



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Thème:

**Evaluation de l'activité antibactérienne de
l'huile essentielle extraite des feuilles
d'*Eucalyptus camaldulensis***

Présenté par:

M^{lle} Abdelli Asma

M^{lle} Benghazi Amina

Devant le jury:

Pr. Bouabida Hayette

Professeur

Université de Tébessa

Présidente

Pr. Fenghour Hind

Professeur

Université de Tébessa

Encadrante

Dr. Benhadj Mabrouka

MCA

Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance: 06-06-2023

Année universitaire : 2022/2023



Remerciement

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, de nous avoir donné la force et la patience nécessaires pour réaliser ce travail.

Au début, nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements aux personnes qui nous ont apporté leur aide et ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nous tenons tout particulièrement à remercier notre encadrante,

Pr. Dr. Fenghour Hind, pour son suivi et ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions également **Dr. Benarfa Noujoud** pour son encouragement et son inspiration, ainsi que **Dr. Hioune Soraya** pour l'identification de la plante.

Nous tenons à exprimer notre gratitude envers **Aouaichia Lamia**, **Haouaouchi Fatma** et **Bourahla Nour** pour leur aide, leur soutien et pour nous avoir fourni des souches bactériennes et certains matériels.

Enfin, nous souhaitons remercier les membres de notre jury :

Dr. Benhadj Mabrouka et **Pr. Bouabida Hayette**, d'avoir accepté de présider et d'examiner ce travail.



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail a ceux qui , quelque soit les termes embarrasse, je n'arrivais jamais a leur exprimer mon amour sincère

A mon **dieu** qui me donne la force et la patience de bien mener ce travail

A l'homme , mon précieux offre de dieu qui doit ma vie , ma réussite et tout mon respect :
mon chère père **Abd almadjid**

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir , qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Aicha**

A mes sœur **Iheme** et **Amina** qui n'ont pas cessée de me conseiller , encourager et soutenir tout a long de mes études , que dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur

A mes papillons **Ritedj** et **Farah** qui savent toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille

A mes chers frères :

Mostefa , Aissa , Amin , Ali , Jalel

A mes proches amies : **Amina, Lamia , Naziha , Aziza, Isra , Hiba , Lamiss ,Lobna** , pour leur soutien, pour être dans ma vie et pour tous moment honnêtes que nous avons passé .

A tous ceux qui me souhaitent du succès

Asma



Dédicace :

A mon père et ma mère

A ma famille

A l'amie qui à une belle âme et ma chère compagne de mon parcours ; Asma

Et à toutes les personnes qui m'ont aidé et qui souhaite ma réussite

Amina



Résumé

L'*Eucalyptus camaldulensis* est une plante médicinale largement réputée pour ses vertus thérapeutiques, abondamment présente et se reproduisant perpétuellement en Algérie. Ce travail vise à étudier le potentiel d'utiliser l'huile essentielle extraite des feuilles de cette ressource naturelle comme agent antibactérien.

L'activité antimicrobienne de cette huile essentielle, avec un rendement de 0.32 %, a été évaluée sur des souches bactériennes pathogènes à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, et à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, et *Klebsiella pneumoniae* ; à travers une étude in vitro de ses différents paramètres. Pour cela, la méthode de diffusion des disques en milieu solide, ainsi que la micro-dilution en milieu liquide ont été effectuées. Les résultats ont montré une activité remarquable contre les bactéries à Gram négatif avec une CMI : 1.25 mg/ml et une CMB : 2.5 mg/ml, au contraire de celles à Gram positif avec une CMI : 5 mg/ml et une CMB : 10 mg/ml.

Ces résultats prouvent que l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* possède une activité antibactérienne prometteuse contre un large spectre de bactéries, à Gram négatif et à Gram positif. Cela ouvre la possibilité de son utilisation potentielle comme alternative aux antibiotiques dans la lutte contre les infections bactériennes.

Mots clés : *Eucalyptus camaldulensis*, huile essentielle, concentration minimale inhibitrice, concentration minimale bactéricide, activité antibactérienne.

Abstract

Eucalyptus camaldulensis is a widely recognized medicinal plant known for its therapeutic properties, abundantly present and perpetually reproducing in Algeria. This study aims to explore the potential use of essential oil extracted from the leaves of this natural resource as an antibacterial agent.

The antimicrobial activity of this essential oil, with a yield of 0.32%, was evaluated against pathogenic Gram-positive bacteria, including *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*, as well as Gram-negative bacteria, including *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, and *Klebsiella pneumoniae*, through an in vitro study of its various parameters. For this purpose, the disk diffusion method in solid medium, as well as microdilution, were conducted. The results demonstrated remarkable activity against Gram-negative bacteria with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 1.25 mg/ml and a minimum bactericidal concentration (MBC) of 2.5 mg/ml, contrasting with Gram-positive bacteria showing higher MIC and MBC values of 5 mg/ml and 10 mg/ml, respectively.

These findings establish that the essential oil derived from *Eucalyptus camaldulensis* leaves possesses promising antibacterial activity against a broad spectrum of Gram-negative and Gram-positive bacteria. This paves the way for its potential utilization as an alternative to antibiotics in the battle against bacterial infections.

Key words: *Eucalyptus camaldulensis*, essential oil, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, antibacterial activity.

ملخص

الأكالبيتوس كامالدولنسيس هو نبات طبي مشهور بشكل واسع بفضل فوائده العلاجية، ومتواجد بكثرة بشكل مستمر في الجزائر. يهدف هذا العمل إلى دراسة إمكانية استخدام الزيت الأساسي المستخلص من أوراق هذا المورد الطبيعي كعامل مضاد للبكتيريا.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لهذا الزيت الأساسي، بنسبة إنتاج تصل إلى 0.32٪، على سلالات بكتيرية ممرضة ذات غرام إيجابي مثل ستافيلوكوكس أوريوس وستافيلوكوكس إيبيديميس، وسلالات ذات غرام سالب مثل إشييريشيا كولاي، سيراتيا مارسيسنز وكليبيسيلا بنومونيا؛ من خلال دراسة مخبرية لمختلف المعايير. لهذا الغرض، تم استخدام طريقة انتشار الأقراص في وسط صلب، وكذلك التخفيف في وسط سائل بالميكروبلاك. أظهرت النتائج نشاطاً ملحوظاً ضد البكتيريا ذات الغرام السالب بتركيز مثبط أدنى 1.25 (mg/ml) وتركيز مبيد أدنى 2.5 (mg/ml) ، في المقابل، أظهرت البكتيريا ذات الغرام الإيجابي قيم أعلى تمثلت في تركيز مثبط أدنى 5 (mg/ml) وتركيز مبيد أدنى 10 (mg/ml).

تثبتت هذه النتائج أن الزيت الأساسي المستخلص من أوراق الإكالبيتوس كامالدولنسيس يتمتع بنشاط مضاد واعد ضد مجموعة واسعة من البكتيريا، سواء ذات غرام سالب أو غرام إيجابي. وهذا يفتح الباب أمام إمكانية استخدامه كبديل للمضادات الحيوية في مكافحة العدوى البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: أوكالبيتوس كامالدولنسيس، زيت أساسي، التركيز المثبط الأدنى ، التركيز المبيد الأدنى للبكتيريا، النشاط المضاد للبكتيريا.

Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Table de matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale 17

Partie I : Synthèse bibliographique 3

Chapitre 1 : Présentation de la plante étudiée : *Eucalyptus camaldulensis* 4

1.1 Définition d'*Eucalyptus camaldulensis* 4

1.2 Noms vernaculaires 4

1.3 Origine et répartition géographique d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde 5

1.4 Répartition géographique d'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie 6

1.5 Classification d'*Eucalyptus camaldulensis* 6

1.6 Aspect botanique d'*Eucalyptus camaldulensis* 7

1.6.1 Feuilles 7

1.6.2 Ecorce et bois 8

1.6.3 Fruits, fleurs et boutons 8

Chapitre 2 : Huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* 9

2.1 Définition des huiles essentielles 9

2.2 Localisation des huiles essentielles dans la plante 9

2.3 Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*
10

2.3.1 Série terpénique 11

2.3.1.1 Monoterpènes 12

2.3.1.2 Sesquiterpènes 12

2.3.1.3 Diterpènes 13

2.4 Principales utilisations de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* 13

2.5	Propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	14
2.5.1	Activité anti-inflammatoire	14
2.5.2	Activité antioxydante	14
2.5.3	Activités antiseptiques et antibactériennes	15
2.5.3.1	Agents bactériostatiques	15
2.5.3.2	Agents bactéricides	15
2.5.3.3	Agents bactériolytiques	15
2.5.4	Effet anti cancéreux	16
Partie II : Etude expérimentale		17
Chapitre 1 : Matériel et méthode		18
1.1	Objectifs du travail	18
1.2	Préparation de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	18
1.2.1	Matériel	18
1.2.1.1	Matériel végétal	18
1.2.1.2	Appareillage et produits	20
1.2.2	Méthode	20
1.2.2.1	Préparation des feuilles	20
1.2.2.2	Extraction des huiles essentielles	21
1.2.2.3	Détermination de rendement en huile essentielle	22
1.3	Etude de l'activité antibactérienne de l'HE des feuilles d' <i>E. camaldulensis</i>	23
1.3.1	Matériel	23
1.3.1.1	Matériel biologique	23
1.3.2	Méthode	24
1.3.2.1	Vérification de la pureté des souches bactériennes testées	24
1.3.2.2	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	25
1.3.2.3	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide	28
1.3.2.4	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	29
Chapitre 2 : Résultats et discussion		30
2.1	Extraction de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	30
2.1.1	Rendement de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	30
2.1.2	Caractéristiques organoleptiques	32
2.2	Résultat de la vérification de pureté des souches	32

