



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et

De la Recherche Scientifique

Université de Tissemsilt

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme

de Master académique en Biochimie appliquée

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présentée par : Mlle. **CHERIT CHAHINEZ**

Thème

**Extraction des huiles essentielles *d'Eucalyptus
Camaldulensis* et évaluation de leurs pouvoir
antimicrobien**

Soutenu le : 12 /06/2023

Devant le Jury :

Président	Bekada Ahmed Med Ali	Professeur	Univ-Tissemsilt
Encadreur	Dris Ibrahim	M.C.B	Univ-Tissemsilt
Examineur	Beghalia Mohamed	Professeur	Univ- Tissemsilt

Année universitaire : 2022-2023

Dédicaces

Je dédie du plus fond de mon cœur ce Modest travail à mes *chers parents* pour leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements, et qui sont toujours la source de ma force et le secret de ma fierté, qui ont éclairé ma route par leurs prières et leurs soutiens.

Je souhaite que dieu les gardes en bonne santé et leur donne une longue vie.

Après mes parents je voudrais remercier ma précieuse sœur "*Nasira*" Pour tous ses efforts, et pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études et qui n'a pas cessé de m'encourager et poussé pour aller toujours de l'avant , elle m'a motivé dans mes études et soutenu dans les moments difficiles.

A mes très *chers frères* pour leur soutien moral et qui ont toujours
à mes côtés.

A mes chers sœurs qui ont été toujours avec moi par leurs Amours et leurs encouragements.

A mes chers neveux et nièces : **M.Ilyes****Serine**

A Mr. **Mohamed** pour leur soutien moral et leurs encouragements.

Aussi je dédie **Mlle.Manel** pour leur aide et leurs conseils précieux.

Remerciements

Tout d'abord je remercie **Allah** tout puissant de m'avoir accordé la

force , le courage et la patience pour terminer ce mémoire

Je exprime mes remerciements et mes sincères gratitude à mon encadreur

Mr .DRIS pour son aide ses conseils sa compréhension et sa patience durant toute

la période de la réalisation de mon travail je remercie vont également a tous les

membres de jury pour avoir accepté d'en faire partie à ce mémoire .

Mes vifs remerciements vont à tous les membres de l'équipe de laboratoire

du département pour leur accueil, leur sympathie aussi que leur idées

constructives et plus particulièrement à **Mr. LAFER Mohamed**

Je remercie toutes les personnes qui m'aident de près ou loin.

Résumé

Dans le but de valoriser les plantes médicinales et aromatiques Algérienne, nous sommes intéressés dans ce travail aux huiles essentielles qui possèdent d'importantes activités antimicrobiennes et ont de nombreuses propriétés thérapeutique. Et plus particulièrement à huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*, récolté en Algérie, région de Tissemsilt. L'extraction des huiles essentielles des petits rameaux et feuilles est effectuée par hydrodistillation (type Clevenger) a donné un rendement d'ordre 0.26%. L'évaluation du pouvoir antimicrobien d'*E.camaldulensis* par la méthode de diffusion sur milieu gélosé « Aromatogramme » vis-à-vis de six souches bactériennes à savoir: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*, respectivement, présente des zones d'inhibition (23, 19, 8, 26,21,10 mm). Les résultats obtenus montrent que l'huile d'*E.camaldulensis* présente que la plus forte activité antimicrobiennes était contre *S.aureus* alors que *P.mirabilis* et *S.enterica* sont résistantes.

Tous ces résultats mettent en valeur les différents application thérapeutiques de cette plante dans la médecine traditionnelle et encourage la recherche de nouvelles molécules naturelles à caractère antibactérien dont le but de les investir dans les différents industries : pharmaceutique ; cosmétique ; alimentaires...

Mots clés :

Eucalyptus camaldulensis, hydrodistillation, Huile essentielle, AntibioGramme, Aromatogramme

ملخص

يهدف تثمين النباتات الطبية و العطرية الجزائرية , نحن مهتمون في هذا العمل بالزيوت الأساسية التي لها أنشطة كبيرة في مضادات الميكروبات و لها العديد من الخصائص العلاجية. و على الاخص الزيت العطري ل *Eucalyptus Camaldulensis* الذي تم حصاده في الجزائر , منطقة تيسمسيلت. تم استخراج الزيت الأساسي من الأغصان الصغيرة والأوراق بواسطة التقطير المائي(نوع Clevenger) مما اعطى عائدا يقارب 0.26%.

تم تقييم القوة المضادة للميكروبات لل *Eucalyptus Camaldulensis* من خلال طريقة الانتشار على الوسط الصلب «aromatogramme» مقابل ضد سلالات بكتيرية بما في ذلك :

staphylococcus aureus ; proteus mirabilis ; Acinetobacter baumannii ; Pseudomonas aeruginosa ;

salmonella enterica ;Bacillus cereus ; على التوالي, حيث اظهرت مناطق التنشيط (10;21;26;8;19 ;23) ملم

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان زيت *E.camaldulensis* له نشاط مضاد للميكروبات قوي ضد بكتيريا *S.aureus* بينما *P.mirabilis* و *S.enterica* مقاومتان .

كل هذه النتائج تسلط الضوء على التطبيقات العلاجية المختلفة لهذا النبات في الطب التقليدي و تشجع البحث عن جزيئات طبيعية جديدة ذات طابع مضاد.

الكلمات المفتاحية: الكاليتوس, التقطير المائي , الزيت الاساسي, فعالية المضاد الميكروبي, أروماتوغرام.

Abstract

With the aim of enhancing Algerian medicinal and aromatic plants we are interested in this work in essential oils. Wich have significant antimicrobial activities and have many therapeutic properties ,and more particularly with essential oil of *Eucalyptus camaldulensis*, harvested in Algeria ,region of Tissemsilt ,the extraction of essential oils from small branches and leaves is carried out by hydrodistillation (Clevenger type) gave a yield of around 0.26%.

The ultimate objective was to evaluate the antimicrobial effect of *E.camaldulensis* essential oil by the method of diffusion on agar medium «Aromatogram» against six bacterial strains namely (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*)respectively, has zones of inhibition (23 ,19 ,8 ,26,21,10mm) the results obtained show that the oil of *Eucalyptus camaldulensis* has the strongest antimicrobial activity against *S.aureus* while *P.mirabilis* and *S.enterica* are resistant.

All these results highlighting the different therapeutic applications of this plant in traditional medicine and encouraging the search for new natural molecules with an antibacterial character .

Key word:

Eucalyptus camaldulensis ,hydrodistillation, Essential oil, Antimicrobial activity, Aromatogram

Table des matières

Dédicace

Remerciements

Résumé

ملخص

Abstract

Liste des abréviations et symboles

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 01

Etude Bibliographique

Chapitre I. Généralités sur les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles	05
I.1 .Définition.....	05
I.2 .Rôle des huiles essentielles	05
I.3 .Répartition et localisation.....	06
I.4 .Propriétés physico-chimique.....	06
I.5 . Composition chimique	07
I.5.1. Les terpènes.....	07
I.5.1.1. Les mono terpènes.....	07
I.5.1.2. Les sesquiterpènes.....	08
I.5.2. Composés aromatiques dérivés de phénylpropane.....	08
I.6. Domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	08
I.6.1. Agro-alimentaire	08
I.6.2. Santé: pharmacie et aromathérapie	09
I.6.3. Agriculture	10
I.6.4. Parfums et cosmétiques.....	10
I.7. Toxicité des huiles essentielles	11
I.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	12
I.8.1. Distillation.....	12
I.8.1.1. Hydrodistillation	13

I.8.1.2.Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	14
I.8.1.3.Hydrodiffusion.....	15
I.8.2.L'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	15
I.8.3.Extraction à froid.....	16
I.8.4.Extraction par solvants organiques.....	16
I.8.5.Extraction par duCO ₂ à l'état supercritique.....	16

Chapitre II: Eucalyptus camaldulensis

II. Généralité.....	19
II.1. Classification systématique et description botanique.....	20
II.1.1. Classification taxonomique.....	20
II.1.2. Description botanique.....	21
II.1.2.1.Morphologie de la plante.....	21
II.2.Situation géographique d'Eucalyptus camaldulensis.....	24
II.2.1. Dans le monde.....	25
II.2.2.En Algérie.....	26
II.3.Importance d'Eucalyptus camaldulensis et leurs utilisations.....	26
II.4.L'huile essentielle d'Eucalyptus camaldulensis.....	28
II.5.Le bois d'Eucalyptus camaldulensis.....	28

Chapitre III: Activité Antimicrobienne des huiles essentielles

III. Introduction.....	30
III.1. Activité antimicrobienne.....	30
III.1.1. Les toxi-infections alimentaires.....	30
III.1.2. Agents causaux.....	31
III.1.3. Les antibiotiques.....	31
III.1.4.Antibiorésistance.....	33
III.1.5.Effet antimicrobien des huiles essentielles.....	34
III.2.Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries.....	34

Etude Expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1.Présentation de la zone d'étude.....	38
IV.2.Matériel végétal.....	38
IV.2.1.Récolte.....	38
IV.3.Extraction des huiles essentielles.....	39
IV.3.1.Extraction par hydrodistillation.....	39
IV.3.2.Calcul du rendement.....	40
IV.4.Procédés d'étude microbiologique.....	40
IV.4.1.Souches microbiennes testées.....	40
IV.4.2.Milieus de culture utilisés.....	41
IV.4.3.Préparation de la suspension bactérienne(L'inoculum).....	41
IV.4.4.Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis les Antibiotiques(Antibiogramme).....	42
IV.4.5.Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	44
IV.4.5.1.Aromatogramme.....	44

Chapitre V : Résultats et Discussion

V.1.Extraction des huiles essentielles d'Eucalyptus camaldulensis.....	48
V.1.1. Rendement en huile essentielle.....	48
V.2-Etude de l'activité antimicrobienne.....	50
V.2.1. L'Antibiogramme.....	50
V.2.2.L'Aromatogramme.....	55
Conclusion	58
Références bibliographiques	61
Annexes	78

Liste des abréviations et Symboles

AB :Antibiotique

ADN :Acide désoxyribonucléique

AFNOR :Association Française de Normalisation

AGP :Angiospermes Phylogeny Groupe

ARN :Acide ribonucléique

C° :Degré Celsius

Cm :Centimètre

CO₂ :Dioxyde de carbone

D : Diamètre

D.O : Densité Optique

DO :Déclaration Obligatoire

E : Eucalyptus

G : Gramme

H : Heure

HE :Huile essentielle

Km :Kilomètre

L :Litre

M : Mètre

MCF :MAC Farland

MH :Muller Hinton

MHA :Agar de Muller Hinton

min :minute

ml :millilitre

nm : Nanomètre

PAM : plantes aromatiques et médicinales

RHE : Rendement en huile essentielle

TIA : Toxi-Infections Alimentaire

TIAC : Toxi-Infections Alimentaire Collective

µL : Microlitre

UV : Ultra –Violet

Liste des tableaux

Tableau n°01 :Classification d' <i>Eucalyptus Camaldulensis</i>	20
Tableau n°02 :Utilisation d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	27
Tableau n°03 :Mécanismes d'action de grandes familles d'antibiotiques.....	33
Tableau n°04 :Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien.....	41
Tableau n°05 :Les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme	44
Tableau n°06 : Degrés de sensibilités de la croissance microbienne et leurs diamètres des zones d'inhibition.....	46
Tableau n°07 : Rendement massique des huiles essentielles	49
Tableau n°08 :Diamètre des zones d'inhibition de l'antibiogramme en (mm).....	53
Tableau n°09 :Les mesures du diamètre de la zone inhibitrice« aromatoigramme » en mm.....	55

Liste des figures

Figure n°01 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation	13
Figure n°02 :Schéma d'installation d'entraînement à la vapeur d'eau.....	14
Figure n°03 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes.....	15
Figure n°04 : Schéma d'extraction par le CO2	17
Figure n°05 : <i>Eucalyptus camaldulensis</i> (le Gommier de Camaldoli).....	19
Figure n°06 : Illustration des rameaux et des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	21
Figure n°07 : Caractères botanique d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	23
Figure n°08 : Distribution naturelle de genre d' <i>Eucalyptus</i>	24
Figure n°09 : Répartition d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dans le monde.....	25
Figure n°10 : Mode d'action des antibiotiques	32
Figure n°11 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	35
Figure n°12 : Carte de situation d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	38
Figure n°13 : Diapositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation	39
Figure n°14 :La décantation d'huile essentielle.....	40
Figure n°15 : Prélèvement des colonies bactérienne	42
Figure n°16 :La lecture de la densité optique sur spectrophotomètre	42
Figure n°17 : Prélèvement de suspension bactérienne puis ensemencement sur milieu gélosé..	43
Figure n°18 : Dépôt des disques d'antibiotiques à la surface du milieu gélosé.....	43
Figure n°19 :L'ajoute d'HE sur le disque vierge.....	45
Figure n°20 : Huile essentielle extraite d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	48
Figure n°21 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Figure n°22 : Résultats de l'antibiogramme de <i>Acinetobacter baumannii</i>	50

Figure n°23 :Résultats de l'antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i>	51
Figure n°24 :Résultats de l'antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figure n°25 :Résultats de l'antibiogramme de <i>Bacillus cereus</i>	52
Figure n°26 :Résultats de l'antibiogramme de <i>Salmonella enterica</i>	52
Figure n°27 : Résultats de l'Aromatogramme d'HE d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	55

Introduction

Introduction

Depuis des millénaires, toutes les civilisations du monde ont eu recours aux plantes médicinales pour prévenir et guérir certaines maladies (**Adoumou 2012**), l'homme utilise les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies (**Sanago, 2006**).

L'Algérie possède une riche diversité floristique associée à des siècles d'utilisation traditionnelle des plantes. Il existe environ 3000 espèces végétales (**Cockcroft et al., 1998**).

L'*Eucalyptus* est une plante très répandue en Algérie même en tout le monde et bien connue pour ses propriétés médicinales, expectorant pour traiter les bronchites, la toux, les pneumonies, antiseptique permet de soulager les personnes fiévreuses et traiter l'état grippal, avec une action stomachique sur les inflammations des muqueuses de l'appareil digestif et de l'intestin ; très bon remède contre la dyspepsie atonique (**Dr Jesus Cardenas, 2017**).

Eucalyptus camaldulensis est une plante médicinale de la famille des Myrtacées dont les espèces sont riches en huiles essentielles, c'est l'un des principaux genres forestiers plantés dans le monde et il compte environ 600 à 700 espèces et variétés (**Warot, 2006**). En outre, l'huile possède un large spectre d'activités biologiques, notamment antimicrobienne.

Notre présent travail s'inscrit dans le cadre de valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) en particulier *Eucalyptus camaldulensis*. Il s'intéresse à évaluer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de petits rameaux et feuilles du *Eucalyptus camaldulensis* obtenue par hydrodistillation sur certaines souches bactériennes responsables d'intoxication alimentaire, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose « Aromatogramme »

Notre travail est réparti en deux parties :

Une partie bibliographique des plantes et des huiles essentielles.

- ❖ Le premier chapitre : généralités sur les huiles essentielles
- ❖ Le deuxième chapitre : Morphologie sur l'espèce étudiée
- ❖ Le troisième chapitre : Activité antimicrobienne des huiles essentielles

La deuxième partie : une partie expérimentale ou nous présenterons :

- ❖ Matériel et méthode utilisés dans ce travail et la technique d'extraction et l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles
- ❖ La détermination du rendement des huiles essentielles

La troisième partie sont exposés les résultats obtenus ainsi que leur discussion, On terminera par une conclusion générale qui portera une synthèse globale des différents résultats obtenus.

Etude

Bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les huiles essentielles

I. Les huiles essentielles

I.1. Définition

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation, il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie. Les HEs contiennent des molécules très variées (en moyenne une centaine de molécules différentes pour une seule essence : terpènes, cétones, alcools, esters, aldéhydes) (**Laurent ,2017**).

Selon la sixième Edition de la pharmacopée européenne ; une huile essentielle est définie comme un « produit odorant » , généralement de complexe , obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie , soit par entraînement à la vapeur d'eau ,soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique sans chauffage .

Une huile essentielle est « le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (**commission européenne de pharmacopée ,2009**).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés odorants liquides, lipophiles , volatils ,synthétisés par des enzymes spécialisés retrouvés dans les plantes aromatiques (**teuscher et al , 2005**) .

I.2-Rôle des huiles essentielles

Le rôle des huiles essentielles dans les plantes est principalement d'attirer les pollinisateurs ou de repousser ses ennemis. Elles servent aussi à réguler la température à l'intérieur de la plante lui permettant ainsi de mieux supporter la chaleur (**Lisan, 2014**).

