

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

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'étude

**En vue d'obtention du diplôme de Master en Science de la Nature et
de la Vie**

Filière : Biotechnologie

Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

***Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de
l'eucalyptus radié ;Eucalyptus radiata.***

Réalisé par : M^r Boulazreg Mohamed Islam

M^{lle} Bouchaour Soumia

Date de soutenance : 24/07/2023 devant le jury composé de :

M^{er} Bendali.A	MAA	Président	Université de Blida 1
M^{me} Moumene.S	MCA	Examinatrice	Université de Blida 1
M^{me} Ghanai.R	MCB	Promotrice	Université de Blida 1

Année universitaire 2022 – 2023

à la mémoire de mon défunt frère

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos études. Nous remercions nos chers parents, qui ont toujours été là pour nous. Nous remercions nos frères et sœurs pour leurs encouragements.

À tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude. Nous ne saurions présenter ce travail sans exprimer notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à son aboutissement, nous remercions vivement toutes les personnes qui ont formé avec nous une équipe formidable dans la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements avec un grand honneur et un grand plaisir à notre chère enseignante et promotrice Madame **Ghanai Rafika**, Maitre de conférence B à l'université de Blida 1. Pour sa présence, son esprit scientifique, ses précieux conseils et surtout ses encouragements pour réaliser ce travail.

Nous désirons aussi remercier **Mr Bendali Abdelaziz** Maitre-Assistant A à l'université de Blida 1, notre chef d'option qui a voulu nous faire l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous voudrions adresser nos vifs remerciements à Madame **Moumene saida** Maitre de conférences A à l'université de Blida 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je souhaite avant tout remercier ma prof de stage Mme **DR FERCHICHI** Pour le temps qu'elle a consacré à nous apporter les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche.

Mme Amina Louahem est vivement remerciée pour toute l'aide qu'elle a apportée pour la réalisation de ce mémoire.

A tous ces intervenants, nous présentons nos remerciements, nos respects et notre gratitude pour leur confiance et leur soutien inestimable.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail

À ma précieuse mère *Rachida*

À mon cher père *Ali*

À ma chère grand-mère

Que dieu le plus puissant les protèges et les gardes pour moi.

À tous mes frères et mes amis, spécialement

A toute ma famille.

Islam

Dédicace

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chers sœur et frères pour leurs encouragements permanents, leur soutien moral,

et leur appui.

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

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Soumia

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'activité antimicrobienne par la méthode de l'aromatogramme vis-à-vis trois souches bactériennes (*Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia-coli*) fournies par le laboratoire d'hygiène blida de l'huile essentielle de *Eucalyptus radiata* et L'extraction est réalisée par entraînement à la vapeur d'eau

Les résultats de Rendement est de 0.1% et du test antimicrobienne montrent que les bactéries testées sont sensibles à l'huile (avec des diamètres d'inhibition qui varient entre 9.33mm et 37.33 mm) sauf pour *Staphylococcus Aureus* et qui se montrent résistantes à la concentration minimale de 20% et la dose de 0.2ml les deux autres souche *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia-coli* sont résistante aux différents concentration de l'huiles essentielles (80 , 60 , 40 et 20 %).

Mots clés

Activité antimicrobienne, CMI , Huile essentielle, *Eucalyptus radiata*, entraînement à la vapeur d'eau, Rendement

Summary

The objective of our work is to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil of a medicinal species, *Eucalyptus radiata*, and Extraction is carried out by steam entrainment and the method of aromatogram vis-à-vis three bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia-coli*) The results of Yield is 0.1% and the antimicrobial test show that the three bacteria tested are sensitive to essential oil with inhibition diameters varying between 9.33mm and 37.33 mm. The strain *Staphylococcus aureus* resists a minimum concentration of 20% of essential oil thus only at the dose of 0.2ml the other two strains *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia-coli* are resistant to different concentrations of essential oils (80, 60, 40 and 20%).

Keywords

Antimicrobial activity, CMI, Essential oil, *Eucalyptus radiata*, steam entrainment, Yield

المخلص

الهدف من عملنا هو تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيت الأساسي لأنواع طبية، *Eucalyptus radiata* ، ويتم الاستخراج عن طريق السحب بالبخار بطريقة الرسم العطري مقابل ثلاث سلالات بكتيرية

(*Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia-coli*)

تظهر نتائج العائد هو 0.1% و الاختبار المضاد للميكروبات أن البكتيريا الثلاث التي تم اختبارها حساسة للزيت العطري مع أقطار

تنشيط تتراوح بين 9.33 مم و 37.33 مم. تقاوم سلالة المكورات العنقودية الذهبية تركيزًا لا يقل عن 20% من

الزيت العطري وبالتالي فقط بجرعة 0.2 مل . السلالتان الأخريان *Pseudomonas aeruginosa* ، *Escherichia-coli* مقاومة لتركيزات مختلفة من الزيوت الأساسية (80 ، 60 ، 40 و 20%).

الكلمات المفتاحية

النشاط المضاد للميكروبات ، الزيت العطري ، *Eucalyptus radiata* ، - الرسم العطري ، العائد

Liste des figures

Figures	Page
Figure01 : Schéma d'hydrodistillation.	08
Figure02 : Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.	09
Figure03 : <i>Eucalyptus radiata</i> .	15
Figure04 : Feuilles d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	16
Figure05 : Gravure d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	16
Figure06 : fleur d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	16
Figure07 : fruit d' <i>Eucalyptus radiata</i> .	17
Figure08 : <i>Eucalyptus radiata</i> dans la zone de récolte.	22
Figure09 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme.	26
Figure10 : diamètres d'inhibition de l'huile essentielle d' <i>E. radiata</i> (en mm) à différentes concentrations.	33

Liste des tableaux

Tableaux	Pages
Tableau01: Localisation des huiles essentielles dans les organes de la plante.	06
Tableau02: Souches bactériennes utilisées dans notre étude.	22
Tableau03: caractéristique organoleptique de l'huile essentielle <i>d'Eucalyptus radiata</i> .	30
Tableau04: le diamètre d'inhibition de l'huile essentielle pour(100%) d' <i>Eucalyptus radiata</i> (en mm).	31

Liste des abréviations

HE	huiles essentielles
Eau, phyl	Eau physiologique
RHE	Rendement en huile essentielle
MH	Mueller-Hinton
ISO	International Organization of Standardization
ATCC	American Type Culture Collection
d20	Densité relative à 20°C.
AFNOR	Association Française de Normalisation

SOMMAIRE

Remerciements

Résumé

Lite des tableaux

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction.....01

Chapitre I : les huiles essentielles

I.1. Définition.....05

I.2.Localisation05

I.3. Rôles06

I.4. Composition chimique06

I.4.1.terpènes et trapézoïdes.....07

I.4.2.composés aromatiques07

I.5.Procédés d'obtention et d'extraction07

I.6.Analyse des huiles essentielles et critères de qualité.....09

I.7.Domaines d'utilisation10

I.8. Activités biologique11

Chapitre II : Eucalyptus radiata

II.1 .Généralité.....14

II.2 .Habitat.....14

II.3. Systematique.....14

II.4.Description botanique15

II.5.Morphologie17

II.6. Utilisation d'*Eucalyptus*18

Chapitre III: Matériel et Méthodes

III.1 Matériel.....	21
III .1.1 Matériel végétal.....	21
III .1.1.1 Présentation de la zone	21
III .1.1.2 Souches microbiennes.....	22
III.2 Méthodes.....	22
III. 2.1. Extraction des huiles essentielles.....	23
III. 2.2. Calcul du rendement	23
III . 2.3 Caractérisation des huiles essentielles	23
III . 2.3.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	23
III . 2.3.1.1 Mesure de pH.....	24
III . 2.3.1.2.Mesure de la densité relative	24
III .2.4 Activité antimicrobienne	24
III .2.4.1.Aromatogramme.....	24
III .2.4.2. Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice (CMI).....	27

Chapitre IV : Résultats et Discussion

IV.1 .Rendement.....	29
IV .2. Caractéristiques physico-chimiques.....	29
IV.3.Activité antimicrobienne.....	30

Conclusion.....	36
------------------------	-----------

Références Bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

Les plantes médicinales sont des plantes médicinales au sens de la Pharmacopée européenne, dont certaines au moins possèdent des propriétés médicinales. Il est rare que la plante soit utilisée entière ; Très souvent, cela implique une ou plusieurs parties. Certaines plantes aux propriétés médicinales peuvent également être utilisées dans l'alimentation ou les épices ou encore dans la préparation de boissons hygiéniques. Ces différents usages concernent soit les mêmes parties de la plante, soit des parties différentes. (Werner, 2008).

