

**Université de Blida 1 – SAAD DAHLAB 1**



**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE VIE**

**Département de Biotechnologies Agro-Écologie**

**Domaine : Science De La Nature De La Vie**

**Filière : Sciences agronomiques**

Mémoire de fine d'étude dans le but de l'obtention diplôme en master académique

**Spécialité : Systèmes de production agro-écologiques**

**Etude d'activité antimicrobienne des  
huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus***

**Réalisé par :**

BOUSLAH AMEUR

MAHDAD NOURA

TORCHANE SAMIR

**Membres du jury :**

CHAOUIA C.	Professeur Université de Blida 1	Président
OUKARA F, Z	Maitre de recherche INRF. Médéa	Promotrice
MOUAS Y, M C A	Université de Blida 1	Co-Promotrice
HAMIDI Y, M C B	Université de Blida 1	Examineur

**2022/2023**



# Dédicaces

# Dédicaces

Je dédie ce mmoire fin d'étude :

A mes très chers parents

A L'homme de ma vie

Mon exmple éternel, celui qui s'est toujours sacrifie pour

Me voir réussir

Mon père mohamed

Que j'aime A la femme la plus courageuse, ma force et la source de  
mon espoir

Ma mère

sekai fatiha

Que dieu la protège

A mes soeurs et mes frères :

Lydia, Nadjou, Nawal,

selimane, oussama

A toute ma famille : mahdad et sekai

A mon soutien moral et source de joie et de bonheur, mon fiancé  
Abdili Hamza.

A mes meilleures copines :

Rima, Rania, Ikram, wissam, boutheina

Ames amis et collègues de spécialité

Systeme de production Agro écologique

Promo 2023

mahdad noura

Avec l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce modeste travail

Que je dédie A :

NOURA

# Dédicaces

**Mes chers parents : ma mère Nadhira et mon père Rachid que Dieu bénisse son âme, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,**

**A mes chères sœurs : Chiraz, wissam, Fatima, aya, marwa, Amina, malak, khouleud, safa, pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.**

**A ma cher frère abdrahimme, pour son appui et leur encouragement.**

**A tous mes amis Bilal, hakim,sofian,eyad et camarades de la promo de Système de Production Agro-Ecologique Appliquée 2022/2023.**

**A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue moi.**



# اهداء

الى أبي الغالي، الذي رحل عن عالمنا تاركت فراغًا كبيرًا في قلبي وحياتي، ولكنَّ روحه وذكراه لا يفارقان قلبي وحياتي ويشعلان الشوق والحنين إليه. رحمة الله عليك يا أعلى من فقدت؛

إلى أُمي الحنونة الغالية، التي لا أجد كلمات يمكن أن توافيها حقها؛

إلى زوجتي الحبيبة، مثال الإخلاص والوفاء ورفيقة الدرب؛

إلى أولادي فلذات كبدي؛

إلى اخواتي وإخوتي الاعزاء؛

الى كل من علمني حرفا؛

إلى جموع الأهل والأصدقاء.

أهدي إليكم هذا العمل المتواضع.



# Remerciements

# Remerciement

Avant tout nous remercions le bon dieu « ALLAH », le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous voudrions commencer par remercier très chaleureusement notre Co-Promotrice Mme. MOUAS .Y, en département de biotechnologie de la faculté SNV à l'université Blida1, pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé durant notre épreuve, et d'avoir accepté de diriger ce travail avec compétence, pour sa disponibilité, son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils. Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

Nous remercions les membres de jury, chacun à son nom, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Présidente : Pr. Chaouia

Examinatrice : Dr Hamidi

Promotrice : Dr Oukara

Nos sentiments de reconnaissance et remerciement vont aussi au personnel du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Blida, spécialement Mme Nakab.

Un très grand merci à M. Chikhi Hamid, chef de l'entreprise commerciale bio extrapamal, pour son aide dans la réalisation de ce travail et ses conseils et orientations.

Nos remerciements s'étendent également à nos enseignants durant les années d'étude ainsi qu'au personnel du Département de Biotechnologies Agro-Écologie.

En terminant, nous souhaitons démontrer notre plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



# Résumé

## Résumé

L'eucalyptus est une plante riche en huiles aromatiques, souvent utilisée en médecine traditionnelle et connue par ses vertus thérapeutiques.

Dans le but de valoriser cette espèce très répandue en Algérie, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antimicrobien de ses huiles essentielles vis-à-vis cinq bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella abony*) et deux champignons (*Conidia albicans*, *Aspergillus Niger*).

Les huiles essentielles ont été extraites par hydro-distillation en utilisant le dispositif d'alambic en inox. L'activité antibactérienne de ces huiles essentielles a été évaluée par deux techniques (**Aromatogramme, micro-atmosphère**).

Le rendement en huiles essentielles était de l'ordre de 1,00%. Ceci concorde avec les normes de l'AFNOR.

L'étude de l'activité antimicrobienne a montré que l'*Escherichia coli* (Gram-) est la bactérie la plus sensible aux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, suivie par *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Salmonella abony* (Gram-), et *Bacillus subtilis* (Gram+) en dernier.

Les huiles essentielles étudiées d'*Eucalyptus globulus* ont montré un pouvoir antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram+ que négatifs (Gram-).

**Mots clés :** *Eucalyptus globulus*, huiles essentielles, rendement, activité antimicrobienne.

## **Abstract**

Eucalyptus is a plant rich in aromatic oils, often used in traditional medicine and known for its therapeutic virtues.

In order to promote this very popular species in Algeria, we were interested in evaluating the antimicrobial power of its essential oils against five bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella abony*) and two mushrooms (*Candida albicans*, *Aspergillus Niger*).

The essential oils were extracted by hydro-distillation using the stainless steel still device. The antibacterial activity of these essential oils was evaluated by two techniques (Aromatogram, micro-atmosphere).

The yield of essential oils was around 1.00%. This agrees with the AFNOR standards.

The study of antimicrobial activity showed that *Escherichia coli* (Gram-) is the most sensitive bacteria to essential oils of *Eucalyptus globulus*, followed by *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-), *Salmonella abony* (Gram-), and *Bacillus subtilis* (Gram+) last.

The studied essential oils of *Eucalyptus globulus* have shown antibacterial power on both Gram+ and negative (Gram-) bacteria.

Keywords : *Eucalyptus globulus*, essential oils, yield, antimicrobial activity.

## ملخص

الأوكالبتوس هو نبات غني بالزيوت العطرية، ويُستخدم غالبًا في الطب التقليدي ومعروف بفوائده العلاجية. بهدف تسليط الضوء على هذا النوع الشائع جدًا في الجزائر، قمنا بتقييم القدرة المضادة للميكروبات لزيوته الأساسية ضد خمسة بكتيريا (إشريشيا كولي، ستافيلوكوكيس أوريوس، بسودوموناس أيروجينوزا، باسيلوس سوبتيليس، سالمونيلا أبوني) وفطرين (كانديدا أليكانس، أسبرجيلوس نايجر).

تم استخراج الزيوت الأساسية بواسطة التقطير بالماء باستخدام جهاز تقطير من الفولاذ المقاوم للصدأ. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الزيوت الأساسية باستخدام تقنيتين (اختبار الأروماتوغرام واختبار الميكرو أتموسفير).

كانت نسبة الزيوت الأساسية المستخرجة حوالي 1.00%، وهو متطابق مع معايير AFNOR .

أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات أن إشريشيا كولي (غرام-) هي البكتيريا الأكثر حساسية لزيوت الأوكالبتوس غلوبولوس، تليها ستافيلوكوكيس أوريوس (غرام+)، بيودوموناس أيروجينوزا (غرام-)، سالمونيلا أبوني (غرام-)، وباسيلوس سوبتيليس (غرام+) في المرتبة الأخيرة.

أظهرت زيوت أوكالبتوس غلوبولوس المدروسة قدرة مضادة للبكتيريا على البكتيريا سواء كانت غرامية الموجبة أو غرامية السالبة.

# Liste d'abréviations

## Liste d'abréviations

<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxyde
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>MH</b>	Mueller Hinton
<b>C°</b>	Dégré sers use
<b>%</b>	Pour cent
<b>mm</b>	Millimétré
<b>Rd</b>	Rendement
<b>AFNOR</b>	Association française de Normalisation
<b>R%</b>	Rendment pourcentage
<b>ML</b>	Micro-litre
<b>ATB</b>	Antibiotique
<b>ATF</b>	Antifongique
<b>ANOVA</b>	Analyses of variance

# Sommaire

# SOMMAIRE

## Introduction Générale

## Chapitre 1 : Les huiles essentielles

1.1. Généralités .....	3
1.1.1 Historique .....	3
1.1.2. Répartition et Localisation .....	4
1.1.3. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles .....	5
1.1.4. Importance et utilisation des huiles essentielles .....	6
1.2. Procédés d'extraction des huiles essentielles .....	6
1.2.1. La distillation .....	6
1.2.1.1. L'hydrodistillation.....	7
1.2.1.2. La distillation à la vapeur .....	7
1.2.2. L'extraction par enfleurage.....	8
1.2.3. L'extraction par les solvants volatils.....	9
1.2.4. L'extraction par expression .....	9
1.2.5. L'extraction par micro-ondes.....	9
1.2.6. Extraction par ultrasons .....	10
1.2.7. Extraction au fluide supercritique .....	10
1.3. Composition chimique des huiles essentielles .....	10
1.3.1. Terpinoïdes.....	10
1.3.2. Composés aromatiques .....	11
1.3.3. Composés d'origines diverses .....	11
1.4. Activité biologique des huiles essentielles .....	11
1.4.1. Activité antioxydante.....	11
1.4.2. Activité antibactérienne .....	12
1.4.3. Activité anti-inflammatoire .....	13
1.4.4. Activité anti-tumorale .....	13



1.4.5. Activité antifongique .....	14
1.5. Toxicité des huiles essentielles .....	14
<b>Chapitre 2 La Plante : eucalyptus globulus</b>	
2.1.1. Historique et répartition géographique.....	16
2.1.2. Description des eucalyptus .....	17
2.1.3. Principaux composants chimiques du genre <i>Eucalyptus</i> .....	18
2.2.1. Classification dans la systématique botanique .....	18
2.2.2. Description botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	18
2.2.2.1. Feuille .....	19
2.2.2.2. Fleurs .....	19
2.2.2.3. Fruits .....	20
2.2.2.4. L'écorce .....	20
2.2.3. Composition de L'huile Essentielle d'Eucalyptus Globulus .....	21
2.2.4. Activités biologiques d'huile essentielle d'eucalyptus globulus.....	23
2.2.4.1. Activité antibactérienne .....	23
2.2.4.2. Activité antivirale .....	23
2.2.4.3. Activité Antifongique .....	24
2.2.4.4. Activité cicatrisante .....	24
2.2.4.5. Activité insecticide .....	24
2.2.4.6. Activité anti-inflammatoire.....	25
2.2.4.7. Activité antioxydante .....	25
2.2.4.8. Domaine d'utilisation d'huiles essentielles d'eucalyptus globulus .....	25
<b>Chapitre 3 : Matériel et méthode</b>	
3.1 objectifs.....	26
3.2. Présentation de la région d'étude .....	26
3.3. Matériel végétal.....	27
3.3.1. Echantillonnage .....	28
3.4. Extraction d'huile essentielle .....	28
3.5. Matériel microbiologique .....	29
3.6. Paramètres étudiés .....	31
3.6.1 Rendement en huile essentielle .....	31
3.6.1.1. Caractéristiques organoleptiques .....	31

3.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	31
3.7.1. Préparation des concentrations d'huile essentielle .....	32
3.7.2. Préparation des milieux de culture.....	32
3.7.3. Préparation des suspensions microbiomes .....	32
3.7.4. Ensemencement.....	33
3.7.5. Préparation des disques .....	33
3.7.6. Dépôt des Disques .....	34
3.7.7. Incubation .....	34
3.8. Expression des résultats.....	35
3.9. L'analyse statistique .....	35

#### **Chapiter 4 : Résultats et discusstion**

4.1 Rendement eu d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> .....	36
4.2 Caractères Organoleptiques d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> .....	37
4. 3. Evaluation de l'activité antimicrobienne .....	37
4.3.1. La technique de diffusion (Aromatogramme) .....	38
4.3.2. La technique de micro-atmosphère .....	45

#### **Conclusion Générale**

#### **Références bibliographiques**

#### **Annexe**

Liste des figures  
&  
Des Tableaux

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Photographie d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Daroui-Mokaddem ,2012) .....	19
<b>Figure 2</b> : Fleur d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Pauline,2019) .....	20
<b>Figure 3</b> : L'écorce d' <i>Eucalyptus globulus</i> (Nathalie,2015) .....	21
<b>Figure 3.1</b> : La localisation de la région d'étude (Blida) .....	26
<b>Figure 3.2</b> : Présentation de la Région de la récolte (Boufarik, Blida) .....	26
<b>Figure 3 3</b> : Arbre d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	27
<b>Figure 3.5</b> dispositif d'extraction des HEs par hydro distillation.....	29
<b>Figure 3.6</b> : la préparation des concentrations d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	32
<b>Figure 3.7</b> Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (PIBIRI, 2005) .....	33
<b>Figure 4.1.1</b> : Rendement des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus. globulus</i> d'autres régions .....	36
<b>Figure 4 ,3,1</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis Escherichia coli.....	38
<b>Figure 4 ,2,2</b> : l'action des constations d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : Escherichia coli .....	38
<b>Figure 4 ,2,3</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis staphylococcus aureus .....	39
<b>Figure 4,2,5</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis Pseudomonas aeruginosa .....	39
<b>Figure 4,2 ,6</b> : l'action des constations d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : Pseudomonas aeruginosa.....	40
<b>Figure 4,2,7</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis Bacillus subtilis.....	41
<b>Figure 4 ,2,8</b> : l'action des constations d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : Bacillus subtilis.....	41
<b>Figure 4,2 ,9</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis salmonella abony .....	42
<b>Figure 4 ,2,10</b> : l'action des constations d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : salmonella abony .....	42

<b>Figure 4,2,11</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Condidat albicans</i> .....	43
<b>Figure 4 ,2,12</b> : l'action des constations d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche fongique : <i>Condida albicans</i> .....	43
<b>Figure 4,2, 13</b> : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>aspergillus Niger</i> .....	44
<b>Figure 4 ,2,14</b> : l'action des constations d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche fongique .....	44
<b>Figure 4, 3,1</b> : Pouvoir antimicrobien des volumes d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Staphylococcus oureus</i> .....	45
<b>Figure 4 ,3 ,2</b> : l'action des volume d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : <i>staphylococcus oureus</i> .....	46
<b>Figure 4,3,3</b> : Pouvoir antimicrobienne des volumes d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	46
<b>Figure 4, 3 ,4</b> : l'action des volumes d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	47
<b>Figure 4,3,5</b> : Pouvoir antimicrobien des volumes d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i> .....	47
<b>Figure 4, 3,6</b> : l'action des volumes d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : <i>Bacillus subtilis</i> .....	48
<b>Figure 4,3,5</b> : Pouvoir antimicrobien des volumes d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Salmonella abony</i> .....	49
<b>Figure 4,3,6</b> : l'action des volumes d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : <i>Salmonella abony</i> .....	50
<b>Figure 4,3,7</b> : Pouvoir antimicrobien des volumes d'huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis <i>Aspergillus Niger</i> .....	50
<b>Figure 4, :</b> L'action des volumes d'HE <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur la souche bactérienne : <i>Salmonella abony</i> .....	51

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> (site électronique AFNOR) .....	21
<b>Tableau 3.1</b> : caractéristiques de la région de la récolte d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	27
<b>Tableau 3.2</b> : caractéristiques et pouvoirs pathogènes des souches fongiques et les souches bactériennes expérimentées.....	30
<b>Tableau 4.1</b> : Rendement de l'huile essentielle obtenue .....	36
<b>Tableau 4.2</b> : Comparaison du rendement en huiles essentielles dans d'autres régions .....	36
<b>Tableau 4.3</b> : caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>eucalyptus globulus</i> .....	37

# Introduction Générale

### Introduction

Depuis l'antiquité l'homme fait recours aux plantes pour traiter les maladies infectieuses causées par les microbes, et ce, en utilisant des méthodes naturelles du traitement à base des plantes.

Aujourd'hui, dans le monde près de 25% des prescriptions sont à base de plantes, et selon les estimations de l'OMS en 2002, plus de 80 % de la population en Afrique, utilisent encore les plantes médicinales pour répondre à leurs besoins de soins et de santé (*Adouani et Merghadi. I, 2021*)

Les huiles essentielles suscitent de plus en plus d'intérêt en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimique de synthèse (**Farnworth, 1986**).

L'Algérie possède une richesse très importante en flore, et cela est dû à sa position géographique, avec une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes (**Emberger,1971**). De nombreuses myrtacées ont été introduites en Algérie comme arbres d'ornement ou pour le reboisement. C'est notamment le cas des eucalyptus (**Quézel et Santa, 1963**).

L'Eucalyptus est une plante appartenant à la famille des Myrtaceae. Chimiquement cette famille est riche en composé phénoliques et en tannins et elle est aussi reconnue comme une des principales familles qui produit des flavonoïdes et souvent producteurs d'huiles aromatiques. Beaucoup d'espèces appartenant à cette famille sont une source pour la parfumerie ou pour l'usage thérapeutique. Ces composés, appelés métaboliques secondaires, sont responsables à la protection contre les agents pathogènes et des activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, antimicrobienne, traitement de infections, analgésiques,..... etc.