Les études réalisées par Travers en 2012 ont montré que les terpènes contenus dans les huiles essentielles, jouent un rôle très important dans divers processus biologiques et chimiques : défense contre les facteurs biotiques et abiotiques ; médiateurs chimiques de communication de la plante avec son environnement.

D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal .Assurer leur ultime défense et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement .Elles protègent les cultures en inhibent la multiplication des bactéries et des champignons et empêchent la dessiccation des plantes par évaporation excessive (**Ouis, 2015**).

En effet, beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxique, anti virales, anti oxydantes et ainsi parasitaires, plus récemment ils ont été connus pour avoir des propriétés anticancéreuses (**Valnet J, 2005**).

I.3 Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieures, il y a environ 500 000 sur terre dont 10 000 possèdent des propriétés médicinales (**Iserin, 2001**).

Selon Bruneton (1999), les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques. Réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Astéracées, Pipéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées...etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des HEs en particulier les sommités fleuries (lavande, Menthe). On le trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, *Eucalyptus*), les graines (muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (**Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghuem et al., 2001**).

La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la proximité de la surface de la plante : cellules à huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poil sécréteurs des Lamiacés, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (**Bruneton, 1993**).

I.4- Propriétés physico- chimique :

Ce sont des composés volatiles ; ce qui les différencie des huiles « fixes » ; à cette volatilité des HEs sont liés leur caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau, sont des liquides à température ambiante, limpides et rarement colorés, leur solubilité est meilleure dans les solvants organiques (chloroforme, le benzène, l'éther de pétrole, etc...) soluble dans les alcools et les composés lipidique. (**Bruneton, 1999**).

Elles peuvent prendre une couleur jaune pâle, bleu clair mais sont généralement incolores. Les HEs ne rancissent pas, ont une faible densité, généralement inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et peuvent dévier la lumière polarisée (**Deschepper, 2017**).

La densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0.850 à 0.950) sauf pour les huiles essentielles de Cannelle, Girofle, Sassafras, elles sensibles à l'oxydation mais rancissent pas. La plus dense étant l'huile essentielle de Winetergreen (**Franchomme et Penoel, 1990**).

Ils ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation des produits résineux ce qui limite donc leur conservation. (Bruneton, 1999 ;Bakkali et al.,2008).

Les HEs sont caractérisées par leur propriétés physiques(densité ,pouvoir rotatoire ;indice de réfraction ;miscibilité dans l'alcool ...) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide ,d'ester ,d'iode et de carbonyle) permettant d'évaluer la nature des composés organiques (acide ,ester ,alcène ,carbonyle) présents dans l'essence (Ouis,2015).

I.5- Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques et volatils qui se caractérisant essentiellement par leur poids moléculaires faibles au-dessous de 300 Daltons, et par leur hydrophobicité (Sell,2010).

On retrouve plus d'un millier de composants chimiques dans les huiles essentielles (Belaiche,1979).Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grand majorité à la famille des terpènes (Piochon,2008).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants biogénétiques distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée .Il s'agit de terpène (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, il s'agit essentiellement des terpènes les moins volatils .C'est-à-dire ceux de masse moléculaire peu élevée et des composés aromatiques dérivés du phényl propane (Cohen,2013).

I.5.1. Les terpènes

Les composés de type terpénique sont formés d'un multiple pair ou impair d'unités de 2-méthylbuta-1.3 – diène, on distingue ainsi selon le nombre d'entités isoprènes le groupe des mono terpènes (C₁₅H₂₄) ... (Bouchekrit, 2018) .

I.5.1.1.Les mono terpènes

Ils sont constitués par le couplage de deux unités isopréniques et forment 90 % des huiles essentielles avec une grande diversité de structures (Lakhdar, 2015) . Ces composés peuvent être acycliques (myrcène , ocimènes) ,monocycliques (α et γ -terpinène , p-cimène) ou bicycliques (pinénes , sabinéne , camphéne) .

I.5.1.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont une classe de terpènes formés de trois unités isopréniques, ils présentent également un suffixe en « -éne ». Un sesquiterpène peut être acyclique ou contenir un à deux cycles. Ils sont présents en plus faibles proportions que les mono terpènes dans les HEs. D'une manière générale, ils jouent le rôle d'agent de défense dans les plantes (**Laurent, 2017**).

I.5.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ces composés sont très souvent des allyle- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacée (**Samate, 2002**).

I.6- Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités. En effet, la demande industrielle de ces composés est bien réelle, et ce grâce à la multiplicité de leurs usages dans de nombreux secteurs industriels tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie, etc ... (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

I.6.1- Agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en industrie agro-alimentaire comme arômes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les condiments, les confiseries, les produits laitiers, les produits carnés, les produits de boulangerie mais également pour la nutrition animale (**Bruneton, 1999**). Les plus couramment utilisées sont celles de : menthe, vanille, poivre, basilic, gingembre, eucalyptus... etc (**Mapoli, 2003**).

Actuellement, les huiles essentielles ou leurs composés actifs, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires.

tout, en assurant une qualité organoleptique meilleure, en rehaussant le goût des aliments

(**Caillet et Lacroix, 2007 ; Tiwari et al., 2009**).

Les huiles essentielles sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour rehausser le goût des aliments ; la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants, ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé (**Bessah et Benyoussef, 2015**).

Les HEs sont très utilisées dans les arômes alimentaires, que ce soit dans le secteur des arômes sucrés ou salés.

Dans le domaine des arômes salés, une place de choix revient évidemment aux huiles essentielles d'épices et d'aromate, celles-ci sont également utilisées dans une moindre mesure dans le domaine des arômes sucrés, dans lequel les huiles essentielles d'agrumes sont largement représentées (**Fernandez et Chemat, 2012**).

I.6.2-Santé : pharmacie et aromathérapie

Dans le domaine de la santé ,il faut distinguer le secteur pharmaceutique de celui des médecines douces, dans ce secteur les vertus thérapeutiques des huiles sont reconnues et utilisées depuis des siècles dans beaucoup de pays. Ou ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapies.

En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale(**Bruneton ,1999**).De même , elles peuvent être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires ,comme dentifrice (dans l'eau),ainsi que pour rafraichir ou soulager la gorge (**Grysole,2004**).

Et pour leur activité antiseptique, en particulier tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique étant donné la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau (principalement due aux terpènes). Ces produits sont généralement destinées à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires et musculaires, (**Razafindrakoto, 1988 ; Dethier, 1996 ; Edris, 2007**).

De nombreux produits tels les pommades, les crèmes et les gels à la base d'huiles essentielles trouvent des applications importantes dans la médecine dite conventionnelle ou scientifique, leurs bienfaits constituent la base d'un autre domaine de la santé qui se rapproche plus de la médecine traditionnelle. L'aromathérapie (**Fillatre, 2011**).

Cette dernière correspond à l'utilisation des odeurs et des substances volatiles pour soigner, atténuer ou prévenir les infections et les indispositions internes uniquement par le moyen d'inhalation. (**Buchbauer et Jirovetz, 1994**).

Ou encore, à l'utilisation des huiles essentielles pour traiter certaines maladies externes par leur application sur la peau au travers de massages. (**Tisserand et Balacs, 1995**).

I.6.3 -Agriculture

Les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles. Représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les champignons (**Isman, 2000 ; Dayan et al.,2009**).

Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact.(**Regnault-Roger et Hamraoui, 1995**).

Outre leurs activités biologiques, les huiles essentielles présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles. Parmi celles-ci, on peut citer :

- Leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes
- Leur faible toxicité pour les mammifères (à quelques rares exceptions près)
- Leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (temps de demi-vie en extérieur < 24 heures sur les surfaces, dans les sols ou l'eau) (**Isman et al., 2010**).

I.6.4-Parfumerie et cosmétiques

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique, elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, des savons et des cosmétiques. (**Chagra, 2019**).

L'industrie de la parfumerie traite d'importants tonnages d'essences telles que celles de rose de jasmin, de citron ou de santal ou la cannelle (**Bruneton, 1999 ; Valisolalao,1989**).

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo- pharmacologiques (bais « calmant » ou « relaxant »), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les HEs de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées, on notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. (**Bouamer et al.,2005 ;Bounane et al.,2005**).

L'utilisation des HEs dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et anti-oxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable. (**Ait Salem, 2016**).

I.7- Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces mais aussi très dangereuses ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certains composants aromatiques peuvent être toxiques, la toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones mono terpéniques) est connue depuis le siècle dernier (**Bouanane et Boussehel,2005**).

Elle varie selon leur composition, la plante source, le terrain où elle est cultivée, la période de l'année où la plante est récoltée, la voie d'administration (orale, cutanée, aérienne), elle varie aussi selon l'espèce vivante concernée et son stade de développement. Comme tous les produits naturels ; les HEs contenant surtout des phénols et des aldéhydes irritent la peau, les yeux, les muqueuses.

Les huiles essentielles, en raison de leur composition chimique complexe, peuvent présenter un risque énorme en cas d'abus ou d'utilisation autonome accidentelle et doivent être utilisées avec une extrême prudence. (**Bruneton, 1999**).

Certaines huiles essentielles peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques (huile riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al.,2000**).

La proportion de la population développant des allergies cutanées dues aux parfums est en augmentation car l'utilisation de parfums et de produits parfumés ne cesse d'augmenter (**Hayakawa,1987**).

Il a été démontré que les allergènes présents dans l'air jouent un rôle évident dans la formation d'eczéma, soit par inhalation, soit par contact cutané (**Schnuch,2006**).

Les HEs qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter comme irritant des muqueuses respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques comme par exemple les sprays désodorisants (**Elberling et Skov,2007**).

I.8- Méthodes d'extraction

L'extraction d'une huile essentielle est un procédé complexe et délicat qui a pour l'objectif d'obtention des produits les plus volatils qu'élabore le végétal sans en altérer leur qualité .Les HEs peuvent être extraites selon différentes méthodes en fonction de matière végétale primaire à traiter ,de sa richesse en essence ,de sa fragilité aux températures élevées et à l'action de l'eau .(**Boukhatem et al., 2019**).

Plusieurs procédés d'extraction des matières aromatiques ont été utilisés, dont l'expression mécanique, l'extraction par solvant organique volatil, et l'extraction au CO₂ supercritique (**Bruneton,1999**).

Par microondes (**Lucchesi et al.,2007**), par ultrason ,et la distillation à la vapeur d'eau (**Bruneton ,1999**).

Pour l'usage de l'aromathérapie, seules les huiles essentielles obtenues par distillation et par expression mécaniques satisfont aux normes d' « huiles essentielles aromatiques à usage thérapeutique » (**Grosjean, 1993**).

I.8.1- 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 températures 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 HEs de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal ,et l'évaporation et entrainement à la vapeur d'eau .

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

Dans l'industrie des HEs une terminologie distingue trois types de distillation (Piochon,2008)

sont :

- hydrodistillation
- L'entraînement à la vapeur d'eau
- hydrodiffusion

I.8.1.1- Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée pour extraire les huiles essentielles et permet de les séparer à l'état pur, mais donne également de meilleurs rendements (figure n° 01). (Bruneton, 1993 ; Ferhat et al ., 2010).

Le principe consiste à immerger la matière végétale à traiter directement dans un ballon rempli d'eau , puis porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes sont se condensées sur la une surface froide et l'HE va alors être séparée par différence de densité (Bruneton, 1987). Cependant l'hydrodistillation possède des limites, en effet, un chauffage trop puissant et prolongé provoque la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi , 2005 ; Ferhat et al., 2010) .Cependant ,l'hydrodistillation présente deux inconvénients majeurs(Lagunez Rivera,2006) :

- l'altération de certaines substances à température élevée et en présence de l'eau.
- l'obtention d'une huile exempte sinon appauvrie en certains constituants solubles dans l'eau.



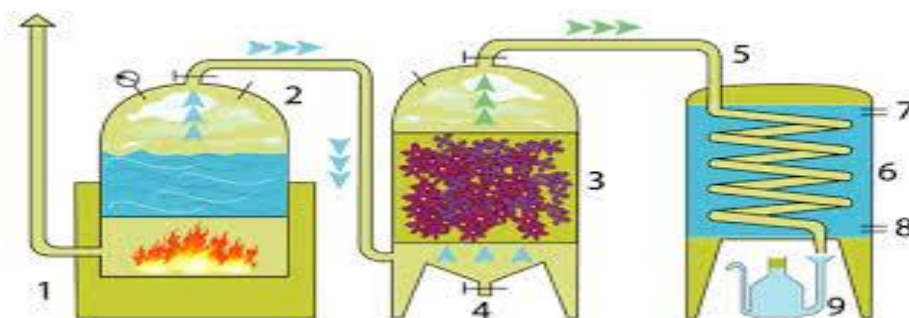
1-Chauffe ballon ; 2- Ballon ; 3-Thermomètre ; 4-Réfrigérant ; 5-Entrée et sortie d'eau 6-Erlenmeyer ; 7-Matière à extraire l'essence ; 8-Couche d'huile essentielle ; 9-Support élévateur

Figure n°01 :Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation
(Lucchesi ;2005)

I.8.1.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est la seule distillation préconisée par la pharmacopée Française, car l'absence de contact direct entre l'eau et les molécules aromatiques minimise les phénomènes de dégradation et d'hydrolyse pouvant nuire la qualité de l'huile essentielle (**Boukhatem et al.,2019**)

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe, sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'HE se sépare par décantation (**Bruneton,1993**).



1-Foyer ;2-Chaudière ;3-Vase à fleur ;4-Vidange de condensation ;
5-Col-de-cygne ; 6-Réfrigérant avec serpentins ;7-Sortie d'eau chaude ;
8-Arrivée d'eau froide ;9-Essencier (vase florentin) ou sont décantés hydrolat
et huile essentielle

Figure n°02 : Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la
vapeur d'eau (**Jaffrelo ,2019**)

I.8.1.3 Hydro diffusion

Aussi appelé percolation, la percolation consiste à envoyer la vapeur de haut en bas à travers la plante aromatique. Son avantage est une rapidité et une meilleure qualité des composés aromatiques, par contre l'inconvénient est le changement des huiles essentielles en substance non volatiles. Le produit obtenu est appelé « essence de percolation » et non huile essentielles (Fronchomme et al., 2003).

I.8.2-Hydrodistillation assistée par micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparent 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 à ce 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 (figure n°03), 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).

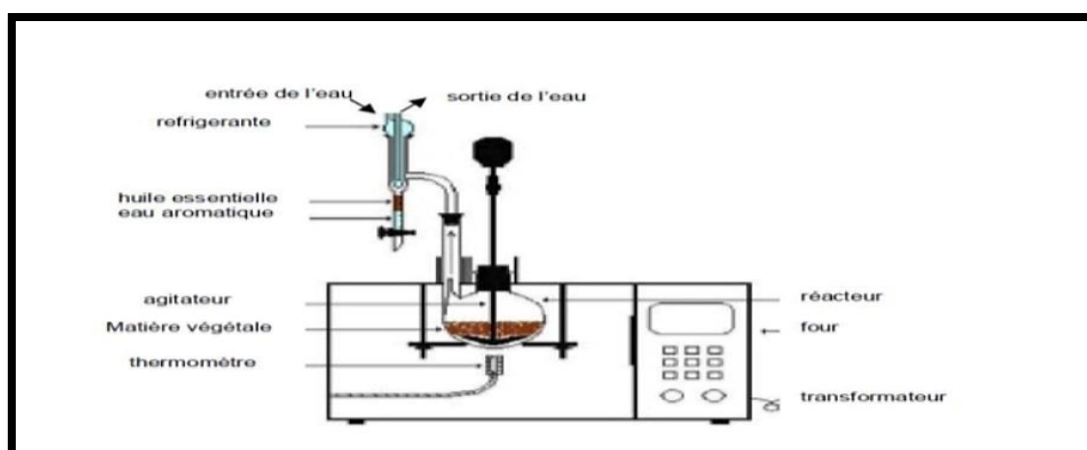


Figure n°03 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (Lagunez-Rivera, 2006)

I.8.3- Extraction à froid

C'est une méthode traditionnelle pour extraire les HEs à partir de zeste d'agrumes. Elle est basée sur la rupture mécanique des parois des sacs oléifères présents dans l'écorce des fruits, en appliquant une pression à froid ; l'huile contenue dans ces sacs est ainsi libérée sous forme d'émulsion aqueuse, puis, récupérée par centrifugation (**Ferhat et al., 2007**).

Dans ce cas, le produit obtenu appelé « essence végétale » de zeste d'agrumes, qui est très utilisée dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire (**Hesham et al., 2016**).