Les plantes aromatiques et médicinales sont utilisées dans différents domaines : industrie alimentaire, conserverie, pharmaceutique et phytothérapie Ils sont une source inépuisable de molécules médicamenteuses aux propriétés spécifiques qui leur confèrent un caractère unique. Les procédés d'extraction permettent d'obtenir ces molécules sous une forme liquide et concentrée appelée « huile essentielle ». (Duraffourd, 1997)

Les huiles essentielles ont été découvertes avec l'avènement et la connaissance de la chimie et d'autres innovations scientifiques. C'est pour cette raison que les industries de la parfumerie, de la santé et de la cosmétique s'intéressent de plus en plus aux huiles essentielles. L'huile essentielle contient en réalité plusieurs molécules différentes. Cela rend chaque HE si polyvalente et riche en propriétés, contrairement à un médicament qui ne contient généralement qu'une seule molécule à usage unique. (Festy, 2014).

L'Algérie dispose d'un important patrimoine végétal grâce à sa richesse et sa diversité en régions côtières, massifs montagneux, plateaux, steppes et oasis sahariennes. Il existe plus de 3 000 espèces de plantes. Parmi ces ressources naturelles, les plantes aromatiques et médicinales prennent peu à peu leur place dans l'économie nationale et ouvrent de nombreuses distilleries à travers le pays.(Benabdelkader,2012).

L'Eucalyptus est l'une des plantes aromatiques et médicinales les plus couramment utilisés dans le monde (Pitman,2004). Il existe actuellement plus de 600 à 800 espèces dont *Eucalyptus radiata*, cette espèce est répartie dans le nord de l'Algérie.(Benabdelkader,2012).

Ce travail a pour objectif l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus radiata* contre *quelques* souches bactériennes pathogène à l'homme

Notre travail s'articule en deux chapitres :

Le premier chapitre est concerné l'étude d'*Eucalyptus radiata* (ou eucalyptus radié), en général, et de son HE en particulier.

Le deuxième chapitre traite des informations générales sur les HES, ainsi que les processus d'extraction, afin de mettre l'accent sur les connaissances liées au sujet de notre travail. Les propriétés physico-chimiques et l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus radiata* extraite et caractérisée dans des travaux antérieurs sont discutées.

Enfin, ce mémoire e se terminera par une conclusion et quelques perspectives.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01

Les huiles essentielles

1. Définition

Parmi les métabolites secondaires, les huiles essentielles ont été les plus étudiées et d'entre elles ont une importance commerciale majeure. Ce sont des mélanges naturels, généralement dominés par des composés mono- ou sesquiterpéniques, rarement par des diterpènes et parfois par des phénylpropanoïdes. Le nom d'huile essentielle a été inventé au XVI^e siècle par le réformateur médical suisse Paracelsus von Hohenheim, qui a identifié le médicament Quinta comme ingrédient actif d'Essentia. (Guenther, 1948).

L'Association française de normalisation (**AFNOR**) définit l'ET comme un produit "obtenu à partir de matière végétale par entraînement à la vapeur d'eau ou par des procédés mécaniques utilisant l'épicarpe des agrumes ou par distillation sèche"

Selon la Commission Européenne de Pharmacopée (01-2008:2098) : l'huile essentielle est « un produit de parfumerie, généralement de composition complexe, obtenu à partir de la matière végétale botaniquement définie, tant par entraînement à la vapeur que par distillation sèche ou sèche, plus appropriée procédé mécanique sans chauffage. L'huile essentielle est très souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique qui n'entraîne pas de modification significative de sa composition. (Benoit, 2015).

2. Localisation

Les huiles essentielles se trouvent principalement dans les plantes supérieures. Ils peuvent être stockés dans tous les organes : fleurs, feuilles, rhizomes, fruits, écorces et graines (Guignard, 2000).

H'ES se trouve dans tous les organes de la plante :

- sommités florales (menthe)
- écorce (cannelle)
- racines (vétiver)
- rhizomes (gingembre)
- fruits (anis). (Bruneton, 1999)

En principe, toutes les parties des plantes contiennent des huiles essentielles, mais elles sont souvent principalement contenues dans l'une d'elles.

Dans de nombreuses plantes aromatiques, les huiles essentielles se trouvent dans les poils glandulaires qui poussent à la surface des feuilles et d'autres organes végétaux. (Werker, 1985).

Les HEs sont présents en très faible quantité : au plus 1 à 2 % du poids sec. Ils peuvent être stockés dans divers organes végétaux : feuilles d'angiospermes (plantes à graines), racines, écorces, etc. (Couderc V, 2001).

Tableau 01 : Localisation des huiles essentielles dans les organes de la plante.

L'organe	Genre	L'espèce
sommités florales	Menthe	Mentha spicata
Tiges	Romarin	Lamiacées
Ecorce	Cannelle	Cinnamomum verum
Racine	Vétiver	Vétiver - Chrysopogon zizanioides
Rhizomes	Gingembre	Zingiber officinale
Fruits	Anis	Pimpinella anisum
Fleurs	Giroflier	Syzygium aromaticum
Graines	Muscadier	Myristica fragrans

3. Rôles

Le rôle biologique des huiles essentielles dans la plante n'est pas bien défini, il est probable qu'elles jouent un rôle écologique. (Dorosso, 2002)

Ils permettent entre autres à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Ils ont des caractéristiques attractives ou dissuasives pour les prédateurs (herbivores, insectes, etc.). Ils perturbent la pollinisation avec leur odeur. Grâce à son action antiseptique, le protège les plantes en inhibant la prolifération des bactéries et des parasites du sol. (Kaloustian, 2012).

4. Composition chimique

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques qui se dissolvent les uns dans les autres pour former des solutions homogènes. Ces

ingrédients appartiennent presque exclusivement à deux groupes aux origines biogénétiques différentes : d'une part au groupe des terpénoïdes et d'autre part au groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane . (Dorosso ,2002).

4.1. Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés comme métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base : isoprène ; Hémiterpènes (C5), Monoterpènes (C10), Sesquiterpènes (C15), Diterpènes (C20). Leurs constituent le plus grand groupe. (Brunton ,1995).

- Monoterpènes

Les plus de 900 monoterpènes connus se répartissent principalement en 3 catégories structurales :

monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Parfois, ils représentent plus de ,90% de l'huiles essentielles. Il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées dans cette classe de composés : Alcools, Aldéhydes, Cétones, Esters, Ethers, Peroxydes, Phénols. (Brunton,1995).

- Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes composée de trois unités d'isoprène. ont également le suffixe "-ene". Les sesquiterpènes peuvent être acycliques ou contenir un à deux cycles . Ils sont présents dans huiles essentielles dans des proportions plus faibles que les monoterpènes. En général, ils agissent comme un facteur de défense chez les plantes.(Laurent,2017).

4.2. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins présents dans l' huiles essentielles . Les plus courants sont l'allyl et le propényl phénol. Ces composés aromatiques représentent un groupe important car ils sont généralement responsables des propriétés organoleptiques des huiles essentielles. Un exemple est l'eugénoïl, qui est responsable de l'odeur des clous de girofle . (Chouiteh ,2012).

5 .Procédés d'obtention et d'extraction des huiles essentielles

Le processus d'extraction de l'essence végétale joue un rôle crucial dans la nature des produits d'extraction. Jusqu'à présent, divers procédés d'obtention de composants végétaux sont connus et utilisés. (Wang, 2008).

L'extraction des huiles essentielles à des fins pharmaceutiques est un procédé qui doit produire des produits volatils, de bonne qualité, délicats, exempts d'additifs ou de solvants pouvant être nocifs pour la santé. Par conséquent, la pharmacopée autorise deux méthodes d'extraction, à savoir : l'expression et la distillation (Bakkalia et al., 2008, Hussain, 2004).

5.1 .Hydrodistillation

La matière végétale est plongée directement dans un alambic rempli d'eau, qui repose sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition.

Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans le refroidisseur et ensuite récupérées dans le réservoir de parfum. Cela crée un mélange d'huile essentielle et d'eau, qui se sépare en deux phases en raison de la différence de densité (Silou et al. 2004)

Au laboratoire le système d'hydrodistillation, équipé d'une cohobe qui est généralement utilisée pour l'extraction des HEs est le Clevenger.