Le genre *Eucalyptus* comprend au moins 600 espèces, réparties dans le monde entier (**Hurtel, 2001**). Les extraits des feuilles de cette plante sont largement employés, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre la grippe et notamment comme anti-inflammatoire. Par ailleurs, beaucoup d'études soulignent les propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-infectieuses, antispasmodiques, insecticides et



acaricides de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* (Ait M'barek et al., 2007 ; Atmani-Merabet, 2018; Atmani-Merabet et al., 2020; Inouye et Abe 2007; Steflitsch 2008).

La valorisation de notre patrimoine végétal et la recherche des extraits des plantes qui présentent des propriétés biologiques intéressantes font l'objet des axes de recherches actuelles et l'utilisation de ces plantes pour le traitement de différentes maladies s'est développée de manière spectaculaire.

C'est dans ce cadre que notre travail a porté sur l'évaluation de l'activité microbienne de l'*Eucalyptus Globulus*, récolté dans la région de Boufarik (w.Blida). Ce choix est justifié par le fait que cette plante est riche en principes actifs (huiles essentielles) et possède des activités biologiques diverses et importantes.

# CHAPITRE 1 : LES HUILE ESSENTIELLES

## 1.1. Généralités

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches et les bois, Elles sont présentes en petite quantités par rapport à la masse du végétal. Ceux sont des substances odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (**Bekhechi et Abdelouahid, 2014**).

Selon AFNOR (2000), une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière végétale définie botaniquement, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par un entrainement à la vapeur d'eau, soit par un procédé mécanique à partir de l'épicarpe pour les citrus, soit par distillation sèche.

### 1.1.1 Historique

L'utilisation des huiles essentielles remonte à l'Antiquité. Les Égyptiens les utilisaient sous forme de bains aromatiques. Les pharaons les utilisaient pour embaumer les corps des défunts. Les Romains et les Grecs ont aussi eu recours aux huiles essentielles pour leurs bains. À Athènes, au Vème siècle avant JC, lors de la grande épidémie de peste, Hippocrate utilisa des jarres où brûlaient des fumigations aromatiques afin d'enrayer l'épidémie (**Sallé, Jean-Luc, 1991**).

Le terme « aromathérapie » vient du latin « aroma » qui signifie arôme, odeur agréable de certaines essences naturelles de végétaux, d'essences chimiques ou d'acides volatils et du grec « therapeia » qui signifie soin, cure. Le terme « aromathérapie » désigne l'utilisation des plantes afin de traiter des pathologies et d'améliorer sa santé et son bien-être. Il est utilisé pour la première fois en 1930 par un pharmacien français, René-Maurice Gatte fossé.

L'histoire raconte que René-Maurice Gatte fossé se serait brûlé les mains, le visage et les avant-bras dans son laboratoire et qu'il aurait eu le réflexe de plonger sa main dans un récipient rempli d'huile essentielle de lavande vraie (*Lavendula vera*). La douleur se serait dissipée très rapidement et les processus de guérison et de cicatrisation auraient été d'une rapidité étonnante. C'est ainsi que lui est venue l'idée d'étudier les propriétés des huiles essentielles.

De nombreux chimistes se sont penchés sur la question : Beauquesne, Cadéac, Caujolle, Cazin, Chamberland, Guyon, Martindale, Sévelinge, Valnet, et beaucoup d'autres. Dans les années 1960, le docteur Jean Valnet reprend les travaux de Gattefossé et publie des ouvrages de référence. En 1981, il crée la Société française de phytothérapie et d'aromathérapie, après avoir utilisé abondamment les plantes pendant la guerre d'Indochine en tant que chirurgien militaire (Doctur Valnet,2014). C'est en 1975 que Pierre Franchomme, aromatalogue, apporte la notion de « chémotype » ou plus vulgairement la carte d'identité de l'huile essentielle. Le chémotype va définir les propriétés de chaque huile essentielle ( **Baudoux ,2008**).

Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes, marqués par une forte et caractéristique odeur. Les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) de ces composants.

Les huiles essentielles sont des substances ou extraits de certains végétaux extrêmement puissants. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont extraites des plantes par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (**Martel, 1977 et Esseric, 1980**) et la pression mécanique à froid (**Naves,1974 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Perut, 1986**). Le choix de la méthode d'extraction dépend de la qualité recherchée et de la nature du matériel végétal à extraire, les huiles essentielles sont de véritables concentrés de substances aromatiques et de principes actifs, d'où leur administration à des doses extrêmement faibles. Quelques gouttes suffisent pour agir sur l'ensemble de l'organisme ou sur un système ou un organe spécifique (**Tothik et al., 2003**).

### 1.1.2. Répartition et Localisation

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. Certaines familles se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles regroupent et en particulier les labiés (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc.), les Ombellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus) et les Lauracées (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle) (**Benayad, 2008**).

Les huiles essentielles peuvent se trouver dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, rhizomes, fruits et graines. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont

généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées (**Khenaka, 2011**). Ils sont produits dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à huiles essentielles (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteurs (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaciaceae* ou *Asteraceae*). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation à l'air (**Bruneton, 1993 ; Anton et Lobstein, 2005**).

### 1.1.3. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances liquides à température ambiante, elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées, leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle sont plus denses que l'eau) (**Cohen, 2013**).

Selon Selles (2006), du point de vue chimique, les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents, ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Piochon, 2008). Les huiles essentielles sont liposolubles, solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, mais très peu solubles dans l'eau. Il faut donc impérativement un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles présentent un indice de réfraction élevé (**Lakhdar, 2015**).

Selon la voie métabolique empruntée, les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants, il s'agit de terpènes (mono et sesquiterpènes), et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Cohen, 2013**) produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

## 1.1.4. Importance et utilisation des huiles essentielles

L'importance des huiles essentielles n'a pas pu être clairement démontrée. En effet, qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certains auteurs pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation désertique (**Belaiche,1979**). Certaines huiles essentielles servent à la défense des plantes contre les herbivores, insectes et micro-organismes (**Kimks et al., 2000**).

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines, les industries de la parfumerie, des arômes et de la cosmétique sont les principales consommatrices d'huiles essentielles. Ce sont en effet les produits de base utilisés, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse. Dans l'agro-alimentaire, nous somme utilisées aussi des HE pour incorporer aux aliments des saveurs. Certain nombre d'huiles essentielles possèdent des propriétés médicalement intéressantes, d'où leur utilisation à des fins thérapeutiques. L'activité des huiles réside dans les centaines de molécules chimiques qui la constituent (**Degrysea et al., 2008**).

## 1.2. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

De tous temps, on connaît les vertus des « essences de plante » et on s'efforça de les extraire depuis la plus haute antiquité. C'est vers le 13<sup>ème</sup> siècle, en Europe, plus précisément dans le Sud de la France, au royaume des parfums, que l'on a commencé à explorer diverses méthodes d'extraction de ces huiles volatiles (**France-Ida, 1996**). Connaissant mieux les constituants des huiles, des techniques se sont développées visant à optimiser la qualité de l'huile tout en maintenant un rendement intéressant. La distillation est de loin, le procédé le plus utilisé pour l'extraction des huiles essentielles.

### 1.2.1. La distillation :

Selon **Benjilali (2004)** la distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation). La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation (cohobation), ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes : la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau.

**Bruneton (1999)** signale que le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

Il existe deux méthodes de base de distillation pour l'obtention des huiles essentielles qui reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La différence entre eux réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal (**Benjilali, 2004**).

### 1.2.1.1. L'hydrodistillation :

Distillation à l'eau ou « hydrodistillation » dont le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation.

Selon **Bruneton(1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle, La non-maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (**Chalchat et al., 1997**).

Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron.

### 1.2.1.2. La distillation à la vapeur :

Distillation à la vapeur saturée : « vapo-hydrodistillation » : c'est le procédé le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles sont destinées à des fins thérapeutiques (**Bego, 2001**). Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi

d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (**Benjilali, 2004 ; Belaiche, 1979**).

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir de plantes fraîches telles que la menthe et le myrte et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles qui sont cueillies puis partiellement coupées ensuite portées au dispositif de distillation. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger (**Haeckel et Omar, 1993**).

Distillation à la vapeur directe : c'est une variante de l'entraînement à la vapeur qui consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (0.02-0.15 bar) à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur, la composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie ; ce procédé est appelé distillation par hydrodiffusion (**Anes et al., 1968 ; Benjilali, 2004; Bruneton, 1999**). Il découle des recherches de (**Fathy et al.1965 ; Rudolf ,1968 ; Vernon et Richard ,1976**) que l'entraînement à la vapeur d'eau est préférable à l'hydrodistillation du fait qu'elle permet une extraction totale des huiles essentielles en améliorant le rendement de 33% par rapport à l'hydrodistillation.

### 1.2.2. L'extraction par enfleurage :

Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Il consiste à déposer des pétales de fleurs fraîches sur des plaques de verre recouvertes de minces couches de graisse (graisse animale type saindoux). Selon les espèces, l'absorption des huiles essentielles des pétales par le gras peut prendre de 24 heures (Jasmin), à 72 heures (Tubéreuse). Les pétales sont éliminés et remplacés par des pétales fraîches jusqu'à saturation du corps gras. On épuise ce corps gras par un solvant que l'on évapore ensuite sous vide (**Belaiche, 1979 ; France Ida, 1996**). Pour certaines plantes, on procède à une immersion des fleurs dans de la graisse chauffée, c'est ce que l'on appelle enfleurage à chaud ou « digestion » (**Bruneton, 1999**).

Cette méthode appelée également macération à chaud par d'autres auteurs est surtout utilisée pour les fleurs délicates qui perdent leurs arômes très rapidement après la cueillette, comme les violettes et certains lys (**France-Ida, 1996**). Cette technique laborieuse, qui demande une grande



habilité, est de moins en moins employée au profit de l'extraction par les solvants, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'oeuvre qu'elle nécessite (**Abou Zeid, 1988**).

### **1.2.3. L'extraction par les solvants volatils :**

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants organiques à dissoudre les composants des huiles essentielles.

Dans ce procédé, un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète » (**Belaiche, 1979 ; Duraffourd et al., 1990**). Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité (pouvoir solvant à l'égard des constituants odorants), stabilité, inertie chimique, température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts, sécurité de manipulation c'est à dire non toxique ou inflammable. Les solvants les plus utilisés sont les hydrocarbures aliphatiques : l'éther de pétrole et l'hexane, mais aussi le propane ou le butane liquide (sous pression).

### **1.2.4. L'extraction par expression :**

L'essence, altérable par entraînement à la vapeur d'eau, est ici extraite du péricarpe frais d'agrumes par différents modes d'extractions : dans l'industrie, les zestes sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices est récupéré par expression manuelle ou à l'aide de machines qui rompent les poches par expression et recueillent directement l'huile essentielle (**Bruneton, 1999**) ; ou encore après scarifications mécaniques, un entraînement de l'huile essentielle par un courant d'eau. L'essence est séparée par décantation comme précédemment (**Paris et Hurabielle, 1981**).

### **1.2.5. L'extraction par micro-ondes :**

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (**Paré, 1997**). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant

(non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (**France Ida, 1996**). Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (**Bruneton,1999**).

### 1.2.6. Extraction par ultrasons :

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles (**Lagunez- Rivera, 2006**).

### 1.2.7. Extraction au fluide supercritique :

Procédé relativement nouveau semblait à priori intéressant pour augmenter le rendement dans le cas de plantes peu riches en huiles essentielles. Il utilise les fluides à l'état supercritique pour extraire les composants contenus dans les végétaux. (**Bruneton, 1999 ; Wichtl et Anton, 1999**).

L'extraction au fluide supercritique consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique ( $P = 72.8$  bars et  $T = 31.1^{\circ}\text{C}$ ). Le fluide ainsi obtenu traverse le produit à traiter et le charge en composé à extraire ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait. L'extraction des huiles essentielles par le  $\text{CO}_2$  supercritique fournit selon **Scheffer (1996)** des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques.

## 1.3. Composition chimique des huiles essentielles

### 1.3.1. Terpenoïdes :

Ce sont des hydrocarbures de nature terpéniques dont la formule générale est  $(\text{C}_5\text{H}_8)$ . Ces terpènes sont très volatils et regroupent : les mono-terpènes ( $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ ) et les sesquiterpènes ( $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ ). Les monoterpènes sont les plus répandus et ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ( $\alpha$  et  $\gamma$ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène,

sabinene). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules: alcools (géraniol, borneol), phénols, esters; aldéhydes et autres (Bruneton, 2009). Les sesquiterpènes sont les moins répandus et ils sont mono- ou polycycliques (B- caryophyllène).

### 1.3.2. Composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3) ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment des allyl-et propénylphénols, parfois des aldéhydes.

La biosynthèse par voie phénylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins répandu dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae:(anis, fenouil, persil, cannelles (eugénole, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde) (Bruneton, 1999).

### 1.3.3. Composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, carbure (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones.

Dans les concentrations, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante non entraînés à la vapeur d'eau ; homologues des phénylpropanes, diterpènes coumarines (Brunton, 1993).

## 1.4. Activité biologique des huiles essentielles :

### 1.4.1. Activité antioxydante :

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif (Beirão & Bernardo-Gil, 2006).

On distingue trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques. Les substances naturelles dont les huiles essentielles sont classées entant qu'antioxydants non enzymatiques.

L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), cette dernière est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène **(Madhavi et al., 1996)**.

Par contre, les antioxydants à action directe sont capables de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger , empêchant ainsi la destruction des structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs **(Kohen et Nyska, 2002)**.

Quelques travaux ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques **(Hussain et al., 2010)**. Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique **(Hussain, 2009)**.

### 1.4.2. Activité antibactérienne :

L'une des premières mises en évidences *in vitro* de l'activité antibactérienne des HE date de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle, lorsque Buchholtz a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de l'huile de thym en 1875.

Toutefois, il aura fallu attendre le début du XX<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser **(Cox et al, 2000)**. Dès lors, plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques.

Néanmoins, le mécanisme d'action des HE sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles **(Burt, 2004)**.

La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action **(Guinoiseau, 2010)**.

Les caractéristiques des huiles essentielles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à

la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées (**Guinoiseau, 2010**).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (**Wendakoon et Sakaguchi, 1995 ; Tsuchiya et al., 1996**). Egalement, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique (**Tsuchiya et al., 1996 ; Hammer et al., 1999 ; Daroui-Mokaddem, 2011**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement en fonction de leur composition chimique, en particulier de leurs composés volatils majeurs.

En effet, l'activité antimicrobienne remarquable de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* est en relation avec sa teneur élevée en thymol (un composé phénolique) qui est réputé avoir une très grande action antimicrobienne (**Ettayebi et al., 2000 ; Ultee et al., 2000 ; Friedman et al., 2002 ; Chun et al., 2005**).

### **1.4.3. Activité anti-inflammatoire**

Les huiles essentielles ont également un rôle très important dans le traitement de l'inflammation. On pourra citer entre autres l'huile essentielle de Gaulthérie odorante très utilisée dans les douleurs musculaires, les tendinites (**Vangelder, 2017**).

### **1.4.4. Activité anti-tumorale**

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle, isolée des graines de *Nigellasativa L*, démontre une activité cytotoxique in vitro contre différentes lignées 50 cellulaires tumorales. In vivo, elle limite la prolifération de métastases hépatiques (**Ait Mbareket al., 2007**).

### 1.4.5. Activité antifongique

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles, incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de l'arbre à thé ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achilées, *Achilleafragrantissima*, *A. setacea*, *A. teretifolia* et *A. millefolium*, contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence (**Guinoiseau, 2010**).

### 1.5. Toxicité des huiles essentielles

Il est erroné de dire qu'un remède naturel ne peut pas faire de mal ! Les poisons les plus puissants sont d'origine végétale ! Par conséquent, il convient d'aborder le monde fascinant des traitements naturels avec un réel intérêt, (**Bekhechi et Abdelouahid, 2010**).

Les effets toxiques d'une HES varient considérablement selon sa nature. Certaines HES se révèlent cytotoxiques. Les HES du thym et de la lavande, selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact ; à titre d'exemple, elles sont avérées cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois. Par ailleurs, des HES des différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées du cancer (**Bouhafs *et al.*, 2014**).

En règle générale, les HES ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : une DL (Dose Létale) comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées : (anis, eucalyptus, girofle, etc.) ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc.). D'autres ont une DL inférieure à 1g/kg : HE de boldo (0.13 g/kg, convulsions apparaissent dès 0.07 g/kg); l'essence de moutarde (0.34 g/kg); l'origan et la sarriette (1.37 g/kg); le basilic, l'estragon et l'hysope (1.5 ml/kg). Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue. Reste à savoir que dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits (**Benggoutan., 2005**).

Certaines huiles essentielles ont une action neurotoxique (**Huignard *et al.*,2008**). Compte tenu de la grande diversité des monoterpènes contenus dans les huiles essentielles, plusieurs études confirment que leur activité insecticide est due à plusieurs mécanismes synergiques qui affectent des cibles multiples et perturbent ainsi plus efficacement l'activité cellulaire (**Huignard *et al.*,2008**).