I.8.4- Extraction par solvants organiques

C'est un procédé qui conduit à l'obtention des concrètes, des résinoïdes et des absolues ; le matériel végétal frais est par la suite épuisé par des solvants organiques volatils (**Da Silva, 2010**). Ces extraits sont très utilisés en parfumerie (**Benabdelkader, 2012**).

Cette technique consiste à placer un solvant volatile dans un extracteur avec la plante. Elle est basée sur le pouvoir qu'ont certains solvants à dissoudre les molécules aromatiques et dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue » (**Cox et al., 2000**).

L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (**Chemat, 2009**).

I.8.5 -Extraction par CO₂ à l'état supercritique

Le dioxyde de carbone est habituellement le plus utilisé comme solvant d'extraction des huiles essentielles puisque sa pression critique relativement basse (74 bar) pour une température proche de la température ambiante (32°C). Le CO₂ est chimiquement inerte et non toxique, inflammable, disponible en haute pureté à un coût relativement faible et contrairement aux solvants, il est facilement ôté des extraits. Dans l'état supercritique, le CO₂ présente une polarité comparable à celle du pentane qui le rend approprié pour l'extraction des composés apolaires ou lipophiles. (**Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007. Zhao et al., 2014**).

Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après, le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux afin d'être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Chemat, 2009).

Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité (Wenqiang et al., 2007), et qui respecterait intégralement l'essence originelle de la plante. Elle demeure toutefois, encore coûteuse et nécessite des précautions dues à la pression d'utilisation. (figure n°04)

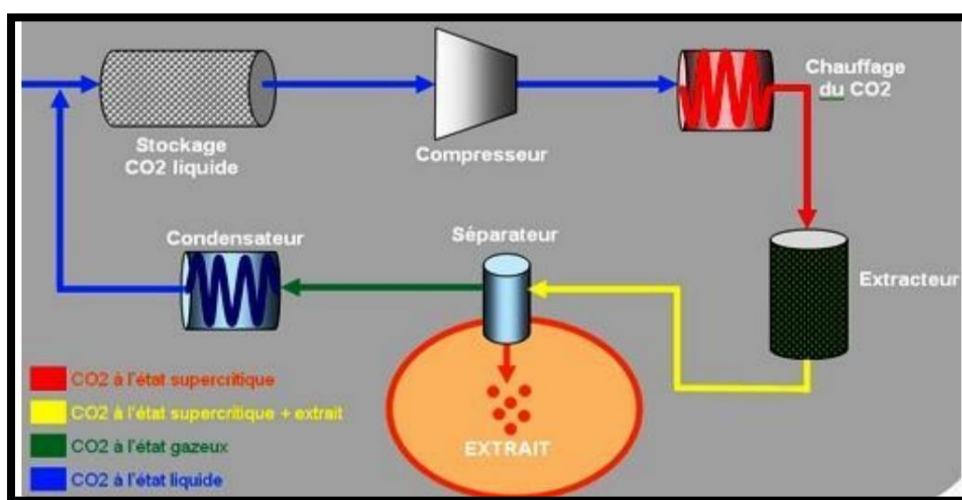


Figure n°04 : Schéma du principe de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007)

Chapitre II

EUCALYPTUS CAMALDULENSIS

II. Généralité

La famille des Myrtacée est composée d'environ 75 genres et de près de 3000 espèces principalement arbres et arbustes persistants tropicaux. Les principaux centre de distribution sont les tropiques Américains, Asiatique et l'Australie (**Weiss, 1997**).

Le genre *Eucalyptus* de la famille des Myrtacées dont les espèces sont riches en huiles essentielles, compte plusieurs espèces botanique (**Benazzedine, 2010 ; INRF 1996**).

Le Gommier de Camaldoli ou Gommier des rivières ou rouge (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) il fait partie de la famille de Myrtacées, originaire de Tasnamie en Australie. Représenté par environ 700 espèces, est un genre d'arbre grands persistants et magnifiques cultivés dans le monde entier pour son huile, sa gomme, sa pulpe, son bois, sa médecine et sa valeur esthétique. Parmi les divers produits ligneux et non ligneux , l'huile essentielle trouvé dans son feuillage est la plus importante et trouve une large utilisation dans l'industrie alimentaire , la parfumerie et pharmaceutique . En outre, l'huile possède un large spectre d'activité biologique, notamment antimicrobienne, fongicide, insecticide, herbicide, acaricide et nématocide. (**Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008)**).



Figure n°05 : *Eucalyptus camaldulensis* (Gommier de Camaldoli)

II.1. Classification systématique et description botanique

II.1.1. Classification taxonomique

Les Eucalyptus sont naturellement l'élément le plus important dans les forêts Australiennes, y faisant plus de 95% de toute la flore (MARIANI et al.,1981) . En Algérie, *E.camaldulensis* semble être l'espèce pionnière de ce genre, ayant été introduite en 1860 par les français (POUPON, 1972). Aujourd'hui c'est l'espèce la plus répandue en Méditerranée, ou elle s'est bien adaptée, preuve de sa bonne résistance au sec une fois implantée.

Aussi il y'a des espèces connues étant les suivantes :

- *Eucalyptus Globulus* : gommier bleu
- *Eucalyptus radiata* :Eucalyptus radié
- *Eucalyptus Regnas* :le plus grand des Eucalyptus
- *Eucalyptus citriodora* :Eucalyptus citronné

La classification scientifique réalisée par l'AGP (Angiospermes Phylogeny Groupe) sur le genre *Eucalyptus camaldulensis* a permis de déterminer la systématique suivante : (GUIGNARD ,2001)

Tableau n°01 : Classification d'*Eucalyptus camaldulensis*

Règne	Plantes
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous-classe	Rosidés
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées
Genre	Eucalyptus
Espèce	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>

II.1.2-Description botanique

Eucalyptus Camaldulensis Dehnh il aussi surnommé le (gommier rouge) en référence à son bois d'un rouge brillant, qui peut aller d'un rose pâle à un rouge très foncé (Kebir,2018).Et de sa résine qui colore les rivières.

Le nom d'*Eucalyptus camaldulensis* est ; eucalyptus à bec, eucalyptus des camaldules ou gommier rouge ou gommier des rivières(Kebir,2018) .

II.1.2.1.Morphologie de la plante

Eucalyptus camaldulensis, c'est l'un des Eucalyptus les plus morphologiquement variables de son aire de répartition son port varie de celui des eucalyptus à simple tige de 30 à 40m de hauteur .Le diamètre de la tige peut atteindre 1-2m, l'écorce est lisse, blanche, grise, jaune-vert, gris-vert ou gris rosé, les feuilles adultes sont longues de 8 à 30 Cm, larges de 0.7 à 4.2 cm, vertes ou gris-vert. Les fleurs sont blanches ; pédoncules élancés, longs de 6 à 15 mm (Arnold etluo,2018).

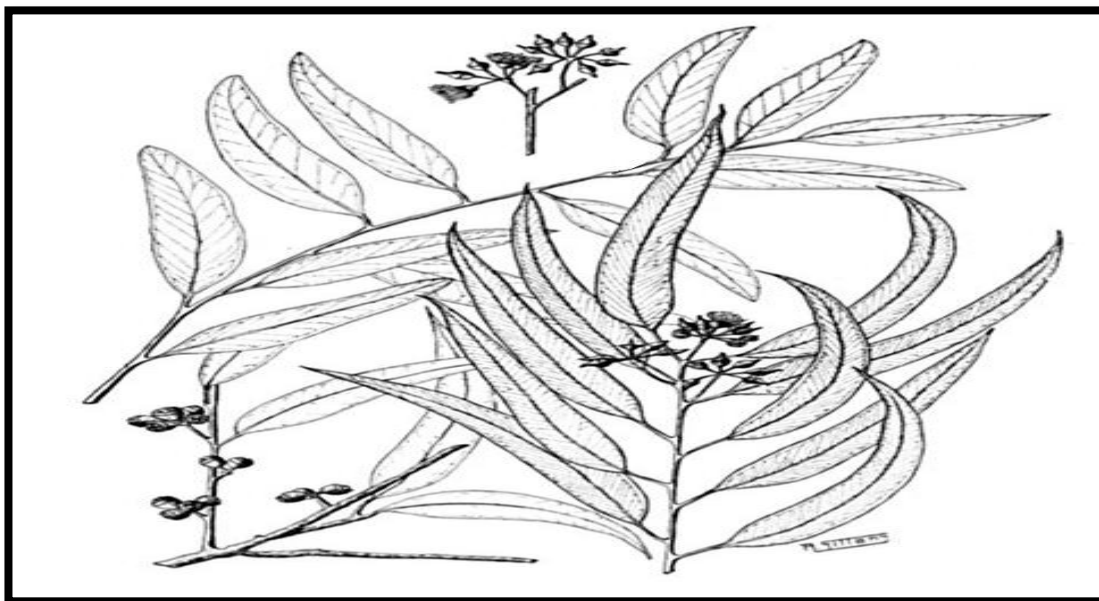


Figure n°06 : Illustration des rameaux et des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

- **Arbre :**

L'Eucalyptus camaldulensis est un arbre forestier à houppier très développé de forme conique jusqu'à 15 à 20 ans , elle est érigée plus tard . C'est un arbre de hauteur qui varie de 30 à 40 mètres et un diamètre qui varie de 0 ,9 à 2 ,50 mètre (Meziane,1996) .

- **Tronc et écorce :**

Le tronc d'*Eucalyptus camaldulensis* est le plus souvent droit et élancé, de 1 à 2m de diamètre, parfois tortueux, exsudant fréquemment une gomme résineuse rouge, et blanche grisâtre en haut.

- **L'écorce :**

Son écorce est véritablement décorative et très utile pour l'identification et la distinction entre les nombreuses espèces, car elle peut présenter de grands différences dans son apparence est couleur et de texture variable selon les espèces ; souvent elle présente plusieurs couleurs, comme un platane et se détache en lambeaux qui tombent au sol, mais l'écorce peut être aussi dure, fibreuse, floconneuse et lisse (Mekellech ,2015)

Ou possédant de profonds sillons, l'écorce fréquemment blanche et lisse et s'exfoliant en plaques roussâtres, elle peut être caduque, persistante (FAO ,1982 ;ALEXENDRIEN, 1992).

- **Feuilles :**

Les feuilles sont coriaces ,persistantes ,glabres ,très odorantes ,elle se présentent sous deux sortes : feuilles de jeunesse sont plus ou moins opposées ,souvent sessiles et rond ,avec d'autre alternées ,elles ont un pétiole ,sont lancéolées et mesurant de 2 à 4 cm ,légèrement glauques ,et les feuilles adultes généralement alternes ,pétiolées et entière et portées par un long pédoncule ,la couleur verte est identique pour les deux faces .

Elles sont lancéolées, étroites et falciformes), et sont longues de 8 à30 cm, et larges de 1 à 3 cm et de couleur verte ou gris –vert (Arnold et Luo,2018) .

Les feuilles comportent de nombreuse vacuoles qui contiennent des huiles riches en cinéol ou en eucalyptol (FAO,1982 ;ALEXENDREIN,1992).

- **Fleur :**

Les fleurs ont l'allure de petits boules, qui ont de très nombreuses élamines blanchâtre et donnent naissance à des capsules hémisphérique inflorescence en ombelle simple, avec des fleurs régulières par 4 à 7, en ombelles axillaires (Rameau et al, 2008) .

- **Fruits :**

Généralement les fruits se présentent sous forme de graines anguleuses ,nombreuses contenues dans une capsule.

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, elle est dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Goets et Ghedira ,2012).

- **Racines :**

La plupart des Eucalyptus possède également des organes de sauvegarder souterrains appelés lingotubes, ces lingotubes se présentent sous forme de renflements à la base du collet racinaire ;ce sont des massifs cellulaires indifférenciés contenant des réserves glucidiques comme l'amidon ;les eucalyptus ,pour la majorité d'entre eux indigènes de l'Australie . Ont évolué dans un environnement difficile, aride et soumis à l'incendie réoétés. Or, les lingotubes permettant justement à Eucalyptus d'engendrer de nouvelles pousses si une perturbation majeure vient à détruire l'appareil végétatif aérien de la plante, partiellement ou dans sa totalité ,les lingotubes favorisent donc la survie des espèces d'Eucalyptus possèdent cette adaptation (FAO,1982 ;ALEXENDREIN,1992)



Figure n°07 : Caractères botanique d'*Eucalyptus camaldulensis*

Arbre, écorce, tronc, feuilles et petits rameaux, fleurs et fruits

II .2 : Situation géographique d'*Eucalyptus Camaldulensis* :

L'aire naturelle d'*Eucalyptus* couvre la majeure partie du continent Australien, depuis le territoire du Nord tropical jusqu'à la région fraîche et tempérée du Victoria ; il est planté dans de nombreux pays tropicaux et subtropicaux étant probablement l'arbre le plus planté dans les zones arides et semi –arides du monde.

Et il s'est naturalisé dans un grand nombre de régions, planté en Afrique depuis 1900 .Il est désormais très largement cultivé en Afrique tropicale , ou il est vraisemblablement l'arbre le plus commun que l'on puisse trouver dans les petits peuplements ,en rideaux-abris et sur les parcelles destinées au bois de feu ,mais d'une moindre importance sur les plantations à grande échelle .

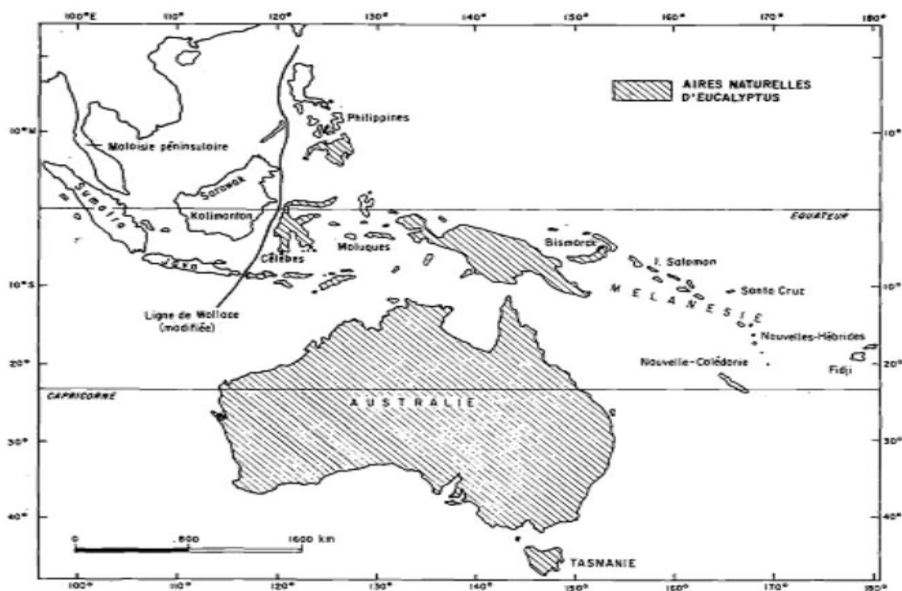


Figure n°08 : Distribution naturelle de genre d'*Eucalyptus*. (Fao,1982)

II.2.1. *Eucalyptus camaldulensis* dans le monde

Eucalyptus camaldulensis est une espèce d'arbre du genre *Eucalyptus* que l'on trouve dans nombre de parties du monde mais qui est originaire d'Australie ou il est largement répandu au bord des rivières de l'intérieur du pays dans les régions semi-arides et dans les plaines inondables, de préférence en sol limoneux ou sableux ou argileux mais en général, il n'apprécie guère le calcaire qui lui provoque la chlorose, il peut supporter la sécheresse sur une courte période. **Figure n°09.**

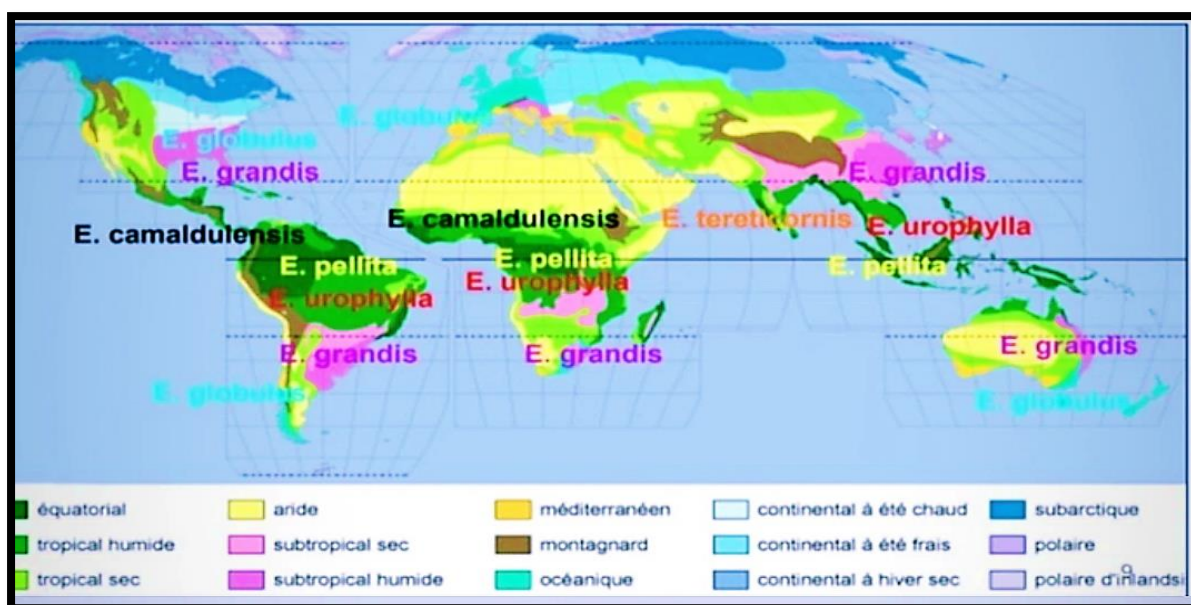


Figure n°09 : Répartition d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde (Bouvet, J.M, 2003)

II.2.2. L'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie

Eucalyptus camaldulensis est l'une des espèces les plus cultivées dans le monde et dans le bassin méditerranéen, elle a été introduite en Algérie en 1860 pour assainir les terrains marécageux et a été plantée sur 30000ha . (Oyen et Lemmens ,2002).