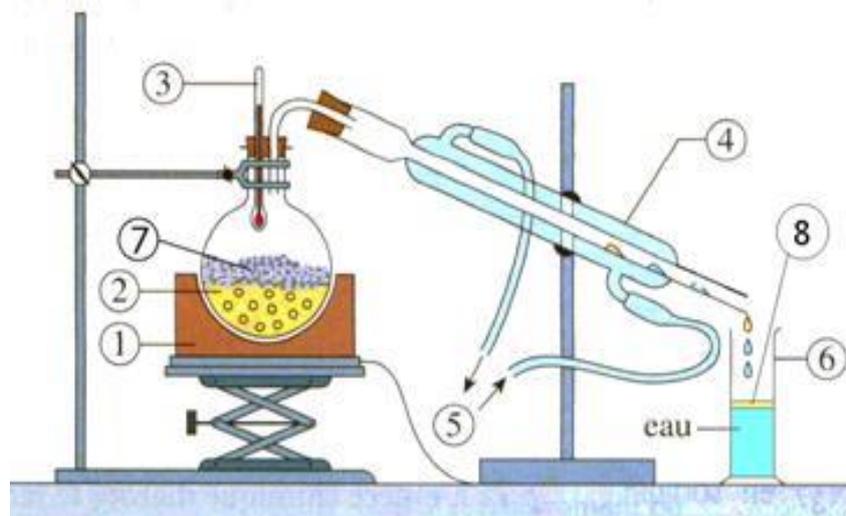


Figure 01 : Schéma d'hydrodistillation (<https://guy-chaumeton.pagesperso-orange.fr/controle/2dcont/contcommun01c.htm/>)

1. chauffe-ballon
2. Eau en ébullition
3. Thermomètre
4. réfrigérant à eau
5. Arrivée et sortie de l'eau
6. Epprouvette graduée
7. Fleur de lavande
8. Huile essentielle de lavande Ou essence de lavande.

5.2 Entraînement à la vapeur d'eau

Avec ce type de distillation, la substance végétale ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur. La vapeur d'eau endommage la structure cellulaire de la plante, libérant ainsi des molécules volatiles qui sont ensuite transportées vers le refroidisseur (Silo et al. 2004).

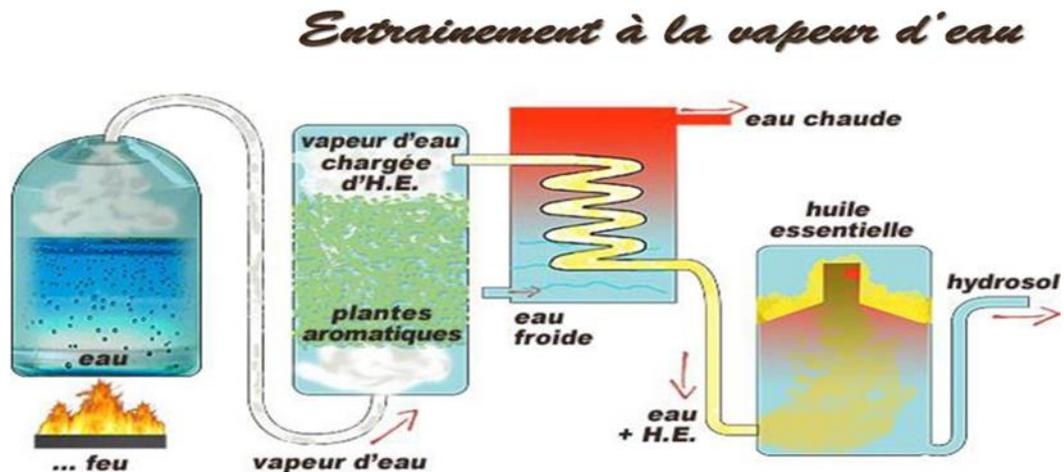


Figure 02: Distillation par entraînement à la vapeur d'eau. (<https://slideplayer.fr/slide/11862954/>).

6. Analyse des huiles essentielles et critères de qualité

Les huiles essentielles sont des concentrés d'actifs et présentent des différences significatives au niveau des effets thérapeutiques, de la toxicité et du prix. Les patients se tournent de plus en plus vers l'aromathérapie en raison de la méfiance envers certains médicaments allopathiques. Cependant, il est essentiel que les pharmaciens possèdent des connaissances approfondies pour conseiller les patients et proposer des huiles essentielles de haute qualité. Les critères importants incluent l'identification précise de la plante, les méthodes de culture, la récolte et l'extraction des huiles essentielles. Les huiles essentielles sont disponibles en pharmacie, mais également en dehors du circuit pharmaceutique, ce qui souligne l'importance de garantir leur qualité thérapeutique. (Laurain-Mattar, 2018).

* Les autres opérations :

-La rectification est une opération qui a pour but d'augmenter artificiellement la concentration d'un principe actif en particulier.

-La purification consiste à éliminer une partie des terpènes présents dans l'huile essentielle pour Réduction de la toxicité (risque d'épilepsie ou de photosensibilité).

A rapporté que les critères définissent la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

-Chémotype (chemotype) représentant différents panels de molécules chimiques que les plantes d'une même espèce peuvent produire lorsqu'elles sont exposées à des conditions de croissance différentes. Le chémotype dépend de l'exposition au soleil, de la température, de l'humidité , du type de sol, de la pression atmosphérique et de la photopériode.

-La partie de la plante à extraire est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, différentes parties de la plante n'ont pas une dotation uniforme de enzymes, ce qui entraîne des différences dans la composition des composants produits. Il faut donc indiquer la part prise en compte dans l'extraction huiles essentielles.

-Moment de la récolte : La récolte doit être effectuée lorsque les principes actifs les plus intéressants produits par la plante atteignent leur concentration maximale.

Conservation des huiles essentielles : Celle-ci doit se faire dans des flacons en verre hermétiques et opaques dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur, pour éviter qu'elles ne s'oxydent et polymérisent leurs composants Selon (Laurain-Mattar, 2018).

7 . Domaines d'utilisation

L'HE est utilisée dans divers domaines selon Nabati :

En médecine : comme médicament pour l'homme en urologie et dermatologie, dans les gastrites aiguës, contre la toux et les ulcères d'estomac, comme laxatif, contre les troubles du sommeil et nerveux, etc.

En agriculture : Certains arbres sont utilisés dans l'agriculture utilisée pour contrôler insectes et nématodes différents.

Dans les aliments : les huiles essentielles sont utilisées comme conservateurs alimentaires naturels. Cela est dû à la présence de composés aux propriétés antimicrobienne et antioxydante.

En cosmétique : l'HE est utilisée dans le secteur cosmétique, notamment pour la fabrication de parfums, compositions parfumantes pour détergents et parfumerie fonctionnelle.

8 . Activités biologique

Les huiles essentielles sont des extraits naturels qui possèdent un large éventail d'activités biologiques bénéfiques, notamment des propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, relaxantes et renforçant le système immunitaire.

8.1. Activité antibactérienne

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de Deux paramètres principaux : l'huile et sa composition chimique d'une part et Les micro-organismes d'autre part (Chaoui et Chegroune, 2019).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles leur est principalement associée Composition chimique, en particulier ses principaux composés volatils. Selon La complexité de sa composition chimique, tout indique que ce mode d'action est assez complexe et difficile à comprendre d'un point de vue moléculaire. Il est très probable que les deux Les composants des huiles essentielles ont leur propre mécanisme d'action (Bazzine et Benzaid, 2019).

Les HEs riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol sont de puissants effets antibactériens.(Khiari ,2018).

8.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des huiles essentielles a été démontrée par de nombreux auteurs contre moisissures allergènes, dermatophytes, champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*. Au total, champignons sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries .(Duarte ,2005).

8.3. Activité antivirale

Les virus sont généralement très sensibles aux molécules d'HE aromatiques telles que les monoterpénols et les monoterpènes. De nombreuses maladies virales graves traitées avec Huiles Essentielles ont montré des améliorations significatives.

L'activité antivirale de l'huile essentielle de *Mentha piperita* a été testée "in vitro" contre les virus de l'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2), une inhibition de 50% est obtenue à des concentrations allant de 0,002% à 0,008%. (Khiari, 2018).

8.4. Activité antioxydante

Lorsque l'on parle de l'action antioxydante des huiles essentielles, on distingue deux (02) types selon leur niveau d'efficacité : action de base et action préventive (intermédiaire). Les composés actifs primaires sont interrompus dans la chaîne d'oxydation autocatalytique. À l'inverse, les composés à effet préventif peuvent retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction de l'oxygène. (Khiari, 2018).

