme aliments.*
29. **Bessedik majdeddine larbi, K. b.** (2015). *étude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus et thymus algeriensis contre quelques champignons phatogenes des palmes du palmier dattier (Phoenix dactylifera L).*
30. **Betoni JEC, Mantovani RP, Barbosa LN, Di Stasi LC et Fernandes A J .** (2006). Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *Staphylococcus aureus* diseases. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 101, 387-390.
31. **BOUBEKRI, C.** (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques.*
32. **Bouharb et El Badaoui, H. K.** (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*.
33. **Bouharb et El Badaoui, H. K.** (2014). Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*.
34. **Boukerrouche, A.** (2018). *évaluation de l'activité antifongique des extraits de Thymus fontanessii Boiss et Reut.*
35. **Bourrain, J.-L.** (2013). "Allergies aux huiles essentielles: aspects pratiques." Revue Française d'Allergologie 53: 30-32.
36. **Bouزيد, W. ; Yahia1, M. ; Abdeddaim, M. ; Aberkane, M.C. Et Ayachi, A.** (2011). **Evaluation De L'activité Antioxydante Et Antimicrobienne Des Extraits De L'aubepine, Monogyne. Lebanese Science Journal. 12 (1), 59-69**
37. **Brahimi, H., A. Merzouk, et al.** (2018). "Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) chez *Staphylococcus aureus*."
38. **Burt S.** (2004) Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (2004) 223– 253
39. **Buzzini P, Arapitsas P, Goretti M, Branda E, Turchetti B, Pinelli P, Ieri F, Romani A** (2008) Antimicrobial and antiviral activity of hydrolysable tannins. *Mini Rev Med Chem* 8:1179–1187
40. **Chabert, G.** (2013). Myrtacées et aromathérapie, Thèse de Dr en pharmacie, 12/2013. Université Joseph Fourier, Grenoble.
41. **Chalchat, J.C., Gary, R.P., Sidibe, L., Harama, M.,** 2000. Aromatic plants of Mali (V): chemical composition of four *Eucalyptus* species implanted in Mali, *Eucalyptus camaldulensis*, *E. torelliana*, *E. citriodora*, *E. Tereticornis*. *J. Essent. Oil Res.* 12, 695–701
42. **Chaouche, M.** "Recherche et détermination structurale des composés flavonoïques de l'espèce."

43. **Chemloul, f. (2014).** *étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de lavandula officinalis de la région de tlemcen.*
44. **CHIBAH. (2018).** Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla.
45. **CHIBAH. (2018).** Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla.
46. **Chuku, A., Ogbonna, A.I., Obande, G.A., Namang, M., Ahmad, I.R., 2016.** Antimicrobial effects of leaves of Eucalyptus camaldulensis on some microbial pathogens. Eur. J. Med. Plants 14 (2), 1–8.
47. **Ciulei J (1981).** Methodology for analysis of vegetable drugs. Ed. Ministry of Chemical Industry. Romania, 67.
48. **Couderc, V. (2001).** Toxicité des huiles essentielles.
49. **Damjanović-Vratnica, B. (2008).** Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from Eucalyptus globulus Labill. from Montenegro.
50. **Damjanović-Vratnica, B. (2008).** Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from Eucalyptus globulus Labill. from Montenegro.
51. **Darwish RM, Aburjai T, Al-Khalil S, Mahafzah A. (2002).** Screening of antibiotic resistant inhibitors from local plant materials against two different strains of Staphylococcus aureus. J Ethnopharmacol. 79, 359-364.
52. **De Billerbeck V-G(2007).** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytotherapie(2007) 5: 249–253 © Springer 2007 DOI 10.1007/s10298-007-0265-z
53. **Delaquis P.J., Stanich K., Girard B., Mazza G. (2002):** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74: 101–109.
54. **Deschepper, R. (2017).** "Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie."
55. **Diallo, D., R. Sanogo, et al. (2004).** "Étude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali." Comptes Rendus Chimie7(10-11): 1073-1080.
56. **Djermane, N. and N. Gherraf (2013).** "Extraction des métabolites secondaires des plantes médicinales."
57. **djouji, H. (2012).** *L'activité antibactérienne des alcaloïdes et mécanisme d'action de la berbérine.*
58. **Doat, J.(1978).** "Les tanins dans les bois tropicaux." BOIS & FORETS DES TROPIQUES182(182): 37-54.
59. **ECHCHAOU, M. (2018).** Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles.
60. **El Kooli, M. (2018).** Composition chimiques et activités biologiques des huiles essentielles de quelques apiacées carum montanum benth. et hook et daucus gracilus stem.
61. **El-Mahmood, M. a. (2009).** Antibacterial potential of crude leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis against some pathogenic bacteria.
62. **El-Mahmood, M. a. (2009).** Antibacterial potential of crude leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis against some pathogenic bacteria. antibacterial activity. J Ethnopharm 70:343–9
63. **Essawi T, Srour M (2000).** *Screening of some Palestinian medicinal plants for*
64. **Fadli M, Saad A, Sayadi S, Chevalier J, Mezrioui N, Pagès J.M et Hassani L. (2012).** Antibacterial Activity of *Thymus Maroccanus* and *Thymus Broussonetii* essential oils against nosocomial infection – bacteria and their synergistic potential with antibiotics. Phytomedicine. 19, 464–471.
65. **Fisher K.; Philip C(2008).** Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? Trends in Food Science & Technology 19 (2008) 156e164