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860 .L'espèce pionnière semble être l'*E. Camaldulnsis* ,mais d'autre espèce furent introduites dans des placettes d'essai notamment à Reghaia ,Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger .Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on assisté à des croisements naturels qui ont donnés des hybrides dont l'*Eucalyptus* « Algériensis».

Dans les années 40 et 50 les *Eucalyptus* furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi-arides.

Dans ce cadre pas moins de 130 espèces ont été plantés sur le territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'eucalyptus ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (INRF, 1996).

L'Eucalyptus camaldulensis est l'arbre exotique le plus répandu en Algérie ; il convient à tous les sols profonds de plaine, les lits d'oueds, les terres non salées et sans calcaire ; il craint les argiles compactes, les grands froids (moins de 9°) ; autrement il est très plastique, résistant à l'inondation du sol, au vent, à la chaleur ; il donne un bois rouge ; perches, poteaux de mine, chauffage (JACQUES, 1996).

II.3. Importance de *Eucalyptus camaldulensis* et leurs utilisations

Espèce aromatique et médicinale, les feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*, sont parfumées, riches en huile essentielle, antibactériennes, antifongiques, expectorantes, fébrifuges et légèrement sédatives.

Les feuilles sont recommandées en cas de rhumes, de sinusites, de maux de gorge, d'angine, de toux, de bronchites, d'infection urinaires ou de fièvres. (Koreichi Kebir, 2018 in Benletreche, 2019).

Les Aborigènes employaient *l'Eucalyptus* contre les infections et les fièvres, il est désormais utilisé dans le monde entier pour traiter ces affections (Iserin et al., 2001).

En médecine traditionnelle ; l'infusion d'*E. Camaldulensis* est utilisée pour le soulagement des courbatures, des douleurs, des maux de tête sévères et les morsures de serpent (Kelly, 1996 in Koreichi & Benletreche, 2019). La plante également soupçonnée d'être efficace dans la gestion de l'hypertension artérielle ; elle a également été rapportée pour avoir des propriétés antimicrobiennes et antifongiques (Bamayi et al., 2004). Aussi il facilite l'évacuation des sécrétions bronchiques et il débouche le nez en douceur et facilite la respiration.

En diffusion, *l'Eucalyptus camaldulensis* se révèle énergisant et positivant d'un point de vue psychique, il sera votre allié en cas de fatigue mentale.

Tableau n°02 : Utilisation d'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie et dans différentes région du monde

Pays	Utilisation	Références
Australie	-Les symptômes gastro-intestinaux (diarrhée, dysenterie) -les maladies respiratoires (rhume, asthme) -Arrêter les saignements -douleurs musculaire, douleurs articulaires.	Duke et Wain, 1981
Afrique Soudan, Zimbabwe, Nigéria	-les maux de gorge, diarrhée -la grippe, la fièvre, -prévenir la carie dentaire -Bâtonnets de nettoyage des dents	Doran et Wongkaev ,2008 Bukar et al., 2004
Algérie El-Kala, Annaba, Skikda, Mostaganem	-produits ligneux et papetiers	INRF, 1996

L'Eucalyptus camaldulensis, présente un grand intérêt économique à cause de sa large gamme d'utilisation et la longue liste des sous-produits qu'il offre .De plus, il est caractérisé par une grande plasticité et une croissance très rapide (**Kebir, 2018**) .

II.4.L'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*

L'huile distillat de feuilles, sert de remède, notamment en aromathérapie, et de parfum antiseptique, expectorant et antiviral .elle était employée contre la tuberculose pulmonaire, les brulures, le catarrhe et la grippe (**Bremness,2005**).Et aussi pour réguler la température du corps. En outre, de nombreuses maladies gastro-intestinales peuvent également être soulagées par l'huile essentielle d'Eucalyptus grâce à ses propriétés anti-infectieuse et antibactériennes.

L'huile d'*Eucalyptus camaldulensis* représente 3% des huiles essentielles d'eucalyptus commercialisées dans le monde.

II.5.Le Bois :

Le bois de cette essence est rougeâtre, de bonne qualité et utilisé en ébénisterie, il donne un bon charbon, et aussi protéger les sols de l'érosion en reboisement des zones déforestés.

Il présente des caractéristiques technologiques intéressantes pour la production de pâte à papier et il sert de bois de construction (**Kebir, 2018**). En Australie, c'est un arbre utilitaire, fournissant du bois d'œuvre et de chauffage, servant à la coloration avec sa gomme rouge, d'huiles essentielles et en alimentaire dont les abeilles produisent un miel très apprécié et de grand qualité.

Chapitre III

Activité antimicrobienne

Des huiles essentielles

III-Introduction

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à leur composition chimique mais surtout à la nature des groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (terpinéol, terpinéol-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques (**Dorman et Deans, 2000**).

Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important en renforçant les effets des composés principaux (**Bassolé et Juliani, 2012**). L'efficacité d'une huile essentielle dépend ainsi de sa richesse en composé phytochimiques ; plus elle est riche en substances actives, plus son activité est importante (**Zhiri, 2006**).

La diversité moléculaire des huiles essentielles leur confère des propriétés biologiques très variées (**Sakkas et Papadoupoulou, 2016**). Un certain nombre d'entre elles présentent également des propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides, anti-oxydantes et bactéricides (**Carson et Hammer, 2011**).

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leur pouvoir antibactérien (**Magina et al., 2009**).

III.1-Activité antimicrobienne

III.1.1-Lestoxi-infections alimentaires

Les toxi-infections alimentaires (TIA) est considérée comme l'un des problèmes de santé publique les plus répandus, les intoxications alimentaires sont des infections les plus souvent causées par l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux comme les bactéries, les parasites, les virus ou les moisissures, les champignons et se transmet par la consommation des aliments ou de l'eau contaminés, provoquant des symptômes différents et variés selon l'état physiopathologique du consommateur (**Haroun Soualmia Souheyr Smaili, 2022**).

Elles résultent généralement de deux mécanismes consécutifs : la contamination par des bactéries d'un produit destiné à la consommation, et pullulation de ces bactéries aboutissant à l'élaboration d'une toxine ou à la constitution d'un inoculum infectieux. (**Yves Bouisson, Rémy Teyssou, 2002**).

La déclaration obligatoire (Do) des toxi-infections alimentaires permet aux médecins inspecteurs de santé publique et aux vétérinaires de réaliser une enquête épidémiologique

Et vétérinaire destinée à identifier les aliments responsables et les facteurs favorisants spécifiques pour prévenir les récurrences.(**Haeghebaert, S., et al ., 2002**) .

En Algérie, chaque année ,le ministère de la santé enregistre entre 4.000 et 5.000 cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC),en 2017 ,plus de 10.000 cas avec six décès .Elles sont définies par l'apparition d'au moins deux cas groupés similaires d'une symptomatologie ,en générale gastro-intestinale (vomissements, douleurs abdominale, diarrhée – éventuellement sanglante ,céphalées ,nausées),dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire ou hydrique (**Samira,2018**) .

La fréquence de (TIAC) reste élevée malgré les mesures de surveillance et de prévention prises au niveau de la production, la distribution et la conservation des aliments, la contamination de ces aliments peut être le fait de matière première (animale ou végétal), d'une contamination de l'homme ou un autre aliment (contamination croisée) (**BENHADHOUDJA, Y, 2019**) .

III.1.2-Agents Causaux

Les principaux germes responsables des toxi-infection alimentaire sont :*Listeria monocytogenes* ,*Escherichia Coli* ,*Salmonella* ,*proteus mirabilis*, *Campylobacter jejuni* .Et *Staphylococcus aureus* ,*Bacillus cereus* ,*Clostridium botulinum* ,l'infection par *Clostridium botulinum* est le cas le plus grave mais il reste relativement rare .(**Z. Zaidi , K.Boubguira, L.Meradi -2021**).

Proteus mirabilis est responsables de 80% des infections à *Proteus* .Parmi lesquelles : infections urinaire, infections des voies respiratoires (surtout en milieu hospitalier),infections ORL et pneumopathies ,septicémies et bactériémies .

Bacillus cereus est une bactérie comme pour être le deuxième agent responsable de TIAC en France depuis 2012 (**Benjamin Glasset,2016**)

Pseudomonas aeruginosa est responsable de 9.2% de l'ensemble des infections nosocomiales, le plaçant ainsi au 3^{ème} rang des espèces isolées juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*(**Amazian et al., 2010**).

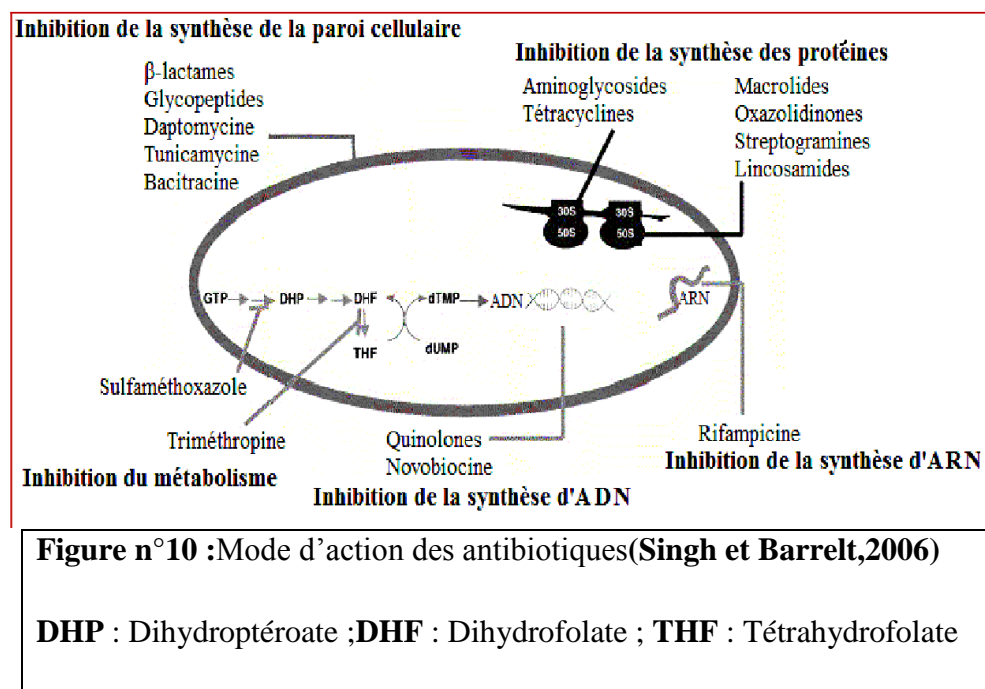
III.1.3-Les antibiotiques

L'origine du terme « antibiotique » est reliée au mot « antibiose », utilisé la première fois en 1889. Ce sont des substances antibactérienne d'origine biologique ou de synthèse chimique, qui est capable d'inhiber la croissance et empêcher la prolifération des micro-organisme (bactériostatique) ou de tuer et détruire (bactéricide), elle agit à de faibles concentration et n'est pas toxique pour l'hôte (Mouton et al.,2000) .

Est associé à des molécules d'origine naturelle et leur dérivés ; ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi synthétique (Singh et Barrelet,2006) .

Le mode d'action étant spécifique au micro-organisme, les antibiotiques peuvent agir sur la paroi bactérienne (peptidoglycane), la structure de la membrane cytoplasmique bactérienne. La synthèse de l'ADN de la bactérie, la synthèse de l'acide folique (Yala et al.,2001).

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologique ou métaboliques de la bactérie (figure n°10)



L'application très répandue des antibiotiques en médecine pendent de nombreuses année, peut être expliquée par la variabilité des cibles qu'ils affectent et des mécanismes d'action qu'ils présentent dans le **Tableau n° 03 (Levy et Marshall,2004)**.

Tableau n°03 : Mécanismes d'action de grandes familles d'antibiotiques (Levy et Marshal,2004)

Famille d'antibiotique	Mécanisme d'action
Pénicillines ;céphalosporines ; Carbapénèmes ;daptomycine ; Monobactames ;glycopéptides	Inhibition de la synthèse de la paroi
Tétracyclines ;aminosides ; Oxazolidinos ;streptogramines ; Macrolides ;lincosamides	Inhibition de la synthèse protéique
Quinolones et fluoroquinolones	Inhibition de la synthèse de l'ADN
Sulfamides ;triméthoprim	Inhibition compétitive de la synthèse de l'acide folique
Rifampicine	Inhibition de la synthèse de l'ARN

II.1.4-Antibiorésistance

La résistance bactérienne est devenue un phénomène mondial et se définit comme la capacité d'une bactérie à devenir insensible (résistante) à l'action d'un ou plusieurs antibiotiques alors appelée antibiorésistance .Les souches antibiorésistance sont d'abord apparues en milieu hospitalier (**Guillot, J. F.(1989)**).

L'antibiorésistance permis de classifier les bactéries comme résistante ou sensibles en se basant sur la possibilité de traiter les infections qu'elles produisent.

Une bactérie résistante est celle qui peut échapper au traitement ,ce qui peut se manifester par un échec thérapeutique ,et par contre ,une bactérie sensible ,lorsque le traitement a une forte probabilité de succès (**Martinez,2014**).

Certaines bactéries ,se caractérisent non seulement par une résistance unique ,mais aussi ,par une résistance à plusieurs antibiotiques (multirésistance) (**Levy et Marshall,2004**) .

Environ 90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* dans le monde sont résistantes à la pénicilline et dans la plupart des pays asiatiques des mêmes souches sont résistantes à la méticilline (**Hemaiswarya et al.,2008**) de même ,Aussi *Acinetobacter baumannii* multirésistant aux antibiotiques (**Davies et Davies,2010**).

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux qui a orienté la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antibactérienne, les plantes et leurs dérivés, tels que les huiles essentielles (**Bouyahya, A., et al.,2018**).

III.1.5-Effet antimicrobien des huiles essentielles

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux les agents antimicrobien les plus puissants ; elles peuvent les tuer et elles en arrêtent la prolifération (**Moro-Buronzo, 2005**).

Toutes les huiles essentielles testées jusqu'à présent, possèdent une certains activité antimicrobienne, cette dernière, varie d'une huile à l'autre, mais elle est toujours dépendante de la dose (**kalemba et kunnicka,2003**) .

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique, en particulier de leurs composé volatils majeurs .Elles contiennent une grande variété de métabolites secondaires capables d'inhiber la croissance des bactéries (**Dorman et Deans,2000 ;Oussalah et al.,2006 ;Doughari et Obidah,2008**) .

Toutes les recherches réalisées sur l'activité des HEs, ont pour le but de trouver de nouvelles molécules antimicrobiennes qui pourront être exploitées dans différents domaines.

III.2-Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs ,il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique ,mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire .(**Carson et al.,2002**).