CHAPITRE02

Eucalyptus radiata

1. Généralités

L'Eucalyptus radié, Eucalyptus radiata, est un arbrisseau, plus ou moins grand. Il n'est en rien comparable avec l'immense *Eucalyptus globulus* qui lui peut atteindre les 50 mètres de haut. Originaire d'Australie, il est également présent en Afrique de Sud. Son écorce est fibreuse, grise et se détache en longs rubans. Les branches sont de couleur verte. Les feuilles vertes, étroites et longues, forment des pointes de lance une fois adultes mais lorsqu'elles sont juvéniles, elles sont plus arrondies. Elles dégagent une odeur de menthe poivrée lorsqu'elles sont malaxées, Les feuilles vertes, étroites et longues, forment des pointes de lance une fois adultes mais lorsqu'elles sont juvéniles, elles sont plus arrondies. Elles dégagent une odeur de menthe poivrée lorsqu'elles sont malaxées, Connue comme expectorant et anti-infectieux, *l'Eucalyptus radié* entre dans la composition de nombreux produits pharmaceutiques, notamment pour lutter contre les allergies et les bronchites, il est également anti-inflammatoire et insectifuge. (édition Vidal, 2010) (Leduc.s, 2017).

2. Habitat

Eucalyptus radiata est proche de *l'Eucalyptus globulus*. Il est également originaire d'Australie mais s'acclimate moins bien à nos régions ce pourquoi il est difficile d'en cultiver en Europe.

Les *Eucalyptus* craignent le froid (température inférieure à moins dix degrés Celsius) et aiment la lumière. Grâce à leur grande capacité d'absorption d'eau souterraine, ils sont utilisés afin d'assécher les marais (exemple en Corse) et ils assainissent les régions insalubres en supprimant les gîtes à moustiques combattant ainsi efficacement la malaria. Cette capacité à assécher les sols pose d'ailleurs problème en Australie et en Afrique. En effet, pendant les périodes de fortes chaleurs, de nombreux feux de forêts se déclarent dans les forêts *d'Eucalyptus* à cause de cette sécheresse. De plus, en réaction à la chaleur, les *Eucalyptus* libèrent leur huile essentielle dans l'atmosphère ce qui crée un phénomène nommé le « blue haze », ou brouillard bleu, qui est très inflammable. La chaîne de montagnes Greater Blue Mountains tiens d'ailleurs son nom de ce brouillard.

3. Systematique

Le genre *Eucalyptus* appartient à :

- L'embranchement des Angiospermes (qui se caractérise par la condensation des organes reproducteurs en une fleur ;
- La présence d'un ovaire enveloppant les ovules, et qui se développera pour donner un fruit ; par la double fécondation de l'ovule, qui donnera l'embryon et l'albumen.
- Eu dicotylédones supérieures (avec un pollen tri aperture)

Super Rosidées - Rosidées - Malvidées - l'ordre des Myrtales - la famille des Myrtacées (Oscar Bloch et Walther von Wartburg 1932 réédition de octobre 2012).

4.Description botanique

Nom Latin : *Eucalyptus radiata*

Nom français : *Eucalyptus radié*

On peut le trouver sous plusieurs formes : arbre d'une trentaine de mètre de haut, arbrisseaux ou buisson. Le tronc est gris-bleu et l'écorce se détache en longues bandes. Il apprécie particulièrement les sols drainés des hauteurs subtropicales. Les rameaux sont rougeâtres (**Figure 03**).



Figure 03 : *Eucalyptus radiata*

les feuilles jeunes opposées et sessiles et les adultes, pétiolées, alternes et falciformes. Le froissement des feuilles va dégager une agréable odeur de menthe poivrée (**Figure04 et 05**).



Figure 04: Feuilles d'*Eucalyptus radiata*.



Figure05 : Gravure d'*Eucalyptus radiata*.

il est classé dans les *eucalyptus* dits "peppermint". Les fleurs sont regroupées par 11 à 20. Elles apparaissent en été (octobre à janvier) et sont de couleur jaune crème. (**Figure 06**).



Figure 06: Fleure d'*Eucalyptus radiata*



Figure 07 :Fruit d'*Eucalyptus radiata*.

5.Morphologie

L'Eucalyptus radié (Eucalyptus radiata) est un arbre d'une trentaine de mètres de haut pouvant atteindre 50 m. (30) Son écorce est fibreuse, grise ou gris brun se détachant en longs rubans. Les jeunes branches sont de couleur verte. Les feuilles sont vertes, concolores, étroites, lancéolées, terminées en pointe et mesurent 7 à 15 cm de long sur 0,7 à 1,5 cm de large. Elles dégagent une odeur de menthe poivrée lorsqu'elles sont malaxées

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* n'est pas inscrit à la Pharmacopée Européenne (contrairement à celle d'*Eucalyptus globulus*). Elle est composée de 65 a 75 % d'oxydes (surtout 1,8-cinéole) et jusqu'à 2 % de sesquiterpènes ;1 % d'aldéhydes monoterpéniques,

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* n'est pas inscrit à la Pharmacopée Européenne (contrairement à celle d'*Eucalyptus globulus*). Elle est composée de 65a 75 % d'oxydes (surtout 1,8-cinéole) et jusqu'à 2 % de sesquiterpènes ;1 % d'aldéhydes monoterpéniques,

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* se rapproche beaucoup de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* du fait de sa composition et notamment pour leurs fortes concentrations en 1,8-cinéole. Elle est anti-infectieuse, anti-inflammatoire, et efficace contre de nombreux pathogènes .C'est un très bon antiseptique aérien qui est mieux supporté que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* car son odeur est moins forte, ce qui est notamment dû à une concentration un peu plus faible en 1,8-cinéole .*L'Eucalyptus radiata* arbore un tronc gris-bleu dont l'écorce se détache en longues bandes, le froissement de ses feuilles dégage une agréable odeur de menthe poivrée .Il existe de nombreuses études qui ont

permis de démontrer différents potentiels d'action d'*Eucalyptus radiata*. Ce document détaille dans un premier temps les propriétés anti inflammatoires de l'huile essentielle et dans un second temps ses propriétés respiratoires (JUERGENS U.R ,2008).

6 . Utilisation d'*Eucalyptus*

Cette espèce est la plus utilisée en pharmacie pour ses huiles essentielles.

L'usage traditionnel de *Eucalyptus* est reconnu par l'OMS, poursuit la thérapeute. L'arbre est également enregistré dans la liste des plantes médicinales de la Pharmacopée française. Les feuilles de *Eucalyptus* sont les parties utilisées en phytothérapie, généralement prélevées sur des branches âgées. La feuille *Eucalyptus* est surtout recommandée pour soigner les infections de l'appareil respiratoire. "*Ses feuilles très odorantes sont riches en huile essentielle dont le composant majeur est l'eucalyptol*" On utilise principalement *Eucalyptus* en Huile Essentielle. "Elle est antitussive et supprime l'irritation des bronches dans les bronchites aiguës et chroniques. Elle possède également une bonne activité antibactérienne." *Eucalyptus* s'utilise aussi bien par voie interne que par voie externe. "Si vous aimez les goûts particuliers et puissants, on peut donc faire infuser pendant 10 minutes 3 g de feuilles *Eucalyptus* dans 150 ml d'eau bouillante et en prendre deux fois par jour en cas d'inflammation des voies respiratoires." "En teinture-mère on prendra environ 15 ml deux fois par jour. Mais son utilisation majeure se fait par les huiles essentielles.

Eucalyptus est un arbre aux vertus antiseptiques et antibactériennes. Il agit également comme un fluidifiant et un expectorant, c'est-à-dire qu'il favorise l'évacuation des sécrétions bronchiques. Il est donc indiqué dans le traitement des inflammations des voies respiratoires telles que le rhume, la bronchite aiguë ou chronique, la toux grasse, la sinusite.(Bastanetto,2015)

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE03

Matériel et méthode

Cette étude vise à évaluer, in vitro, l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

L'expérimentation menée dans cette présente étude s'est effectuée durant une période de 03 mois, deux parties ont été effectuées, la première durant laquelle nous avons isolé et purifié les souches bactériennes testées, La deuxième étape pendant laquelle on a suivi l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au sein de l'entreprise commerciale BIOEXTRAPAMAL Oued Alleug, Blida.

L'activité antimicrobienne a été évaluée au niveau du laboratoire d'analyse médicale Dr.Ferchichi Larabaa Blida.