En effet, la nature liopophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont induits de cette couche cireuse et sont affectées par l'huile essentielle ce qui peut entrainer l'asphyxie (**Chiasson et Beioin, 2007**).

D'autres travaux (**Ducrot, 2002**), montrent que les composés terpéniques manifestent une activité antiappétante pour les insectes. **Enan (2001)**, a fait le lien entre l'application de l'eugénol de l'a-terpinéol et de l'alcool cinnamique et le blocage des sites accepteurs de l'octopamine. Il conclut que l'effet peut varier d'un terpène à un autre.

# CHAPITRE 2

La Plante :

EUCALYPTUS

GLOBULUS



**2.1.1. Historique et répartition géographique**

Les *Eucalyptus* sont pour la plupart de très grands arbres qui font partie de la famille des Myrtacées. On dénombre aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'*Eucalyptus*. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils ont appris à s'acclimater. Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calyptos » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des *Eucalyptus*, les capsules. C'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous les *Eucalyptus* (Meksem, 2018).

Une classification complète, mais informelle, de toutes les espèces d'*eucalyptus* connues a été publiée en 1971 par Pryor et Johnson. Elle comprend sept grands groupes basés sur l'association de plusieurs caractères morphologiques et suggérées par l'incompatibilité de reproduction entre eux. Leur système a été soumis à un examen minutieux au cours des 30 dernières années. De nombreuses améliorations de cette classification ont été proposées par Johnson lui-même et par d'autres, même s'il n'a jamais officiellement publié un système de classification (Nathalie,2015).

Aussi, le complexe de *Eucalyptus globulus* a subi des modifications dans la nomenclature par Kirkpatrick, 1974 et Chippendale, 1976. Quatre taxa, autrefois considérés comme des espèces, sont désormais des sous-espèces d'*Eucalyptus globulus* (Bigendoko, 2004).

En 1995, Hill et Johnson ont pour la première fois décrit le genre *Corymbia*. En 2000, M.H. Brooker a publié une classification officielle du genre, basée sur le travail de Pryor et Johnson (Euclid, 2015).

En Algérie, l'*Eucalyptus* a été introduit en 1854, il s'étend dans des régions les plus sèches (quasi désertiques) jusqu'aux côtes humides. Il est apte à résister au froid et à croître sur des sols secs, siliceux calcaires, humides ou argileux, salés ou non, près ou loin de la mer (Taboukoyout, 2012).

L'*Eucalyptus globulus*, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert en 1792 par le botaniste français La Billardière. C'est un arbre originaire de Tasmanie (Australie).

Le docteur Muller (1825-1896), directeur du jardin botanique de Melbourne, a été le premier à le décrire dans son ouvrage *Fragmenta phytographiae australiae*. Aujourd'hui, l'*Eucalyptus globulus* est cultivé dans le bassin méditerranéen et en Chine où il est utilisé pour fabriquer de la pâte à papier.

### **2 .1.2. Description des eucalyptus**

L'eucalyptus est un arbre de 30 à 35 mètres, au tronc droit, lisse, grisâtre, qui porte des rameaux dressés également (**Metro, 1970**). Les jeunes feuilles sont bleuâtres, opposées et étroitement attachées sur la tige. Les feuilles adultes sont d'un vert sombre, alternées et tombantes (**Metro, 1970**).

Les feuilles pétiolées pouvant atteindre 25 cm de long, légèrement falciformes, assez épaisses, de couleur gris-vert, présentent une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. Le bord est lisse et quelque peu épaissi. La drogue coupée contient des fragments de limbe coriaces, friables, avec de nombreuses lenticelles de couleur brune plus ou moins foncées, par transparence, apparaissent de multiples poches sécrétrices ponctuant le limbe. De nombreux petits points visibles à la loupe correspondent aux stomates. Les opercules peuvent avoir différentes formes. Lorsque les étamines grandissent, elles soulèvent l'opercule et s'étalent pour former la fleur. Les fruits d'un diamètre de 5 à 8 mm, ont la forme d'un cône. Ils sont secs et de couleur brune.

Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol (**Quezel et Santa 1 963**).

- **Odeur** : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- **Saveur** : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- **Biotope** : Très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- **Récolte** : En Février et en Novembre à la taille des arbres.

**2 .1.3. Principaux composants chimiques du genre *Eucalyptus*.**

- Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; Sesquiterpènes : aromadendrane ;Sesquiterpénols : globulol, lédol).
- Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine).
- Tanins (**Daroui-Mokaddem, 2012**).

**2.2.1. Classification dans la systématique botanique :**

La classification taxonomique de l'*Eucalyptus globulus* est se suivant selon : (**Quezel et Santa, 1963**).

**Règne :** plantae

**Embranchement :** Spermaphyte

**Sous embranchement :** Angiosperme

**Classe :** dicotylidones

**Sous classe :** Rosidae

**Ordre :** Myrtales.

**Famille :** Myrtaceae.

**Gene :** *Eucalyptus*.

**Espèce :** *Eucalyptus globulus*

**2.2.2. Description botanique d'*Eucalyptus globulus*.**

L'*Eucalyptus globulus* grand arbre ornemental hétérophile poussant rapidement (**Marburg,1999**). Mesure 30 à 60 mètres de haut et il peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris (**Nathalie,2015**).

- ✓ Port : Divariqué. Tronc assez droit poussant parfois en spirale.
- ✓ Diamètre : de 0 m 80 à 1 m50.
- ✓ Couleur du bois : pâle ou légèrement foncé.
- ✓ Densité : au m2 de 750 à 950, moyenne 890 kg.
- ✓ Epoque de la floraison : janvier-avril et septembre-octobre (**Menager ,1952**).

**2.2.2.1. Feuille**

La feuille est généralement vert-gris, assez épaisse, de forme allongée, elliptique et légèrement falciforme, en général d'une longueur de 25 cm et d'une largeur atteignant 5 cm. Le pétiole est tordu, fortement ridé et d'une longueur de 2-3 cm, atteignant parfois 5 cm. la feuille rigide et coriace est entière et glabre, elle présente une nervure centrale vert-jaune. Les nervures secondaires s'anastomosent sur les bords de la feuille en une ligne continue. Les bords sont réguliers et légèrement épaissis, les 2 faces sont ponctuées de minuscules taches verruqueuses brun foncé réparties de façon irrégulière.



**Figure 1 :** Photographie d'*Eucalyptus globulus* (Daroui-Mokaddem ,2012)

**2.2.2.2. Fleurs**

Les fleurs, visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines (Nathalie,2015). Elles sont blanches solitaires ou groupées par 2 ou 3 (Brosse, 2005). Elles possèdent 4 sépales rugueux et cireux, soudés en une urne (Bruneton, 2002). Les fleurs sont bisexuées et régulières

Les fleurs couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée (Daroui-Mokaddem,2012).



**Figure 2 : Fleur d'*Eucalyptus globulus* (Pauline,2019).**

### **2.2.2.3. Fruits**

Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines (Nathalie,2015).

De plus que les fruits ligneux mesurent de 1,5 à 2,5 cm de diamètre ont une capsule très dure. De nombreuses petites graines s'échappent par des valves qui s'ouvrent sur le dessus du fruit (Daroui-Mokaddem, 2012), avec une teinte marronne à maturité et s'ouvrant légèrement par 2 fentes croisées pour laisser des graines (Pauline,2019). Graines : très grosses ressemblant à celle du poireau (Menager ,1952).

### **2.2.2.4. L'écorce**

Lisse, blanc bleuâtre, la vieille écorce se détache en grandes lanières qui pendent le long du tronc et des branches principales ce qui donne un aspect particulier à l'espèce (Menager ,1952). Son écorce se détache facilement en longues bandes (Nathalie,2015).



**Figure 3** : L'écorce d'*Eucalyptus globulus* (Nathalie,2015).

### 2.2.3. Composition de L'huile Essentielle d'Eucalyptus Globulus

Une norme AFNOR définit l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus. Celle-ci indique qu'ils'agit « d'une huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et rameaux, broyés ou non, et récemment récoltés, d'Eucalyptus globulus Labillardière de la famille des Myrtaceae. On distingue les huiles essentielles crues provenant d'un broyat et celles traditionnellement distillées en vrac dans l'alambic. Cependant, les produits commercialisés sous les appellations : 70% - 75% et 80% - 85% sont des huiles essentielles rectifiées sous vide pour obtenir une teneur en cinéole-1,8 respectivement supérieure à 70% et 80%. »

L'huile essentielle de l'Eucalyptus globulus est liquide, de couleur jaune à jaune pâle et dégage une forte odeur de 1,8-cinéole.

La norme AFNOR NF T75-225 définit ainsi les constituants principaux de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* :

**Tableau 01** : Cractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus (site électronique AFNOR).

Constituants	Huiles essentielles crues		Huiles essentielles rectifiées	
	Broyées en vert	traditionnelles	70% à 75%	80% à 85%
α- pinène minimum % maximum %	10	10	Traces	Traces
	20	22	20	12
Limonène Minimum % maximum %	2	1	2	2
	4	6	15	15
Cinéole 1,8 Minimum %	48	58	70	80
Para-cymène Minimum % Maximum%	1	1	1	1
	3	5	6	10
Trans- pinocarvéol Minimum % Maximum%	1	1	Traces	Traces
	4	5	10	6
Aromadendrène Minimum % Maximum%	6	1	_____	_____
	10	5	Traces	Traces
Globulol Minimum % Maximum%	0,5	0,5	_____	_____
	2,5	1,5	Traces	Traces

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est également inscrite à la Pharmacopée Européenne. D'après celle-ci, elle contient :

- α-pinène : 0,05 à 10 %
- β-pinène : 0,05 à 1,5 %
- sabinène : au maximum 0,3%
- α-phellandrène : 0,05 à 1,5%
- limonène : 0,05 à 15%
- 1,8-cinéole : au minimum 70%
- camphre : au maximum 0,1%.

D'après la Pharmacopée, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* doit contenir au minimum 70% de cinéole. Si elle n'est pas dans les normes, elle ne pourra pas être vendue en pharmacie.

**2.2.4. Activités biologiques d'huile essentielle d'eucalyptus globulus**

De par sa richesse en huiles essentielles et en polyphénols, l'eucalyptus peut être considéré comme un antibiotique naturel pour le traitement des maladies bronchopulmonaires : grippe, toux, rhinopharyngite. (Ficher et Dethlesfen, 2013 ; Haddad et al., 2016).

**2.2.4.1. Activité antibactérienne**

L'huile essentielle d'Eucalyptus globulus est particulièrement active contre les bactéries suivantes : *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*.

En revanche, elle n'est pas active sur *Escherichia Coli* ou *Pseudomonas aeruginosa* (ESCOF, 2009.).

Une étude évoque même la possibilité d'introduire des huiles essentielles dans les aliments afin de les conserver et de prévenir une infestation par la salmonelle (Djenne et al.,2011). Djenane et al. ont notamment fait une étude sur la salmonelle et les œufs.

Cette étude a montré l'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* contre *Salmonella enteritidis*. Cette étude a été réalisée pour trouver un moyen de prolonger la durée de vie des aliments en limitant la prolifération bactérienne. Il faut néanmoins prendre en compte le fait que les huiles essentielles ont un goût très prononcé et, additionnées à des denrées alimentaires, elles en modifient complètement le goût si leur concentration est trop élevée. Il s'agit donc là d'une piste à explorer malgré certains inconvénients.

**2.2.4. 2. Activité antivirale**

L'huile essentielle d'Eucalyptus globulus possède une activité antivirale. Elle est notamment importante concernant Herpès Simplex Virus (HSV) (Schnitzler et al.,2001). On pourra donc l'utiliser afin de traiter un bouton de fièvre, appliquées sur le bouton soit pures, soit en mettant 1 goutte d'huile essentielle dans une pommade d'aciclovir.



**2.2.4. 3. Activité Antifongique**

En plus de ses propriétés antibactériennes et antivirales, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente des propriétés antifongiques. Ces trois propriétés rendent l'usage de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* en diffusion très recommandé. Vilela et al. Ont démontré une activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur deux espèces d'aspergillus : *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* (Vilela et al.,2009).

L'eucalyptus est recommandé comme antifongique pour le traitement de la candidose (Zhou et al., 2016) (sur le cuir chevelu, il élimine les poux et divers parasites chez l'homme et les animaux, vermifuge et soigne les piqûres (Luis et al., 2016).

**2.2.4. 4. Activité cicatrisante**

Grâce à la présence de 1,8-cinéole, l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* va être douée de propriétés cicatrisantes. Elle pourra être utilisée afin de désinfecter les plaies et de raccourcir le temps de cicatrisation. Elle sera particulièrement efficace dans le traitement des ampoules, des brûlures, des coupures, des blessures et des plaies (Sugumar et al., 2014).

**2.2.4 5. Activité insecticide**

La présence de 1,8-cinéole dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va lui conférer des propriétés répulsives et insecticides. On pourra l'utiliser par exemple en diffusion pour éloigner les moustiques en été (bien qu'on lui préfère *Eucalyptus citriodora* qui est beaucoup plus efficace pour cette indication) (Batish et al.,2008)

Une étude montre également que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est une bonne alternative naturelle contre les mouches domestiques (Kumar,et al.,2012).

Certaines publications annoncent une efficacité contre *Pediculus humanus capitis*, plus communément appelé pou (Yang.,2004 ; Toloza et al.,2010).

**2.2.4.6. Activité anti-inflammatoire :**

Grâce à ses principes actifs : cinéole, thymol, flavonoïdes, l'eucalyptus peut être utilisé pour traiter certaines inflammations : troubles gastro-intestinaux. Il stimule les villosités qui recouvrent les voies nasales (**Fabre et al., 1992**).

Les propriétés antiseptiques d'Eucalyptus peuvent être appliquées dans l'utilisation externe pour le traitement d'affection cutané comme par exemple l'acné, l'herpès, les blessures, les brûlures, les ulcères de la peau et pour lutter contre la peau grasse (**Gille et al., 2010**).

**2.2.4.7. Activité antioxydante**

Selon l'étude menée par Mishra et al. (2010), l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus* montre une activité antioxydante avec un pourcentage de piégeage du radical DPPH de  $79 \pm 0,82$  % à une concentration de 80% (V/V). Cette huile a une forte activité antioxydante grâce à sa composition riche en cinéole (95,61%) (**Mishra , Sahu, et al.2010** ).

**2.2.4.8. Domaine d'utilisation d'huiles essentielles d'eucalyptus globulus****a. Usage pharmaceutique**

L'Eucalyptus est utilisé dans l'industrie pharmaceutique pour la fabrication des sirops, des huiles, pommades, et baumes (**Raho et Benali, 2012 ; Harkat et al., 2015**).

**b. Usage cosmétique**

L'Eucalyptus est largement utilisé dans l'industrie cosmétique en raison de l'eucalyptol qu'il contient qui est un composant aromatique, ce qui permet à l'eucalyptus d'être présent comme un ingrédient majeur dans beaucoup de produits : savon, crème, désodorisant (**Baba-Aissa,1990 ; Elaissi et al., 2012 ; Raho et Benali, 2012**).

**c. Autres usages**

L'Eucalyptus possède des propriétés hypoglycémiantes pour diminuer la concentration du sucre chez un diabétique, il agit aussi contre les rhumatismes, les douleurs articulaires et les migraines et stimule le système immunitaire (**Tesche et al., 2008**). Il soulage les muscles douloureux, C'est un analgésique, il est stimulant et tonique et servira avant et après le sport ou pour lutter contre la fatigue, il joue un rôle préventif (Raho et Benali, 2012).

# Chapitre 3

## Matériel et méthode

3.1 objectif :

Notre travail consiste à étudier l’activité antimicrobienne d’huile essentielle *Eucalyptus globulus* dans la localité de **BOUFARIK**, wilaya de **BLIDA**.

3.2. Présentation de la région d'étude :

L'Algérie est un pays du nord-africain doté d'un littoral sur la mer Méditerranée et d'un intérieur désertique, la diversité du secteur forestier en Algérie est due à la différence de climat au niveau national.

La wilaya de Blida se situe au nord de l’Algérie. Elle comporte principalement une importante plaine : la Mitidja, zone agricole riche, et une chaîne de montagnes au Sud : l’Atlas Blidien, qui constitue une partie centrale de l’atlas

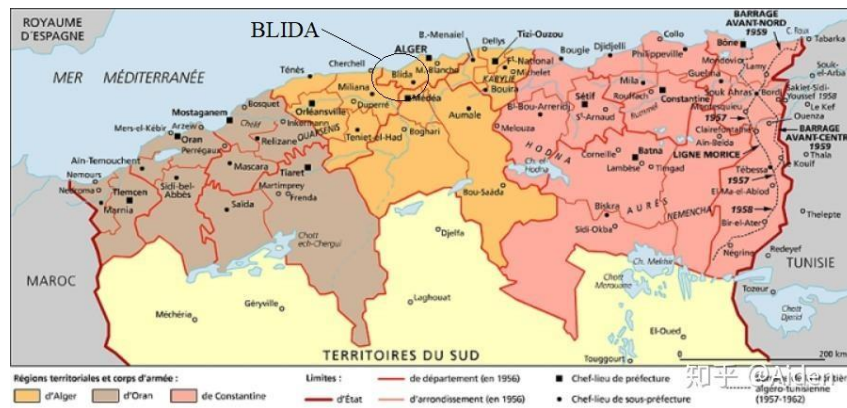


Figure 3.1: La localisation de la région d'étude (Blida)

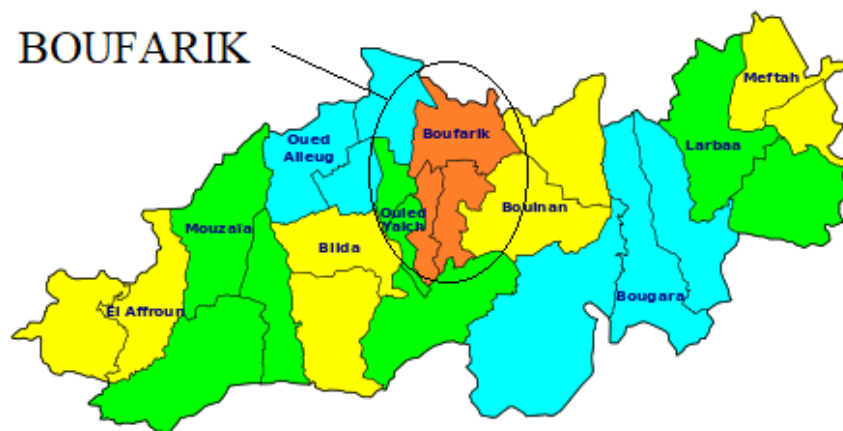


Figure 3.2: Présentation de la Région de la récolte (Boufarik, Blida).