Les HEs et leurs principaux constituants inhibent les bactéries via une gamme de mécanismes tels que :la perturbation de la paroi (**Helander et al.,1998**) ; la déstabilisation de la membrane plasmique (**Knobloch et al.,1989 ;Sikkema et al.,1994**),endommagement des protéines membranaires (**Juven et al.,1994 ;Ultee et al.,1999**) ; les HEs peuvent inhiber la synthèse de l'ADN ,de l'ARN, des protéines et des polysaccharides, aussi faire une fuite de constituants intracellulaires tels que les métabolites et les ions (**Lambert et al.,2001**),coagulation du contenu cellulaire (**Gustafson et al.,1998**) ; et l'épuisement de la force ponton-motrice (**Ultee et Smid,2001**),ces mécanismes ne sont pas tous cibles distinctes ;certains résultent du ciblage d'un autre (**Brut,2004**).

L'hydrophobicité des huiles essentielles et leur composants est l'une des caractéristiques les plus importantes ,elle leur permet de pénétrer dans la double couche lipidique de la membrane de la cellule bactérienne ,provoquant ainsi la perturbation de ces structures et l'augmentation de leur perméabilité, la fuite des ions et des autres constituants cellulaires, peut donc ,se produire ,et la poursuite de ce phénomène conduit à la mort de la cellule.(**Burt,2004 ;Devi et al.,2010**).

Les sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne sont indiquées ci-dessous (**figure n°11**)

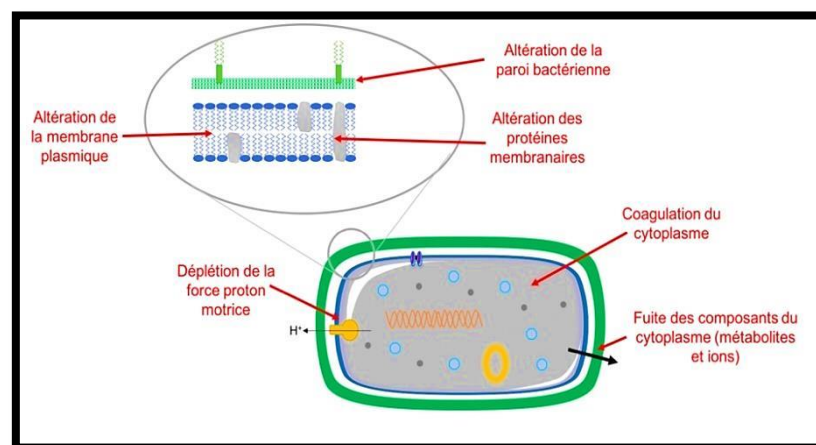


Figure n°11 : Sites d'actions des huiles essentielles sur la cellule bactérienne(**Baser et Buchbauer, 2010**)

Etude

Expérimentale

Chapitre IV

Matériel et Méthodes

Objectif du travail :

Le présent travail a pour objectif d'extraction des huiles essentielles de *Eucalyptus Camaldulensis* qui a été récoltée dans la région de Tissemsilt et d'évaluer leurs pouvoir antimicrobien contre les souches bactériennes multirésistantes à savoir : *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

IV.1-Présentation de la zone d'étude :

Le site se situe entre les coordonnées géographiques suivantes : 35° 61.0771 de latitude et 1° 80 .5097 de longitude

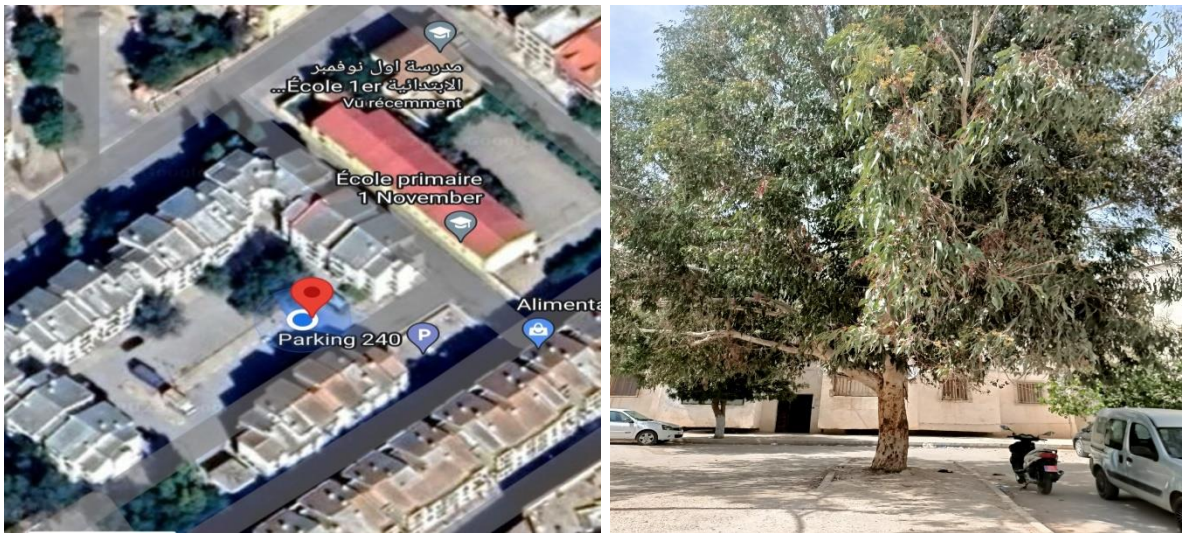


Figure n°12 : Carte de situation d'*Eucalyptus camaldulensis*
(photo original 2023)

IV.2-Matériel végétal

IV.2.1-Récolte

L'espèce de l'*Eucalyptus* choisie, pour notre étude est *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

Les petits rameaux et les feuilles d'*Eucalyptus Camaldulensis* ont été récoltés dans la région de Tissemsilt durant la période matinale vers 11h : 30min, en 10 mars 2023.

Les caractéristiques de matériel végétal que nous avons suivies pour faire la récolte sont : la densité et la couleur des feuilles, odeur, nous choisissons les feuilles les plus allongées et étroites.

Puis les échantillons récoltés sont gardés dans des sacs en plastique bien fermés, puis conservés jusqu'au moment de l'extraction.

IV.3 -Extraction des huiles essentielles

IV.3.1-Extraction par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au laboratoire, par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (figure n°13).

Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles, l'opération consiste à trier et nettoyer 150 g de matériel végétal frais introduite dans un ballon qui contient 750ml d'eau distillée, le mélange est porté à ébullition pendant 03 à 04 heures à l'aide d'un chauffe-ballon .

L'huile essentielle obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4) et enfin conservée dans des flacons en verre opaque (fumé) à température basse ($4-5\text{ C}^\circ$) (Gardeli et al.,2008) .



Figure n°13 : Diapositif de l'extraction d'HE par hydrodistillation (photo original 2023)



Figure n°14 : La décantation d'huile essentielle
(photo original 2023)

IV.3.2-Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre La masse d'HE extraite et la masse de la plante à traiter (AFNOR ,1986) .le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE}(\%) = \frac{\text{Masse de l'HE}}{\text{Masse (MVS)}} \times 100$$

RHE(%) : Rendement en huile essentielle en %

Masse(HE) : Masse d'huile essentielle en gramme

Masse(MVS) : Masse du matériel végétal sec en gramme

IV.4-Procédés d'étude microbiologique

IV.4.1-Souches microbiennes testées

Dans le but de tester la sensibilité de germes bactériens vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques) et biologiques (huile essentielle). Nous avons utilisée six souches microbiennes (4 à Gram négatif et 2 à Gram positif) de référence appartenant de l'institut Pasteur d'Alger **Tableau n° 04**.

Les souches microbiennes utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées et d'altération alimentaire et pour leur pathogénicité.

Tableau n°04 : Les différentes souches utilisées dans le test antibactérien

Souche	Code	Gram	Source
1- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif	Institut Pasteur D'Alger
2- <i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606	Négatif	
3- <i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659	Négatif	
4- <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Positif	
5- <i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579	Positif	
6- <i>Salmonella enterica</i>	ATCC 35664	Négatif	

IV.4.2-Milieus de culture utilisée

Les milieux de culture utilisés pour les différents tests microbiologiques sont les suivants :

- Gélose nutritive
- Gélose Muller Hinton (M .H) (**Annexe 1**) .

IV.4.3-Préparation de la suspension bactérienne (l'inoculum)

A partir d'une culture jeune (18 à 24 h) et pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) nous avons raclés à l'aide d'un écouvillon stérile quelque colonie bien isolée et parfaitement identiques .Qui sont diluées dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, ensuite nous avons bien homogénéisé la suspension bactérienne.(**Figure n°15**).

Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland, cette opacité à une densité optique de 0,08 à 0,1 lue à une longueur d'onde de 625 nm sur un spectrophotomètre UV (**Jenway 7305**) (Figure n°16).

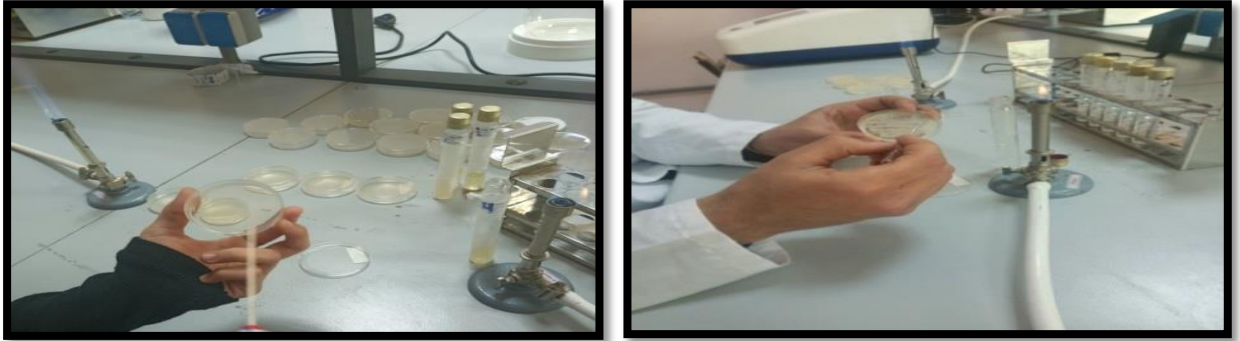


Figure n°15 : Prélèvement des colonies bactériennes , (photo original 2023)



Figure n°16 : La lecture de la densité optique sur spectrophotomètre

(photo original 2023)

IV.4.4-Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques(Antibiogramme)

L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disque en milieu gélosé .La méthode de diffusion est l'une des plus anciennes approches de déterminer la sensibilité ou la résistance des bactéries à différents antibiotiques (Jehl, Cattoen , 2016) .

Les antibiotiques testés sont mentionnés dans le **Tableau n°05**.

Un volume de suspension microbienne standardisée a été ensemencé par étalement sur des boîtes de (Muller- Hinton) à l'aide d'un écouvillon stérile, puis laisser sécher pendant 10 à 15 min à la température ambiante (**Denis et al., 2011**) .

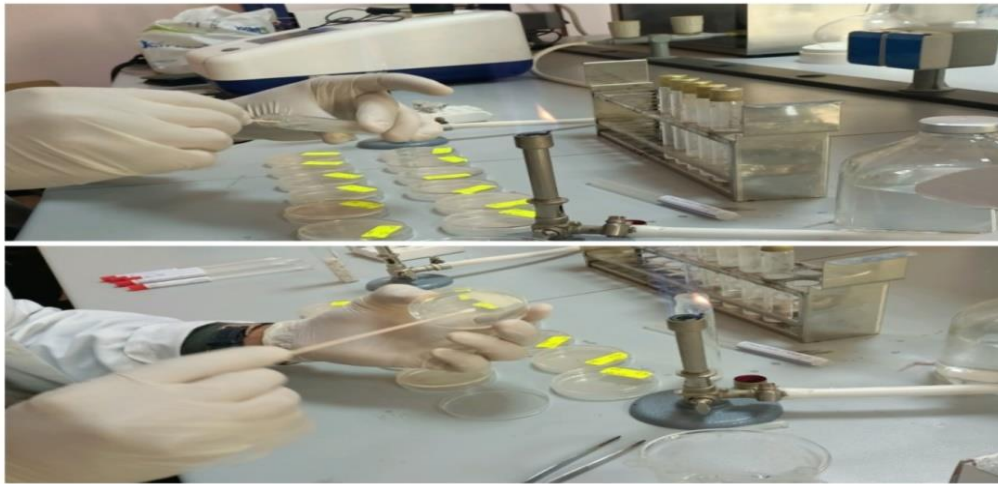


Figure n°17 : Prélèvement de la suspension bactérienne puis ensemencement sur milieu gélosé (photo original 2023)

A l'aide d'une pince stérile (flambée) à proximité d'un bec bensen (**Annexe n°01**). Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la boîte gélosée de Muller-Hinton précédemment encensé .La boîte gélosée ainsi préparée est maintenue à la température ambiante pendant 30min à 1h .Afin de permettre la pré -diffusion, ensuite elle a été incubée à 37°C pendant 24h à 48h.(figure n°18) .



Figure n°18 : Dépôt des disques d'antibiotique à la surface du milieu gélosé
(photo original 2023)

La lecture de l'antibiogramme permet de déterminer si une souche bactérienne était sensible (S) ou intermédiaire (I) ou résistante (R) à un antibiotique donné. Selon la standardisation nationale de l'antibiogramme en médecine humaine et vétérinaire de l'année 2011 et le comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie (2015). (Ammari et al., 2011 ; Jehl et al., 2015).

On mesure donc la zone d'inhibition, y compris le diamètre du disque à l'aide d'un pied à coulisse. Les zones d'inhibition résultantes seront uniformément circulaires ou aucune croissance n'est observée.

Tableau n°05 : Les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

Sigle	Antibiotique	Charge du disque en μg
CT	Colistine	10
TE	Ticarcilline	30
NA	Acide nalidixique	30
AMC	Amoxicilline	30
C	Chloramphénicol	30
SXT	Triméthoprim-sulfaméthoxazole	25
CIP	Ciprofloxacine	5

IV.4.5-Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

IV.4.5.1.Aromatogramme

L'aromatogramme est une méthode fiable et reproductible et de mesure in vitro du pouvoir antibactériens des huiles essentielles. Cette méthode nous permet en évidence l'effet antibactérien de l'HE(*E.camaldulensis*) plus tôt sur les bactéries.

Ainsi que de tester la sensibilité ou la résistance de ces bactéries vis- à vis de cet échantillon. La méthode de diffusion des disques appliquée est celle décrite par **(Mayachiew et Devahasin,2008 ;Gachkar et al.,2007 ;Hussain et al.,2010)**.

Aussi elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et s'appliquer à un grand nombre d'espèce bactérienne.

On prépare des boites de pétrie (90 mm de diamètre) en versant 20ml de milieu Agar de Mueller Hinton(MHA) et on laisse solidifier et sécher pendant 30 min.

Les bactéries à tester sontensemencés sur des boites de pétri contenant le milieu de culture, afin d'obtenir une culture jeune et colonies isolées à l'aide d'une écouvillon stérile.

Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont prélevées et mises dans 10ml d'eau physiologique stérile.

Nous avons utilisé dans cette méthode des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés de 10µl d'huile essentielle pure qui sont déposés à la surface des boitesensemencées (un disque par boite) à l'aide d'une pince stérile (**figure n° 19**).

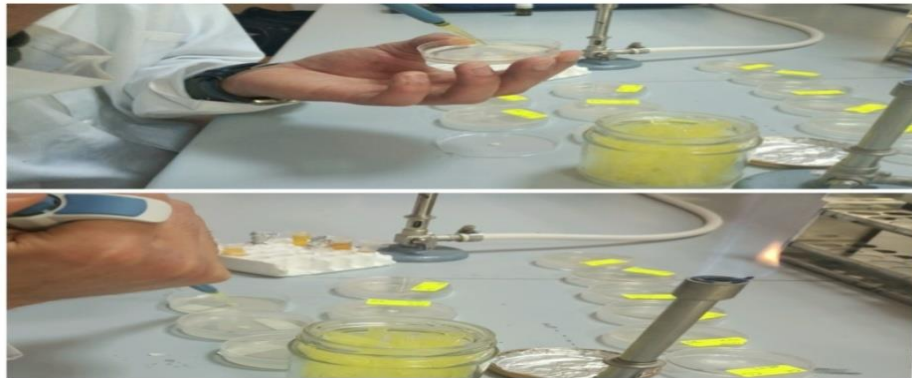


Figure n°19 : L'ajoute d'huile sur le disque vierge (photo original 2023)

Puis fermer les boites et laissées diffusé pendant 15min à température ambiante ensuite retournées et incubées à 37°C pendant 24 heures dans l'étuve.

Des témoins sont réalisés pour chaque souche comme contrôle négatif.

Les essais sont répétés trois fois, après incubation .Le diamètre d'inhibition a été mesurer en millimètres et le résultat étant la moyenne des trois essais.