2.3	Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	34
2.3.1	Détermination de la CMI sur milieu gélosé	34
2.3.2	Détermination de la CMI sur milieu liquide	38
2.3.3	Les résultats de la CMB (concentration minimale bactéricide)	42
	Conclusion et perspectives	44
	Références bibliographiques	
	Annexes	

Liste des figures

Figure 1: Répartition géographique d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dans le monde.....	5
Figure 2: <i>Eucalyptus Camaldulensis</i>	7
Figure 3: Structure d'isoprène et d'unité isoprénique	11
Figure 4: Structure chimique de l'eucalyptol (1,8-Cinéol), α -Pinène et β pinène	12
Figure 5: Structure chimique de γ -Eudesmol (sesquiterpène oxygéné).....	13
Figure 6: Structure chimique de α -Phellandrene	13
Figure 7: Partie aérienne d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	19
Figure 8: Séchage des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	20
Figure 9: Découpage des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	21
Figure 10: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	22
Figure 11: Préparation de l'inoculum	26
Figure 12: Etapes de l'aromatogramme	27
Figure 13: Zones d'inhibition de croissance des souches bactériennes avec l'HE des feuilles d' <i>E. camaldulensis</i> et ses dilutions	35
Figure 14: Observation de la microplaque utilisée dans la détermination de la CMI	38
Figure 15: Détermination de la CMB après culture sur MH	42

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	6
Tableau 2: Composants chimiques Principaux des huiles essentielles de différentes parties d' <i>E. camaldulensis</i> en utilisant la CPG	10
Tableau 3: Les caractères écologiques de la station d'échantillonnage (la commune de Tébessa)	19
Tableau 4: Souches bactériennes testées	23
Tableau 5: Dilutions de l'HE des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	26
Tableau 6: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition	28
Tableau 7: Variation du rendement en huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dans diverses régions d'Algérie	30
Tableau 8: Caractéristiques organoleptiques de l'HE des feuilles d' <i>E. camaldulensis</i> obtenue	32
Tableau 9: Aspect macroscopique et microscopique des souches bactériennes testées	33
Tableau 10: Effet antibactérien de l'HE extraite des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> à différentes dilutions sur les souches bactériennes testées.	36
Tableau 11: Lecture de la microplaque pour la détermination de la CMI	40
Tableau 12: Comparaison de la sensibilité à l'HE des feuilles d' <i>E. camaldulensis</i> de trois des souches testées dans différentes régions d'Algérie	41
Tableau 13: Détermination du pouvoir bactéricide ou bactériostatique de l'HE des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	43

Liste des abréviations

AAE : Acide ascorbique équivalent

AFNOR : Association Française de Normalisation

APG: Angiosperm phylogenetic group

BHTE: hydroxytoluène butylé

BPCO : bronchopneumopathie chronique obstructive

C : carbone

°C : degré Celsius

CHP : circonférence à la hauteur de poitrine

cm : centimètre

CMB : concentration minimale bactéricide

CMI : concentration minimale inhibitrice

CPG : chromatographie en phase gazeuse

D : diamètre

DMSO : diméthyl sulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

E. camaldulensis : *Eucalyptus camaldulensis*

E. faecalis : *Enterococcus faecalis*

EPH : établissement public hospitalier

Et al. : *et alii* (et les autres)

EUCLID: Eucalypts of Australia Database

FAO : Food and Agriculture Organisation (l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture)

g : gramme

G+ : Gram positif

G- : Gram négatif

GPP : géranyl diphosphate

h : heure

H : hydrogène

HE : Huile essentielle

IL-1 β : interleukine-1 β

IL-6 : interleukine 6

IL-8 : interleukine 8

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

km : kilomètre

m : mètre

mg : milligramme

MH : gélose de Mueller-Hinton

MHB: Mueller-Hinton Broth

ml : millilitre

mm millimètre

μ g: microgramme

μ l : microlitre

MSA : mannitol salt agar (gélose de Chapman)

NCBI : National Center for Biotechnology Information

NF- κ B : facteur nucléaire kappa B

NSW : Nouvelle-Galles du Sud

P.aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*

POWO: Plants Of The World Online

R_{HE} : rendement en huile essentielle

S : sensibilité

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

TE : Trolox équivalent

TNF- α : facteur de nécrose tumorale- α

UFC: unité formant colonie

WWF: World Wildlife Fund

%: pour cent

Introduction générale



Introduction générale

Les bienfaits antiseptiques des plantes aromatiques et médicinales et de leurs extraits sont reconnus depuis l'antiquité alors que les tentatives de caractérisation de ces propriétés en laboratoire remontent au début des années 1900 (Ez-Zriouli *et al.* 2023).

L'Algérie, riche en ressources naturelles, abrite une variété d'espèces végétales aux propriétés bénéfiques encore largement inexploitées. L'un de ces trésors naturels est l'*Eucalyptus camaldulensis*, un arbre abondamment répandu à travers le pays. Cette espèce offre un potentiel prometteur en termes de production d'huile essentielle, ce qui soulève des questions sur son exploitation et son utilisation dans le domaine de la lutte contre les infections bactériennes.

Malgré le fait que les sites naturels ont des conditions qui favorisent la qualité et le rendement des huiles essentielles provenant des plantes qu'ils abritent, l'exploitation de ces derniers risquent de la diminution et détérioration des forêts, et vue que l'*Eucalyptus camaldulensis* fait partie du programme national de reboisement (Mehani, 2015), sa récolte de ces sites est strictement limitée par les réglementations et la loi (JORA, 1984 ; JORA, 2003). Tandis que dans la ville, l'élagage des arbres de cette espèce est fait de façon périodique, vue le taux de croissance très élevé, la matière végétale récupérée est totalement gaspillée.

Donc, les sites périurbains offrent une opportunité de récolte plus accessible tout en s'éloignant des activités humaines de la ville, minimisant ainsi leurs impacts sur les propriétés de l'huile essentielle.

Dans cette perspective, plusieurs interrogations se profilent :

A quel point l'huile essentielle extraite des feuilles provenant des ces arbres est efficace contre les bactéries ? Est ce qu'elle est active le plus sur les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatifs ou bien le contraire ? Et est-ce qu'on peut remplacer l'utilisation des antibiotiques par cette huile essentielle pour traiter les infections causées par ces bactéries ?

Pour répondre à ces questions, nous avons choisi de faire une étude sur cette plante et évaluer in vitro son activité antibactérienne. Ce mémoire comprend deux grandes parties, la première est une étude bibliographique composée de deux chapitres ; dans le premier une présentation botanique de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis*, son origine et répartition dans le monde et en Algérie. Le deuxième chapitre abordera de manière générale l'huile essentielle

Introduction générale

des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*, sa composition chimique, ses principales utilisations, et ses propriétés thérapeutiques.

La deuxième partie est une étude expérimentale, correspond à une évaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'HE d'*E. camaldulensis* structurée à son tour en deux chapitres, Le premier sera consacré à la description du matériel et des méthodes utilisés dans cette étude, notamment :

- Le processus d'extraction de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*.
- L'évaluation de l'effet antibactérien de cette huile par la méthode d'aromatogramme, ainsi que la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB).

Le deuxième chapitre présentera les résultats obtenus et leur analyse approfondie. Les discussions seront centrées sur l'interprétation des résultats et la comparaison avec les études précédentes.

Enfin, une conclusion générale résumera l'ensemble des résultats obtenus dans cette étude et mettra en évidence les perspectives de recherche futures.

Partie I : Synthèse bibliographique



Chapitre 1 : Présentation de la plante étudiée : *Eucalyptus camaldulensis*

1.1 Définition d'*Eucalyptus camaldulensis*

Le gommier rouge « *Eucalyptus camaldulensis* » est un arbre appartenant au genre *Eucalyptus* de la famille des Myrtacées. Cette famille comprend 140 genres et environ 3800 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde, c'est une plante vivace à feuilles persistantes et elle pourrait atteindre des âges de 500 à 1000 ans. (Sabo & Knezevic, 2019).

Le genre *Eucalyptus* a été décrit et nommé en 1788 par le botaniste français Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Le nom est issu des mots grecs «eu» qui signifie bien et «kalyptos» qui veut dire couvert, il fait référence à l'opercule qui recouvre et protège complètement les fleurs de diverses espèces d'*Eucalyptus* dans les bourgeons (Vuong *et al.* 2015).

L'espèce *Eucalyptus camaldulensis* (auparavant *Eucalyptus rostrata* Schlecht.) tire son nom du jardin botanique privé de Camaldoli en Italie (L'Hortus Camaldulensis di Napoli), d'où le premier spécimen était cultivé. Le matériel de cet arbre a été utilisé par Frederick Dehnhardt, jardinier en chef des jardins botaniques de Naples, pour décrire cette espèce en 1832 (EUCLID, 2020).

1.2 Noms vernaculaires

L'*Eucalyptus camaldulensis* est communément connu en français sous le nom du : **Gommier rouge**

- En arabe algérien (derdja): **Kalitous**
- Nom commun en Australie : **gum trees** ou **stringybark trees** (Britannica, 2022).
- En langues des aborigènes d'Australie :

Aper est le nom d'*Eucalyptus camaldulensis* en Alyawarr, Anmatyerr et Arrernte de l'est (WWF Australia, 2023).

1.3 Origine et répartition géographique d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde

Les *Eucalyptus* sont des arbres originaires d'Australie et de certaines îles avoisinantes du Pacifique, mais nombreuses espèces du genre prospèrent en dehors de leur environnement naturel en raison de leur croissance rapide et de leur tolérance à la sécheresse. En conséquence, les espèces d'*Eucalyptus* sont expédiées dans le monde entier comme arbres d'ombrage, d'ornement et brise-vent. L'*Eucalyptus* est également devenu l'une des principales composantes de l'activité de plantation forestière dans les hémisphères nord et sud (Aylward *et al.* 2019).