La commune de Boufarik est située au nord de la wilaya de Blida. Son chef-lieu est situé à 35 km au sud-ouest d'Alger et à 13 km au nord-est de Blida. (Tableau 3-1)

Le Tableau 3.1 présente la caractéristique de la région de la récolte d'*Eucalyptus globulus*.

**Tableau 3-1** : caractéristiques de la région de la récolte d'*Eucalyptus globulus*.

Zone	Boufarik
Localisation	Wilaya de Blida
Longitude	2 ,9076094
Latitude	36,5848591
Etage bioclimatique	Sub-humide

### 3.3. Matériel végétal :

Le matériel végétal est composé des feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltées en Mars 2023 dans la localité de Boufarik, Blida.



**Figure 3 3** : Arbre d'*Eucalyptus globulus*

**3.3.1. Echantillonnage :**

La méthode d'échantillonnage adoptée dans notre travail est un échantillonnage aléatoire. Elle consiste à prélever du matériel végétal auprès d'individus choisis au hasard. Les arbustes sélectionnés pour la récolte doivent être homogènes, en bon état végétatif et ou évitant le bord de la route.

Pour garantir l'intégrité des échantillons, il faut :

- ✚ Éviter de cueillir les échantillons par temps humide,
- ✚ Garder les échantillons dans un endroit sec et frais,
- ✚ Éviter toute source de contamination et veiller à ce que les échantillons soient séchés,
- ✚ Les échantillons ne doivent jamais être séchés au four, car les températures élevées peuvent influencer sur les résultats de l'analyse.

Les échantillons sont mis dans des sacs en papier kraft, et destinés au laboratoire pour utilisation.

**3.4. Extraction d'huile essentielle :**

L'extraction de l'HE de la plante *Eucalyptus globulus* a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation sous basse pression à haute température par un d'alambic en inox, (Figure 3.5) une quantité de 100kg de la matière végétale fraîche a été placée dans une cuve remplie d'eau aux 2/3 de son volume. Puis l'ensemble a été chauffé jusqu'à l'ébullition pendant 2 heures. La vapeur d'eau enrichie d'HE traverse un serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.

Les gouttelettes produites s'accumulent dans un collecteur ce qui entraîne, en raison de la différence de densité, l'apparition d'une phase huileuse riche en HE de *Eucalyptus globulus* et une phase aqueuse formée à partir de l'eau issue de l'hydrodistillation. L'HE ainsi obtenue est récupérée à l'aide d'une ampoule de décantation et conservée au réfrigérateur à 4°C dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement jusqu'à son utilisation.



**Figure 3.5** dispositif d'extraction des HEs par hydro distillation.

Type : (d'alambic en inox) photo original

### **3.5. Matériel microbiologique :**

Les souches bactériennes et les champignons utilisées nous ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de Blida.

**Tableau 3.2** : caractéristiques et pouvoirs pathogènes des souches fongiques et les souches bactériennes expérimentées.

Espèce microbienne	Caractéristiques	Maladies provoque	Référence
Escherichia coli	Gram- Bacille, mobile, pathogène.	Diarrhée, infection urinaire, méningite, septicémit	ATCC 8739
Staphylococcus aureus	Gram+ Cocci, immobile, disposé en amas ou en grappe de raisin.	Infection cutanées suppurees, tox-infection alimer	ATCC 6538
Pseudomonas aeruginosa	Gram- Bacille fins, non capsulés, mobiles.	Responsable de broncho-pneumopathies et les affection respiratoires infections cutanées dans les ulcères	ATCC 9027
Bacillus subtilis	Gram+	Gastro-entérites	ATCC 6633
Salmonella abony	Gram-	Gastro-enteritis, fever	NCTC 6017
Candida albicans	Espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre candida	Provoque des infections au niveau des muqueuses digestive et gynécologique.	ATCC 10231
Aspergillus niger	Moisissure de couleur noire.	Responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme.	ATCC 16404

(Laboratoire d'hygiène de Blida)



**3.6. Paramètres étudiés :****3.6.1 Rendement en huile essentielle :**

Le rendement en HEs est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse de la matière végétale utilisée (MV)}} \times 100$$

**3.6.1.1. Caractéristiques organoleptiques :**

Les propriétés organoleptiques d'HE sont perçues par les sens afin d'évaluer l'aspect, la couleur et l'odeur.

**3.7. Evaluation de l'activité antimicrobienne :**

L'activité antibactérienne et antifongique d'HEs a été évaluée par la technique de diffusion sur milieu gélose (aromatogramme) et la technique micro-atmosphère.

**A. La technique de diffusion (Aromatogramme) :**

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme ciblé. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

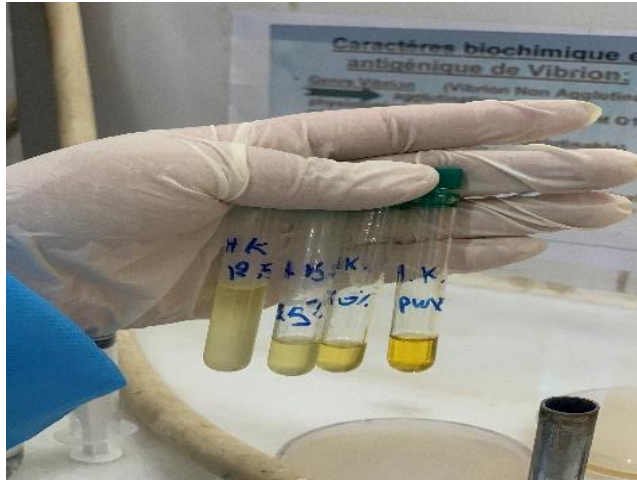
**B. La technique de micro-atmosphère :**

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de Pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée avec un couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances.

**3.7.1. Préparation des concentrations d'huile essentielle :**

On met 20 ml d'huile pure dans un tube stérile on ajoute 20 ml de DMSO et on mélange bien et donc on s'attend à une huile diluée 50%, et on prend 20 ml de ce dernier et on le met dans une autre tube et on ajoute 20 ml de DMSO et donc on s'attend à une huile diluée à 25% .

Les concentrations 12.5%,25%, 50%, 100%de l'huile essentielle sont obtenues par dilution dans du DMSO à 10%.



**Figure 3.6:** la préparation des concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

**3.7.2. Préparation des milieux de culture :**

- Liquéfier les milieux de cultures Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures et les champignons dans un bain Marie à 95C° et garder en surfusion dans une étuve à 45C°.
- Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélosés sur les boites de Pétri à raison de 15 ml par boie.
- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

**3.7.3. Préparation des suspensions microbiomes :**

- + La suspension microbienne a été préparée à partir de cultures jeunes de bactéries (18-24h) ou de champignon (48h),
- + Prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique,

- + Agiter et homogénéiser la suspension à l'aide de l'agitateur afin d'obtenir un suspension bactérienne équivalente.
- + Incuber les suspension bactériennes et fongiques respectivement dans des étuves à 37C° et 25C° et ce pendant 20 à 25 mn.

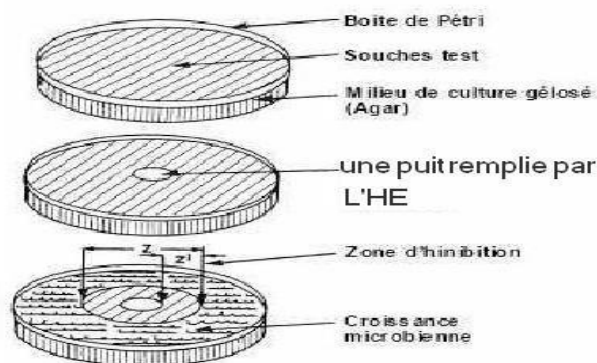
**3.7.4. Ensemencement :**

- + Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension microbienne. Essorer l'écouvillon en pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube afin de le décharger du surplus de suspension.
- + Ensemencer aseptiquement une boîte de Pétri en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées, répéter l'opération quatre fois, en tournant la boîte à 45° de façon à croiser les stries, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

**3.7.5. Préparation des disques :**

**A/ Pour la méthode Aromatogramme**

Les disques sont préparés à partir du papier watemane par un perforateur à 2 trous du papier, avec un diamètre de 6mm. Ensuite, ces disques sont stérilisés à l'autoclave à 134°C pendant un temps de 40 minutes à la pression atmosphérique de 2 Bar, puis stockés à une température ambiante et milieu stérile.



**Figure 3.7** Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (PIBIRI, 2005).

**B/ Pour la méthode (micro-atmosphère)**

Les disques de papier filtre sont déposés au centre du couvercle des boite Pétri puis avec micropipette prélève 20 ml de HE pur pour les disques de diamètre 20 mm, et on prélève 40 ml et 60 ml de HE pour les disques de 40 et 60 mm sans que l'HE entre en contact avec la gélose et MHensemencée par les micro - organismes. La boite est hermétiquement fermée, couvrir les boites avec papier sulofan.

**3.7.6. Dépôt des Disques :****A /Pour la méthode Aromatogramme :**

- ✚ Prélever aseptiquement un disque stérile de 6mm de diamètre avec une pince stérile.
- ✚ Mettre en contact le bout du disque avec l'huile essentielle à quatre concentrations (pure, diluée 50%, 25% et 12,5%). un disque de témoin négatif: un disque imprégné de 10ul d'eau physiologique stérile et un disque de témoin positif (un disque d'antibiotique).
- ✚ Déposer le disque imbibé d'huile essentielle à la surface de la gélose. Laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes.

**B/ Pour la méthode (micro-atmosphère) :**

Les disques de papier filtre sont déposés au centre du couvercle des boites pétri puis avec micropipette prélève 20 ml de HE pure pour les disques de diamètre 20 mm, et prélève 40 ml et 60 ml de HE pour les disques de 40 et 60 mm, sans que l'HE entre en contact avec la gélose et MHensemencée par les micro - organismes. Les boites sont hermétiquement fermées et couvertes par papier sulofan.

**3.7.7. Incubation**

Les boites sont incubées à 37C° durant 24h pour les bactéries et à 25C° durant 48h pour les champignons.

**3.8. Expression des résultats :**

A la sortie de l'étuve, l'absence ou la présence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (y compris le diamètre de disque de 6mm).

Dans la littérature relative aux huiles essentielles, les résultats de l'aromatogramme sont exprimés par la mesure du diamètre des halos d'inhibitions,

D'après Ponce et al, la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition.

Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm

Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm

Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm

Extrêmement sensible (+ 1+) diamètre > 20 mm

**3.9. L'analyse statistique :**

L'analyse statistique réalisée avec logiciel SPSS STATISTICS version 2020

Les analyses avec lesquelles nous avons travaillé sont :

Analyse de la variance ANOVA avec test de tukey,

# Chapitre 4

## Résultats et discussions

4.1 Rendement eu d’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* :

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage. (Tableau 4.1)

Tableau 4.1: Rendement de l’huile essentielle obtenue

	Masse de la matière végétale	HE
En gramme (g)	100000	1000
Rendement (%)		1.00%

Tableau 4.2: Comparaison du rendement en huiles essentielles dans d’autres régions.

Willaya	Oum El Bouaghi	BLIDA	SKIKDA
Période (mois)	Avril – Juin	Mars– Juin	Février
Méthode utilisée	Dispositif d’Hydro-distillation clevenger	Dispositif d’Hydro-distillation D’alambic en inox	Dispositif d’Hydro-distillation clevenger
Rendement %	0,87	1	1,65
Norme AFNOR	0.5 à 2		

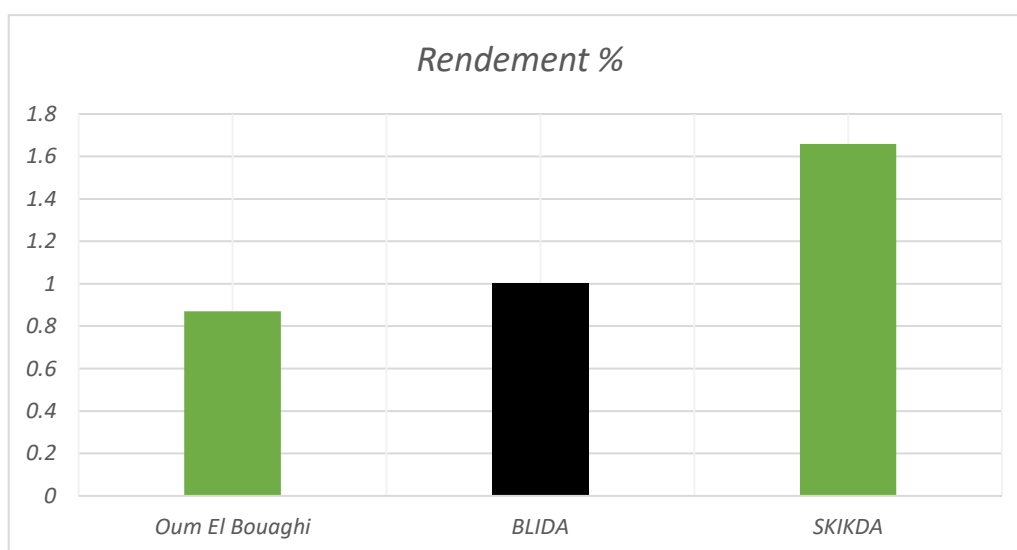


Figure 4.1.1: Rendement des huiles essentielles d’*Eucalyptus. globulus* d’autres régions.

Le rendement obtenu est conforme aux normes d'AFNOR.


D'après les résultats obtenus, nous constatons que le rendement de notre huile essentielle extraite d'*Eucalyptus. Globulus*, récolté dans la région de Boufarik willaya de Blida, est légèrement supérieur à celui récolté à Oum el Bouaghi avec respectivement :1% et 0,87%. (Figure 4,1, tableau 4,2), tandis que le rendement en huiles essentielles extraites d'*Eucalyptus. Globulus* récolté dans la région de Skikda était plus élevé avec 1,67%.

Cette variation des rendements peut être due à la technique d'extraction, la période de la récolte, la durée de séchage de la matière végétale, les conditions climatiques pour chaque région, et même de la durée d'hydrodistillation.

#### **4.2 Caractères Organoleptiques d'HE d'*Eucalyptus globulus* :**

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau 4.3** : caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus*

<b>Notre huile</b>	<b>Aspect</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>
	liquid	Jaune foncé	fraiche et épicée

#### **4. 3. Evaluation de l'activité antimicrobienne :**

L'activité bactérienne de notre huile a été évaluée par la technique de diffusion (Aromatogramme), et la technique micro-atmosphère.



4.3.1. La technique de diffusion (Aromatogramme) :

A/ Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis Escherichia coli :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE *d'Eucalyptus globulus* vis-à-vis Escherichia coli sont présentés dans la figure (figure 4,1)

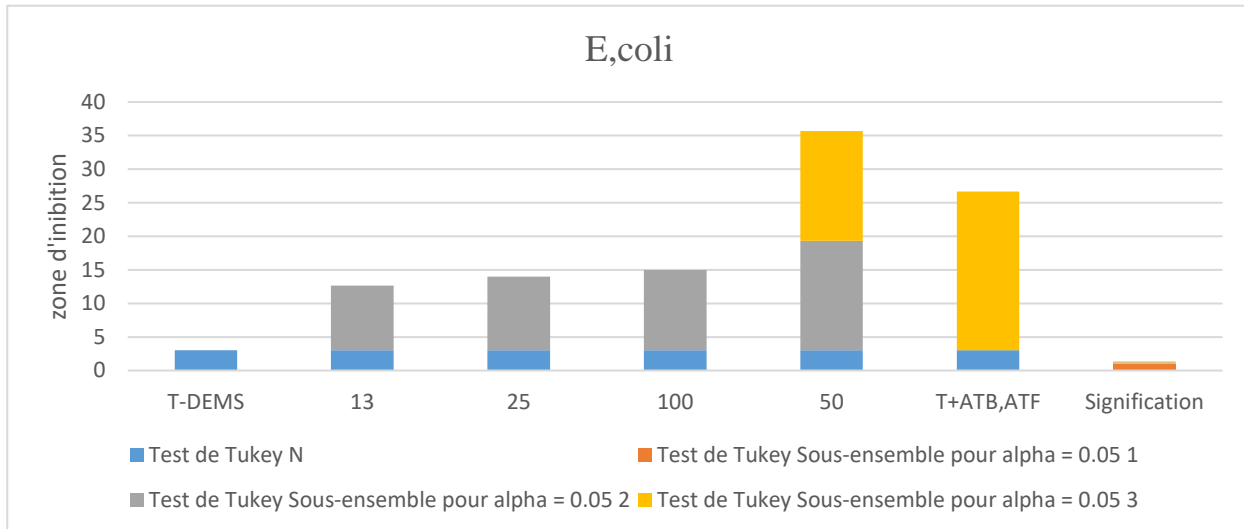


Figure 4 ,3,1 : Pouvoir antimicrobien des concentrations des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus* vis-à-vis Escherichia coli.