D'après (Ponce et al., 2003)et (Moreira et al .,2005) la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition.

Tableau n°06 : Degrés des sensibilités de la croissance microbienne et leur diamètres des zones d'inhibition (Ponce et al., 2003) et (Moreira et al.,2005)

Diamètre d'inhibition	Sensibilité
D<10mm	Non sensible (-) « résistante »
Entre 10 à 14 mm	Sensible(+)
Entre 15 à 20mm	Très sensible (++)
Plus de 20 mm	Extrêmement sensible (+++)

Chapitre V

Résultats et Discussion

V.1-Matériel végétal

V.1- Extraction et caractérisation chimique des huiles essentielles de *Eucalyptus*

Camaldulensis

V.1.1-Rendement en huile essentielle (R)

Le rendement en huile essentielle d'*Eucalyptus Camaldulensis* extraite par hydrodistillation a été calculé selon la formule suivante (Vagi et al.,2005) :

$$R = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100$$



Figure n°20 : Huile essentielle extraite d'*Eucalyptus camaldulensis*
(photo original 2023)

L'huile essentielle obtenue est de couleur jaune, d'aspect liquide, et de bonne fluidité, avec une odeur aromatique .Les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau n°07** :

Tableau n°07 : Rendement d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* extraite par hydrodistillation

Essai N°	Masse du matériel végétal utilisé en(g)	Volum e d'eau distillé e utilisé en (ml)	Masse des huiles essentielles extraites en (g)	Rendement en huile essentielle (%)	Rendement Moyen (%)
01	900	4500	2.498	0.278	0.26
02	900	4500	2.418	0.269	
03	900	4500	2.303	0.256	

Les résultats du **tableau n°07** montrent que le rendement en huiles essentielles obtenues à partir des feuilles et petits rameaux d'*Eucalyptus camaldulensis* est de l'ordre De 0.26% .

Le rendement d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* est différent d'une région à l'autre en Algérie et dans le monde.

Des études réalisées par (**Hadjadji et Chemlel,2018**) dans la région de Guelma en Algérie ,a montré également un rendement en huiles essentielles 0.2 % cette résultat relativement proche de rendement moyen d'*Eucalyptus camaldulensis* récolté dans la région de Tissemsilt . Et (**Oyedeji et al.,1999**) au Nigéria c'est la même résultat obtenue dans notre étude ,un rendement de l'ordre de 0.26%.

Un autre études menées par (**Foudil-Cherif,1991**) dans la région de Alger (Bainem,Alger) est 0.33% .**Cimanga et al.,2002** au Congo et(**Lucia et al.,2008**)(**Toloz et al.,2008**) au Argentine ont obtenu un rendement de 0.3%, ces résultats sont proches du rendement du *E.camaldulensis* de région de Tissemsilt.

Par ailleurs, un rendement très élevé en huile essentielle a été réalisée par(**Belbachir,2019**) dans la région de Ain Timouchent en Algérie estimé à 1.92% .

Un rendement extrêmement élevé au Maroc a été réalisée par (**Addellah et al.,2002**) et en Taiwan a été réalisée par(**Su et al.,2006**) estimé à 3.48%. Aussi en Brésil par (**Filomeno et al.,2008**) estimé à 3% .

Cette variabilité dans les résultats peut être expliquée par une différence au niveau de plusieurs paramètres soient biologiques, soient géographiques, soient climatique et pédologique (la nature du sol)(**Regnault-Roger,2005**).

la différence du site récolte y compris l'environnement de la plante, la période de récolte, la patrimoine génétique et la procédure d'extraction utilisée (**Benini ,2007 ;Bruneton,1999**).

V.2-Etude de l'activité antimicrobienne

V.2.1-L'Antibiogramme

L'évaluation de la sensibilité des bactéries testées par l'antibiogramme est illustrée dans les figures N° : 21 à 26 et le tableau n°08.

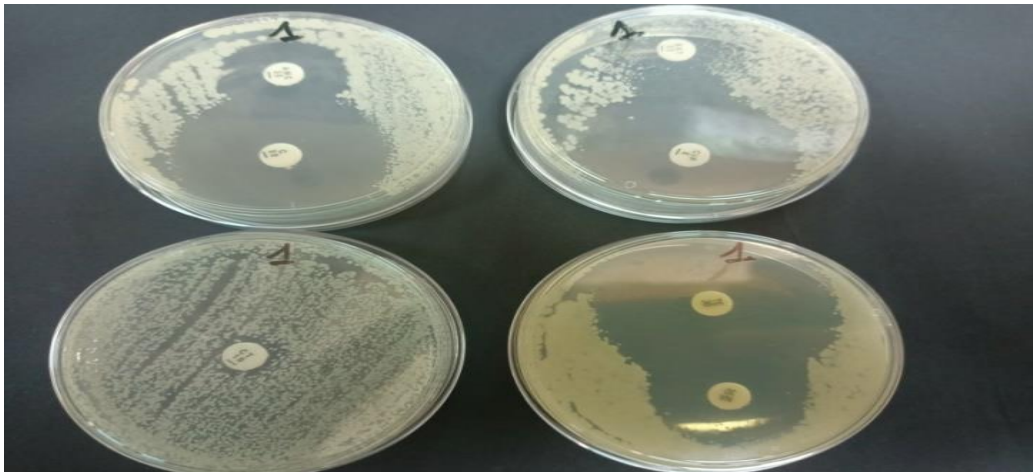


Figure n°21 : Résultats de l'antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*
(photo original 2023)

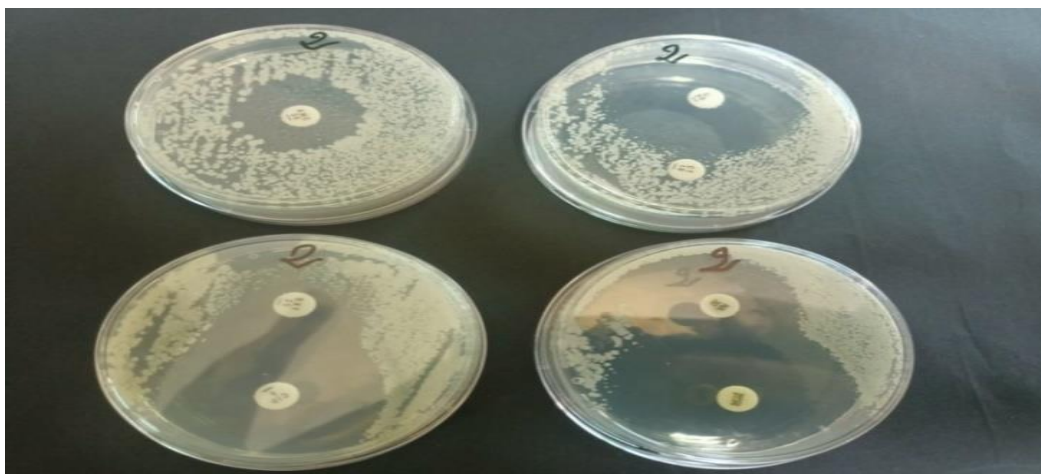


Figure n°22 : Résultats de l'antibiogramme de *Acinetobacter baumannii*
(photo original 2023)

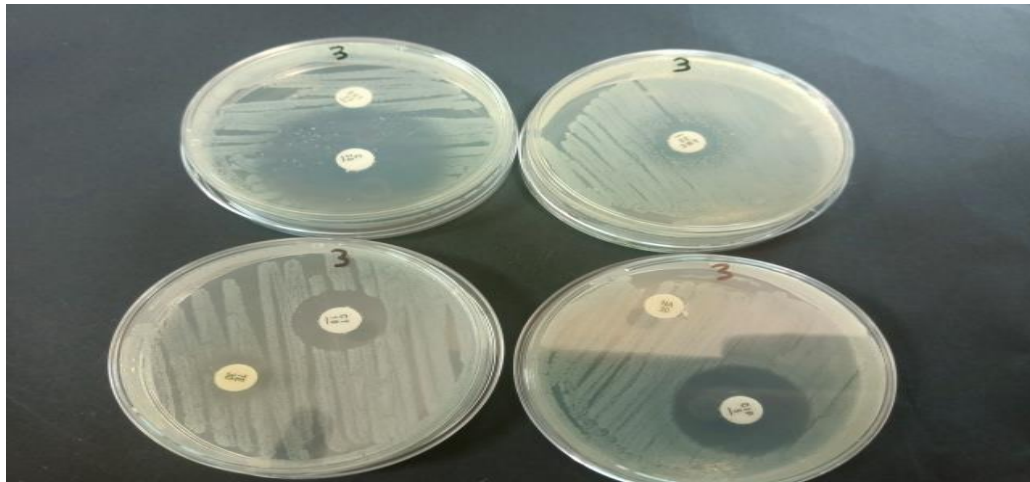


Figure n°23 : Résultats de l'antibiogramme de *Proteus mirabilis*
(photo original 2023)

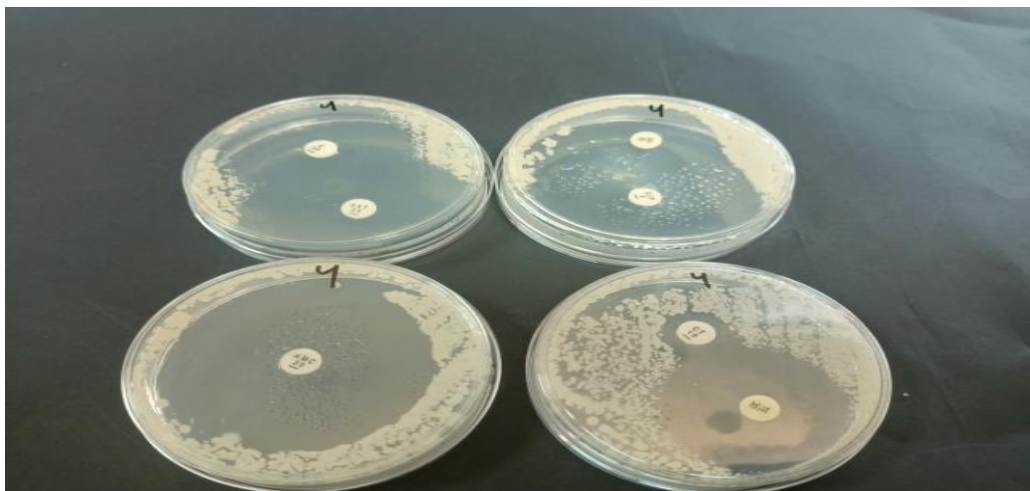


Figure n°24 : Résultats de l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*
(photo original 2023)

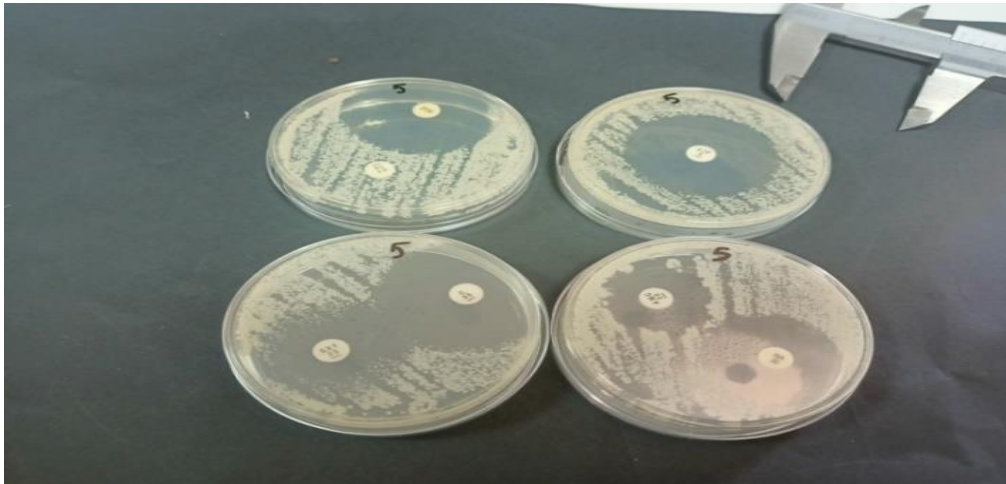


Figure n°25 : Résultats de l'antibiogramme de *Bacillus cereus*
(photo original 2023)



Figure n°26 : Résultats de l'antibiogramme de *Salmonella enterica*
(photo original 2023)

Tableau n°08 : Diamètre des zones d'inhibition de l'antibiogramme en (mm)

Antibiotiques	Souches											
	Pseudomonas .a		Acinetobacter .b		Proteus .m		Staphylococcus .a		Bacillus .c		Salmonella .e	
	D	INT	D	INT	D	INT	D	INT	D	INT	D	INT
Colistine	8.2	-	8.1	-	14.9	+	11	+	0	-	9.75	-
Ticarcilline	35	+++	37	+++	9.5	-	30	+++	35	+++	26	+++
Acide nalidixique	22.1	+++	30.7	+++	0	-	30.2	+++	35	+++	23.4	+++
Amoxicilline	20	++	31	+++	10.5	+	38	+++	18	++	8.3	-
Chloramphénicol	31	+++	36	+++	29	+++	35.7	+++	32	+++	31.1	+++
Triméthoprime_ Sulfaméthoxazole	12	+	15	++	0	-	42.7	+++	18.7	++	21.8	+++
Ciprofloxacine1	32.4	+++	34	+++	20.7	+++	42.6	+++	32.1	+++	33.6	+++

- <10 Non sensible (-)
- 10 à 14 sensible (+)
- 15 à 20 très sensible (++)
- >20 extrêmement sensible (+++)

(ponce et al . 2003 et Moreira et al . 2005)

INT : interprétation
D(mm) : diamètre des zones en

D'après ces résultats, *Staphylococcus aureus* est la seule bactérie qui est sensible à tous les antibiotiques.

Par ailleurs, ceux qui se sont montrés inactifs contre les bactéries sont les suivants : Colistine contre *Bacillus cereus*, Acide nalidixique et Triméthoprim - Sulfaméthoxazole vis-à-vis de *Proteus mirabilis*.

- Nous avons remarqué trois souches résistante contre Colistine se sont : *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (8mm) et *Salmonella enterica* (9 mm), ainsi que *Proteus mirabilis* est résistante vis-à-vis Ticarcilline (9mm), et *Salmonella enterica* contre Amoxicilline (8 mm).
- Les souches sensibles sont : *Proteus mirabilis* et *Staphylococcus aureus* vis-à-vis Colistine, *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis Triméthoprim-Sulfaméthoxazole, *Proteus mirabilis* contre Amoxicilline.
- Les souches qui sont très sensibles sont : *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa* contre Amoxicilline.
- *Acinetobacter baumannii* et *Bacillus cereus* vis-à-vis Triméthoprim-Sulfaméthoxazole.

✚ Les souches qui sont extrêmement sensibles sont :

- ✓ Tous les souches sont extrêmement sensibles vis-à-vis Chloramphénicol et Ciprofloxacine1 .
- ✓ *Staphylococcus aureus* contre les 6 AB sauf contre Colistine .Suivis par *Salmonella enterica* contre 5 AB sauf contre Colistine et Amoxicilline.

Puis ces trois souches (*P.aeruginosa* , et *A.baumannii* ,*B.cereus*) sont extrêmement sensibles vis-à-vis des mêmes antibiotiques a par (CT. AMC. SXT).

Enfin *Proteus mirabilis* vis -à -vis à deux antibiotiques sont : Chloramphénicol et Ciprofloxacine1 .

V.2.2.L'Aromatogramme

Les résultats présentés dans le **tableau n°09** et (figure n°27) ont été obtenus en évaluant l'activité antibactérienne d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* par la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

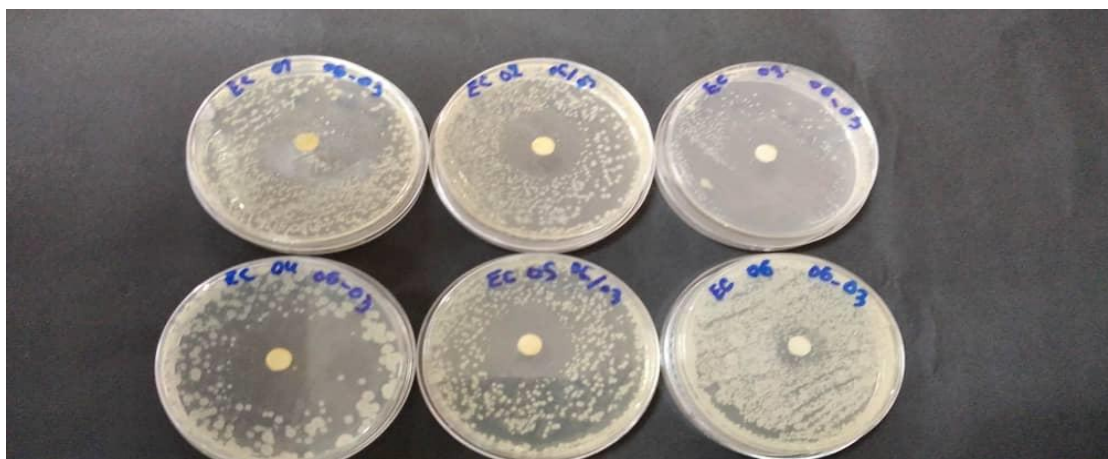


Figure n°27 : Résultats de l'Aromatogramme d'HE d'*Eucalyptus camaldulensis*
(photo original 2023)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles pures de *Eucalyptus camaldulensis* montrent une inhibition de croissance des souches cibles par une variation des diamètres d'inhibition allant de 8 à 26 mm .