Eucalyptus camaldulensis est l'une des espèces d'arbres les plus largement utilisées pour la plantation dans les terres arides et semi-arides. De vastes plantations commerciales ont également été établies dans des régions tropicales à précipitations un peu plus élevées (Arnold & Luo, 2018). Cet arbre est originaire du bassin Murray-Darling qui s'étend sur la Nouvelle-Galles du Sud, Queensland et Victoria (NSW National Parks and Wildlife Service, 2023). C'est l'espèce dominante dans les plantations autour du bassin méditerranéen, appréciée pour sa capacité à prospérer et à produire des rendements acceptables sur des sols relativement pauvres avec une saison sèche prolongée (Cerasoli *et al.* 2016).

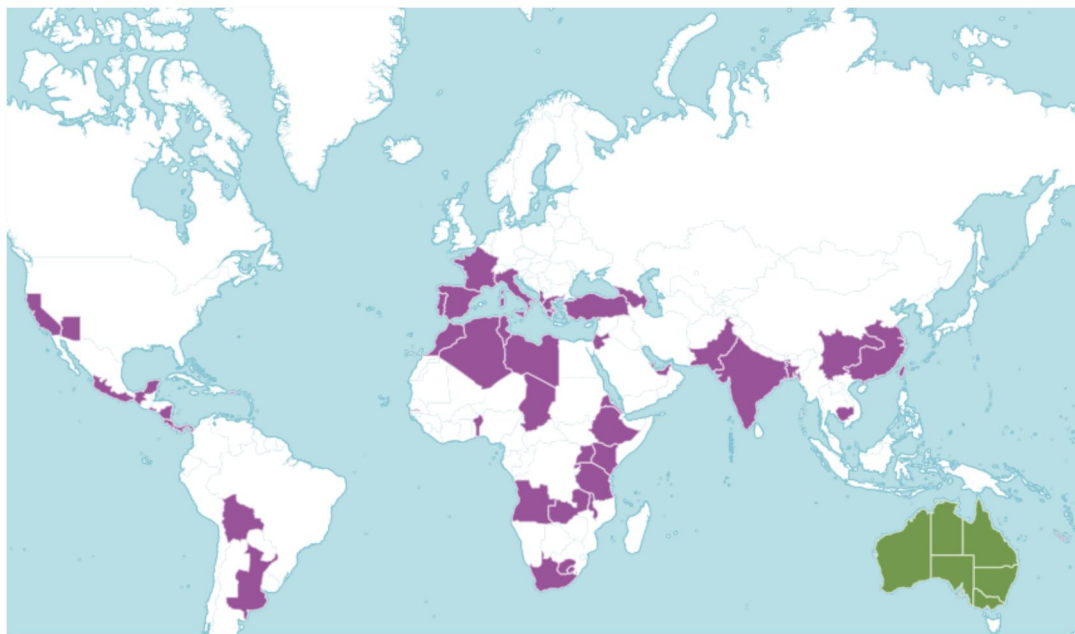


Figure 1: Répartition géographique d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde (POWO, 2023)

■ Indigène ■ Introduit

1.4 Répartition géographique d'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie

Les *Eucalyptus* ont été introduits en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière était l'*Eucalyptus camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable que des croisements naturels ont donnés des hybrides dont l'*Eucalyptus «algériensis»*. Dans les années 40 et 50 les *Eucalyptus* furent introduits dans 18 arboretums couvrant les régions bioclimatiques humides et semi-arides. Dans ce cadre plus de 130 espèces ont été plantés sur le territoire national. Au cours des années 1960 et 1970, notamment dans l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le Centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem), c'était le reboisement en eucalyptus pour répondre à la demande du pays en produits ligneux et papeterie (Mehani, 2015).

Selon le rapport de la FAO en 2021, l'Algérie avait près de 1,57 million de mètres cubes des arbres d'*Eucalyptus* (FAO, 2021).

1.5 Classification d'*Eucalyptus camaldulensis*

La classification suivante est selon l'APG IV (Angiosperm phylogenetic group 2016).

Tableau 1: Classification d'*Eucalyptus camaldulensis* (Cole & Hilger, 2016).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicotes
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>camaldulensis</i>

1.6 Aspect botanique d'*Eucalyptus camaldulensis*

L'hauteur de l'arbre dans son milieu naturel peut atteindre généralement jusqu'à 20 mètres, bien qu'il dépasse rarement les 50 mètres (Ghasemian *et al.* 2019). C'est un arbre de taille moyenne, à feuilles persistantes qui se ramifie généralement pas loin au-dessus du sol (Australian Native Plants Society, 2023).



Figure 2: *Eucalyptus Camaldulensis* (Missouri Botanical Garden, 2023)

A : branche fleurie, B : boutons, C : fruits

1.6.1 Feuilles

Feuilles de jeunesse: d'abord opposées, puis alternes ; larges lancéolés, texture lisse, de couleur vert terne à bleu vert (National Parks (Singapore), 2023).

Chapitre 1 Présentation de la plante étudiée : *Eucalyptus camaldulensis*

Feuilles adultes: lancéolées à étroitement lancéolées, acuminé (se termine par une pointe), limbe de 8–30 cm de long, 0,7–4,2 cm de large, vert ou gris-vert; pétioles cylindriques ou canalisés, 1,2 à 1,5 cm de long (Arnold & Luo, 2018).

1.6.2 Ecorce et bois

Ecorce: lisse, en plaques : tachetée de gris, blanc, crème et rose (EUCLID, 2020).

Bois: rouge, dur, avec une texture fine et un grain souvent ondulé. Sa croissance est lente, dense (densité de base d'environ 700 kg/m³), durable et résistant aux termites (Arnold & Luo, 2018).

1.6.3 Fruits, fleurs et boutons

Etamines : les filaments peuvent être complètement infléchis.

Boutons : les boutons sont fortement crochus.

Forme d'opercule : Rostré.

Fruits : Les fruits sont des très petites capsules à l'extrémité des tiges minces de 5–8 mm, à 4 valves, et contenant des graines minuscules (Sabo & Knezevic, 2019).

Graine : cuboïde, jaune-brun (typique, à double enrobage) (Arnold & Luo, 2018).

Chapitre 2 : Huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

2.1 Définition des huiles essentielles

La Pharmacopée Européenne VI^e édition, définit une huile essentielle comme « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par extraction à la vapeur, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (Socasau, 2017).

2.2 Localisation des huiles essentielles dans la plante

La biosynthèse, l'accumulation et le stockage des HE sont souvent associés à la présence de structures histologiques spécialisées, telles que les trichomes, les laticifères, les poches et les canaux sécrétoires.

On peut distinguer deux types des glandes sécrétoires:

- Les glandes exogènes situées à la surface de la plante
- Les glandes endogènes situées à l'intérieur de la plante (Labri *et al.* 2022).

2.3 Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

Tableau 2: Composants chimiques Principaux des huiles essentielles de différentes parties d'*E. camaldulensis* en utilisant la CPG (Mubarak *et al.* 2015).

Composants chimiques	Pourcentage relatif (%)		
	Feuilles	Tiges	Fleurs immatures
α -Pinène	0.7	0.4	0.7
α -Phellandrene	0.2	0.0	0.6
α -Terpinène	0.4	0.1	1.0
o-Cymene	14.6	26.3	15.7
Limonène	0.8	0.5	0.9
1,8-Cinéol	0.9	0.5	2.0
γ -Terpinène	72.5	61.0	57.4
Terpinolene	1.0	0.5	2.0
Linalool	0.3	0.1	0.4
Terpinen-4-ol	6.7	6.6	16.2
α -Terpinéol	0.2	0.1	0.5
Piperitone	0.2	0.1	0.5
Globulol	0.1	1.3	1.1
γ -Eudesmol	0.1	0.0	0.5
δ -Cadinol	0.1	0.1	0.0
Total des hydrocarbures monoterpéniques	90.2	88.8	78.3
Total des monoterpènes oxygénés	8.3	7.4	19.6
Total des sesquiterpènes oxygénés	0.3	1.4	1.6

Chez l'*E. camaldulensis*, les principaux producteurs d'hydrocarbures monoterpéniques sont les feuilles (ex. γ -terpinène, 72,5%) (Mubarak *et al.* 2015).

2.3.1 Série terpénique

Les **terpènes** sont les principaux constituants des inclusions huileuses rencontrées dans les tissus sécréteurs des plantes. Souvent volatiles, ils se vaporisent donnant les essences auxquelles beaucoup de plantes doivent leur parfum. On leur donne souvent le nom **d'huiles essentielles**. Les terpènes sont classés suivant leur degré de polymérisation (Morot-Gaudry *et al.* 2017).

Ils constituent un groupe de lipides présentant une grande diversité structurale au niveau :

- De leur taille
- De la nature de leurs atomes (hydrocarbures ou composés azotés ou oxygénés)
- De leur structure (cyclique ou linéaire)

Plus de 22 000 terpènes différents sont répertoriés, mais tous dérivent d'une même molécule simple à 5 atomes de carbone : l'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène (C_5H_8) ; on parle alors d'**unités isopréniques** (Chelain *et al.* 2015).



Figure 3: Structure d'isoprène et d'unité isoprénique (Chelain *et al.* 2015)

Dans ce qui suit on va traiter les classes terpéniques présentes dans l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*.

2.3.1.1 Monoterpènes

Les monoterpènes en C10 sont dérivés du géranyl diphosphate (GPP). On trouve le géraniol de la citronnelle, le menthol de la menthe, le limonène des agrumes, les α et β pinène du pin, le cinéol (eucalyptol) de l'essence d'eucalyptus, le camphre du camphrier (Morot-Gaudry *et al.* 2017); Ils peuvent être des hydrocarbures simples insaturés, ou avoir des groupes fonctionnels et être des alcools, des aldéhydes ou des cétones (Chelain *et al.* 2015).

Le 1,8-cinéol est un excellent antiseptique des voies respiratoires. Il stimule les glandes des muqueuses respiratoires, ce qui permet de fluidifier les sécrétions et de favoriser leur expulsion. Il a aussi une action antivirale (Couic-Marinier & Laurain-Mattar, 2021).