1 .Matériel

1-1 .Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de feuilles d'*Eucalyptus radiata* récoltées au niveau d'un arboretum situé à el merdja de Ouled Slama-Blida

La collecte a été réalisée durant le mois de Juillet 2022 qui correspond au stade floraison

1.1.1 Présentation de la zone

La wilaya de Blida se situe dans la partie nord du pays, dans la zone géographique du Tell central ,La région a un climat méditerranéen propice à l'agriculture, La localité de prélèvement des échantillons se situe à OULED SLAMA cette dernière est une commune de la wilaya de Blida, à l'est de la wilaya de Blida situé à environ 35 km au sud d'Alger, à environ 27 km à l'est de Blida, la commune est située au pied de l'Atlas blidéen, dans les extrémités sud de la plaine de Mitidja.

Elle s'allonge d'est en ouest sur une centaine de kilomètres et s'étire sur une profondeur variant de 5 à 20 km D'altitude moyenne de 50 m, elle présente une faible pente orientée vers la mer. Elle est divisée en deux unités physiques : la Basse Mitidja ou Mitidja Est et la Haute Mitidja (MATE et CAR/PAP 2006).

Ses sols fertiles bénéficient d'un climat tempéré de type méditerranéen et d'une pluviométrie suffisante. Grande plaine agricole, elle est consacrée à la culture des agrumes dans la partie orientale et à celle de la vigne dans la partie occidentale (Cote ,1996).



Figure 08 : *Eucalyptus radié* dans la zone de récolte.

1.1.2 Souches bactérienne

Les souches bactérienne retenues pour cette étude ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de Blida (**Tableau 02**).

Tableau 02 : Souches bactériennes utilisées dans notre étude.

Souches bactériennes	Reference	Gram
<i>E-coli</i>	ATCC8739	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	Positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	Négatif

2. Méthodes

2.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction est réalisée par entraînement à la vapeur d'eau, dans laquelle la vapeur est d'abord créée dans une chaudière, puis transférée dans un alambic contenant le matériel

végétal; en passant à travers cette matière la vapeur d'eau emporte avec elle des composants aromatiques volatils (El Haib, 2011).

Mode opératoire

Une quantité de la partie aérienne d'*Eucalyptus radiata* est répartie uniformément à l'intérieur d'un alambic, soutenu par une grille. La vapeur sortant de la chaudière est introduite dans l'alambic via un tuyau placé sous la grille. Le courant de vapeur ascendant passe à travers un lit de plantes, emportant l'huile essentielle avec elle. Le mélange huile-vapeur est entraîné jusqu'au condenseur où il est refroidi et condensé. Le distillat est recueilli dans un récepteur et sa température est maintenue constante au moyen d'un bain thermostatique. L'huile essentielle est séparée de l'eau de ce distillat (l'hydrolat) par décantation. Le condensat accumulé au fond du brûleur est périodiquement vidangé pour éviter tout contact avec les matières végétales.

2.2 .Rendement de l'huile essentielle

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle libérée par un poids donné de plantes sur une période de temps donnée. C'est le rapport entre le poids d'huile essentielle extraite et le poids de la matière végétale utilisée (Kebisi A, 2011) il est calculé selon la formule suivante:

$$R(\%) = \text{Masse(HE)} / \text{Masse (M V)} \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle.

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle.

Masse (MV) : masse du matériel végétal sec ou frais.

2.3 Caractéristiques physico-chimiques

L'observation à l'œil nu des huiles essentielles est effectuée pour évaluer la qualité de nos extraits. Nous avons effectué des tests analytiques, déterminant d'abord les propriétés organoleptiques (aspect, couleur, odeur) puis les propriétés physiques et chimiques (PH, densité, indice de réfraction et indice d'acide).

1. Mesure de pH

Le pH est mesuré par une méthode potentiométrique avec un pH mètre à l'aide d'une électrode au platine.

- Mode opératoire

Rincer la sonde du pH-mètre avec de l'eau distillée, puis la sécher avec du papier de soie, verser la solution à tester dans le bécher, remplir le récipient à moitié, puis plonger la sonde dans la solution. Une fois la lecture stabilisée, lire le pH.

2. Mesure de densité relative à 20°C

À l'aide d'une balance de chiffre d'affaires, pesez des quantités égales d'huile essentielle respectivement et eau à une température de 20°C (AFNOR, 2000).

- Mode opératoire

Nettoyer et sécher soigneusement le pycnomètre, puis déterminer la masse du pycnomètre vide . Remplir ensuite le pycnomètre jusqu'au repère avec de l'eau distillée.

Après la détermination de la masse, le pycnomètre est rempli d'eau distillée. Nettoyer et sécher le pycnomètre et remplir jusqu'au repère avec de l'huile essentielle. Ainsi, détermine la masse du pycnomètre contenant huile essentielle. Calcul La densité relative est exprimée par la formule suivant :

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

m_0 : la masse, (en gramme), du pycnomètre vide.

m_1 : la masse, (en gramme), du pycnomètre rempli d'eau.

m_2 : la masse, (en gramme), du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

2.4. Activité antibactérienne**2.4.1 Aromatogrammes**

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est réalisée par la méthode de l'aromatogramme. Cette méthode de diffusion sur disque est utilisée, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité ou la résistance des bactéries. (ouis ,2015).

Le principe de la méthode repose sur le pouvoir migratoire du composé testé en milieu solide dans une boîte de pétri, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'activité antibactérienne sur la cible est appréciée par la mesure de la zone d'inhibition (Labioud ,2016).

Mode opératoire

Revivification des souches microbiennes

L'activation des souches est une étape nécessaire avant de les utiliser en raison de leur activité.

Nulla biologique à l'état préservé visant à obtenir une culture jeune et pure. (susan, 1998).

Repiquage de souches

Pour les semis de 24 heures, les souches ont été conservées par inoculation en bandelettes sur gélose nutritive Puis Incubées pendant 24 h dans l'Étuve a 37° C .

Préparation de la couche du milieu Muller Hinton

*Dissoudre le milieu MH dans un bain-marie à 95 ° C.

*refroidir jusqu'à 45C°.

*ÉCOULER aseptiquement la première couche dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre à raison de trois boites par souche testée.

*Laisser refroidir et congeler sur la paillasse.

Préparation La suspension bactérienne

* à l'aide d'une pipette Pasteur, quelques-unes sont si bien et parfaitement isolées Une identique est prélevé et placé dans environ 1ml d'eau physiologique stérile.

* agité bien La suspension bactérienne préparée jusqu'à ce qu'ils se mélangent.

*appliquée sur le milieu M.H puis étalée sur toute la surface des boites à l'aide d'un écouvillon imbibé dans la suspension bactérienne.

Préparation disques d'aromatogrammes

Nous avons utilisé des disques de papier Wattman stériles d'un diamètre de 9 mm

* Imbibé les disques Imbiber avec l'huile essentielle à l'aide d'une pince stérile.

* Déposer les disques sur la couche du milieu MH qui forme un tapis bactérien (1disque / boîte).

* laisser diffuser pendant 30min sur la paillasse.

* Incuber à 37°C pendant 24h a l'étuve.

Expression des résultats

Les résultats sont lus en mesurant les diamètres des zones d'arrêt de croissance autour de chaque disque avec une règle en mm (y compris le diamètre de disque de 9mm) après 24 h d'incubation à 37°C.

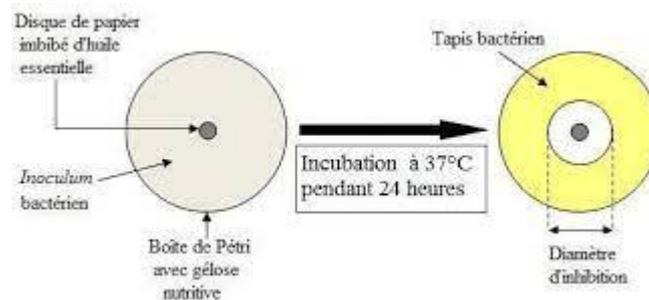


Figure 09 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme(<https://agritrop.cirad.fr>)

Selon Ponce et al. (2003), la sensibilité à l'huile a été classée selon le diamètre des aréoles répression:

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm.
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm.
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

Variance et écart type

$$S = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (X_i - m)(X_i - m)$$

m = moyen de chaque lot

N = effective de lot

X_i = valeur individuelles de chaque paramètre

S^2 = variance de la variable, donc l'écart type d'une variable X est défini comme suit

$$V = \sqrt{S2}$$

2.4.2. Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice (CMI)

La CMI de l'extrait est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance microbienne (NCCLS, 1999).

sur milieu solide Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations de la substance antimicrobienne en milieu gelose . cette CMI est déterminées selon la méthode des dilutions sur milieu gélosé.