D'après la figure, nous remarquons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec la concentration 50% avec une valeur de 35mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistrée avec l'antibiotique teste avec une valeur de : 27mm (figure4,2,2),

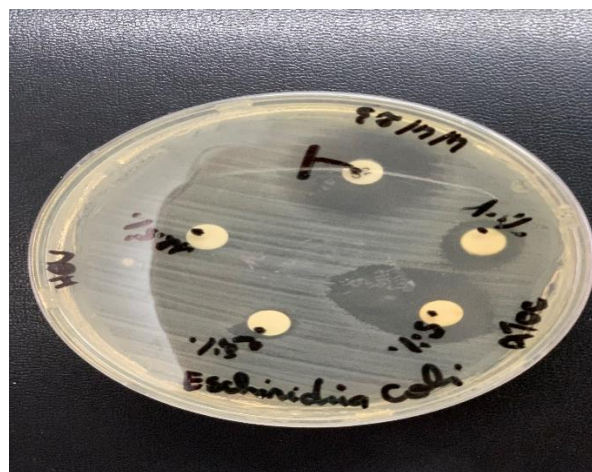


Figure 4 ,2,2 : l'action des constations d'HE *d'Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : Escherichia coli.

B/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Staphylococcus aureus :

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Staphylococcus aureus sont présentés dans la figure (figure 4,2,3)

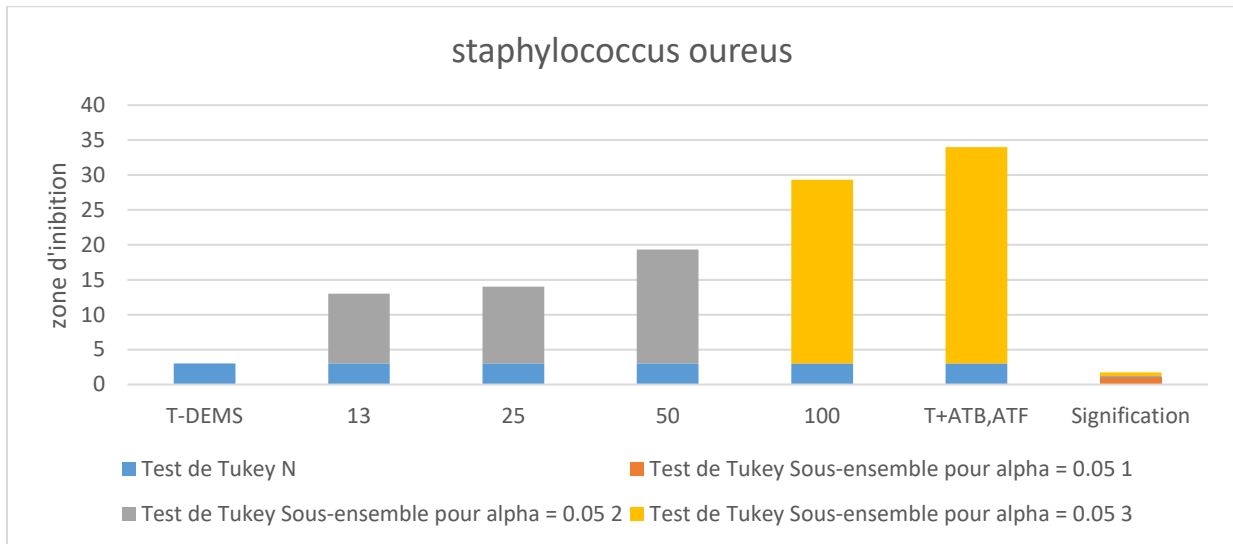


Figure 4 ,2,3 : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis staphylococcus aureus.

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'antibiotique teste avec une valeur de : 34mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistré avec la concentration 100% avec une valeur de 28mm (figure4,2,4),



Figure 4 ,2,4 : l'action des constations d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : staphylococcus aureus

C/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Pseudomonas aeruginosa :

Les résultats de l'effet antimicrobien de l'HE d'Eucalyptus globulus vis-à-vis Pseudomonas aeruginosa sont présentés dans la figure (figure 4,2,5).

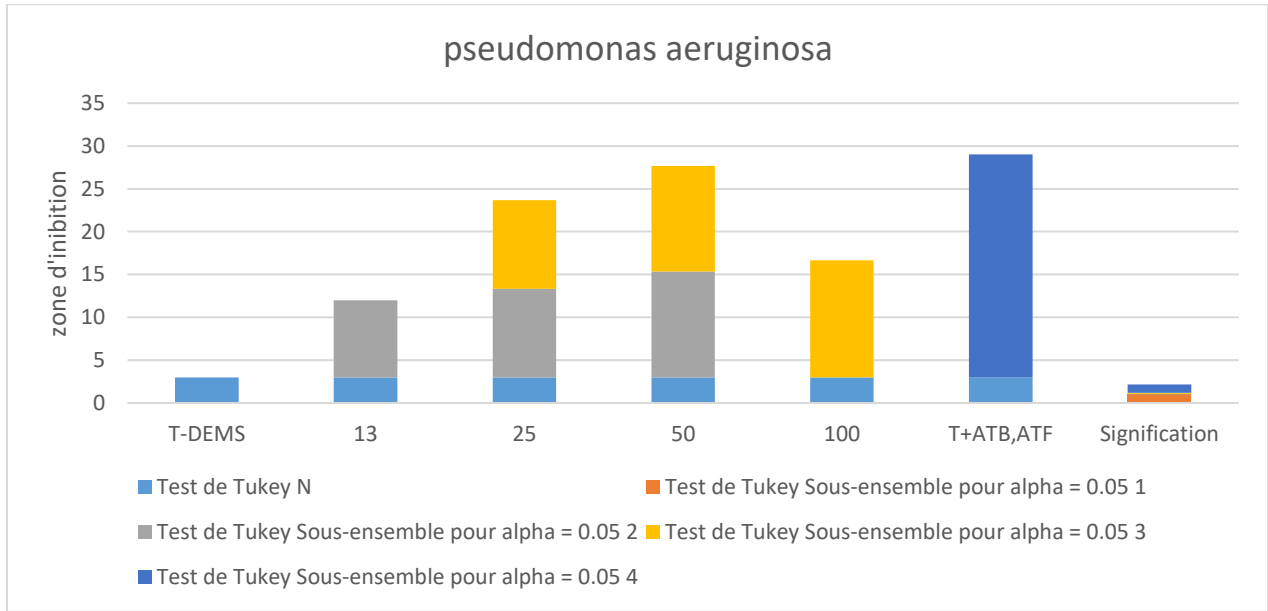


Figure 4,2,5 : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus vis-à-vis Pseudomonas aeruginosa.

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'antibiotique teste avec une valeur de 29mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistrée avec la concentration 50% d'une valeur de 27mm (figure4,2 ,6),

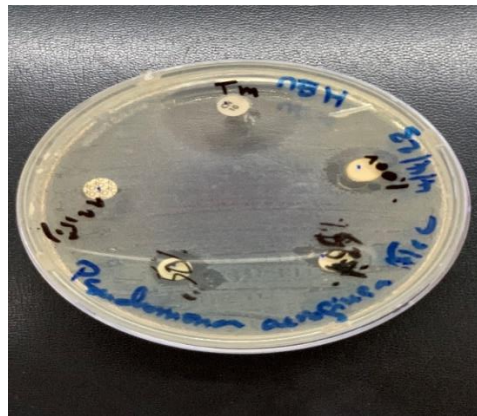


Figure 4,2 ,6 : l'action des constations d'HE d'Eucalyptus globulus sur la souche bactérienne : Pseudomonas aeruginosa.



E/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Salmonella abony :

Les résultats du pouvoir antimicrobien de l'HE d'Eucalyptus globulus vis-à-vis Salmonella abony sont présentés dans la (figure 4,2,9)

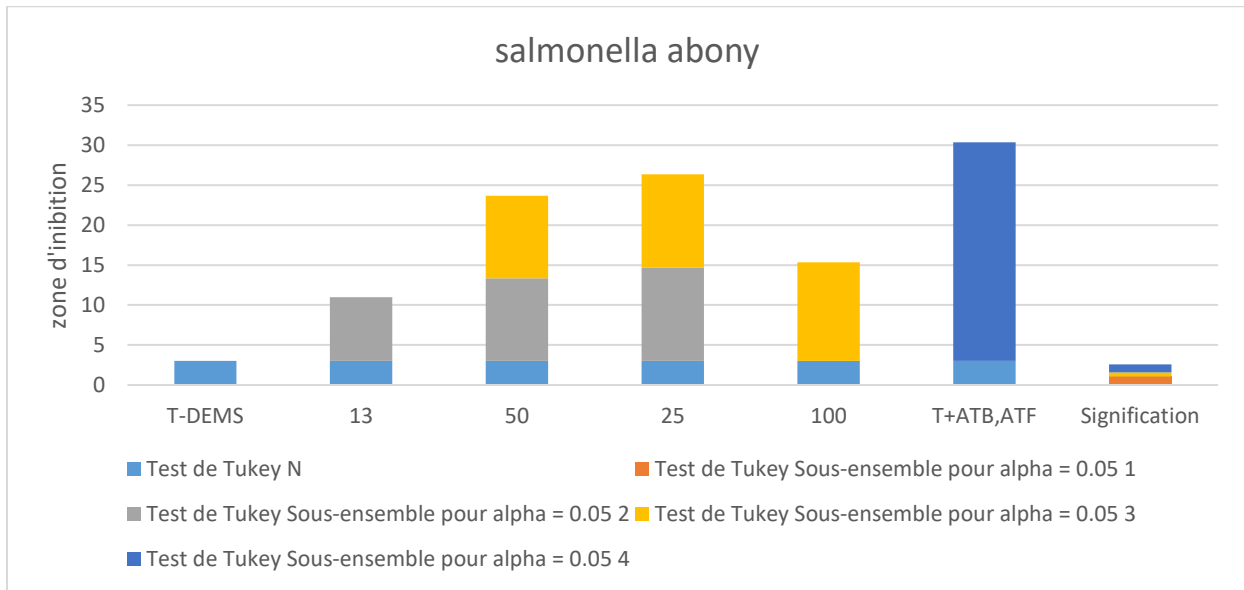


Figure 4,2 ,9 : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus vis-à-vis salmonella abony

Selon la figure, nous observons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'antibiotique teste avec une valeur de 30 mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistrée avec la concentration 25% d'HE d'une valeur de 26 mm (figure4,2,10),



Figure 4 ,2,10 : l'action des constations d'HE d'Eucalyptus globulus sur la souche bactérienne : salmonella abony.

E/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Condida albicans :

Les résultats du pouvoir antimicrobien de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Condida albicans sont présentés dans la figure (figure 4,2,11)

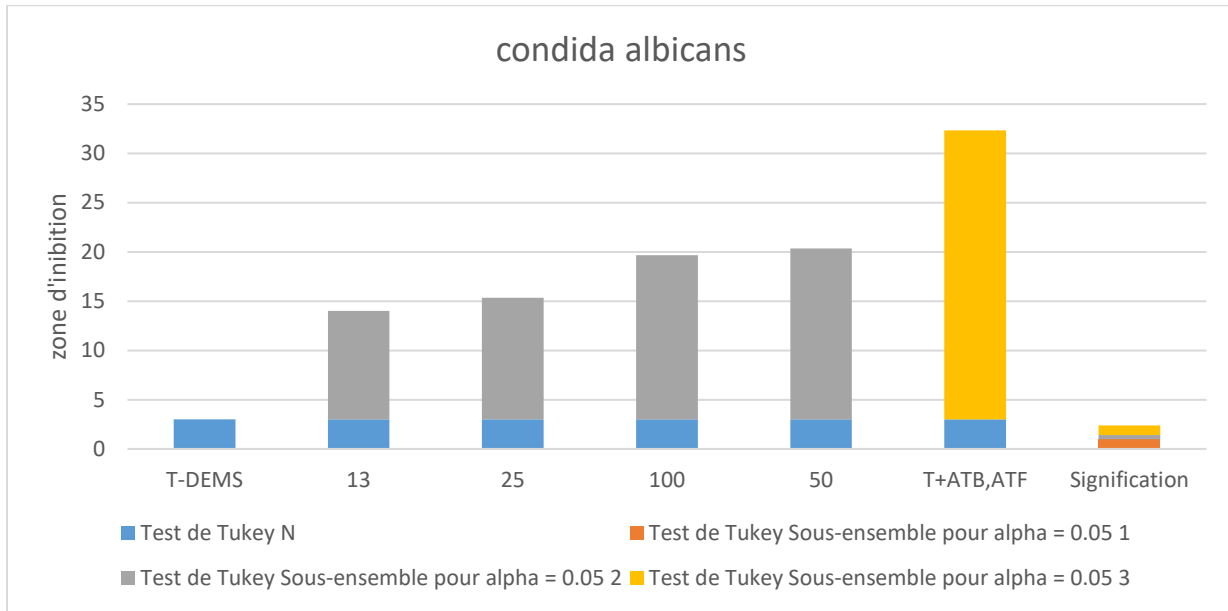


Figure 4,2,11 : Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Condidat albicans

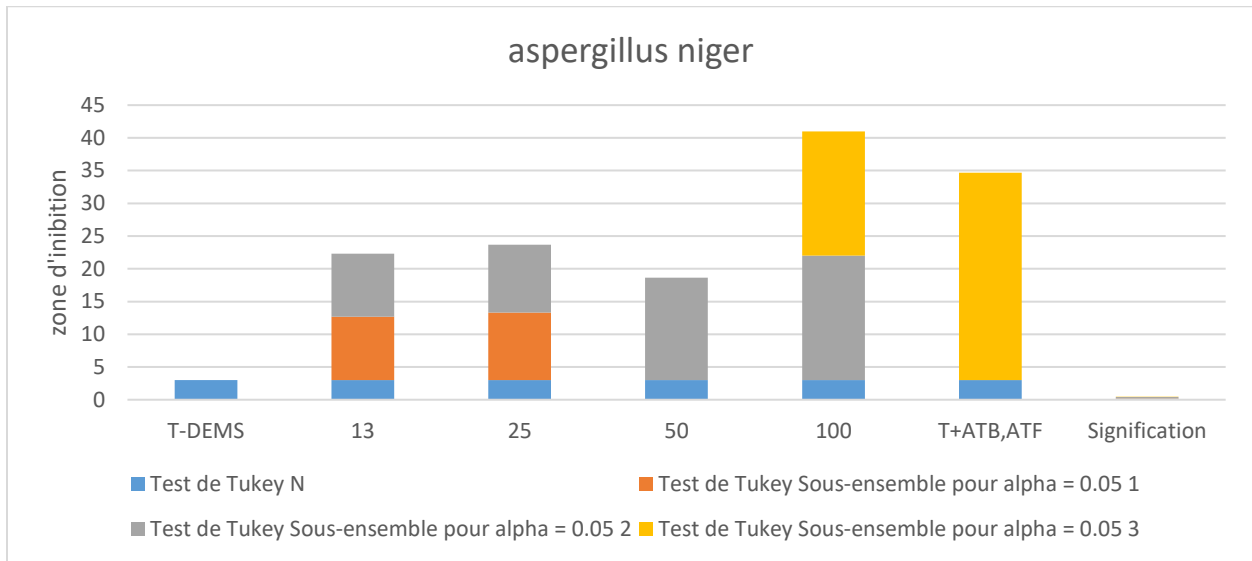
Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'antifongique teste avec une valeur de 33mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistrée avec la concentration 50% et 25% d' une valeur de 20 et 19 mm respectivement (figure4,2,12),



Figure 4 ,2,12 : l'action des constations d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche fongique : *Condida albicans*.

F/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Aspergillus Niger :

Les résultats du pouvoir antimicrobien de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Aspergillus Niger sont présentés dans la **figure** (figure 4,2,13)



**Figure 4,2, 13 :** Pouvoir antimicrobien des concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis aspergillus Niger.