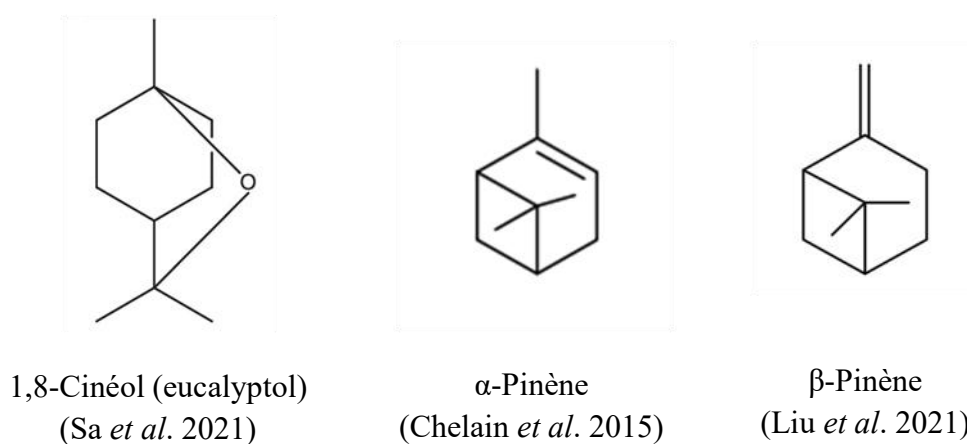


Figure 4: Structure chimique de l'eucalyptol (1,8-Cinéol), α -Pinène et β pinène

2.3.1.2 Sesquiterpènes

Les sesquiterpènes en C15 qui sont des dérivés du farnésyl diphosphate (FPP) (Morot-Gaudry *et al.* 2017). Ils se regroupent en fonction de leur squelette carboné et sont acycliques, monocycliques ou bicycliques (Chelain *et al.* 2015).

Ils donnent à l'HE une action anti-inflammatoire et anesthésiante. Ils possèdent également des propriétés anti-infectieuses, antifongiques et anti bactériennes, mises à profit surtout dans les affections buccales (Couic-Marinier & Laurain-Mattar, 2021).

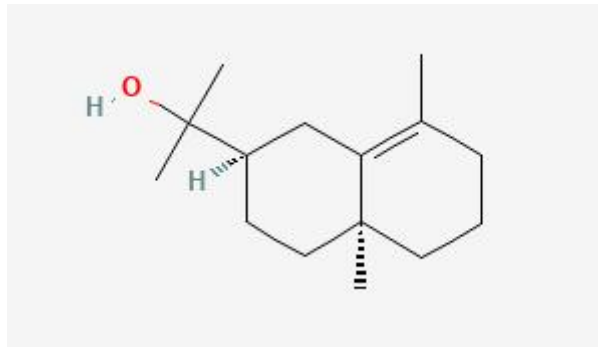


Figure 5: Structure chimique de γ -Eudesmol (sesquiterpène oxygéné) (NCBI, 2023).

2.3.1.3 Diterpènes

Selon le dictionnaire de l'académie nationale de pharmacie française (Acadpharm, 2016) : « les diterpènes sont des substances naturelles terpéniques en C₂₀ rarement linéaires, très majoritairement cycliques, provenant d'un précurseur en C₂₀, le géranyl-géranyldiphosphate. Souvent douées de propriétés biologiques marquées, on y compte des substances actives importantes en thérapeutique : ginkgolides, paclitaxel, vitamine A ». Certains diterpènes sont responsables de la toxicité des plantes qui les renferment.

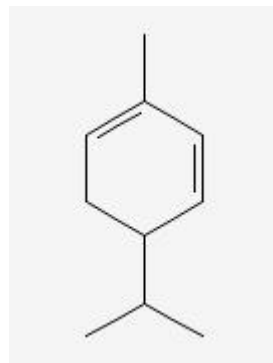


Figure 6: Structure chimique de α -Phellandrene (NCBI, 2023).

2.4 Principales utilisations de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*

L'intérêt scientifique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* a augmenté en raison de ses aspects bénéfiques dans les domaines médicaux et commerciaux. Parmi les propriétés médicales, on peut citer les bioactivités antibactériennes, antimicrobiennes, antifongiques, mais aussi antivirales.

- Ils sont également utilisés comme pesticides naturels en raison de leur effet biologique sur les organismes vivants.

- Ces espèces sont connues pour leur capacité d'effectuer une inhibition chimique de la croissance des plantes, appelée allélopathie (Belhachemi *et al.* 2022).

2.5 Propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*

Indéniablement réputé pour être l'antiseptique de la nature, les Premiers Peuples d'Australie utilisaient également plusieurs espèces d'eucalyptus comme remède pour d'innombrables maux dont les problèmes gastro-intestinaux. La gomme serait mélangée avec de l'eau puis prise pour traiter des symptômes comme la diarrhée (WWF Australia, 2023).

Les feuilles d'eucalyptus peuvent être utilisées en les brûlant pour soulager les symptômes du rhume et des inflammations des voies respiratoires.

Les feuilles contiennent également plusieurs glandes productrices d'huile dans les zones non veinées (Foroughbakhch *et al.* 2017). Cette huile est utilisée à des fins thérapeutiques principalement pour leurs propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques (Vecchio *et al.* 2016).

2.5.1 Activité anti-inflammatoire

Sur la base des données précliniques, des études contrôlées randomisées antérieures de Juergens *et al.* (2020) avec une thérapie d'appoint de 1,8-cinéole (3×200 mg/jour) pendant 6 mois ont montré une amélioration de l'asthme non contrôlé grâce à une amélioration significative de la fonction pulmonaire, de l'asthme nocturne et des scores de qualité de vie, et chez les patients atteints de BPCO une diminution des aggravations (- 38,5 %) (pendant l'hiver). En inhibant NF- κ B, le 1,8-cinéole, à des concentrations plasmatiques pertinentes (1,5 μ g/ml), a fortement et significativement inhibé les cytokines stimulées par les lipopolysaccharides (LPS) des monocytes humains normaux, qui sont pertinentes pour les exacerbations (facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α), interleukine (IL-1 β) et l'inflammation systémique (IL-6, IL-8) (Juergens *et al.* 2020).

2.5.2 Activité antioxydante

Dans la recherche d'Ez-Zriouli *et al.* (2023), Les échantillons d'*Eucalyptus* ont montré les meilleurs résultats en termes de réduction du radical DPPH, avec des valeurs de 99,252 mg BHTE/g HE, 24,167 mg AAE/g HE et 40,406 mg TE/g HE. Cela peut s'expliquer par la

richesse de cette huile en métabolites secondaires, en particulier en composés hydroxylés tels que le L-linalol (11,51%), l' α -terpinéol (2,67%), le 1,8 cinéol (1,44%) et le linalol (0,96%).

D'autres chercheurs ont prouvé l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Eucalyptus*, et il a été rapporté que ces huiles pouvaient être utilisées pour réduire les maladies associées au stress oxydatif, ainsi que comme conservateurs alimentaires (Ez-Zriouli *et al.* 2023).

2.5.3 Activités antiseptiques et antibactériennes

L'*Eucalyptus* a une longue histoire d'utilisation traditionnelle en tant qu'antiseptique et pour le traitement des infections des voies respiratoires. Elle s'avère particulièrement utile pour soulager les symptômes du rhume, de la grippe, des maux de gorge ainsi que des infections pulmonaires telles que la bronchite et la pneumonie. Plusieurs chercheurs ont montré une activité significative de l'HE de différentes espèces d'*Eucalyptus* contre divers micro-organismes (Vecchio *et al.* 2016).

Quand un agent antimicrobien est ajouté à une culture bactérienne en phase exponentielle de croissance, on peut observer trois effets distincts : **bactériostatique**, **bactéricide** et **bactériolytique**.

2.5.3.1 Agents bactériostatiques

Les agents **bactériostatiques** sont fréquemment des inhibiteurs de la synthèse des protéines et agissent en se liant aux ribosomes. Si la concentration de l'agent est réduite, il est libéré du ribosome et la croissance reprend.

2.5.3.2 Agents bactéricides

Les agents **bactéricides** se lient étroitement à leurs cibles cellulaires et ne sont pas enlevés par dilution, mais la lyse, la perte d'intégrité des cellules et le dégagement du contenu ne se produisent pas.

2.5.3.3 Agents bactériolytiques

Les agents **bactériolytiques** induisent la mort par la lyse des cellules, qui peut être observée par la diminution du nombre de cellules cultivables ou de la turbidité après que l'agent a été ajouté. Les agents bactériolytiques regroupent les antibiotiques qui empêchent la synthèse de

la paroi cellulaire (bactériostase) comme la pénicilline, ou les produits chimiques de type détergents qui rompent la membrane cytoplasmique (Madigan & Martinko, 2007).

2.5.4 Effet anti cancéreux

La concentration maximum cytotoxique de l'HE des feuilles d'*E.camaldulensis* contre la lignée cellulaire leucémique est égale à 16,1 µg/ml. Les résultats de la recherche de Mubarak *et al.* (2015) ont montré que cette huile inhibe la croissance des cellules tumorales, alors qu'il présentait un faible effet cytotoxique sur les cellules non cancéreuses et les macrophages (Mubarak *et al.* 2015).

Partie II : Etude expérimentale



Chapitre 1 : Matériel et méthode

1.1 Objectifs du travail

Cette étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de microbiologie appliquée de l'université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi à Tébessa, durant 3 mois : à partir du mi-mars au mi-mai de l'année 2023.

Cette partie consiste à étudier *in vitro* les différents aspects de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* sur des souches bactériennes à Gram positifs : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, et à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, et *Klebsiella pneumoniae*, ainsi à comparer les résultats trouvés avec des recherches précédentes sur cette huile essentielle.