66. **Franchomme P.**, 1981.- L'aromatologie a visee antiinfectieuse. *Phytomedecine*, 1-2, 25-47.
67. **Funatogawa K, Hayashi S, Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y** (2004) Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiol Immunol* 48:251–261
68. **Gallucci N, Casero C, Oliva M, Zygadlo J et Demo M.** (2006). Interaction between terpenes and penicillin on bacterial strains resistant to beta-lactam antibiotics. *Molecular Medicinal Chemistry*. 10, 30-32.
69. **Ghareeb.** (2018). Phytochemical analysis of *Eucalyptus camaldulensis* leaves extracts and testing its antimicrobial and schistosomicidal activities.
70. **Ghareeb.** (2018). Phytochemical analysis of *Eucalyptus camaldulensis* leaves extracts and testing its antimicrobial and schistosomicidal activities.
71. **Ghasemian, A.** (2019). *Eucalyptus camaldulensis* properties for use in the eradication of infections.
72. **Ghasemian, A.** (2019). *Eucalyptus camaldulensis* properties for use in the eradication of infections.
73. **Ghedira, K., P. Goetz, et al.** (2008). "*Eucalyptus globulus* Labill." *Phytothérapie* 6(3): 197-200.
74. **Ghenaiet et Aouidet, S. I.** (2016). *Etude de l'impacte des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus sur Rhizopertha dominica : Aspect toxicologique et biomarqueur.*
75. **Guenfis, I. e.** (2018). *Etude de l'activité anti-inflammatoire et antibactérienne d'extrait alcaloïde.*
76. **Guillot.** (1999). Diagnostic biologique des mycoses animales.
77. **Guinoiseau, E.** (2010). Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Univ. Corse, Option: Biochimie- Biologie moléculaire ; France ; P50
78. **Guinoiseau, E.** (2010). *Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action.*
79. **Gutierrez J. ; Barry-Ryan C. ; Bourke P.** (2008) The antimicrobialefficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Journal of Food Microbiology* 124 (2008) 91–97
80. **HAIB, A. E.** (2011). *VALORISATION DE TERPENES NATURELS ISSUS DE PLANTES MAROCAINES PAR TRANSFORMATIONS CATALYTIQUES.*
81. **Haib, E. A.** (2011).: *VALORISATION DE TERPENES NATURELS ISSUS DE PLANTES MAROCAINES PAR TRANSFORMATIONS CATALYTIQUES.*
82. **Hassine, D. B.** (2013). Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Eucalyptus gillii* Essential Oil and Extracts.
83. **Hassine, D. B.** (2013). Chemical Composition and in Vitro Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Eucalyptus gillii* Essential Oil and Extracts.
84. **Herzi, N.** (2013). Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles, INPT.
85. **Herzi.** (2013). *Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de 'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles.*
86. **Hugo WB, Russell AD** (1984). *Pharmaceutical Microbiology*, Blackwell Scientific Publications. Third edition, pp.179-200. Indrayan AK, Sharma A, Gideria BS, Gupta cp (2002). Antimicrobial activity of dye from *Caesalpinia sappan* (Patang/Braziluveral). *Indian J. Microbiol.* 42: 359-360.
87. **Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes M.F.** (2008) Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activiteantibacterienne. *Phytothérapie* (2008) 6: 160–164 © Springer 2008 DOI 10.1007/s10298-008-0307-1