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec la concentration 100% avec une valeur de 41mm. Cette zone d'inhibition a dépassé celle enregistrée avec l'antifongique d'une valeur de 34 mm (**figure4,2,14**),



**Figure 4 ,2,14 :** l'action des constations d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche fongique :

Aspergillus Niger

4.3.2. La technique de micro-atmosphère :

A/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Staphylococcus aureus :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Staphylococcus aureus sont présentés dans la (figure 4,3,1)

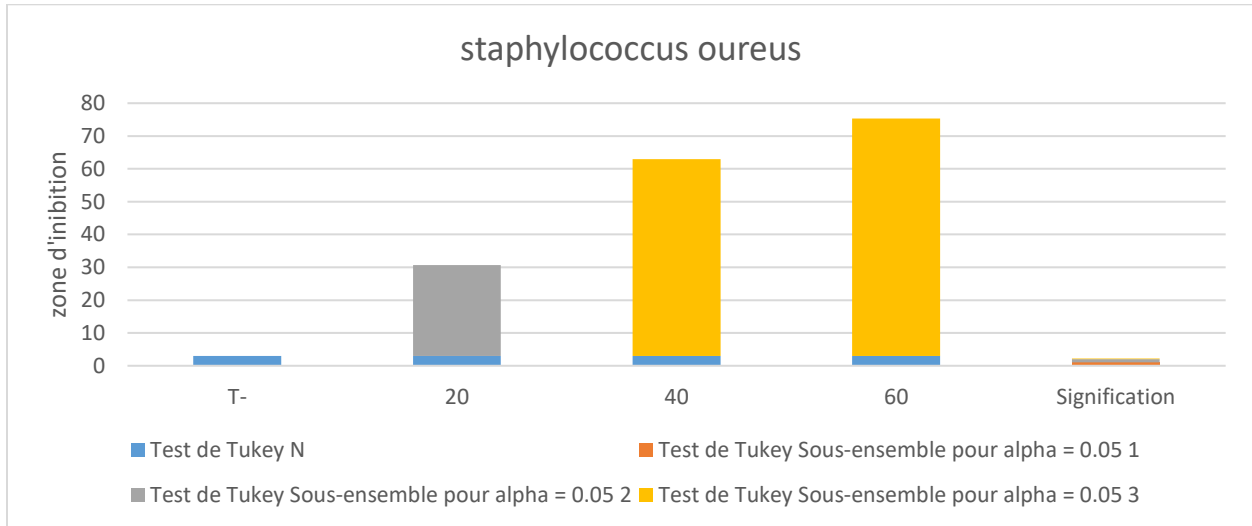
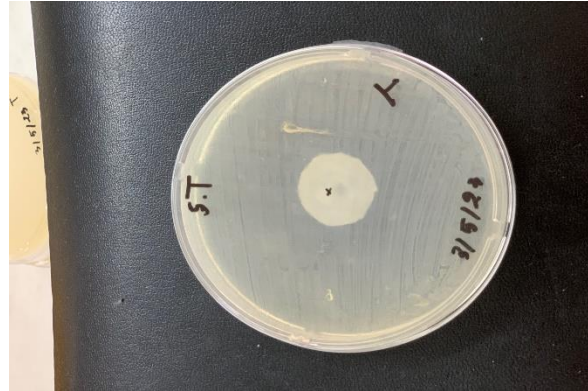


Figure 4, 3,1 : Pouvoir antimicrobien des volumes d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis Staphylococcus aureus

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume de 60 MI avec une valeur de 76mm, suivi par le volume 40MI avec une valeur de 62 mm, le volume 20 MI avec une valeur de 30mm et en dernier l'antibiotique test (T-) avec une valeur de 00 mm. (Figure 4,3,2)



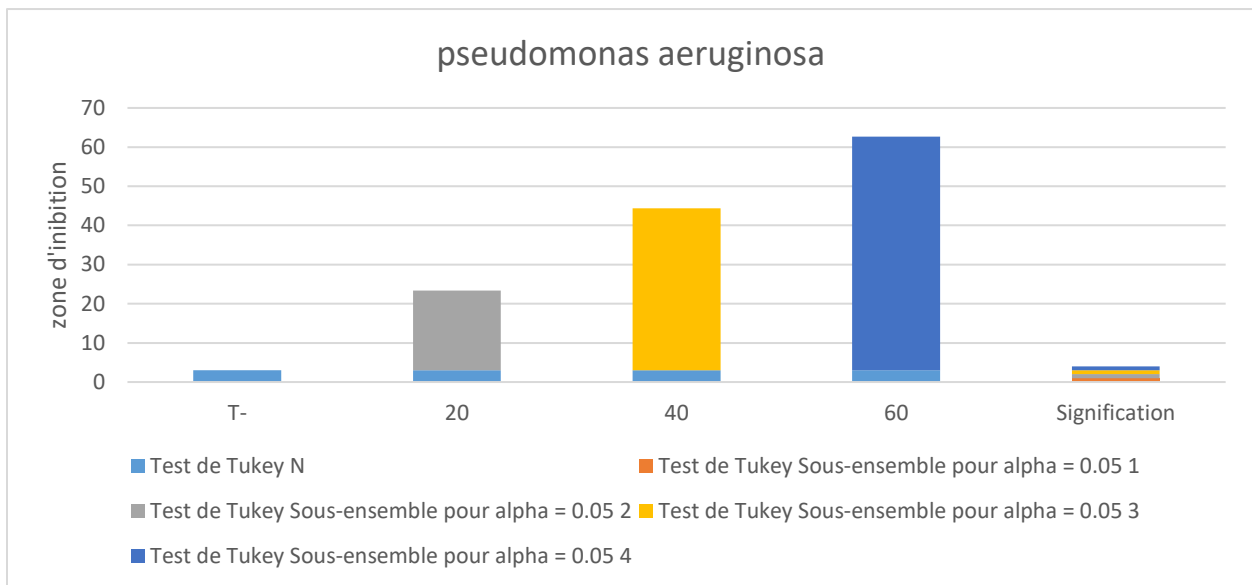




**Figure 4,3,2** : l'action des volume d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : staphylococcus aureus.

**b/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis Staphylococcus aureus:**

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* sont présentés dans la (figure 4,3,3)



**Figure 4,3,3** : Pouvoir antimicrobienne des volumes d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume de 60ml avec une valeur de 63mm, suivi par le volume de 40ml avec une valeur de : 44 mm, le volume de 20ml avec une valeur de 24mm, et, en dernier, l'antibiotique test (T-) avec une valeur de 00 mm (**figure 4,3,4**)

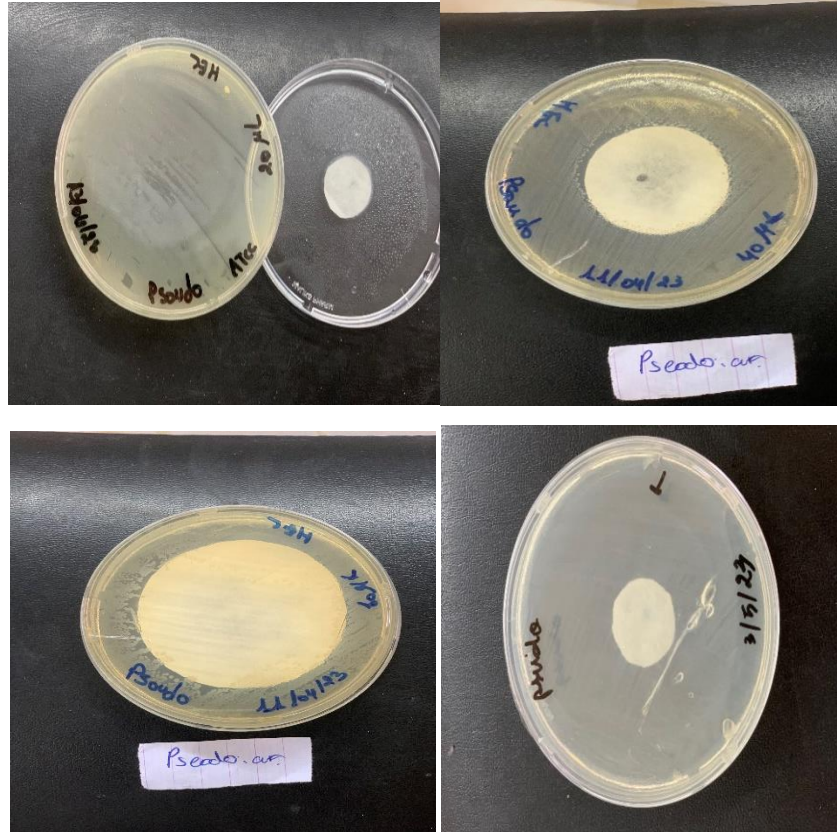


Figure 4, 3 ,4 : l’action des volumes d’HE d’*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : *Pseudomonas aeruginosa*.

C/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Bacillus subtilis* :

Les résultats de l’activité antimicrobienne de l’HE d’*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Bacillus subtilis* sont présentés dans la (figure 4,3,5)

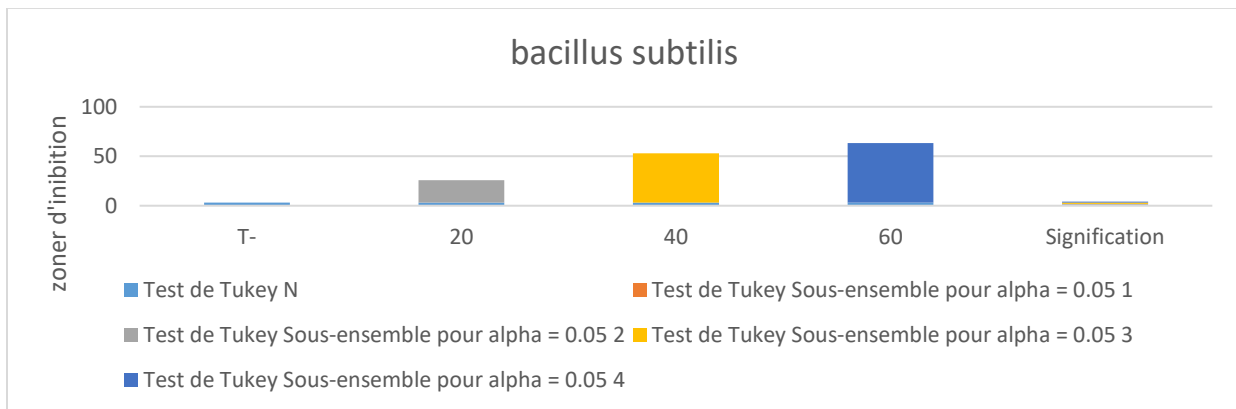
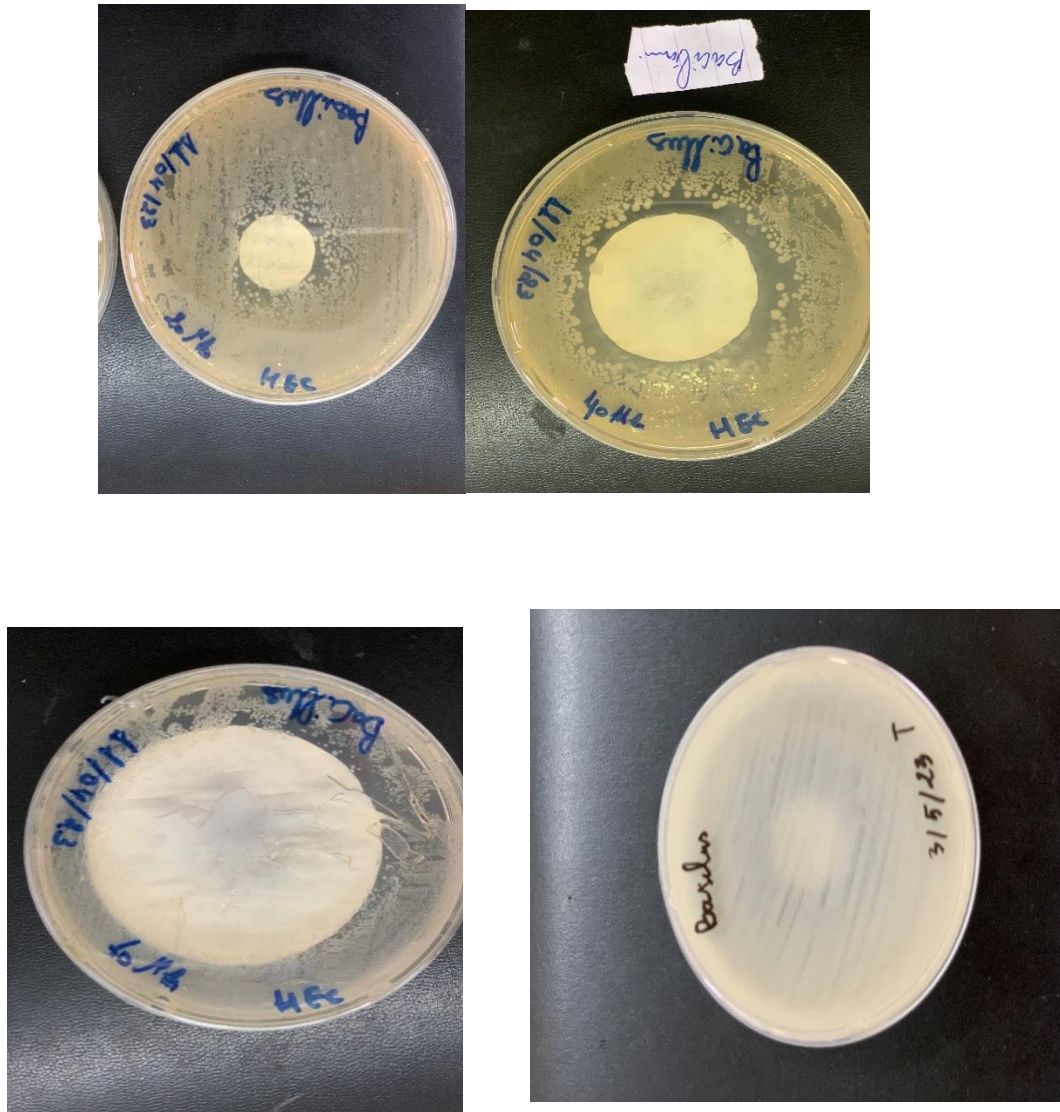


Figure 4,3,5 : Pouvoir antimicrobien des volumes d’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

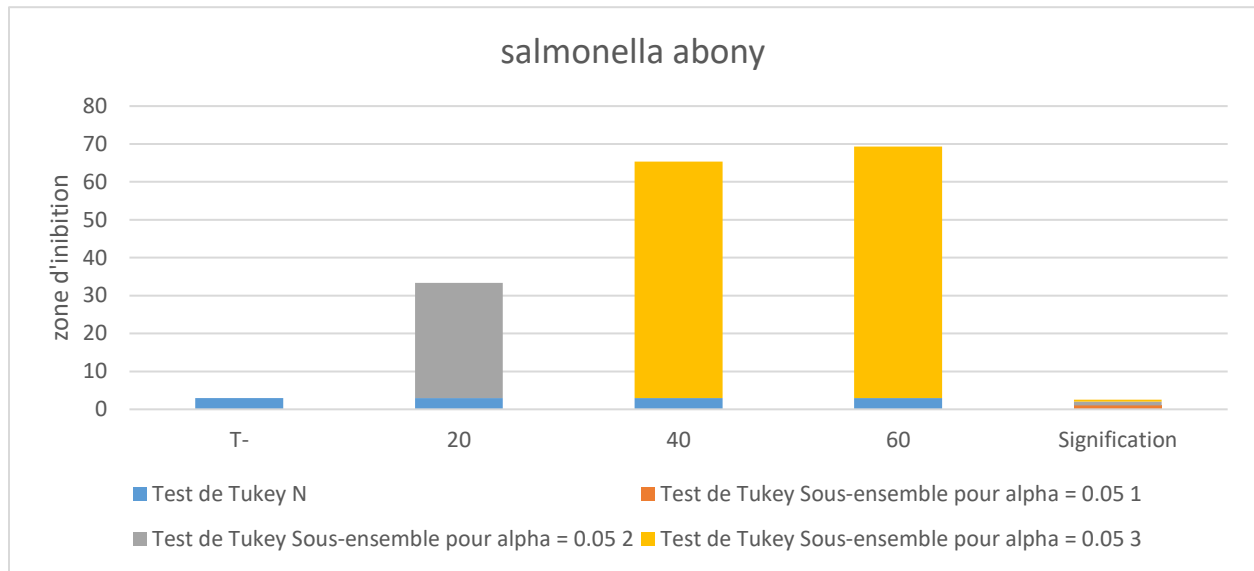
Selon la figure, nous constatons que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume de 60MI avec une valeur de 63mm, suivi par le volume de 40MI avec une valeur de 52mm, le volume de 20MI avec une valeur de 24mm, et l'antibiotique test (T-) avec une valeur de 00 mm (**figure 4,3,6**)



**Figure 4, 3,6 :** l'action des volumes d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : *Bacillus subtilis*.

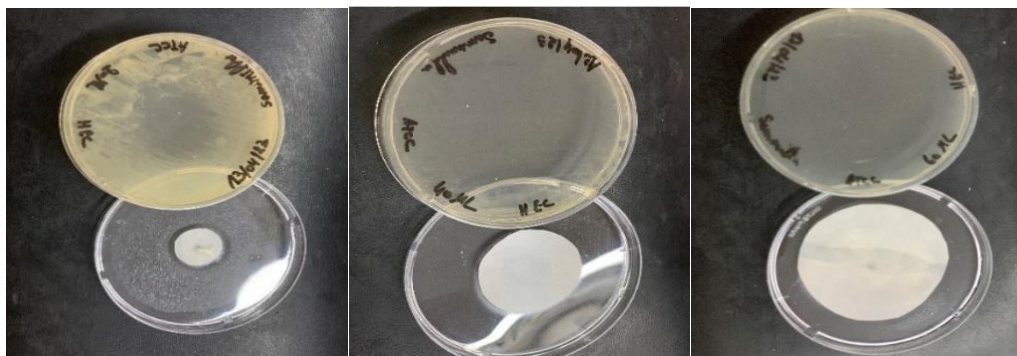
**D/** Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Salmonella abony* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Salmonella abony* sont présentés dans la figure (**figure 4,3,5**)



**Figure 4,3,5 :** Pouvoir antimicrobien des volumes d’huile essentielle d’Eucalyptus globulus vis-à-vis Salmonella abony

Selon la figure, il a été constaté que le diamètre d’inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume de 60ml avec une valeur de 69mm, suivi par le volume de 40ml avec une valeur de 64mm, le volume de 20ml avec une valeur de 32mm, et l’antibiotique test (T-) avec une valeur de 00 mm (figure 3,5,6).