Les souches bactériennes testées sont isolées des cas cliniques d'infections urinaires provenant des laboratoires d'analyses médicales au niveau du laboratoire des analyses médicales Hannibal à Tébessa et EPH Bouguerra Boulaaras à Bekkaria.

1.2 Préparation de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

1.2.1 Matériel

1.2.1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal : les feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*; à été récolté le 02 mars 2023, d'un spécimen sain et mature dans la commune de Tébessa en Algérie. Les caractéristiques écologiques de cette région sont citées dans le tableau 03. Le site de récolte est éloigné du centre ville de Tébessa d'une distance de 3.60 km. L'âge approximatif de l'arbre est 11 ans (Annexe 01).



Figure 7: Partie aérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* (photo personnelle, 2023)

Tableau 3: Les caractères écologiques de la station d'échantillonnage (la commune de Tébessa) (Hamad, 2018).

Station	Altitude (m)	Coordonnées Lambert	T (°C)	P (mm/an)	A	Bioclimat
la commune de Tébessa	813	X : 991.9 km Y : 247.2 km Z : 810 km	16.17	350.31	13.37	Semi aride

T : températures moyennes annuelles en degrés °C ; **P** : pluviométrie en mm/an ; **A** : indice d'aridité annuel.

1.2.1.2 Appareillage et produits

L'appareillage et les produits utilisés dans la partie expérimentale sont mentionnés dans l'annexe 03.

1.2.2 Méthode

1.2.2.1 Préparation des feuilles

a. Séchage

Les feuilles récoltées sont séchées pendant 09 jours dans un endroit frais et bien ventilé, à l'abri de la lumière directe du soleil. Elles ont été disposées en une couche mince sur une surface propre.

Le séchage a pour but de réduire leur teneur en eau, favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, et enfin augmenter le rendement en huile essentielle (Alili *et al.* 2022).



Figure 8: Séchage des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* (photo personnelle, 2023).

b. Découpage

Une fois les feuilles séchées, elles sont découpées en petits morceaux pour augmenter la surface de contact lors de l'extraction de l'huile essentielle.



Figure 9: Découpage des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* (photo personnelle, 2023).

1.2.2.2 Extraction des huiles essentielles

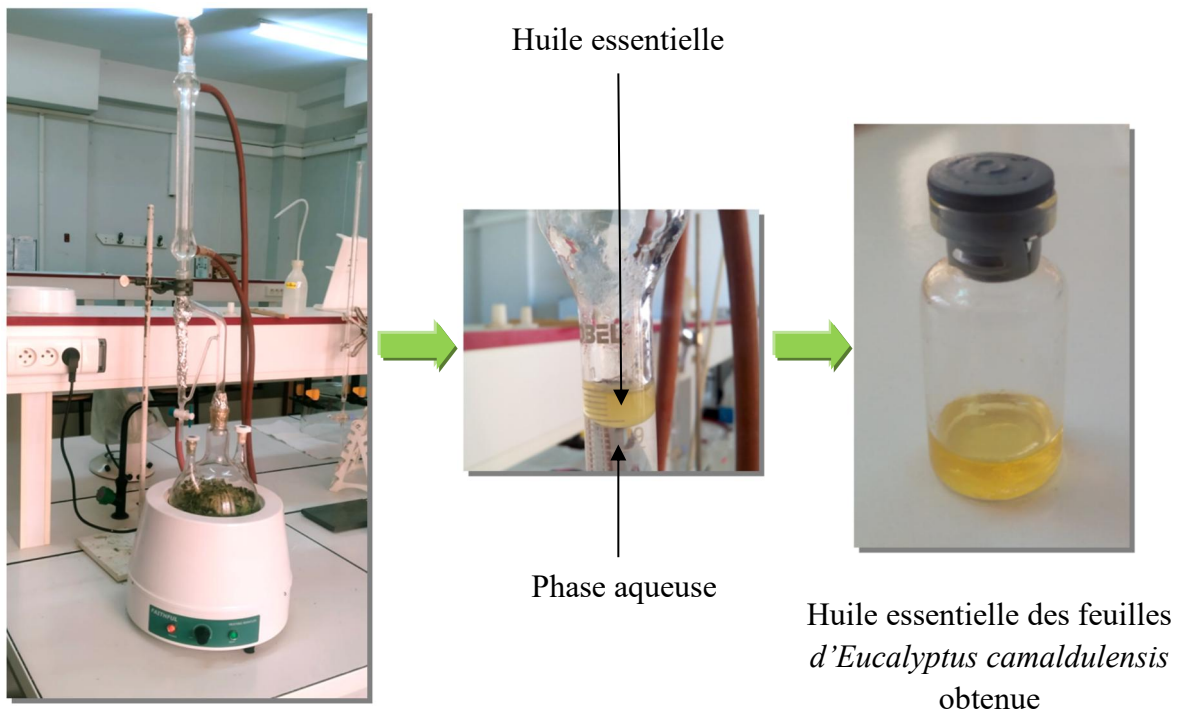
L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée dans le laboratoire des êtres vivants de l'université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi (Tébessa), dont quatre extractions ont été réalisées par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un Clevenger, avec une durée de 03 heures pour chaque distillation. On a choisi cette méthode d'extraction par ce qu'elle est la plus basique et directe.

a. Principe :

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau ;

- L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique.
- La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales.
- Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur un mélange azéotropique.
- Le mélange est ensuite refroidi et condensé dans un essencier.
- Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une huile (Benouaa, 2021).

b. Protocole



Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger

Figure 10: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation (photos personnelles, 2023)

c. Conservation de l'huile essentielle :

L'huile obtenue est conservée dans un flacon en verre à l'abri de la lumière à une température de 4°C jusqu'à l'utilisation.

1.2.2.3 Détermination de rendement en huile essentielle

Le rendement de l'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée selon la pharmacopée européenne (Alili *et al.* 2022).

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{MVS}} \times 100$$

R_{HE} : Le rendement en huile essentielle (%) ; M_{HE} : la masse de l'huile essentielle (g) ;

M_{MVS} : la masse de la matière végétale sèche (g).

1.3 Etude de l'activité antibactérienne de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

1.3.1 Matériel

1.3.1.1 Matériel biologique

Les souches bactériennes utilisées sont d'origine clinique isolées de différents cas d'infection urinaire, ces dernières ont été récupérées du Laboratoire d'analyses médicales Hannibal – Tébessa, et du EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria - Tébessa.

Tableau 4: Souches bactériennes testées

Gram	Souche bactérienne	Famille	Nature de prélèvement	Provenance
Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Urinaire	EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria Tébessa
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Urinaire	EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria Tébessa
Gram -	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire	Laboratoire d'analyses médicales Hannibal Tébessa
	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire	Laboratoire d'analyses médicales Hannibal Tébessa
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Urinaire	EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria Tébessa

1.3.2 Méthode**1.3.2.1 Vérification de la pureté des souches bactériennes testées**

La vérification de la pureté des souches bactériennes comprend l'examen microscopique et macroscopique et une réalisation d'une culture sur milieu sélectif.

a. Examen macroscopique

Est basé sur l'observation de l'aspect général des colonies, leur taille, forme et couleur pour l'ensemble des souches bactériennes.

b. Examen microscopique

Basé sur la coloration de Gram qui permet d'observer la forme des bactéries (bacille, cocci, coccobacille), leur mode de regroupement et de définir le type de coloration positif ou bien négatif (annexe 05).

c. Culture sur milieu sélectif

Afin d'isoler les souches bactériennes et d'obtenir des colonies bactériennes distinctes, la purification par des stries d'épuisement a été effectuée.

Technique

- 1- Prélever une colonie représentative de la souche à l'aide d'une anse de platine.
- 2- Ensemencer la colonie dans la boîte de Pétri coulée préalablement par le milieu de culture sélectif convenable.
- 3- Incuber les boîtes à 37°C pendant 24h

On a utilisé la gélose nutritive pour *E. coli*, *S. marcescens*, *K. pneumoniae*, et milieu Chapman pour *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

1.3.2.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'*Eucalyptus camaldulensis* se fait par deux méthodes différentes, la méthode de diffusion des disques en milieu solide a été choisie en raison de vérifier l'efficacité d'inhibition de la croissance bactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis*, par contre la méthode de dilution en milieu liquide est pour déterminer la nature bactériostatique de l'*Eucalyptus camaldulensis*.

a. Méthode de diffusion sur gélose : Aromatogramme

L'aromatogramme est une technique de détermination de l'activité antimicrobienne in vitro a été réalisée par la méthode de diffusion des disques sur milieu solide, Elle a l'avantage d'avoir une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre des espèces microbiennes.

Cet examen est donc l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques peuvent être remplacés par des huiles essentielles.

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des huiles essentielles sur un milieu solide (Gélose Muller- Hinton) des disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité de l'huile et disposé sur une géloseensemencée avec les souches bactériennes. Les boîtes sont ensuite incubées pendant une période de temps appropriée, et puis on observe les zones d'inhibition; leur présence ou absence, et leurs tailles. Ces dernières sont mesurées ensuite et enregistrées en mm (Ouaar, 2018)

• Préparation de l'inoculum et ajustement de la charge bactérienne

À partir d'une culture pure et jeune de 24 heures, prélever quelques colonies identiques et bien isolées et les décharger dans 10 ml d'eau physiologique stériles. Bien homogénéiser la suspension bactérienne par un agitateur de type vortex. Sa turbidité doit être équivalente à celle du standard McFarland 0.5.