- 88. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpure J, Colizzi V, Traore AS (2006).** Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *Afr. J. Biotechnol.*, 5(2): 195-200.
- 89. KEDDAR et BELAYACHI, k. N. (2018).** *Etude de l'effet insecticide des extraits polyphénols et caroténoïdes de Nerium oleander sur Aphis spiraecola.*
- 90. KEDDAR, N. and K. BELAYACHI (2018).** "Etude de l'effet insecticide des extraits polyphénols et caroténoïdes de *Nerium oleander* sur *Aphis spiraecola*."
- 91. KHERRAF, A. (2018).** Caractérisation physicochimique et évaluation du potentiel antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de la microalgue *Nannochloropsis gaditana*.
- 92. KHRIBCH, J., S. NASSIK, et al. (2018).** "Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire." Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires6(3): 300-307.
- 93. KONE, D. (2009).** ENQUÊTE ETHNOBOTANIQUE DE SIX PLANTES MÉDICINALES MALIENNES - EXTRACTION, IDENTIFICATION D'ALCALOÏDES - CARACTÉRISATION, QUANTIFICATION DE POLYPHÉNOLS : ETUDE DE LEUR ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE. 21.
- 94. Koné, D. (2009).** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d' alcaloïdes-caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante, Université Paul Verlaine-Metz.
- 95. Koné, D. (2009).** *Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes: extraction, identification d' alcaloïdes - caractérisation, quantification de polyphénols: étude de leur activité antioxydante.*
- 96. Koziol, N. (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité, Université de Lorraine.
- 97. Krief, S. (2003).** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- 98. LA, M. J.-., Y. LOUKOU, et al. (2008).** "Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli* Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatique extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains." Bulletin de la société royale des sciences de Liège.
- 99. Lemarchand, M.-L. (2008).** LES MARSUPIAUX ARBORICOLES FOLIVORES ET L'EUCALYPTUS: Un exemple d'adaptation aux défenses anti-herbivores des plantes.
- 100. Lupo S, S Tiscornia, Bettucci L.** endophytes champignons de fleurs, capsules et de graines d'*Eucalyptus globulus*. *Rev Iberoamericana micología* 2001; 181: 38-41.
- 101. Lv F, Liang H, Yuan Q et Li C. (2011).** In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*. 44, 3057–3064
- 102. M. Benabderrahmane. (2009).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie.
- 103. M. Benabderrahmane. (2009).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie.
- 104. Mahmoudi, S., M. Khali, et al. (2013).** "Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)." Nature & Technology(9): 35.
- 105. Malecky, M. (2008).** The metabolism of terpenoids in caprins.
- 106. Marjorie. (1999).** Plant products as antimicrobial agents.
- 107. Marjorie. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 12(4):