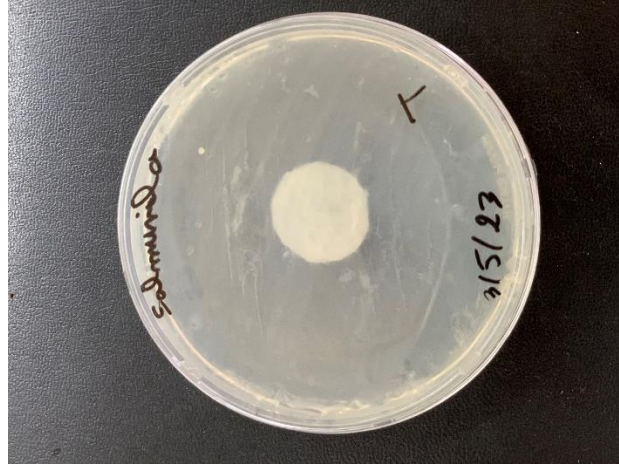


Figure 4,3,6 : l’action des volumes d’HE d’*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : *Salmonella abony*.

E/ Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Aspergillus Niger* :

Les résultats de l’activité antimicrobienne de l’HE d’*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Aspergillus Niger* sont présentés dans la figure (figure 4,3,7)

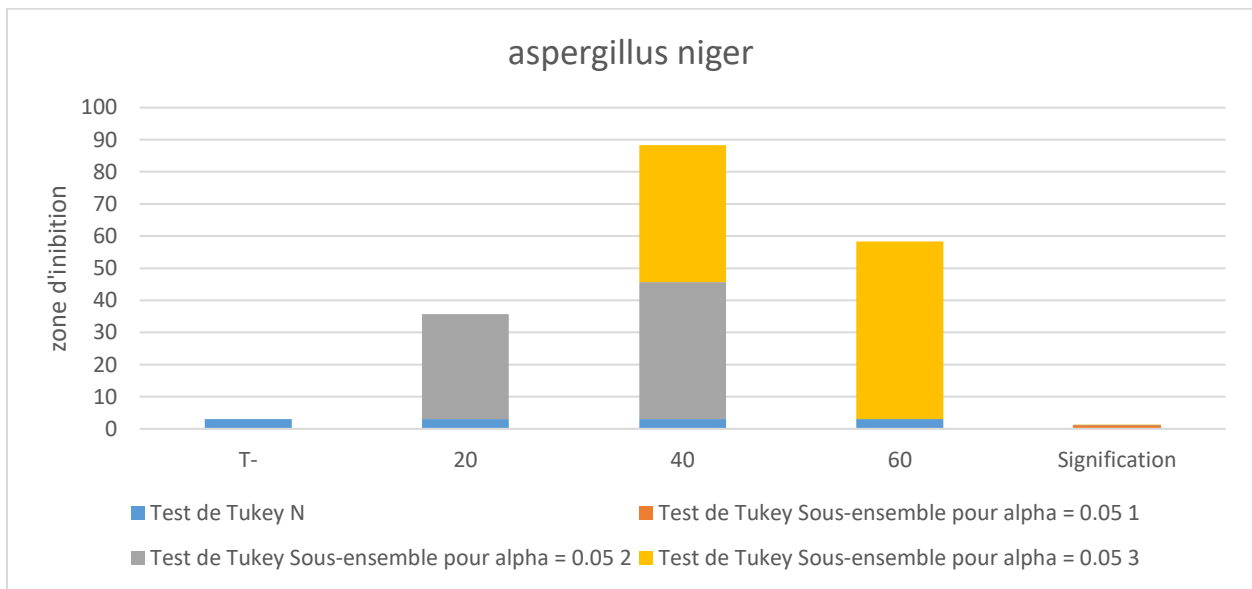
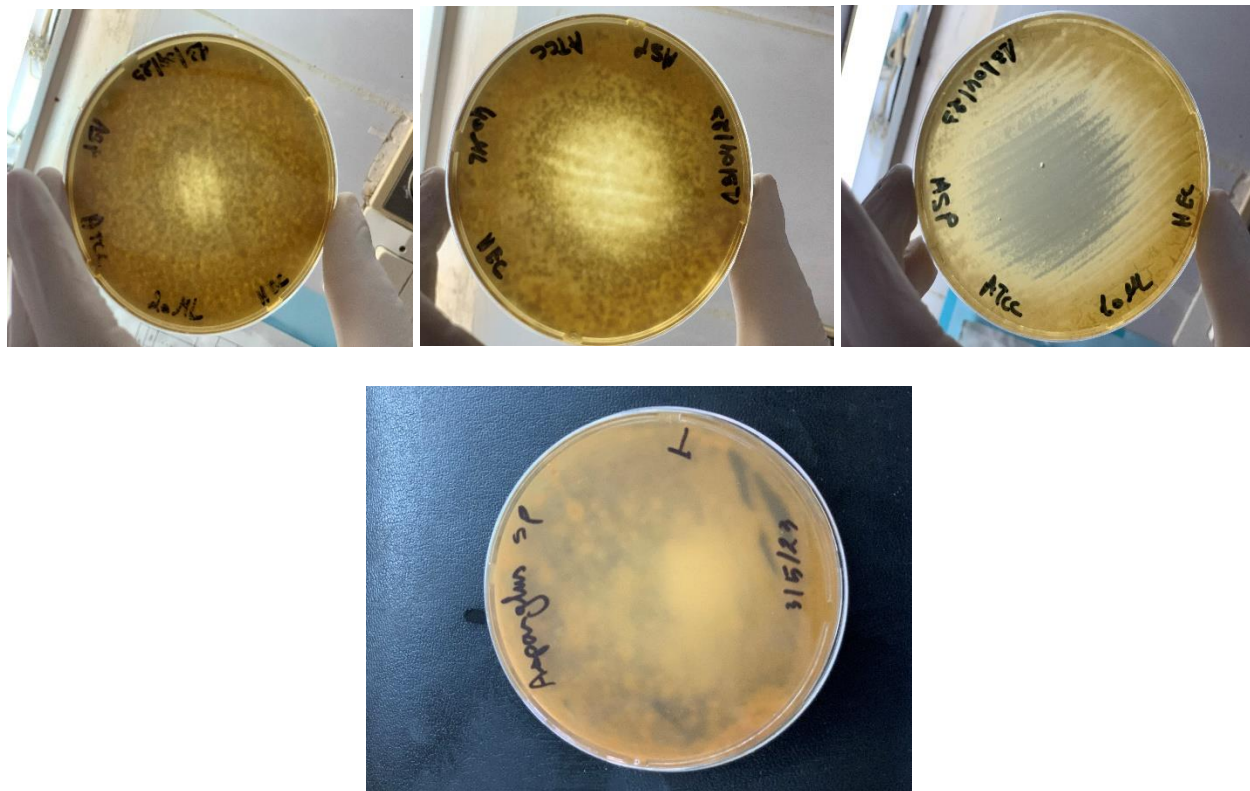


Figure 4,3,7 : Pouvoir antimicrobien des volumes d’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* vis-à-vis *Aspergillus Niger*.

Selon la figure, nous constatons que le diamètre d’inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume de 40ml avec une valeur de 86mm, le volume de 60ml avec une valeur de 60, le volume

de 20MI avec une valeur de 35mm, et l'antifongique test (T-) avec une valeur de 00 (figure 4,3,8)



**Figure 4,** : L'action des volumes d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne : *Salmonella abony*.

**- Discusion des resultat**

Les bactéries sont les organismes les plus abondants de notre planète en nombre. Il existe principalement deux grands types de bactéries : les bactéries à Gram positif (paroi épaisse de peptidoglycane mais sans membrane externe) et celles à Gram négatif (à paroi cellulaire mince mais avec membrane externe).

L'activité antibactérienne de l'HE d'*Eucalyptus* a été évalué par rapport à plusieurs souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode est la méthode de référence pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles selon plusieurs auteurs (**Benjilali et al., 1986 ; Billerbeck et al., 2002 ; Mehani et Ladjel, 2014 ; Pibiri et al., 2005 ; Satrani et al., 2007**), car elle permet à l'HE d'entrer en contact direct avec les bactéries testées.

Pour estimer l'activité antimicrobienne de notre plante, on a suivi la référence de Ponce et al, (2003) qui ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 4 classes.

- Extrêmement sensible (+++) : plus de 20 mm ;
- Très sensibles (++) : de 15 mm à 19 mm ;
- Sensibles (+) : 8 mm à 14 mm ;
- Nom sensibles (-) : moins de 8 mm.

D'après les résultats obtenus lors des différents tests réalisés dans le cadre de notre étude, nous constatons que l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* a une très bonne activité antibactérienne vis-à-vis les souches testées à des différentes concentrations des HE ( 100%, 50%, 25%, et 12,5%).

Pour la concentration 100%, *Staphulococcus aureus* est la bactérie la plus sensible (extrêmement sensible) en enregistrant un diamètre d'inhibition le plus important avec 28 mm, ce qui est en accord avec les résultats des études antérieures menées sur *Eucalyptus globulus* par Ould Si Said.Z (2014) et celles menées par Traore et al.(2013) sur *Eucalyptus houseana* et *Eucalyptus.odorata* menées par Elaissi et al (2011). Les autres bactéries ont présenté des diamètres des zones d'inhibition variant entre 15 et 18 mm. Par contre les résultats obtenus par Adouani.L , et Merghadi.I (2021) ont montré un pouvoir antibactérien extrêmement fort vis-à-vis *Escherichia.coli* avec un diamètre de 27 mm, ce qui est largement supérieur à celui trouvé par notre étude avec un diamètre de 15 mm.

Pour la concentration 50%, notre étude a révélé que la bactérie *Escherichia coli* a présenté le diamètre le plus élevé avec 35 mm, suivie par *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 27 mm. Les résultats obtenus par Djenadi.S et Bouali. L (2022) ont, également, montré que *Escherichia coli* a réalisé le diamètre le plus élevé, mais avec un résultat moins important avec 20 mm, par contre ils ont montré que *Pseudomonas aeruginosa* a enregistré le diamètre le plus faible avec 12 mm seulement.

Pour la concentration 25%, les souches *Salmonella abony*, *Bacillus subtilis*, et *Pseudomonas* ont indiqué des diamètres d'inhibition appréciables avec 26, 24, et 23 mm respectivement.

Pour la concentration de 12,5%, les bactéries testées ont enregistré des diamètres entre 11 et 13 mm, ce qui présente une sensibilité plus ou moins moyenne. Ces résultats s'approchent à ceux obtenus par Djenadi.S et Bouali. L (2022) qui ont trouvé des diamètres d'inhibition de 12 mm pour *Escherichia coli* et 10 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

De tout ce qui précède on peut déduire que l'*Escherichia colis* (Gram-) est la bactérie la plus sensible aux huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 35 mm, et ce, à une concentration de 50%, suivie par *Staphylococcus aureus* (Gram+) avec 28 mm, *Pseudomonas aeruginosa* avec 27 mm (Gram-), *Salmonella abony* (Gram-) avec 26 mm, et *Bacillus subtilis* (Gram+) avec 23 mm. Toutes ces bactéries sont extrêmement sensibles vis-à-vis HE de l'*Eucalyptus globulus*.

Aussi, Il ressort manifestement que l'huile essentielle étudié d'*E.globulus* a un effet antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram+ que négatifs (Gram-) sur différentes familles bactériennes et présente à cet effet un large spectre d'action. Il existe des auteurs comme Dorman et Deans, (2000) qui ont signalé l'indépendance de l'activité antibactérienne au Gram. Cependant d'autres ont déclaré que les bactéries Gram+ sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram- (Karaman et *al.*, 2003).

Par ailleurs, il est à signaler que les résultats de notre étude n'ont pas permis de confirmer l'existence d'une corrélation entre le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *E.globulus* et ses concentrations du fait que des bactéries ont enregistré des pouvoirs les plus élevés à des concentration de 50% et 25 % telles que la bactérie *Escherichia coli* qui a réalisé le diamètre le plus élevé avec 35 mm à la concentration 50% alors qu'elle n'a réalisé que 15 mm à la concentration 100%, et la bactérie *pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de 27mm à la concentration 50% et 23 mm à la concentration 25% dépassant, ainsi, celui réalisé à la concentration 100% avec 17 mm.

Concernant l'activité antifongique des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus*, nous avons constaté que le pouvoir antibactérien du champignon *Aspergillus niger* avec un diamètre d'inhibition de 41 mm est largement supérieur à celui de *condida albicans* avec un diamètre de 20 mm, et ce, à une concentration de 100% des huiles essentielles.



Pour la concentration de 50%, il a été constaté que les deux champignons ont presque le même diamètre avec 20 mm pour *Condida albicans* et 19 mm pour *Aspergillus niger*.

Pour la concentration de 25%, *Aspergillus niger* a enregistré un diamètre plus élevé à celui de *Condida albicans* avec 24 et 15 mm respectivement.

Pour la concentration 12,5, il a été, aussi, constaté que *Aspergillus niger* a un diamètre plus élevé à celui de *Condida albicans* avec 22 et 14 mm respectivement.

Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* confirment les conclusions de Mekonnen et al. (2016) qui ont étudié l'activité antifongique in vitro de l'huile essentielle de plante d'*E.globulus* contre des champignons. Le résultat de Cette étude a révélé que les huiles essentielles d'*E.globulus* étaient actives contre certains champignons.

Enfin, le classement de la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* est présenté selon l'ordre suivant :

*A. niger* > *E.coli* > *S.aureus* > *P.aeruginosa* > *S.abony* > *B.subtilis* > *C.albicans*.  
(Gram-) (Gram+) (Gram-) (Gram-) (Gram+)

# Conclusion Générale

## Conclusion Générale

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Eucalyptus globulus*, plante médicinale aromatique locale de la réserve biologique de la région de Boufarik (w.Blida), poussant à l'état spontané, récolté au mois de Mars 2023. Cette étude a été réalisée sur cinq (05) souches bactériennes, à savoir : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella abony* et *Pseudomonas aeruginosa*, et sur deux champignons, à savoir : *Conidia albicans* et *Aspergillus niger*.

L'extraction des huiles essentielles par l'hydro-distillation, en utilisant le dispositif d'alambic en inox modifié, a montré un rendement de 1 % sur 100g des feuilles sèches de notre échantillon (*Eucalyptus globulus*).

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que nos huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne importante à différentes concentrations ( 12,5%, 25%,50%, et 100%).

Les huiles essentielles étudiées d'*Eucalyptus globulus* ont montré un effet antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram+ que négatifs (Gram-).

A l'issue de cette étude, Il a été constaté que l' *Escherichia coli* (Gram-) est la bactérie la plus sensible à l' huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* , suivie par *Staphylococcus aureus* (Gram+) , *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) , *Salmonella abony* (Gram-), et *Bacillus subtilis* (Gram+) en dernier.

Les performances antimicrobiennes mises en évidences, dans le cadre de cet étude, méritent d'être étudiées avec plus de détail afin d'envisager des perspectives d'application de ces essences comme des antibiotiques naturels capables de réduire la propagation des maladies infectieuses et le recours aux antibiotiques et médicaments synthétiques. Ces résultats demeurent partiels et d'autres études sur les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* sont nécessaires pour mettre en valeur toutes leurs vertus. A cet effet, il sera intéressant à l'avenir de :

- Etudier l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles vis-à-vis d'autres souches bactériennes et fongiques, et à d'autres concentrations ainsi que sur d'autres régions ;

- Etudier d'autres propriétés biologiques de cette plante telles que les propriétés anti-inflammatoires, antivirales, antiseptiques, anticancéreuses, antidiabétiques...etc ;
- Tester les composés, identifiés individuellement, en faisant appel à des tests pharmacologiques in vivo et de vérifier la toxicité de ces composés.