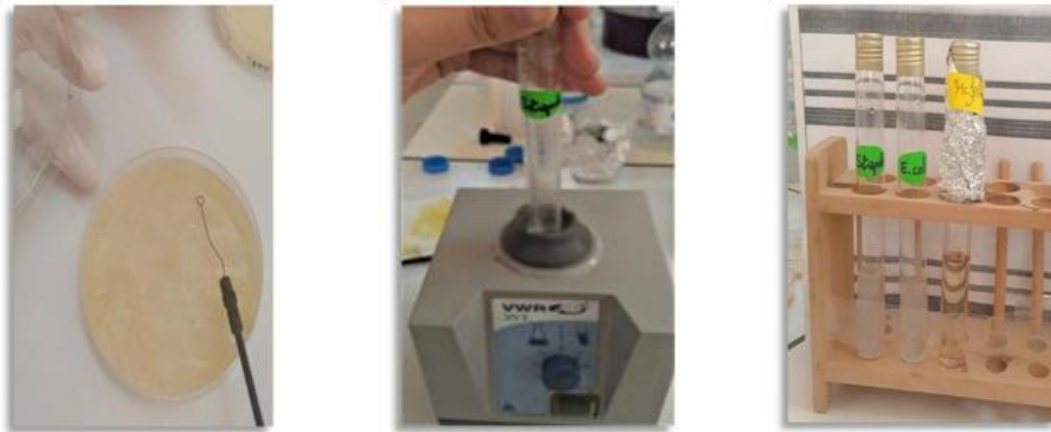


Figure 11: Préparation de l'inoculum (photos personnelles, 2023)

- **Préparation des disques**

Nous avons utilisé le papier Whatman n°1 de 6mm coupé en contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques une fois préparés, sont introduits dans un flacon en verre et sont placés dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120 °C pour éviter tous risques de contamination aux germes exogènes au cours de l'expérimentation.

- **Ensemencement et dépôt des disques**

- 1- Tromper un écouvillon stérile et sec dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant bien contre la paroi interne du tube.
- 2- Ensemencer à l'aide de l'écouvillon la totalité de la surface de la gélose MH coulée préalablement en stries serrée. Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte à 60° à chaque fois.
- 3- Imprégner des disques de papier de Whatman de 6mm par l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* pure et avec une série de concentrations différentes.

Tableau 5: Dilutions de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

Dilution	2.5mg/ml	1.25mg/ml	0.625mg/ml	0.321mg/ml	0.156mg/ml
HE	10µl	5µl	2,5µL	1,25µl	0,625µl
DMSO	10µl	15µl	17,5µl	18,75µl	19,37µl

- 4- Déposer les disques qui sont imbibés avec l'HE à l'aide d'une pince stérile sur la face de la gélose MH et incuber pendant 24 heures à 37°C.
- 5- Témoin négatif : On met un disque imbibé à DMSO dans chaque boîte de pétri pour s'assurer que le solvant utilisé pour la dilution n'a aucun effet antibactérien.

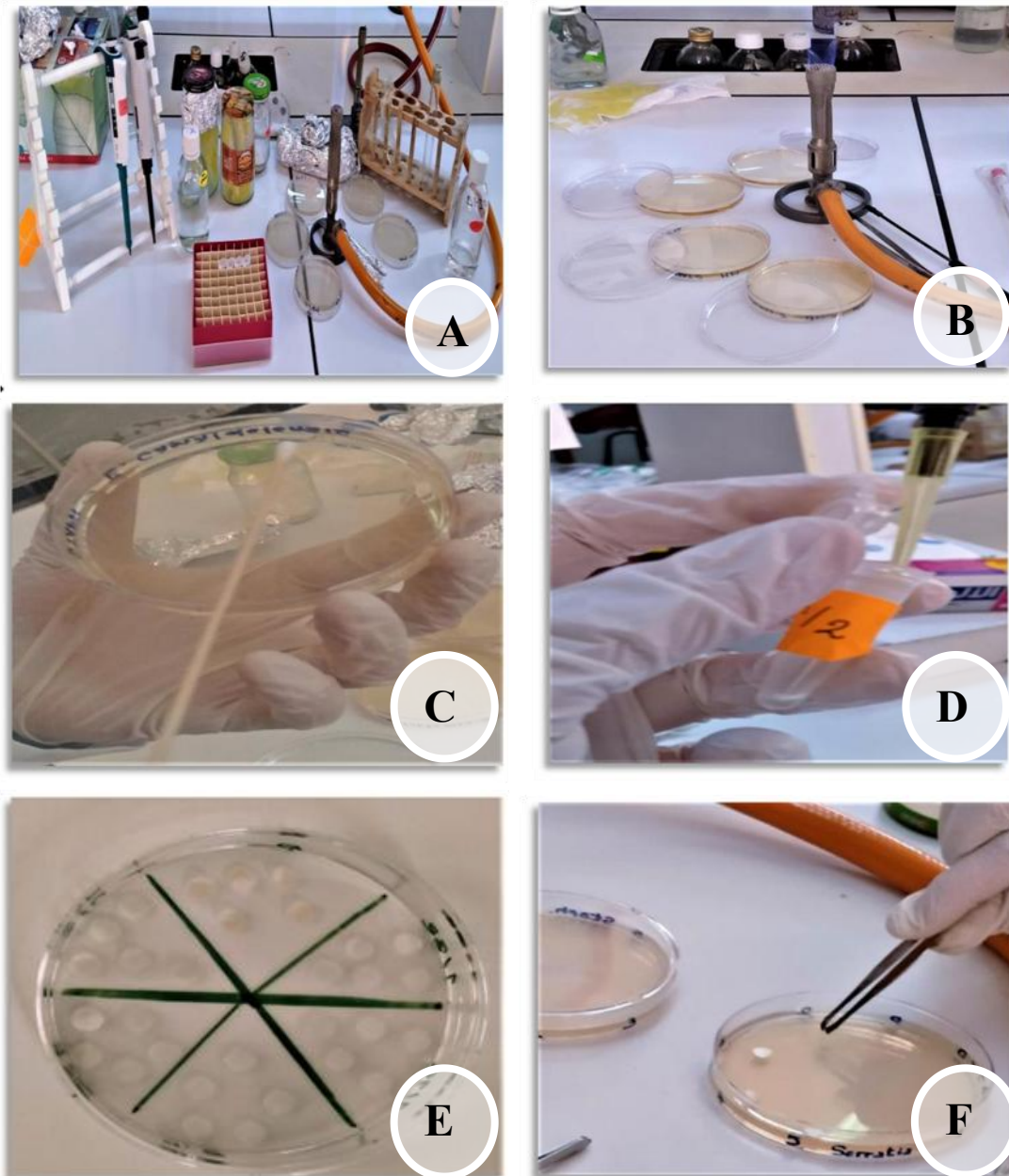


Figure 12: Etapes de l'aromatogrmme (photos personnelles, 2023)

A: Préparation du matériel, **B:** Écoulement du milieu, **C :** Ensemencement de la suspension bactérienne, **D et E :** Imprégnation des disques avec l'HE, **F:** dépôt des disques

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm par le pied à coulisse. Les résultats sont symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'HE (tableau 07).

Tableau 6: Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition
(Mouas *et al.* 2017).

Sensibilité	Symbole	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante	(-)	Diamètre < 8 mm
Sensible	(+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible	(++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible	(+++)	Diamètre > 20 mm

1.3.2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide

La CMI est la concentration minimale en HE inhibant la croissance macroscopique visible d'une souche donnée dans le standard de mesure. Il existe un standard de référence de détermination en milieu solide et la méthode en milieu liquide (Perrin, 2016).

Le principe de cette méthode est de réaliser un gradient de concentrations en huile essentielle dans une série de puits d'une microplaque à microtitrationensemencée par une série des suspensions bactériennes standardisées (0,5 McFarland). La série des suspensions bactériennes est introduite la même densité de cellules à étudier. Après incubation à température et période fixées les échantillons révèlent l'action de l'HE selon le pouvoir de formation des biofilms. La CMI est définie comme la plus faible concentration antibactérienne dans le dernier puits qui ne présente pas un trouble (Randrianarivo, 2021)

a. Technique

Après la répartition du bouillon MH additionné du Tween 80 dans tous les puits avec différentes quantités, une contraction de l'HE a été ajoutée dans les premiers puits, ensuite, des dilutions successives ont été réalisées.

L'inoculum standardisé de chaque souche testée a été ensemencé par ordre des souches de la microplaque, les premiers lignes sont utilisés comme un témoin positif et 1 autre comme témoin négatif, L'incubation de la microplaque a été réalisée pendant 24 H à 37 C°.

La CMI est indiquée par la cupule qui contient la plus faible concentration de 1 huile essentielle ou aucune colonie bactérienne n'est observées, les résultats sont lus à l'œil nu.

1.3.2.4 Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum bactérien initial.

Une quantité de la solution a été retirée de tous les puits en partant de la CMI et étalée sur gélose Mueller-Hinton et incubés pendant 24 h / 35 ° C pour déterminer la CMB.

A l'observation, la plus faible concentration de l'huile essentielle qui ne laisse survivre la bactérie (absence de croissance) correspond à la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) (Ben-Moussa *et al.* 2020).

La détermination du pouvoir antibactérien (bactéricide, bactériostase) de l'huile essentielle consiste à calculer le rapport CMB/CMI, lorsque ce rapport est inférieur ou égale à 4 : l'huile est dite bactéricide, alors que s'il est supérieur à 4 : l'huile est dite bactériostatique (Bonou *et al.* 2016).

Chapitre 2 : Résultats et discussion

2.1 Extraction de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

2.1.1 Rendement de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

L'hydrodistillation des feuilles d'*E. camaldulensis* a été réalisée avec un appareil Clevenger. Le rendement moyen en huile essentielle des quatre extractions était d'environ 0,32 % (Annexe 02).

Tableau 7: Variation du rendement en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* dans diverses régions d'Algérie

Région	La commune de Tébessa	Tnoukla (Tébessa)	Tahir (Jijel)	La forêt de Mahouna (Guelma)	Ain Témouchent	Constantine
Rendement en huile essentielle (%)	0.32	0.96	0.62	0,78	0.60	1,47
Références	Echantillon de la présente étude	Bourahla <i>et al.</i> 2020	Benbelli & Ghemit, 2022	Bouderbala <i>et al.</i> 2020	Salemkour & Rahaoui 2019	Sahraoui <i>et al.</i> 2022

La comparaison des résultats du rendement en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* entre la commune de Tébessa et d'autres régions en Algérie met en évidence des différences significatives ; on observe des valeurs comprises entre 0.32% et 1.47 %.