- 108. Marmonier A.A, 1990**, Introduction aux techniques d'étude des antibiotiques. Bactériologie Médicale, techniques usuelles. DOIN édition, Paris, France, 227-236p
- 109. Marque, G. (2008)**. Isolement et caractérisation chez l'Eucalyptus de gènes codant les facteurs de transcription CBF impliqués dans la réponse au froid, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
- 110. Mayer, F. (2012)**. *UTILISATIONS THERAPEUTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES : ETUDE DE CAS EN MAISON DE RETRAITE*.
- 111. MEKELLECHE, H.** Contribution à l'étude morphométrique d'Eucalyptus globulus Labill.(Myrtacées) dans la région de Tlemcen.
- 112. Mekkiou, R.** "Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires d'espèces du genre Genista (Fabaceae)."
- 113. Melun, F., S. Sud-ouest, et al. (2011)**. "Eucalyptus Gunda: une espèce remarquable pour la production de biomasse." *FCBA Institut Technologique [online]* Last accessed on 22.
- 114. Merghache. (2012)**. Évaluation de l'activité antifongique de différents extraits de la cannelle de Chine (Cinnamomum cassia).
- 115. Meyer, C. (2016)**. *AROMATHÉRAPIE ET PRISE EN CHARGE DES EFFETS SECONDAIRES DES TRAITEMENTS ANTICANCÉREUX*.
- 116. Min BR, Pinchak WE, Merkel R, Walker S, Tomita G, Anderson RC (2008)** Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Sci Res Essay* 3:66–73
- 117. MOHAMMEDI, Z. (2013)**. Etude phytochimique et activités biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie.
- 118. Moreira, M., A. Ponce, et al. (2005)**. "Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen." *LWT-Food Science and Technology* **38**(5): 565-570.
- 119. Moudachirou, M., Gbenou, J.D., Chalchat, J.C., Chabard, J.L., Lartigue, C., 1999**. Chemical composition of essential oils of Eucalyptus from Benin: Eucalyptus citriodora and E. camaldulensis. Influence of location, harvest time, storage of plants and time of steam distillation. *J. Essent. Oil Res.* 11, 109–118
- 120. Mzabri, M., A. Amar, et al.** "Effet du stress salin sur la teneur et la composition de l'huile essentielle de la Saugé (Salvia officinalis)." *Annales des sciences de la santé* **1**(20): 29-36.
- 121. Nicolas, F. (2017)**. *CONSEILS ET UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES LES PLUS COURANTES EN OFFICINE*.
- 122. Nkhili, E.-z. (2009)**. "Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant." *Diplôme de Doctorat. Université Cadi Ayyad-Marrakech*.
- 123. Nouadri, F. Z., S. Remache, et al. (2018)**. "Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des produits purifiés synthétisés sur les bases de Schiff."
- 124. Okou, O. C., S. E.-S. Yapo, et al. (2018)**. "Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de Solanum torvum Swartz (Solanaceae) sur la croissance in vitro de 3 souches d'entérobactéries." *Journal of Applied Biosciences* **122**(1): 12287-12295.
- 125. OUATTARA, D. K. (2018)**. Activité antifongique de l'extrait éthanolique de Berlinia grandifolia (Vahl) Hutch.& Dalz. sur les champignons phytopathogènes majeurs des semences.
- 126. OUATTARA, D. K. (2018)**. Activité antifongique de l'extrait éthanolique de Berlinia grandifolia (Vahl) Hutch.& Dalz. sur les champignons phytopathogènes majeurs des semences.
- 127. Ould si said, Z. B. (2014)**. *Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus*.
- 128. Ounis, R., D. Boumaza, et al. (2018)**. "Évaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de Teucrium polium."

- 129. Pankey, GA, Sabath, LD, 2004.** La pertinence clinique de bactériostatique par rapport bactéricide mécanismes d'action dans le traitement des infections bactériennes Gram-positives. Clin. Infecter. Dis. 38 (6), 864-870. <https://doi.org/10.1086/381972> .
- 130. Pathmanathan. (2010).** In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Selected Medicinal Plants.
- 131. Pathmanathan. (2010).** In Vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of Some Selected Medicinal Plants.
- 132. Perveen, S. (2018).** Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids.
- 133. Poirot, T. (2016).** *BON USAGE DES HUILES ESSENTIELLES, EFFETS INDESIRABLES ET TOXICOLOGIE.*
- 134. Randrianarivelo. (2010).** *ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE D'UNE PLANTE .*
- 135. Raymond, M. (2005).** *L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant.*
- 136. Rios J.L., Recio M.C. (2005):** Medicinal plants and antimicrobial activity. Journal of Ethnopharmacology, 100: 80–84.
- 137. RIRA, M. (2006).** *Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbiote ruminal d'ovins.*
- 138. Rohmer, M. (2000).** *La chimie, un outil pour comprendre la nature.*
- 139. Saadi, F., H. Adjir, et al. (2018).** "Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales locales: Thymus munbyanus Bioss. & Reut. & et Rosmarinus officinalis L."
- 140. Said, Z. B.-O. (2016).** Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of Eucalyptus globulus fruits.
- 141. Said, Z. B.-O. (2016).** Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of Eucalyptus globulus fruits.
- 142. Samate, A. D. (2002).** *composition chimique de l'huile essentielle extraite de la plante aromatique de la zone soudanienne de burkina faso: valorisation.*
- 143. Sancho-Garnier, H., C. Tamalet, et al. (2013).** "HPV self-sampling or the Pap-smear: A randomized study among cervical screening nonattenders from lower socioeconomic groups in France." International journal of cancer **133**(11): 2681-2687.
- 144. Sarra, M. and Z. Djihad (2018).** "Etude de l'extraction et l'activité biologique des huiles essentielles d'Artemisia «Chih» en Algérie."
- 145. Shieh, J.C., 1996.** Yields and chemical components of essential oils in Eucalyptus camaldulensis leaves. Taiwan J. For. Sci. 11, 149–157
- 146. Singh. (1997).** Medicinal plants used by forest ethnics of Gorakhpur district.
- 147. Soumare, A., A. G. Diedhiou, et al. (2017).** "Les plantations d'Eucalyptus au Sahel: distribution, importance socio-économique et inquiétude écologique." International Journal of Biological and Chemical Sciences 11(6): 3005-3017.
- 148. Stefanakis M.K. ; Touloupakis E. ; Anastasopoulos E. ; Ghanotakis D. ; Katerinopoulos H.E. ; Makridis P(2013).** Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus Origanum. Food Control 34 (2013) 539e546
- 149. Toure, D. (2015).** *ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D'IVOIRE.*
- 150. Tremblay, V. (2019).** "Évaluation de différents extraits végétaux et sels organiques et inorganiques pour lutter contre la tache bactérienne de la laitue."
- 151. Tudela, R. (2003).** Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts.
- 152. Yahaioui et Silat, I. a. (2018).** *Contribution à l'étude des extraits de l'espèce Ephédra alata Alanda de la région de Sigus.*