Tableau n°09 : Résultats de l'Aromatogramme exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (mm)

N°	Souches	Diamètre (mm)
01	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23
02	<i>Acinetobacter baumannii</i>	19
03	<i>Proteus mirabilis</i>	8
04	<i>Staphylococcus aureus</i>	26
05	<i>Bacillus cereus</i>	21
06	<i>Salmonella enterica</i>	10

D'après les résultats illustrés sur le **Tableau n°09** nous remarquons que les diamètres des zones d'inhibition varient selon la sensibilité des souches utilisées.

Nous avons enregistré trois souches extrêmement sensibles aux huiles essentielles sont : *Staphylococcus aureus* (26mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (23 mm) et *Bacillus cereus* (21 mm) ,suivis par une souche très sensible *Acinetobacter baumannii*(19mm).

Ainsi que deux souches résistantes contre l'huile essentielle c'est ; *Salmonella enterica* (10mm) moins sensible à l'huile de *Eucalyptus camaldulensis* en comparant avec les autres souches .Et *Proteus mirabilis* (8mm) cette bactérie connue pour sa faible sensibilité aux huiles essentielles.

Les résultats de *Proteus mirabilis* est la même de celles reportée par (**Bourahla, N., Halfaya, A ,& Khelif ,O. (2020)**).

Il est généralement connu que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles que les bactéries négatif (**Trombetta et al.,2005 ;Su et al.,2012**) .

La bactérie *Staphylococcus aureus* (Gram+) est la plus sensible aux HEs provenant de plusieurs espèces d'Eucalyptus. En particulier des huiles essentielles d'*E.camaldulensis* selon (**Farah et al .,2001**).

Conclusion

Les huiles essentielles possèdent d'importantes propriétés biologique, notamment, l'activité antimicrobienne, qui leurs permettent d'être utilisée dans différents domaines.

L'objectif primordial assigné par cette étude et d'évaluer de pouvoir antimicrobien du plante *E.camaldulensis* utilisée dans la pharmacopée traditionnelle pour traitement de plusieurs maladies.

L'extraction de HE à partir des petits rameaux et feuilles frais d'*Eucalyptus camaldulensis* par hydrodistillation (type Clevenger) a donné un rendement de 0.26% dans la région de Tissemsilt .Comparable à celui trouvé chez la même espèce des autres régions d'Algérie qui varie entre 0.2 et 1.92% .Ces rendements sont différents de ceux enregistrés chez la même espèce dans différents régions du monde allant de 0.3% à 3.8% .

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* a été testée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé « Aromatogramme » vis-à-vis de six souches bactérienne(*Pseudomonas aeruginosa* ,*Acinetobacter baumannii* ,*Proteus mirabilis* ,*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enterica*) .

L'huile a montré un effet inhibiteur variable et une efficacité contre les bactéries, En ce qui concerne la sensibilité des espèces microbiens contre l'huile essentielle, nous avons trouvé que la bactérie *staphylococcus aureus* était extrêmement sensible à l'huile pure donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (26 mm).

Par comparaison aux HEs d'*E.camaldulensis*, les antibiotiques n'était pas tous actifs contre les souches testées, le plus grand diamètre d'inhibition a été enregistré par Triméthoprime-Sulfaméthoxazole et Ciprofloxacine1 contre *Staphylococcus aureus* ,(42.7 mm) ,(42.6 mm) respectivement .

Nous concluons que *l'Eucalyptus camaldulensis* constitue une source importante pour les recherches futures dans les domaines de l'agriculture, de l'industrie alimentaire, et pharmaceutique.

A la suite de ces résultats, Il serait donc intéressant de faire :

- ❖ Des études plus approfondies de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* d'Algérie.
- ❖ Détailler expérimentalement ses différentes propriétés chimiques et biologiques
- ❖ L'extraction des HEs par d'autres méthodes
- ❖ Évaluer d'autres activités biologiques de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* telles que l'activité antifongique, antivirale et insecticide, anti-inflammatoire.
- ❖ Évaluer le pouvoir anti-oxydant et antimicrobien de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* « in vitro »
- ❖ L'isolement et la caractérisation des composés actifs dans l'extrait en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.

Références

Bibliographiques

A

Abdellah, F. ; Fechtal, M. ; Chaouch, A. (2002) Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'Eucalyptus cultivés au Maroc.

Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 6 (3), 163-169

Adoumou H. Yedomonhan, B. Djossa, S. I. Legba, M. Oumorou et Akoegninou, A. (2012) .Etude Ethnobotanique des plantes médicinales vendue dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. Université d'Abomey-Calavi, Cotonou Bénin.

AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986 , Recueil des normes française "huiles essentielles". AFNOR, Paris, 57p.

Ait Salem, L. (2016) .Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de pinus sylvestris et Pelargonium asperum en combinaison avec la nisine sur des bactéries pathogènes Mémoire de Master . Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.

ALEXENDREIN, D., 1992. Essences forestières, Guide technique du forestier méditerranéen français. Edition techniques et documentation lavoisier, paris. 80p.

Amazian, K., Rosselo, J., Castella, A., Sekkat, S., Terzaki, S., Dhidah, L. et al . (2010) [Prevalence of nosocomial infections in 27 hospitals in the Mediterranean region]. East Mediterr Health J 16 : 1070-1078.

Ammari H, Benslimani A, Rahal K, Tali-Maamar H, Kechih-Bounar S. 2011. Standardisation de l'antibiogramme a l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 6^e édition , OMS, 195.

Arnold, RJ et Luo, J. (2018) .Eucalyptus camaldulensis .In Thomson L. ;Doran and Clarke B (eds) 2018. Trees for life in Oceania : conservation utilization of genetic diversity .ACIAR. Monograph No.201. Australian Centre for International Agricultural Research :Canberra. 94 -99.

B

- Bakkali F., Averbeck D., et Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils -Areview. *Food and Chemical Toxicology*.**46**:446-475.
- Bamayi H., Kolo L., Okogun I I., Ijah UJJ. (2004).**The antimicrobial activities of methanol extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganismes. *Journal of Nigerian society of experimental Biology*, 16(2) :106-111.
- Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010.**Handbook of essential oils :Science, technology, and applications. *CRC Press*, Taylor and Français Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p.
- Bassolé, I.H.N et Juliani, H.R. (2012).** Essential oils in Combination and Their Antimicrobial Properties .*Molecules* . 17:3989-4006 .
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008).**Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, 256(12), 2166-2174.
- BELAICHE P., 1979 :** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. éd. Maloine. Paris.
- Benabdelkader T., (2012).** Biodiversité, bio activité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées ,*Lavandula Stoechas* Snsu Lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie, Université Jean—Monnet de Saint Etienne France. 259p.
- Benazzedine, S. (2010).**Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus orizae* (Coleoptra,Tenebrionidae) .Mémoire on line.
- BENHADJOUJJA, Y. (2019).***Incidence des Toxi-infections alimentaires collectives dans l'ouest algérien et étude des cas relevés dans la wilaya de RELIZANE durant les années 2016--2018* (Doctoral dissertation, université ibn khaldoun TIARET).
- Benini C. (2007)** contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingénieur. Université Gembloux.
- Belbachir, Kh.A. (2019).**Etude phytochimique et l'Activité anti-oxydante de la plante *Eucalyptus camaldulensis*

- 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.
- Bessah R. et Benyoussef. E.H., (2015).** La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Revue des énergies renouvelable.18 (3) :513 -528
- Bouanane N., Boussehel N, 2005,** Contribution agro écologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (*menthe piperata* L.) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation de ses huiles essentielles en thérapie ; mém Ing. Univ .Ouargla-p22- 23 ; 28.
- Bouamer A., Bellaghit M., Moulay O, 2005.** Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata* L.)et de la menthe poivrée (*Mentha pipetita* L.) dans la région de Ouargla .Etude supérieures en biologie université de Kasdi Merbah Ouargla, p41.
- Bouhekrit M. 2018.** Etude de la composition chimique et de l'activité biologiques des huiles essentielles de deux apiacheaeelaeoselinum asclepium (L.) Bertol. Et Margotia gummifera (Desf.) Lange. Thèse de doctorat, Université de Sétif, Algérie,17p.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2018).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), S173-S183.
- Buisson, Yves, and Rémy Teyssou.**"Les toxi-infections alimentaires collectives." *Revue française des laboratoires*2002.348 (2002): 61-66.
- Boukhatem , M.N., Ferhat, A. T et Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Agrobiologia*, vol n°9. P : 1653- 1659.
- Bourahla, N., Halfaya, A., & Khelif, O. (2020).**Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'une plante médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*).
- Bouvet, J.M. (2003).** L'Eucalyptus une essence majeure pour le reboisement à Madagascar. Conférence. Université d'Antananarivo, -Madagascar.
- Bremness, L., (2005).** Plantes aromatiques médicinales –n.p. Larouss. 306p.
- Bruneton, J. (1987).** « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales » 1^{ère} éditions.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales . Tec. & Doc. Lavoisier, 2^{ème} édition, Paris. 915p.

Bruneton J, 1999, Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} édition, Tec &Doc. Lavoisier, Paris, 1120p.

Bruneton J. (1999).Terpène et stéroïdes. In : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales . (3^{ème} Eds.), Technique et Documentation. Paris, pp. 461-769.

Buchbauer G., Jirovetz L, 1994 ,Aromatherapy-Use of fragrances and essential oils as medicaments. Flavour and Fragrance Journal, 9, 217- 222p

Bukar A., Danfillo I.S., Adeleke OA., Ogunbodede E.O. (2004). Traditional oral health practices among Kanuri women of Borno State, Nigeria. Odontostomatol. Trop. 27(107): 25-31.

Burt S. (2004). Essential oils :Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food and Microbiology.* **94**,223-253.

C

Caillet S., Iacroy M, 2007 ,Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS – Institut Armand – Frappier, Université de Laval, Québec, Canada* ,89p

Carson C.F., Mee B.J.& Riley T.V .,2002.- Mechanism of action of Melaleuca alternifolia(tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy***46** :1914 -1920.

Carson CF, Hammer KA.(2011) Chemistry and Bioactivity of Essential Oils.In Thormar H.Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. United Kingdom, John Wiley et Sons LTD,204-238.

Cimanga ,K. ; Kambu, K. ;Tona, L. ;Apers , S. ;de Bruyne, T. ;Hermans, N et al.(2002).Correlation between chemical composition and antibacterial activity of EOs of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of the Congo . *J. Ethnopharmacol*,79 ,213 -220.

Chagra, K. (2019). Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou de girofle (*Syzygium aromaticum L.*).Mémoire de Master , Université Mohamed Khider ,Biskra, Algérie.

Chemat F. (2009) Essentialoils and aromas : Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311.

Cockcroft, A., Cosgrove, B., et Wood, R.J.(1998). Comparative repellency of commercial formulations of deet,permethrin and citronellal against the mosquito *Aedes aegypti* using a collagen membrane technique compared with human arm tests. *Medical Veterinary andEntomology*,12, 289 - 294

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.

Commission européenne de Pharmacopée (2009). *Pharmacopée européenne*. 6^{ème} édition.

Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G. 2000.-The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil).*Journal of Applied Microbiology* (88) :170-175.

D

Da silva, F. (2010). Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse de doctorat en Pharmacie .Université Henri Poincaré – Nancy p17, 10, p18.

Davies Julian et Davies Dorothy (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance, *Microbiology and molecular biology reviews*, 74: 417-433.

Dayan F., Cantrell C.L., et Duke S.O. (2009).Natural products in crop protection *Bioorganic &medicinal chemistry*, 17(12): 4022-4034.

Denis F, Bingen E, Martin C, Ploy MC, Quentin R .2011. Bactériologie médicale : Techniques usuelles. 2nd Edition Elsevier Masson, 640.

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Mémoire de Doctorat, Université d'Aix –Marseille , France.

Dethier M, 1996, Contribution à l'étude des plantes aromatiques du Burudi. *Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II*, France, 182p.

Devi, P.K., Arif Nisha, S., Sakthivel, R. et Karutha Pandian, S. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. *J. Ethnopharmacol.* 130 :107- 115.

Dorman H.J., Deans S.G, 2000 ,Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils .*J. Appl. Microbiol*, **88**, 308-316p

Doran ,J C et Wongkaev, W. (2008). *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.In : Louppe, D., Oteng Amoako, A.A., Brink , M.(Eds.), *Plant Resources of Tropical Africa* 7(1): Timbers1. PROTA Foundation. Backhuys Publisher, Wageningen, Netherlands Leiden Netherlands ; CTA, Wageningen, Netherlands.

Dr Jesus Cardenas,allergologue. *Eucalyptus*. Les propriétés médicinales de l'eucalyptus, validation médicale : 04 mai 2017.

Duke, J.A and Wain, KK. (1981). *The medicinal plants of the World*, computer index with More than 85,000 Entries, vol 3.

E

Edris A.E, 2007, Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother. Res*, 21, 308-323p

Elberling , J. ; Skov , P.S. *Clin Exp Allergy*,2007.37: 1676-80.

F

FAO, Rome.1982.*Les Eucalyptus dans le reboisement*, N0 11, 648p.

Farah, A., Satrani, B., Fechtal, M., Chaouch, A., & Talbi, M. (2001).Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles *d'Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583). *Acta botanica gallica*, **148** (3), 183-190.

Fernandez X., Chemat F. (2012) *La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation*. Vuibert, Paris, 288.

Ferhat M.A., Meklati, B.Y.et Chemat, F. (2007).Comparison of different isolation methods of essential oil from *Citrus*fruits : cold pressing : hydrodistillation and microwave dry distillation. *Flavour and Fragr. J.*, **22**: 494- 504.

Ferhat MA, Meklati BY, Chemat F.(2010)*Citrus* d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. Edition Office des publications universitaires, Alger, 157.

Filomeno, C.A.Barbosa, L.C.A. Pereira, J.L. ; Pinheiro, A.L. ; Fidencio, P.H. ; Montanari , R.M. (2008) the chemical diversity of *Eucalyptus* spp.essential oils from plants grown in Brazil. *Chem.Biodivers.*

Foudil –cherif,Y.(1991)Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus Labill* et *Camaldulensis*. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumedienne, USTHB, ALGER.

France-Ida J. (1996) -Brefsurvol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles .Info – essence.3 : 5-6.

Fronchomme P., Pénoel D, 1990, L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. *Edition Roger Jollois, Limoges, France, 445p*

FRANCHOMME P., PENOËL D et JOLLOIS R., 2003 : L'aromathérapie exactement Ed.Jollois, Bayeux, pp 490.

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeth M., Astaneh S.A. and Rasoli I.,.(2007). Chemicaland biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem .*,102:898 -904.

Gardeli C, Vassiliki P, Athanasios M, Kibouris T, Komaitis M. 2008 . Essential oil composition of *,Pistacia lentiscus L.* and *Myrtus communis L.* : Evaluation of antioxydant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry* **107**, 1120 -1130 .

[http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.036.](http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.036)

GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. ET ORECCHIONI A.M., 2001: Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie,Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.

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

Goets, P & Ghedira, K. (2012) .Phytothérapie infectieuse, Springer Verlag, France, P 272

Grosjean N.L'aromathérapie, santé et bien être par les huiles essentielles. Ed Albin Michel, 1993, Paris.

Grysole J. (2004) – La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 139-141.

Guignard J L., Cosson L., 2001. Abrégé Botanique Systématique Moléculaire 12 Eds Révisée.MASSON.

Guillot, J. F. (1989).Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. In *Annales de recherches vétérinaires* (Vol. 20, No. 1, pp. 3-16).

Gustofson, J.E., Liew, Y.C., Chew, S., Markkham, J.L., Bell, H.C., Wyllie , S.G et Warmington, J.R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Lett Appl Microbiol* .26 (3): 194-198.