La teneur en huile essentielle de la présente étude (0.32%) peut être considérée relativement faible par rapport aux autres régions mentionnées. Celui d'Ain Témouchent : 0.60%, et Tahir (Jijel) : 0.62% étaient presque similaires. En revanche, Constantine présente le rendement le plus élevé de tous, avec 1.47%. Cela indique que cette région particulière bénéficie de conditions propices à la production de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Cette variation de rendement peut être attribuée à plusieurs facteurs, tel que : la nature du sol, la période du récolte de la matière végétale, l'âge de l'arbre, les conditions climatiques, ainsi que le temps d'extraction (Fajar *et al.* 2019 ; Achmad *et al.* 2018).

On peut remarquer également une différence significative entre le rendement de l'échantillon de la commune de Tébessa (0.32%) et celui de Tnoukla qui est aussi dans la wilaya de Tébessa (0.96%). La différence est en faveur de cette dernière, ce qui peut être attribué à plusieurs facteurs :

- **Environnement périurbain vs site naturel :**

Le site de récolte à Tébessa est une région périurbaine, ce qui signifie qu'elle est plus influencée par les activités humaines et les conditions environnementales urbaines. En revanche, Tnoukla est un site naturel, où les conditions peuvent être plus proches de l'habitat naturel de *Eucalyptus camaldulensis*. Cette différence environnementale peut jouer un rôle dans la performance des arbres et le rendement en huile essentielle.

- **Âge des arbres :**

L'âge de l'arbre d'*Eucalyptus camaldulensis* à Tébessa est de 11 ans, tandis qu'à Tnoukla, il se situe entre 20 et 25 ans. En général, les arbres plus âgés ont tendance à avoir un rendement en huile essentielle plus élevé, car ils ont eu plus de temps pour se développer et accumuler des composés aromatiques (Fajar *et al.* 2019).

2.1.2 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* obtenue sont conformes aux paramètres définis dans les normes de l'AFNOR qui sont utilisés pour évaluer la qualité et l'authenticité des huiles essentielles (tableau 8)

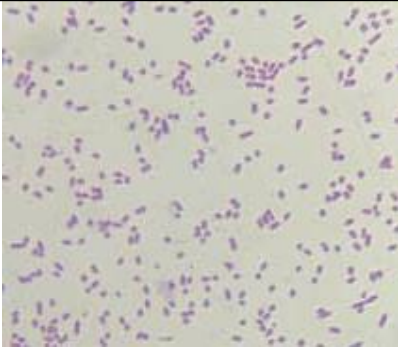

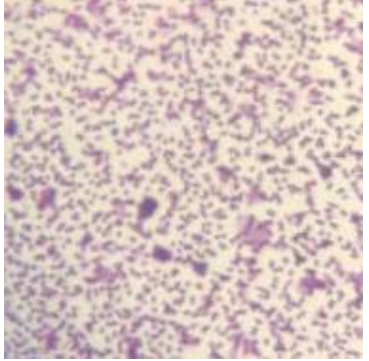

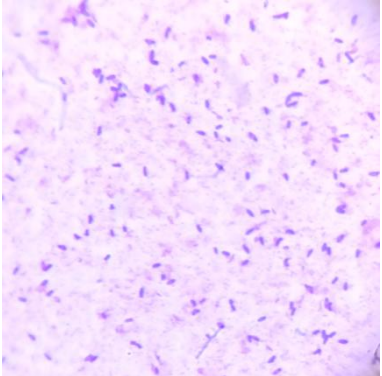

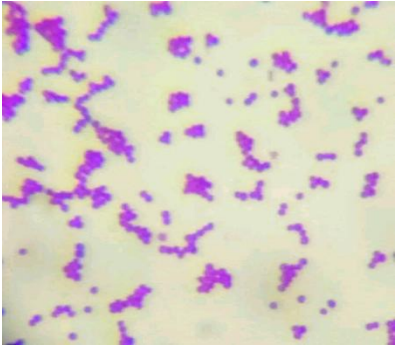
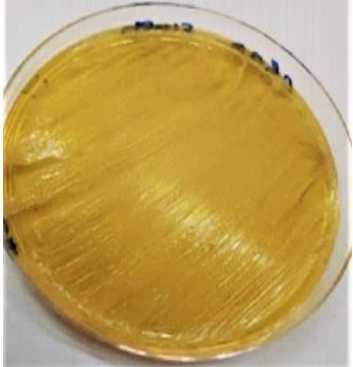
Tableau 8: Caractéristiques organoleptiques de l'HE des feuilles d'*E. camaldulensis* obtenue

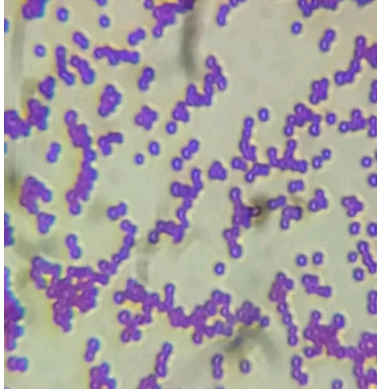
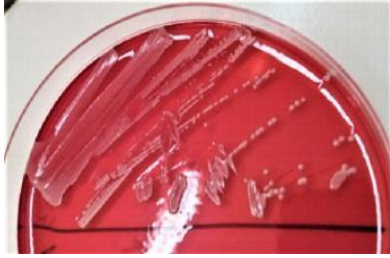
Caractéristiques organoleptiques	Texture	Couleur	Odeur
Normes AFNOR (Mehani, 2015)	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins eucalyptolée selon l'origine
L'HE obtenue	Liquide et limpide	jaune pâle	Fraîche, moins eucalyptolée

2.2 Résultat de la vérification de pureté des souches

La vérification de la pureté des souches bactériennes nous a permis d'obtenir les résultats présentes dans le tableau 9.

Tableau 9: Aspect macroscopique et microscopique des souches bactériennes testées (photos personnelles, 2023)

Espèces	Gram et forme	Observation microscopique	L'aspect des souches
<i>E. coli</i>	Bacille négatif		
<i>S. marcescens</i>	Bacille négatif		
<i>K. pneumoniae</i>	Bacille négatif		
<i>S. aureus</i>	Cocci positif		

<i>S. epidermidis</i>	Cocci positif		
-----------------------	---------------	---	---

2.3 Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

2.3.1 Détermination de la CMI sur milieu gélosé

L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'un halo clair autour du disque de papier imprégné de l'huile étudiée, la figure 13 montre ces zones d'inhibition de l'huile essentielle sur les souches testées.

On constate après incubation des boîtes, que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* marque un effet antibactérien sur les souches testées car l'émergence des zones d'inhibitions de la croissance, la sensibilité des souches testées varie selon les dilutions, et l'activité antibactérienne la plus élevée de l'HE est marquée par *Staphylococcus aureus* suivie par *Serratia marcescens*, *E. coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*.

On remarque que la concentration de l'HE affecte la sensibilité ou la résistance des souches testées : les dernières dilutions n'appliquent aucune activité sur toutes les souches testées, Ceci peut être expliqué par l'augmentation du pourcentage des molécules bioactives responsables de son effet antibactérien (Kheyar *et al.* 2014).

Aucune inhibition n'a été détectée pour l'ensemble des souches soumises au test en utilisant du DMSO.