- 153. YEKHLEF GHANIA., (2011).** L'étude des activités biologiques des extraits des feuilles de *Laurus nobilis*, *Thymus vulgaris*. Thèse de magistère. PP : 170
- 154. yeza samiha, b. s. (2014).** indexe des metabolites secondaire vegetaux.

**Les**

**Annexes**








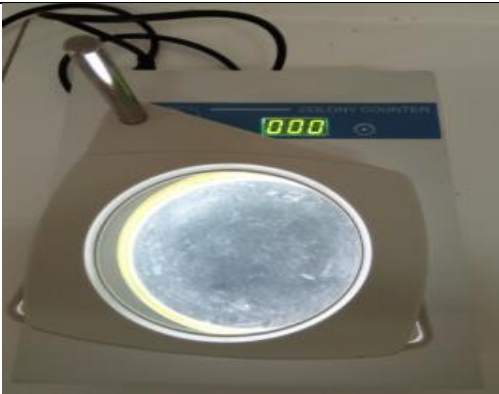
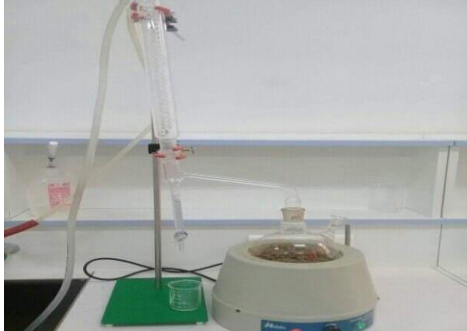
## Annexe

**Tableau 01 : Liste des produits chimiques utilisés**

Ether de pétrole	$\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}_3$
Ethanol	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$
Dichlorométhane	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$
Méthanol	$\text{CH}_3\text{OH}$
Hexane	$\text{C}_6\text{H}_{14}$
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$

**Tableau 02 : Appareillages et leurs références**

Agitateur magnétique		
Agitateur magnétique chauffant	AG500	
Rotary évaporateur RE300	RE300	
Hotte		
Etuve	ES13304	

<b>Autoclave</b>	<b>AR3055</b>	
<b>Spectrophotométrie</b>		
<b>Décompteur de colonies</b>		
<b>Dean stark</b>		

**Tableau 03 : température d'ébullition des solvants (INRS)**

<b>Ether de pétrole</b>	<b>30-50°C</b>
<b>Ethanol</b>	<b>78-78,5°C</b>
<b>Dichlorométhane</b>	<b>39,8°C</b>
<b>Méthanol</b>	<b>64,5°C</b>
<b>Hexane</b>	<b>68,7°C</b>

**Tableau 04 : Composition de bouillon Muller-Hinton (BMH)**

<b>ingrédients</b>	<b>Les mesures</b>
<b>Peptone de caséine</b>	<b>17.5g</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>2,0 g</b>
<b>Amidon</b>	<b>1,5 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1 L</b>
<b>pH</b>	<b>7,4g</b>

**Tableau 05 : Composition de gélose Muller-Hinton (MH)**

<b>ingrédients</b>	<b>Les mesures</b>
<b>Milieu déshydraté</b>	<b>38,0 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1L</b>

**Tableau06 : composition de gélose de pomme de terre**

<b>Ingrédients</b>	<b>Les mesures</b>
<b>Pomme de terre</b>	<b>200 g</b>
<b>Dextrose/Glucose</b>	<b>15.0 g</b>
<b>Agar - agar</b>	<b>20.0 g</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>1L</b>
<b>pH</b>	<b>5.6</b>