Préparation des dilutions d'huile essentielle(20%,40%,60%,80%)

- Prépare une dilution d'huile essentielle à 80%, en diluant 0.8 ml d'huile essentielle avec 0.2ml de l'eau physiologique Et pour mélange en ajoutant tween 80 stérile dans le premier flacon.
- dans le deuxième flacon 60% (0.6ml) d'huile essentielle en diluant sur 40% 0.4ml l'eau phyl
- dans le troisième flacon 40%(0.4ml) HE'S en diluant sur 60% 0.6ml l'eau phyl
- dans le quatrième flacon 20%(0.2ml) HE'S en diluant sur 80% 0.8ml l'eau phyl en ajoutant tween 80 dans tous les flacons .

Dans chaque dilution on met disque de papier wattman stérile de 9mm et Verser chaque dilution dans des boîtes de pétri contient gélose MH.

Mode opératoire

- Préparation de l'inoculum (le même protocole que l'aromatogramme)
- Incubation Les boites de pétriensemencées sont incubées à 37°C pendant 24

CHAPITRE 04

Résultats et discussion

1- Rendement de l'huile essentielle

- Le rendement de l'huile essentielle *d'eucalyptus radiata* récolté à Olued slama de Blida est de **0.1%**.
- l'E radiata provenant de Zambie et du Portugal a fourni des rendements en HEs de l'ordre de 9,0% et 5,55% respectivement (Chisowa ,1997, Miguel,2018).Ces rendements peuvent être considérés comme élevés comparativement à celui obtenu dans notre travail ; il est inférieur de celui d '*E radiata* originaire d'Australie (0,37%)(Bignell.1998), également le rendement de HE originaire d'Afrique du sud varie de 2,64% à 4,31% (Mahumane et al,2016) , celui de l'espece prelevée à Ghana varie de 3,51% à 2,23% (Asare,2019) .

Damjanović-Vratnica et al. (2011), ont évalué l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'E. globulus Labill, Le rendement en huile essentielle était de 1,8 % .

2- caractéristique physico-chimique de l'huile essentielle *d'Eucalyptus radiata*

Les différents paramètres de couleur , aspect et d'odeur de notre huile essentielle sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : caractéristique organoleptique de l'huile essentielle *d'Eucalyptus radiata*.

Paramètre physico-chimique		Résultats	Normes ISO	Notre huile
Caractéristique Physique	Aspect	Liquide	Liquid	
	Couleur	Jaune pale	couleur jaune à jaune pâle	
	Odeur	Forte, fraîche Caractéristique de l'espèce	forte odeur de 1,8-cinéole.	
Caractéristique Chimique	Densité	0.905	entre 0,905 et 0,925	
	Ph	6	entre 3 et 6	

Muther(2015) (0,919, 0,916, 0,9137 et 0.915 et 0.925 respectivement) sont similaires et conformes à la norme ISO 3065. Notez que toutes les valeurs répertoriées ci-dessus présentent des différences mineures.

Nous constatons que les HE's d'eucalyptus radiata correspondent sont conformes à la norme ISO 3065 (Huete ;2012)

La densité, est un des critères de pureté de l'huile essentielle, notre l'huile essentielle présente une densité de 0,905 .

Ce résultat est différent par rapport à ceux obtenus par d'autres auteurs . *Baker et al.*(1920) a noté une densité de 0,8747 pour la même espèce prélevée à l'*Eucalyptus radiata* , ce résultat est similaire de celui obtenu par *Parry et al.* (1908) (0,8814).

De plus, les valeurs de densité déterminées par *Nowicki Justine* (2019) ,

Koziol (2015), *Frédéric da Silva* (2010) et *Laetitia*.

2- Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est déterminée

qualitativement par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et quantitativement via la détermination de valeur de CMI.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été faite sur trois bactéries, une Bactérie gram positif : *Staphylococcus aureus* et deux Bactéries gram négatifs: *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

Le **Tableau 04** et la **Figure 10** nous montrent les diamètres des zones d'inhibition de l'huile essentielle pure de *radiata* pour chaque souche. Le résultat de cette étude a révélé que l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* était active contre les bactéries.

la classification du pouvoir antimicrobien selon *Meena et Sethi (1994)* et *Ela et al. (1996)*.

Fortement inhibitrice : supérieur à 28 mm.

Modérément inhibitrice : entre 16 et 28 mm.

Légèrement inhibitrice : entre 10 et 16 mm.

Non inhibitrice : inférieur à 10 mm.

Tableau 04 : le diamètre d'inhibition de l'huile essentielle pour(100%) d'*Eucalyptus radiata* (en mm).

Les tests Les souches	le diamètre d'inhibition	Les normes de classification du pouvoir antimicrobien
<i>Staphylococcus aureus</i>	37.33 ± 2.66	>28mm Fortement inhibitrice
<i>Escherichia coli</i>	9.33 ± 0.66	<10 Non inhibitrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13.33 ± 1.05	10 et 16 mm Légèrement inhibitrice

- Selon la bibliographie disponible, il n'existe pas beaucoup de travaux déjà réalisés sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*. Pour cela, les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus pour les autres espèces d'*Eucalyptus*.
- Ces résultats montrent que les souches bactériennes se comportent différemment vis-à-vis de l'HE d'*Eucalyptus radiata*.
- nous remarquons que la souche *Staphylococcus aureus* est sensible (37.33 ± 2.66), suivie par *Pseudomonas aeruginosa* qui est légèrement inhibitrice (13.33 ± 1.05) et enfin *E.coli* qui semble être résistante (9.33 ± 0.66)
- dans le cas des bactéries gram positif il existe une forte sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle testée (*Staphylococcus aureus*).
- Dans le cas des bactéries Gram négatif, nous remarquons que l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a une action légèrement inhibitrice sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* et une forte action inhibitrice sur *Escherichia coli*.
- Les résultats de notre étude sont nettement supérieurs comparativement avec ceux obtenus par ZENKAR *et al*, 2020 qui ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* leurs résultats ont donné des diamètres d'inhibition variant de 10.6 à 11.6 mm.
- En comparant nos résultats avec ceux de Damjanović-Vratnica *et al.* (2011) nous remarquons que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* se caractérise par une activité antimicrobienne assez forte notamment contre les mêmes souches que nous avons étudiées. La concentration minimale inhibitrice a montré que la plus faible activité est notée pour *Pseudomonas aeruginosa* (3,13 mg/ml) tandis que la plus forte activité a été observée contre *S. aureus*, (0,09 mg/ml).
- Certains auteurs (Mekonnen *et al.* 2016) ont travaillé sur l'activité antibactérienne in vitro de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* les valeurs de CMI obtenus pour les souches testées varient entre 15,75 et 36,33 mg/ml; ces résultats sont presque similaires à ceux obtenus dans notre travail

- Selon les études de Djendli sabiha (2022) les souches *E.coli*, *Klebsiellapneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont fortement inhibitrices parmi les souches testés.

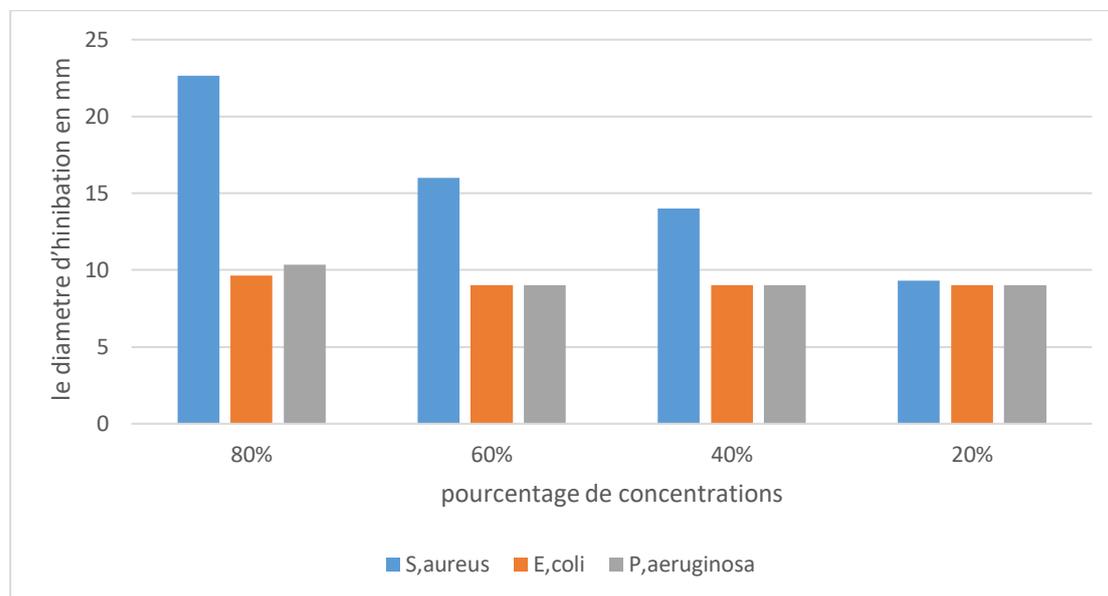


Figure 10 : diamètres d'inhibition de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* (en mm) à différentes concentrations(20%,40%,60%,80%)