H

Haeghebaert, S., Le Querrec, F., Gallay, A., Bouvet, P., Gomez, M., & Vaillant, V. (2002). Les toxi-infections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000. *Bull. Epidémiol. Hebdo*, 23, 105-109.

Hadjadji, A. ; Chemlel, M. (2018) Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes, Thèse d'obtention du Diplôme de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma.

Hayakawa, R. Contact Dermatitis, 1987, 16 :272-274.

Helander, IM., Alakomi, HL., Latva, KK., Mattila, ST., Pol, I., Smid EJ et Wright , VA. (1998). Characterisation of the action of selected essential oil components on gram negative bacteria. *J Agric Food Chem* . 46(9):3590 3595.

Hemaiswarya S., Kruthiventi A.K., et Doble M. (2008) .Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases.*Phytomedicine*.15:639-652.

Hesham, H.A.R., Abduraman, H.N. et Rosli, M.Y. (2016). Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review Australian journal of basic and applied sciences, 10(16) :117-127 .

Hussain A.I., Anwar F., Chatha S.A.S., Jabbar A., Mahboob S. and Nigam P.S., (2010) . Rosmarinus officinalis essential oil: anti proliferative, antioxidant and antibacterial activities .Brazilian Journal of Microbiology 41: 1070-1078.

I

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE FORESTIÈRE. 1996. « La foret Algérienne ».- Bainem-Alger .p 275-281.

Iserin, Paul. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. s.l. : Dorling Kindersiey, 2001. P.54.

Isman, M.B, (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection* , 19(8) :603-608.

J

JACQUES GREC, 1996. L'érisson, la défense, et la restauration des sols, le reboisement en Algérie, Alger . p275-281

Jaffrelo A., 2019. Aromathérapie pour les soignants. Les nouveaux chemins de la santé. 30p.

Jehl F, Lina G ,Bonnet R, Bru JP, Caron F, Cattoir V, Chardon H, Courvalin P, Dubreuil L Jarlier V, Lambert T, Lefort A, Merens A, Nicolas-Chanoine MH, Plesiat P, Poly MC, Soussy CJ, Varon E, Weber P. 2015. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandation de 2015).The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST, 117.

Jehl, F., & Cattoen, C. (2016). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Recommandations 2016. VI. 0 Février*, 117.

Juven B.J., Kanner, J., Schved, F, et Weiss lowicz, H.(1994).- Factors That Interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents . *Journal of Applied Bacteriology*, 76: 626 -631.

K

- Kalemba, D. et Kunicka, A. (2003).**- Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* .10: 813-829.
- Kebir, B. (2018).** Etude dendrométrique d'Eucalyptus camaldulensis Dehnh dans trois stations de la wilaya de Tlemcen .Mémoire de Master, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie
- Kelly, S. (1996).** Eucalyptus, Thomas Nelson Australia, 11 : 22-30.
- Koreichi, N et Benletreche, M S. (2019).**synthèse des propriétés physicochimique et biologiques de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh . Mémoire de Master, Université Constantine1, Algérie.
- Knobloch, K., Pauli, A. et Iberl, B. (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components.*J Essent Oil Res.* 1(3):119-28

L

- Lagunez Rivera L, 2006,** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France, 335p
- Lambert R.JW ., Skandamis, P.N, Coote, P.J et Nychas GJ. (2001).** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil , thymol and carvacrol. *J Appl Microbiol.*91(3):453-62.
- Laurent J.2017.** Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, France, 13 -28p.
- Levy SB, Marshall B. (2004)** Antibacterial resistance worldwide : causes, challenges and responses .*Nat. Med.* 10: 122-129.
- Li Y., Fabiano-Tixier A.- S. and Chemat F.,(2014).** Essential oils : From Conventional to Green Extraction. Springer, New York, NY.70p.
- Lucchesi M.E, 2005 ,**Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles .*Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France,* 146p

Lucchesi M E, Smadja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F- Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil- J. Food Engineer; Vol. 79; pp 1079-1086.2007.

Lucia, A. ; Licastro, S. ; Zerba, E. ; Masuh, H. (2008) yield , chemical composition , and bioactivity of Eos from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. Entomol.Exp. Appl. 129, 107 -114.

M

Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarcoj. B., Pizzolatti M.G., and Brighente I. M. C., (2009), Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia species*, *J. Nat. Med.*, **63**, 345 -350.

Mapoli G, 2003, Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles d'*E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). *Mémoire d'études approfondies, Université de Congo*, 58p

MARIANI, E.O., MARIANI, C.E., & LIPINSKY , S.B. 1981. Tropical eucalyptus, p. 373-386. in McClure, T.A. and Lipinsky J E.S.(ed.). CRC Handbook of biosolar resources, vol.II. Resource materials. CRC Press.Inc.. Boca Raton. FL.

Martinez, JL. (2014). General principals of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discov Today Technol.* 30, n°20.

Mayachiew P. & Devahasin S. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. *Food Science and Technology*. 41: 1153-1159.

Mekkellech, H. (2015) .Contribution à l'étude morpho métrique d'*Eucalyptus globulus* labill (myrtacées) dans la région de Tlemcen .Thèse d'obtention du diplôme de Master, Université Aboubaker Belkaid, Tlemcen.

Meziane, H. (1996). L'Eucalyptus en Algérie un arbre controversé en forêt Algérienne N°1. Edité par I.N.R.F. Bainem ,5 -10.

Moreira M.R., Ponce A.G., De Valle C.E., Roura S.I, 2005, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen .*Lebensmittel-Wissenschaft and-Technologie- LWT*, **38**, 565- 570p

Moro-Buronzo A., (2008). Grand guide des huiles essentielles : santé, beauté, bien-être. Ed. Hachette pratique. 244p.

Mouton Y., Bingen E., Deboscker Y., et Dubreuil L. (2000). Antibiotiques anti-viraux anti-infectieux. Edition :*John Libbey Eurotext*, Paris.2-7420-0308-8.

O

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M,2006, Antimicrobial activity of selected plant essential oils on the growth of *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science*, 73, 236 - 244p

Ouis, N.2015. Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil ,Thèse de doctorat, Université d'Oran 1,Algérie ,17p.

Oydeji, A.O. ; Ekundayo, O. ; Olawore, O.N. ;Adeniyi, B.A. ;Koenig, W.A. (1999). Antimicrobial activity of the EOs of five Eucalyptus species growing in Nigeria .*Fitoterapia*, 70 ,526-528.

Oyen , LPA and Lemmens, RHMJ. (2002).Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Programme PROTA Wageningen. Pays-Bas.207pp. ISBN 90-77114-033.

P

Paré J. (1997).-Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles, 4 :p.4.

Piochon M, 2008. Etude des huiles essentielles d'espèce végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Mémoire*. Université du Quebec à Chicoutimi. Canada, 200p.

Ponce AG , Fritz R , Del valle C, Roura SI. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Food Science and Technology*, **36**, 679- 684 .

POUPON, H. 1972. Description des appareils aérien et souterrain d'Eucalyptus camaldulendis Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. 1982. Les eucalyptus dans le reboisement. FAO, Italie.

Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S, 2007, Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*, **1163**,2- 24p

R

Rameau J C., Mansion D., Dume G., Gaubervillec. (2008). Flore forestière française.Tome 3région méditerranéenne,Editeur : IDF (Institut pour le développement forestier).France,

Razafindrakoto B.S, 1988, Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar ;Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ;essais de classementchemotaxonomique et propriétés pharmacodynamique. *Thèse de Doctorat ,Université de Montpellier II*, France, 225p

Regnault -Roger C., Hamraoui A, 1995, Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *J. Stored Prod.Res*,**31**,291 -299p

RognaultRoger C., Fabres G. et Pholagene B. (2005). Enjeux phytosanitaire pour l'agriculture et l'environnement, Edit Tech & Doc, Paris, 1013 p.

S

Samate A.D. 2002. Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso: valorisation. Thèse de doctorat, Université de – Ouagadougou, Burkina Faso, 20 p.

Sakkas , H. et Papadopoulou, C.(2016). Antimicrobial activity of Basil, Oregano and Thyme essential oils *.J .Mic²robial .Biotechnol*, 27(3): 429-438.

Smaili, H. S. S. (2022). *Enquête épidémiologique de Toxi-infection alimentaire collective TIAC dans la région de M'sila*(Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

Samira Belabed. (2018). 4.000 à 5.000 cas de toxi-infections alimentaires collectives chaque année.

Revue algérienne, <http://www.sudhorizons.dz/fr/les-classiques/sante/34840-4-000-et-5-000-cas-de-toxi-infections-alimentaires-collectives-chaque-annee>

Sanago R, 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali) :53.

Schnuch, Axel Wolfgang Uter. Studies of the Importance of airborne contact allergens in the onset of contact dermatitis. Federal Environment Agency, 2006.

Sell C. (2010). Chemistry of Essential Oils . Handbook of Essential oils: Science, Technology, and Application. Hüsnü C. B. K. et Gerhard B. New York: USA , Taylor & Francis: pp 121-150.

Sikkema, J., De Bont, J.A.M. et Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 269 (11): 8022-8028.

Singh S.B et Barrett J.F.(2006) . Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*, **71**, 1006-1015.

Smaili, H. S. S. (2022). *Enquête épidémiologique de Toxi-infection alimentaire collective TIAC dans la région de M'sila* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart A.T., Hotchkiss S.A, 2000, Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol . *Toxicol .Appl. Pharmacol*, **168**, 189- 199p

Su, Y.C. ; Ho, C.L. ; Wang, E.I. ; Chang, S.T. (2006). Antifungal activities and chemical compositions of EOs from leaves of four Eucalyptus. *Taiwan J. Sci*, 21,49 -61.

T

Teuscher, E., Anton R. et Lobstein A. (2005) . *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Éditions Tec & Doc, éditions médicinales internationales et lavoisier .

Tisserand R.B., Balacs T, 1995, Essential oil safety : A guide for health care professionals . *Churchill Livingstone edition, London*, 172p

Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O'Donnell C.P., Muthu kumarappan K., Bourke P., Cullen P.J, 2009, Application of natural antimicrobials for food preservation. *J. Agric. Food. Chem*, **57**, 5987-6000p

Toloza, A. ; Lucia, A. ; Zerba, E. ; Masuh, H. ; Picollo, M.I. (2008). Inter specific hybridization of Eucalyptus as a potential tool to improve the bioactivity of EOs against permethrin-resistant head lice from Argentina .*Bioresour . Technol*, **99** ,7341 -7347.

Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro MG., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G. et Bisignano, G. (2005).Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrob Agents Chemother*, **49**:2474-2478.

U

Ultee, A et Smid, E.J. (2001).Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*. *Int JFood Microbiol*. **64** (3): 373-8.

Ultee, A., Kets, E.P.W. et Smid, E.J.(1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*.*Applied and Environmental Microbiology* , **65** (10): 4606- 4610.

V

Vagi E , Simandi EB, Suhajda A , Hethelyi E. 2005. Essential oil composition and antimicrobial activity of *origanum marorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, **38**, 51-57.

Valnet J. L'aromathérapie. Ed. Maloine S. A. ISBN : 2005,2-25303564-5.

W

Warot S. (2006). Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie .Préparatrice en pharmacie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. p3

Wenqiang G, Shufen L, Ruixiang Y, Shaokun T, Can Q .(2007) Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods .*Food chemistry*, **101**, 1558-1564.

Weiss E.A., (1997). Essential oil crops .Ed. Cab International .New York, NY. 613p.

Y

Yala, D., Merad, A.S., Mohamedi, D et Ouar Korich, M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques .*Médecine du Maghreb* n°91.

Z

Zaidi, Z., Boubguira, K., & Meradi, L. (2021). Les Intoxications alimentaires d'origine bactérienne.

Zhiri A., 2006, Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra News Science, Nutrition, Prévention et santé. *Edité par la Fondation pour le libre choix*, **12**, 8p

Zhao X, Zeng J , Gao H, Wang Y. (2014) Optimization and Composition of Volatiles Oil from *polygonatum odoratum* (Mill. Druce) using Supercritical Fluid Extraction .*Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **13 (3)** ,779-786

Annexes

Annexe n°01 :

Matériel utilisés :

Les différents matériels utilisés pour nos travail sont :

- Balance
- Etuve
- Agitateur
- Spectrophotomètre JENWAY 7305
- Bec bensen
- Bécher
- Pipette et Micropipette
- Boites de pétrie
- Ecouvillon stériles
- Disques en papier wattman vierges
- Pince
- Pissette
- Portoir
- Papier aluminium
- Seringues
- spatules
- Les tubes à essai
- Pied à coulisse
- Etiquette

Réactifs
Alcool
Eau distillé
Eau physiologique stérile
Le sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄)

✚ Appareillage



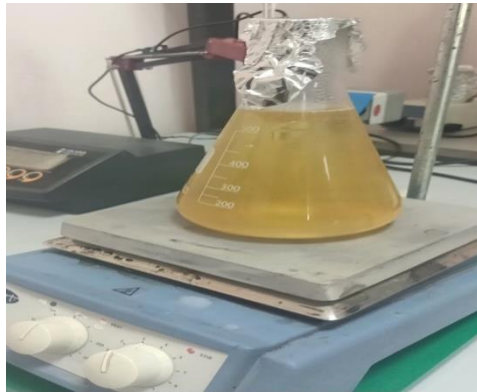
Spectrophotométrie



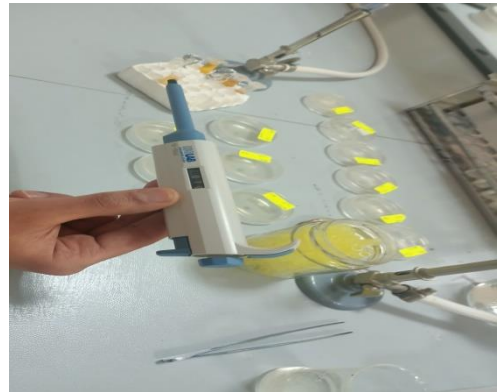
Étuve



Balance (photo original 2023)



Agitateur

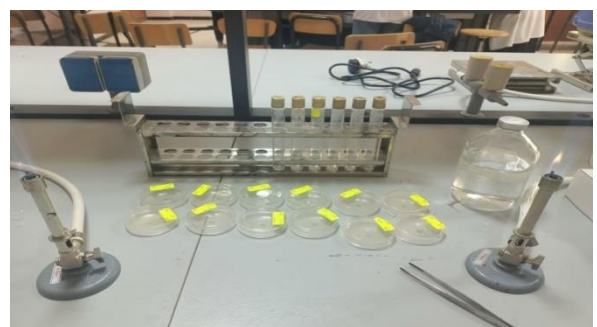
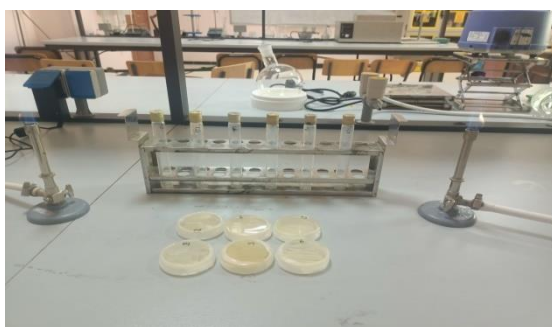


Micropipette

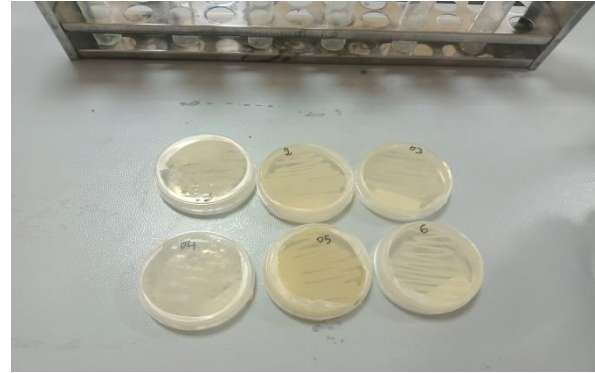
Activité Antibactérienne :



L'eau physiologie



Préparation de l'inoculum(photo original 2023)



Boites pétrie coulée en milieu de culture



Incubation 24H à 37°C (photo original 2023)

Annexe n°02 : Milieux de culture utilisé

✚ Gélose nutritive (GN) (g/l)

Peptone	10g
Extrait de viande	3g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	18g
Eau distillée	1000 ml

pH= 7.3 ± 0.2

✚ **Mueller Hinton gélosé (M- H) (g /l)**

Extrait de viande	3g
Hydrolysat acide de caséine	17.5g
Amidon.....	1.5g
Agar	16g
Eau distillée	1000ml

pH=7.3



Préparation de milieu de culture (Muller -Hinton)