# ANNEXE

**(Annexe, 1) :** Tableau présente signification de 5 bactéries et deux champignons

ANOVA à 1 facteur						
		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Bactérie 1 Esherichia coli	Inter-groupes	0,00	3,00	0,00		
	Intra-groupes	0,00	8,00	0,00		
	Total	0,00	11,00			
Bactérie 2 Staphylococcus	Inter-groupes	9592,67	3,00	3197,56	65,70	0,00
	Intra-groupes	389,33	8,00	48,67		
	Total	9982,00	11,00			
Bactérie3 Pseudomonas	Inter-groupes	6004,67	3,00	2001,56	2668,74	0,00
	Intra-groupes	6,00	8,00	0,75		
	Total	6010,67	11,00			
Bactérie4	Inter-groupes	6694,92	3,00	2231,64	13389,83	0,00
	Intra-groupes	1,33	8,00	0,17		
	Total	6696,25	11,00			
Bactérie5 Salmonella	Inter-groupes	8656,25	3,00	2885,42	209,85	0,00
	Intra-groupes	110,00	8,00	13,75		
	Total	8766,25	11,00			
champignons 1 Candidat	Inter-groupes	10280,25	3,00	3426,75		
	Intra-groupes	0,00	8,00	0,00		
	Total	10280,25	11,00			
champignons 2 Aspergillus	Inter-groupes	5042,67	3,00	1680,89	49,44	0,00
	Intra-groupes	272,00	8,00	34,00		
	Total	5314,67	11,00			

(A)

Bactérie 1 Esherichia coli				
Test de Tukey				
concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
T-DEMS	3,00	0,00		
13	3,00		9,67	
25	3,00		11,00	
100	3,00		12,00	
50	3,00		16,33	16,33
T+ATB,ATF	3,00			23,67
Signification		1,00	0,22	0,15

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (B)

Bactérie 2 Staphylococcus				
Test de Tukey				
concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
T-DEMS	3,00	0,00		
13	3,00		10,00	
25	3,00		11,00	
50	3,00		16,33	
100	3,00			26,33
T+ATB,ATF	3,00			31,00
Signification		1,00	0,23	0,52

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (C)

Bactérie3 Pseudomonas					
Test de Tukey					
concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
T-DEMS	3,00	0,00			
13	3,00		9,00		
25	3,00		10,33	10,33	
50	3,00		12,33	12,33	
100	3,00			13,67	
T+ATB,ATF	3,00				26,00
Signification		1,00	0,09	0,09	1,00

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (D)

<b>Bactérie4</b>					
Test de Tukey					
concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
T-DEMS	3,00	0,00			
13	3,00		8,00		
50	3,00		9,67	9,67	
25	3,00		10,33	10,33	
100	3,00			14,67	
T+ATB,ATF	3,00				29,00
Signification		1,00	0,73	0,09	1,00

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (E)

<b>Bactérie5 Salmonella</b>					
Test de Tukey					
concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
		1	2	3	4
T-DEMS	3,00	0,00			
13	3,00		8,00		
50	3,00		10,33	10,33	
25	3,00		11,67	11,67	
100	3,00			12,33	
T+ATB,ATF	3,00				27,33
Signification		1,00	0,06	0,51	1,00

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (F)



## champignons 1 Condidat

Test de Tukey

concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
T-DEMS	3,00	0,00		
13	3,00		11,00	
25	3,00		12,33	
100	3,00		16,67	
50	3,00		17,33	
T+ATB,ATF	3,00			29,33
Signification		1,00	0,40	1,00

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

## (G)

## champignons 2 Aspergillus

Test de Tukey

concentrations	N	Sous-ensemble pour alpha = 0.05		
		1	2	3
T-DEMS	3,00	0,00		
13	3,00	9,67	9,67	
25	3,00	10,33	10,33	
50	3,00		15,67	
100	3,00		19,00	19,00
T+ATB,ATF	3,00			31,67
Signification		0,16	0,24	0,06

Les moyennes des groupes des sous-ensembles homogènes sont affichées.

a. Utilise la taille d'échantillon de la moyenne harmonique = 3,000.

(Annexe, 2) : Photo numérique montre (Micro-pipette 10 ml)



Idéal pour pipeter des liquides délicats.

- Spécialement conçue pour des liquides de haute densité, viscosité ou pression de vapeur
- Avec capillaires et pistons jetables
- Micropipette à déplacement positif empêchant toute contamination par des aérosols, des échantillons ou de la pipette
- Piston mobile dans un capillaire en plastique directement en contact avec le liquide
- Pas de gouttes résiduelles
- Crochet ergonomique
- Agréable à manier grâce au design de la poignée, large et ergonomique
- Ecran bien visible pendant le pipetage, il est donc inutile de tourner la pipette pour régler ou lire le volume

**(Annexe, 3) :** Photo numérique montre le traitement curatif d'infections sévères dues à des espèces bactériennes identifiées ou suspectées, microbiologiquement sensibles à la gentamicine



# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

- (ADOUANI. Et MERGHADI. I, 2021), « Étude des activités biologiques des extraits et l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus ». Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université Larbi Ben M'hidi d'Oum el Bouaghi, P1
- Association Française de Normalisation (Afnor), 2000. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». Tome 2 : Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. AFNOR. Paris.
- AFNOR NF T75-225 - <http://sagaweb.afnor.org.bases-doc.univ-lorraine.fr/fr>
- Anton R et Lobstein A. (2005), « Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles ». Tec & Doc, Paris, 522.
- Ait Mbarek L, Ait Mouse, H., Elabbadi N, Bensalah M, Gamouh, A, Aboufatima R, Benharref A, Chait A, Kamal M., Dalal A, Zyad A. 2007. « Anti-tumor properties of blackseed (Nigella sativa L.) extracts ». Brazilian Journal of Medical and Biological Research:839-847.
- Baba Aïssa F. (1990). « Les plantes médicinales en Algérie ». P 67.
- Batish, Daizy R., SINGH, Harminder Pal, KOHLI, Ravinder Kumar Et KAUR, Shalinder. 2008. « Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecology and Management ». Décembre 2008. Vol. 256, n° 12, pp. 2166-2174.
- Baudoux, D, 2008. « L'aromathérapie se soigner par les huiles essentielles ». Bruxelles : Ed. Amyris.
- Bekhechi, C. Abdelouahid, D, 2014. « Les huiles essentielles ». Office des publications universitaires p 55.
- Belaiche, P, 1979. « Traité de phytothérapie et d'aromathérapie ». Tome1 : l'aromatogramme. Ed. Maloine, Paris.
- Beirão & Bernardo-Gil, 2006 Beirão ARB. and Bernardo-Gil MG, 2006. « Antioxidants from Lavandula luisier 2<sup>nd</sup> Mercosur Congress Engineering. on Chemical Portugal. 8p.
- Benggoutan, 2005- « Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments ». Mémoire magister. Université Mentouri de Constantine.118p.
- Benjilali B. (2004), « Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements ». Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.

- Bey Ould Sid Said.Z.2014. « Activité biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus ». Mémoire de magister en alimentation et technologie alimentaires. Bejaia, Université abderahmane Mira.P64
- Bigendako M.J. 2004. « Identification et Zonage des Eucalyptus Globulus au Rwanda ». Consultant pour Chemonics International Inc.
- Bouhafis M., Hamlaoui A., Bouassid S,2014. "Etude l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes ». Mémoire licence académique. El-Oued.45p.
- Bruneton J. (1993). « Plantes Médicinales : Phytochimie, Pharmacognosie ». 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, New York. Pp914.
- Bruneton, J, 1999. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales », 3<sup>ème</sup> éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Bruneton. J, (2002). « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales »", 3<sup>ème</sup> édition. Pp526.
- Burt, S. 2004. « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in Foods” - a review. Int. J. Food Microbiol. 94, 223-253.
- Chalchat et al., 1997 Chalchat J.K., Carry L. P, Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997) – « Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res., 9: 67-75
- Chiasson H et Beloin N, 2007. « Les huiles essentielles, des biopesticides Nouveau genre ». Bull. Soc. entomo du Québec, Antennae vol14, n°1, pp: 3-6.
- Chun S. S., Vатtem D.A, Lin Y.T, Shetty K. (2005). « Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process. Biochem. 40 : 809-816.
- Cohen. D, 2013. « Les huiles essentielles à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né ». Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier de Grenoble. p 6,7.
- Cox et al, 2000 Cox SD, Mann CM., Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR. and Wylie SG, 2000. « The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology. 88: 170-175.
- Daroui-Mokaddem H, 2012. « Etude phytochimique et biologique des espèces : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrnum olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae) »". Thèse de Doctorat. Option : Biochimie appliquée. Université Badji-Mokhtar, Annaba.
- Degrysea. C, Delpla. I, Voinier M.A 2008. « Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles ». Atelier santé et environnement-IGS-EHESP.P9.

- Djenne, D, Lefsih, K, Yangüela, J. et Roncalés, P.2011. « Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidis CECT 4300 des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, de Lavandula angustifolia et de Satureja hortensis ». Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à  $7 \pm 1$  °C. Phytothérapie.16 novembre 2011. Vol. 9, n° 6, pp. 343-353.
- Duraffourd C, D'Hervicourt L. et Lapraz J. C. (1990). « Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques ». 2<sup>ème</sup> éd. Masson, Paris.
- Emberger, L. « Travaux de botanique et d'écologie \$ L ». (1971).
- European Scientific Cooperative on Phytotherapy. ESCOP. « Monographs Second Edition". Second Edition 2009. ESCOP, 2009.
- Madhavi DL, Deshpande SS. & Salunkhe DK, 1996. « Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives». Marcel Dekker, Inc. New York. 65p.
- Meksem Nabila. (2018). « Etude de l'effet Biopesticide Des Extraites Naturels de deux plantes de la famille des Myrtacees : Eucalyptus globulus. Eucalyptus camaldulensis ». Thèse de Doctorat en Toxicologie Fondamentale et Appliquée. Université BADJI MOKHTAR-ANNABA. pp18.
- Mishra A K, Sahu N, Mishra A, et al.2010. « Phytochemical Screening and Antioxidant Activité of essential oil Eucalyptus leaf pharmacognosy Journal». Vol.2, n° 16, pp. 25-28.
- Elaissi A, Rouis Z., Salem NA., Mabrouk S., Ben Salem Y., Salah KB., Aouni M.
- Ettayebi K., El Yamani J., Rossi-Hassani B. D. (2000). « Synergistic effects of nisin and thymol on antimicrobial activities in Listeria monocytogenes and Bacillus subtilis ». FEMS Microbiology Letters.183:191-19
- Farhat F, « Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities ». BMC complementary and alternative medicine.12:8.
- Farnworth N R, Akerele O, Bingel A S., Soejarto D D, Guo Z. (1986). Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé, 64(2), 159-175.
- Fabre M C., Genin A., Merigioux J., Moget E. (1992). « Herboristerie familiale». P 53.
- Fathy A.F.A., Abdelbaki M.M., El Warraki A.G. and Abbas S. (1965). « Studies on the essential oil of Rosemary, 1- isolation of Rosemary oil». Annals of Agri. Sciences, Faculty of Agri., University of Cairo, 137-153.
- France-Ida J. (1996). « Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles ». Info-essence. 3: 5-6.

- Friedman M, Henika P. R., Mandrell R. E. (2002). « Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* ». *J. Food Prot.* 65 : 1545-1560.
- Gilles, P. 2000. « Cultiver le palmier dattier ». Ed CIRAS. 120 p.
- Guinoiseau E, 2010. « Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action ». Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. 50p.
- Hammer KA., Carson CF., Riley TV. 1999. « Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts ». *J. Appl. Microbiol.* 86: 985–990.
- Harkat-Madouria L, Boudria A, Madani K, Bey-Ould Si Said Z, Rigou P., Grenier D., Grenier D, Allaloua H., Reminia H., Adjaouda A., Boulekbache-Makhlouf L. (2015). « Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria ». *Industrial Crops and Products*: 78.148-153
- Hussain AI., Anwar F., Chatha SAS., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam PS., 2010. « *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology.* 41: 1070-1078.
- Huignard J., Lapied B., Dugravot., Magnin -Robert M et Ketoh G, K, 2008. « Modes d'action neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risque liés à leur utilisation in Biopesticide d'origine Végétale ». Ed. Lavoisier, TEC & DOC, Paris, pp : 219-230.
- Hurtel, J.M. (2001). « Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles».
- Kohen et Nyska, 2002 Kohen R., Nyska A, 2002. « Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification». *Toxicologic Pathology.* 30: 620-650.
- Kimks. Chung BJ, Kimhk. 2000. « A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly»... *Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, Pests and Diseases*, (1): 41-46.
- Kumar, Peeyush, MISHRA, Sapna, MALIK, Anushree et SATYA, Santosh. « Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*) ». *Acta Tropica.* Mai 2012. Vol. 122, n° 2, pp. 212-218.
- Lagunez-Rivera L. (2006). « Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe ». Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.



- Lakhdar, L, 2015. « Evaluation de L'activité Antibacterienne d'huiles essentielles Marocaines Sur Aggregatibacter actinomycetemcomitans : Etude in vitro ». Thèse de Doctorat. Université de Rabat. Maroc.
- Lucchesime . Chematf , Smadja , J, 2005. « Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydrodistillation ». J. Chromatogr. A1043, 323-327. Cité par Piochon M. 2008.
- Luís A, Duarte A, Gominho J., Domingues F, Duarte A P. (2016). « Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils ». Industrial Crops and Products.10-055.
- Menager H. (1952). « Les Eucalyptus dans le Gharb (Marc occidental). Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée. pp321-322.
- Metro A.1970. « Les eucalyptus dans le monde méditerranéen ».Ed.masson et cie.Paris.p513.
- Paré J. (1997) – « Procédé assisté par micro-ondes ». Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, 4 : p.4.
- Pauline Erau.(2019). « L'Eucalyptus : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'Officine ». Thèse de Docteur En Pharmacie. La Faculté de Pharmacie de Marseille pp 40-77.
- Paris M, Hurabielle., 1981. « Abrégé de matière médicale.Pharmacognosie ». Tome.Ed. Masson, Paris. France. 339 p.
- Quezel, P, Santa, S, 1963. « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale ». Tome II Edition. CNRS. Paris. P 636- 637.
- Raho B G., Benali M. (2012). « Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of Eucalyptus globulus against Escherichia coli and Staphylococcus aureus ». Elsevier.Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2(9). P 739-742.
- Rudolf E. (1968). « Gas-liquid chromatography of terpenes XVI, the volatile oil of the leaves of Juniperus Aster ». Ashee . Can. J. Chem., 46 (5) : 83-679.
- Sallé, Jean-Luc, 1991. « Les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie ». Paris: Frison-Roche,
- Scheffer J.J.C. (1996). « Various methods for the isolation of essential oils ». Phytother. Res., 10: S6-S7.
- Schnitzler, P, Schön, K. Et Reichling, J. 2001. « Antiviral activity of Australiantea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Die Pharmazie. avril 2001. Vol. 56, n° 4, pp. 343-347. PMID: 11338678.

- Sugumar, Saranya, Ghosh, Vijayalakshmi, Nirmala, M. Joyce, Mukherjee, Amitava Et Chandrasekaran, Natarajan.2014. « Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: Antibacterial activity against Staphylococcus aureus and wound healing activity in Wistar rats ». Ultrasonics Sonochemistry. Vol. 21, n° 3, pp. 1044-1049.
- Taboukouyout H. 2012. « Valorisation d'huile essentielle d'Eucalyptus Globulus extraite par deux méthodes différentes ». Thèse de doctorat, Université de Djelfa -ZianeAchour. Algérie, 23 - 52 p.
- Tesche S, Metternich F, Sonnemann U, Engelke J C, Dethlefsen U. (2008). « The value of herbal medicines in the treatment of acute non purulent rhinosinusitis. results of a double blind, randomised, controlled trial ». European Archives of Oto-Rhino-Laryngology.
- Toloza, Ariel C., Lucía, Alejandro, Zerba, Eduardo, Masuh, Hector et Picollo, María Inés.2010. « Eucalyptus essential oil toxicity against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) ». Parasitology Research. janvier 2010. Vol. 106, n° 2, pp. 409.
- Tothik , Bellks , Holeyamc, Birchprj, 2003. « Soft rot erwiniae: from genes to genomes. Mol Plant Pathology 4: 17-30.
- Ultee A., Slump R. A, Steging G. Smid E. J. (2000). « Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice ». J. of Food Protection. 620-624.
- Vangelder V. 2017. « L'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de santé mineurs chez l'adulte à l'officine ». Thèse de doctorat, Université Lille 2, France ,41 p.
- Vernon F.et Richard H. (1976) . « Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles ». APRIA, 2 (10) : 151-166
- Viaud H. (1993). « Les huiles essentielles, qualité distillation ». GNOMA, Revue électronique. [www.nature-helps.com/France/viaud2.htm](http://www.nature-helps.com/France/viaud2.htm)
- Vilela, Georgia Rocha, De Almeida, Gustavo Steffen, d'Arce, Marisa Aparecida Bismara Regitano, Moraes, Maria Heloisa Duarte, Brito, José Otávio, Da Silva, Maria Fátima Das G.F, Silva, Sebastião Cruz, De Stefano Piedade, Sônia Maria, Calori-Domingues, Maria Antonia Et Da Gloria, Eduardo Micotti. 2009. « Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill, against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare ». Journal of Stored Products Research. Vol. 45, n° 2,
- Wichtel M. et Anton R. (1999). « Plantes thérapeutiques : tradition, pratiques officinales, science et thérapeutiques ». Ed. Tec et Doc.
- Wendakoon, C. N., Sakaguchi, M, 1995. « Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices ». J. of Food Protection. 58: 280– 283.

- Yang, Young-Cheol, CHOI, Han-Young, CHOI, Won-Sil, CLARK, J. M. et AHN, Young-Joon. 2004. « Ovicidal and Adulticidal Activity of Eucalyptus globulus Leaf Oil Terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: %Pediculidae) ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. Vol. 52, n° 9, pp. 2507-2511.
- Zhou L J, Li F R., Huang L J, Yang Z R, Yuan S, Bai L H. (2016). « Antifungal Activity of Eucalyptus Oil against Rice Blast Fungi and the Possible Mechanism of Gene Expression ». *Pattern.NCBI.Molecules*.