- la figure 10 montre les diamètres d'inhibition de l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* avec trois souche bactériennes *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* avec quatre dilution différent (20%,40%,60%,80%).
- Nous constatons d'après cette figure que la souche *S.aureus est* modérément sensible pour la concentration 80% montrant des diamètres d'inhibition variant entre 16 et 28 mm. Cette valeur (22.66 ± 0.66) est inférieur par rapport à celle obtenu par l'huile essentielle pure (37.33 ± 2.66). Pour les concentration 60% et 40% la même souche bactérienne est légèrement inhibitrice par rapport à celle de la 1ère concentration, en ce qui concerne la concentration de 20% les résultats moutrent que cette dernière souche est résistante (9.33 ± 0.66)
- Pour ce qui est de *E.coli* et *P.aeruginosa* Nous remarquons que *P.aeruginosa est* sensible au 80 % (10.33 ± 1.15) et résistante aux réstes concentration Quant au rapport de *E.coli* résistante dans tous les concentrations.

- Les résultats obtenus par *ZENKAR et al*,(2020) ont montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiat mélangée* avec de l'eau est non inhibitrice sur toutes les souches .
- Selon les résultats de CMI de *Djendli sabiha 2022* La valeur la plus faible de CMI est notée pour l'huile essentielle contre la souche *Staphylococcus aureus* qui est de 25 mg /mL et sur la souche *E.coli* qui est de 6.25mg/ml . Ces résultats sont différents de nos résultats ou la valeur la plus faible de CMI observée sur *S.aureus* est obtenue pour la dilution de 80% (0.2ml).

Conclusion

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire Dr.ferchichi dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne d'huiles essentielle d'*Eucalyptus radiata* provenant de la région d'Ouled Slama de la willaya de Blida.

L'extraction des huiles essentielle réalisée par entrainement à la vapeur d'eau a stade phenologique en floraison a permis d'obtenir un rendement de 0.1ml%. Ce rendement est supérieur par rapport à ceux obtenus par d'autre auteurs.

L'activité antimicrobienne est réalisée selon la méthode de l'aromatogramme sur trois souches bactériennes les résultats montrent l'efficacité de huiles essentielle contre ces souches : *E;coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*

La concentration minimale inhibitrice a été évolué. Les résultats obtenus montrent que cette concentration est de 20%.

Il serait intéressant de compléter ce travail par une caractérisation de l'huile essentielle et de tester d'autres activités biologiques comme l'activités anti-oxydantes et anti-inflammatoire ainsi de réaliser les points suivants :

- Approfondir cette étude par une étude in vivo.
- Explorer plus les vertus thérapeutiques de huiles essentielle d'Eucalyptus.
- Encourager leurs productions en Algérie.
- Approfondir les études sur d'autres souches isolées, et les intégrer dans le domaine de cosmétologie.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

AFNOR, Association Française de Normalisation, Recueil de normes Française «Huiles essentielles ». AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006, (2000).

Asare E.A, Droepenu E. K., The Chemical Compositions and Antibacterial Activity of Eucalyptus Radiata Leaf Essential Oil, Archives of Pharmacology and Pharmaceutical Sciences (APPS). Redelve International Publications, RD-Pha-10003, 1, 1, 2019, P3.

Benoit G. Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de Vienne [Thèse]. Université de Poitiers faculté de médecine et de pharmacie, 2015.

Brunton J. Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris Bruneton (1995) livre de Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. 1995 pp.xv + 915 pp

Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed.

Bruneton J., Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, 1993. Paris. 915p

Bruneton J. ; 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 3ème Ed. Lavoisier. Paris, 199-388.

Bakkalia. F, Averbeck. S, Averbeck. D, Idaomar.M. Biological effects of essential oils A review. Food and Chemical Toxicology. 46, Pages 446–475 (2008).

Bey –ould si said. Z. Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus Globulus, Thèse de Doctorat, Université Abderrahmane Mira – Bejaïa, 2014.

Benabdelkader T. Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, Lavandula stoechas Sensus Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France, 2012

Bazzine, O et Benzaid, Z. (2019). Etude de la composition chimique et les activités biologiques des huiles essentielles de Thymus Capitatus. Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

Baker, Richard T., Smith, Henry G., A research on the eucalypts : especially in regard to their essential oils, 2nd Ed : authority of the government of the state of New South Wales, W.A. Gullick, government printe, Australia, 1920, P307.

Bignell C. M., Dunlop P. J., Brophy J. J., Volatile Leaf Oils of some South-western and Southern Australian Species of the Genus Eucalyptus (Series 1). Part XIX, Favour and Fragrance journal, vol. 13, 131-139, 1998.

- Baudoux D. (2008).** L'aromathérapie. Bruxelles : Amyris. p 253.
- Chouiteh O.** composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra* [thèse] Oran : Université d'Oran 2012.
- Couderc V.,** Toxicité des huiles essentielles, Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 2001, p :3-55.
- Chaoui, M et Chegroune, S. (2019).** Contribution à la caractérisation chimique des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de la steppe du sud-algérois. Mémoire de Master. Université Ziane Achour, Djelfa, Algérie.
- Chisowa, E. H.,**Chemical Composition of Essential Oils of Three Eucalyptus species grown in Zambia. *Journal of Essential Oil Research*, 9: 653-655, 1997.
- C Lobstein A, Marinier C, Koziol N.** Huile essentielle d'Eucalyptus radiata. *Aromathérapie*. 57, (575), p 55-56, 2018.
- Cronquist A.,** An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York. 1262 pp ,1981.
- Dorosso Sonate J.** Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou.2002.
- Duarte M. C. T.,** Figueira GM et coll, Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2005, 97(2), 305–11.
- Da Silva F.,** Utilisation des Huiles essentielles en Infectiologie ORL. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré – Nancy, 2010.
- Damjanović-Vratnica B., Đakov T., ŠukoVić D., DamjanoVić J.** 2011. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech J. Food Sci* 29(3):277–284.
- Duraffourd C., Lapraz J-C., Chemli R.** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis, Édition. Granche, Paris, 1997.
- El haib A (2011).** Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformation catalytique. Thèse de doctorat en chimie organique et catalyse. Université de Toulouse III- Paul Sabatier. 195 p.

Emmanuelle. (2018). Huile essentielle d'eucalyptus : le top 10 des utilisations. Phyto et sens.

Festy D, Huiles essentielles, Le guide visuel, Édition. Quotidien Malin, Paris, 2014, p. 9

Guenther E., 1948. The Essential Oils -: D. Van Nostrand Co., New York, N.Y., 456p.

Guignard J.L., 2000. Biochimie végétale. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod , Paris, pp.177-185.

Gao, Z., Huang, K., Yang, X., Xu, H. (1999). Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem. Biophys. Acta.*,1472: 643-650.

Hussain Aboullah ijaz, Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae. Thèse de doctorat. Université d'agriculture Faisalabad, Pakistan, (2004).

Huete A.. Huiles Essentielles Pour tous Les jours, Edition Artémis, France, 2012, P90-91.

Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris. Edition Springer. 2012

Khiari M., Etude de l'effet de *Mentha* et *Pistacia* sur la toxicité du Nickel, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, 2018.

Kesbi, A. Eude des propriétés physico chimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* dans la région de Ouargla. Mémoire de fin d'études. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie ; 2011.

Koziol N., Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, 2015

Koziol N, (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité, 128p

Laurent J. 2017. Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, France, 13-28 p.

- Labiod R.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide [Thèse]. Université Badji Mokhtar- Annaba.2016
- Muther L.,** Utilisation des Huiles essentielles Chez l'enfant, Thèse de Doctorat, Université d'auvergne, 2015.
- Meena M.R. et Sethi V. (1994)** Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *J. Food Sci. and Tech. Mysore*, Vol. 31, pp : 68 – 70.
- Miguel M.G, Gago C., Antunes M D , Lagoas S , Faleiro M L , Megías C , Giraldo I C, Vioque J, Figueiredo A C.** Antibacterial, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Corymbia citriodora* and the Essential Oils of Eight Eucalyptus Species, *Medicines*, 5, p.61 , 2018.
- Mahumane, G. D., van Vuuren, S. F., Kamatou, G., Sandasi, M and Viljoen, A. M.,** Chemical composition and antimicrobial activity of South African Eucalyptus radiata leaf essential oil, sampled over a year. *Journal of Essential Oil Research* : 6, 28 p. 2-4, 2016. Article disponible sur : <https://doi.org/10.1080/10412905.2016.1175386>
- Mekonnen A., Yitayew B., Tesema A., Taddese S. 2016.** In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Microbiology*:1-8.
- Nabeti H, Chekkati A,** L'effet antibactérien de plantes médicinales (*Teucrium polium* et *Thymus ciliatus*) sur des souches isolées à partir du lait de vaches atteintes de mammites, mémoire de master, Université du 8 Mai 1945 de Guelma, 2013.
- Nowicki J.,** Les dangers de l'utilisation abusive des huiles essentielles, Thèse de doctorat, Université de Lille, 2019.
- Nait Achour K, (2012).** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'Eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou,125 p.
- Ouis N.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil [thèse]. Université d'Oran, 2015.
- Onemba, N.S,** Les avantages sur le plan environnemental et socio-économique d'une

Forêt plantée, Cas du Projet de Reboisement 8.000 Hectares sur le plateau des Batéké Kinshasa/République Démocratique du Congo. Mémoire soumis au XIIe Congrès Forestier Mondiale. Université du Québec à Montréal ,2003.

Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

(ONUAA).(1982). Les eucalyptus dans les reboisements. FAO, Italie

Penchev P.I. Étude des procédés d'extraction et de Purification de Produits Bioactifs à Partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.

Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2010.

Parry, Ernest J. La chimie des huiles essentielles et des parfums artificiels. 2e éd.

Londres : Scott, Greenwood & son. London.1908, P38

Pitman V, Aromatherapy a practical approach, Éd nelson Thornes, United Kingdom, 2004

Pr. Dr. M.J Bigendako, (2004).Identification et Zonage des Eucalyptus Globulus au Rwanda, page 01, Chemonics International Inc., projet ADRAR.

P. Franchomme, Roger Jollois, et le Docteur Daniel Penoël (2001).

L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques (fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle, Editions Roger

Jollois , pages 379-380.

Silou T, Malanda M, Loubaki L, Optimisation de l'extraction de l'huile essentielle de

Cymbopogon citratus grâce à un plan factoriel complet 23 – Journal of Food Engineering, Vol

65, pp 219-223. 2004

Werker E., Putievsky E., Ravid U. The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare* L. Journal Annals of Botany. 1985, 55, 793-801

Wang J., SunB., Cao Y., Tian Y et Lix (2008). Optimization of ultrasound- assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food chemistry; Vol-106; pp 804-810

warot S. (2006). Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. p 3.

ANNEXE

ANNEXE 1 :

▶ Appareillage, verrerie et consommables

Matériel utilisé pour l'étude du pouvoir antimicrobienne pour le contrôle microbiologique.

B1. Liste des appareillages

- Bec benzene
- Etuve 25c° ET 35 C°
- Balance
- Agitateur

B2. Liste de la verrerie et consommables

- Boite de petri
- Micro pipette
- Disque papier wathman 9mm
- Pince stérile
- Pipette pasteur
- Portoire
- Ecouvillon
- Etiquettes
- Tube a essayé
- Les lombos
- Flacon stérile

▶ Milieux de culture utilisés :

- Gélose MH
- Gélose nutritive
- Eau physiologie
- Tween-80

ANNEXE 2 :

➤ Photos de quelques appareils et tests biologiques :



- Les souche utilise (*Staphylococcus aureus* - *Escherichia coli* - *Pseudomonas aeruginosa*)
- Boite pétri coulée en milieu de culture



- Méthode de diffusion sur disque



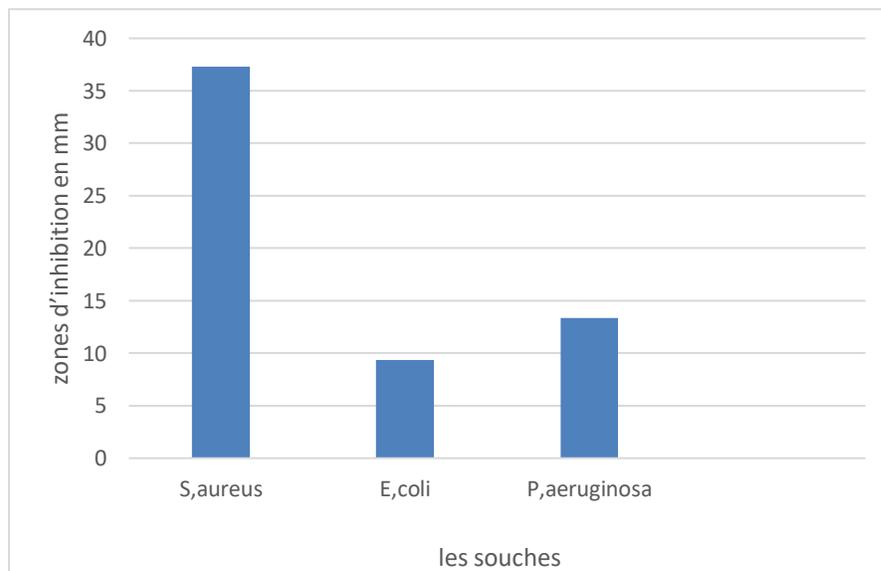
- Résultat de la méthode de l'activité antimicrobienne l'aromatogramme



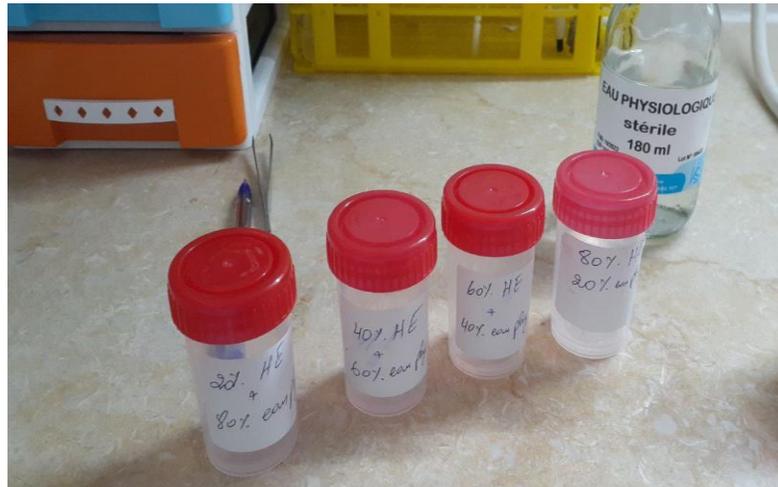
- **La mesure des zones d'inhibition**



- **Diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes testées sur HE's 100%**



- Préparation de dillition



- Résultat de la méthode de l'activité antimicrobienne l'aromatogramme (zone d'inhibition après la dillition)



- La mesure des zones d'inhibition après la dultion



- le diametre d'hinibation de l'huile essentielle d'*E. radiata* (en mm) avec dilution(20%,40%,60%,80%)

	<i>S. aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
80% HE + 20% EAU,PHYSIOLOGIQUE	22.66 ± 0.66	9.66 ± 1.15	10.33 ± 1.15
60% HE + 40% EAU,PHYSIOLOGIQUE	16 ± 1.15	9 ± 0	9 ± 0
40% HE + 60% EAU,PHYSIOLOGIQUE	14 ± 0.81	9 ± 0	9 ± 0
20% HE + 80% EAU,PHYSIOLOGIQUE	9.33 ± 0.66	9 ± 0	9 ± 0
Les normes de classification du pouvoir antimicrobien	>28mm Fortement inhibitrice	entre 16 et 28 mm	10 et 16 mm Légèrement inhibitrice
			<10 Non inhibitrice