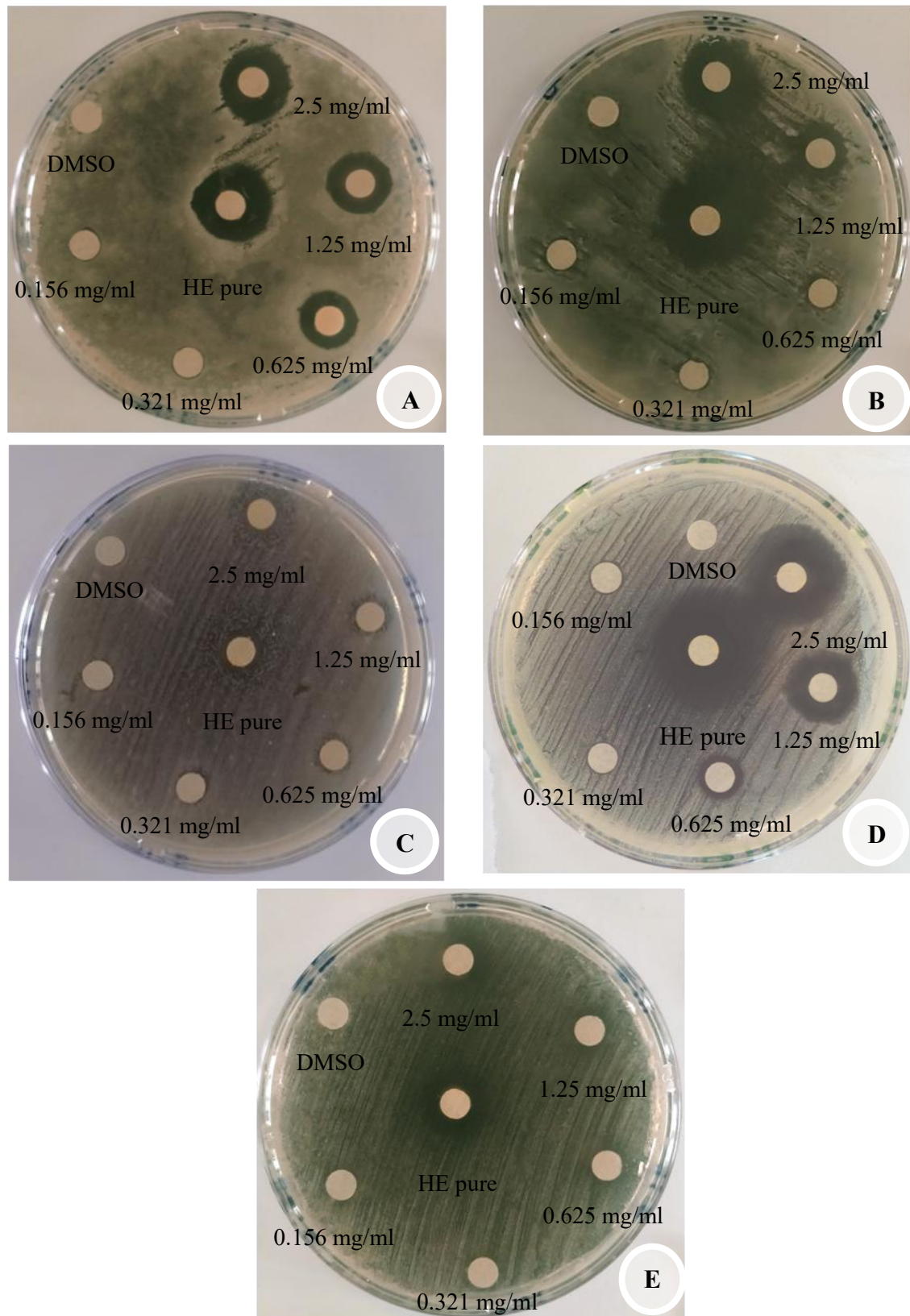


Figure 13: Zones d'inhibition de croissance des souches bactériennes avec l'HE des feuilles d'*E. camaldulensis* et ses dilutions (photos personnelles, 2023)

A. *Escherichia coli*, **B.** *Serratia marcescens*, **C.** *Klebsiella pneumoniae*, **D.** *S. aureus*,
E. *S. epidermidis*.

Tableau 10: Effet antibactérien de l'HE extraite des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* à différentes dilutions sur les souches bactériennes testées.

Les souches bactériennes		HE pure		Dilutions de l'HE extraite des feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>									
				2.5 mg/ml		1.25 mg/ml		0.625 mg/ml		0.321 mg/ml		0.156 mg/ml	
		5 mg	S	D(mm)	S	D(mm)	S	D(mm)	S	D(mm)	S	D(mm)	S
G+	<i>S. aureus</i>	24.7±0.58	+++	21.02±1.08	+++	14.78±0.49	+	11.76±0.12	+	07.91±0.29	-	07.69±0.14	-
	<i>S. epidermidis</i>	15.16±0.34	++	14.10±0.66	+	08.73±0.47	+	08.34±0.81	+	06.86±0.06	-	06.75±0.22	-
G-	<i>E. coli</i>	17.60±0.14	++	16.14±0.62	++	13.50±0.21	+	12.24±0.20	+	07.06±0.17	-	06.95±0.24	-
	<i>Serratia marcescens</i>	19.44±1.16	++	17.95±0.54	++	13.82±1.01	+	08.84±0.49	+	07.31±0.22	-	07.14±0.24	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18.29±1.22	++	15.09±1.47	++	10.49±0.29	+	09.11±0.19	+	07.95±0.04	-	07.35±0.10	-

+++ : Extrêmement sensible

++ : Très sensible

+ : Sensible

- : Non sensible ou résistante

D'après le tableau précédent On a observé une fluctuation dans les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de croissance des souches bactériennes testées vis a vis aux différentes concentrations de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Toutes les souches bactériennes testées ont marquées une résistance à l'activité de l'HE dans les dilutions 0,321 mg/ml et 0,156 mg/ml avec un intervalle des diamètres de 6,75 mm à 7,95 mm, par contre dans le cas des dilutions 0,625mg/ml et 1,25mg/ml elles ont montrées une sensibilité à l'activité d'*Eucalyptus camaldulensis* avec un intervalle des diamètres de 8,34 mm à 14,78 mm.

Staphylococcus aureus c'est la seule souche qui a marqué une hypersensibilité à l'activité de l'HE pure 5mg et sa première dilution 2,5mg/ml avec un intervalle de diamètre de 21,02 mm à 24,7 mm par contre, Des études similaires ont été rapporté par (Abdellah *et al*, 2013) montre que *S. aureus* est la plus sensible vis-à-vis à l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Serratia marcescens a été classé la deuxième avec une forte sensibilité à l'activité de l'HE à un intervalle de diamètre de 17,95 mm à 19,44 mm, en revanche *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* manifestent presque le même degré de sensibilités avec un diamètre qui varie entre 15,09 mm et 18,29 mm.

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition révèlent que l'HE de l'*Eucalyptus camaldulensis* montre une forte activité antibactériennes sur toutes les souches bactériennes testées, nos résultats étaient identiques à ceux obtenues par Fenghour *et al.* (2021).

Nos résultats presque concordent avec ceux rapportés par Djebbari *et al.* (2021), ils montrent que L'*Eucalyptus camaldulensis* a un effet antibactérien sur les souches bactériennes à Gram positives, avec des zones d'inhibitions de 17,67mm (cas de *S. aureus*) et 10,67mm dans le cas d'*Enterococcus faecalis* tandis que les souches bactériennes à Gram négatif notamment, *E. coli* et *K. pneumoniae* l'huile a marqué un effet antibactérien moyen avec de faibles diamètres d'inhibitions de 8,17mm.

L'*Eucalyptus camaldulensis* a une activité inhibitrice sur *E. coli*, *E. faecalis* et *K. pneumoniae* d'après Mehani (2015). Des résultats similaires ont été rapportés par Bourahla *et al.* (2020) qui ont réalisés leur étude dans le laboratoire de microbiologie de départements de biologie appliquée de l'université d'Echahid Laarbi Tébessi et ils ont montré que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Tébessa (Tnoukla) possède un large spectre d'activité antibactérienne notamment sur *S. aureus*.

Enfin, Chaves *et al.* (2018) ont examiné l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* (SARM) et *Escherichia coli*. Cette huile a présenté une activité significative contre *Staphylococcus aureus* (CMI = 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), alors qu'elle était inactive contre *Escherichia coli* (CMI > 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$).

2.3.2 Détermination de la CMI sur milieu liquide

La méthode de microplaque nous a permis d'obtenir les valeurs de concentrations minimales inhibitrices.

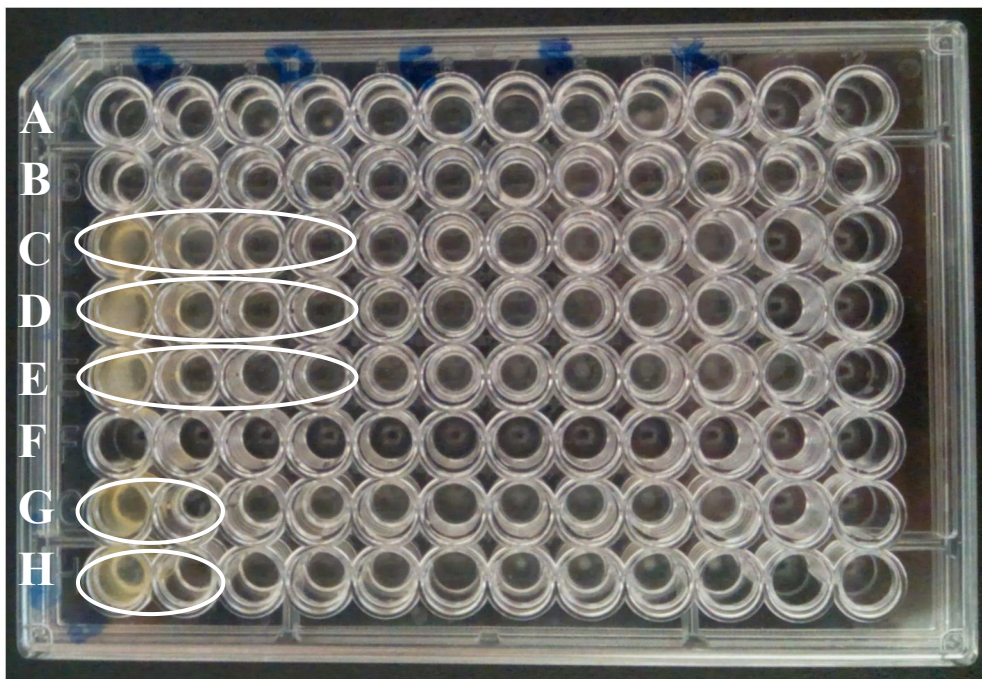


Figure 14: Observation de la microplaque utilisée dans la détermination de la CMI

A: témoin positive, **B:** témoin négative, **C :** *E coli*, **D:** *S marcescens*, **E :** *K. pneumoniae*,
F: vide, **G :** *S epidermidis*, **H :** *S aureus*

Après incubation de la microplaque on a remarqué une absence de la croissance bactérienne dans les premiers quatre puits d'*E. coli*, la même chose pour *Serratia marcescens*, et *klebsiella pneumoniae*, par contre *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* ont marqué une croissance (la formation d'un biofilm) à partir du troisième puits.

Les valeurs de la CMI varient de 1,25mg/ml à 5mg/ml. Pour chacune des souches ayant montrées un certain degré de sensibilité vis à vis de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* ; La meilleure CMI a été obtenue avec *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* et *klebsiella pneumoniae*, qui étaient les espèces ayant la valeur la plus faible : 1,25mg/ml.

On a obtenu la même CMI pour *S. aureus* et *S. epidermidis* avec une valeur de 5mg/ml.

Enfin, On à remarqué que l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* est plus forte sur les bactéries à Gram négatif que celles à Gram positif. Car la composition de l'enveloppe cellulaire a un impact sur la sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de l'activité des huiles essentielles. En effet, cette sensibilité dépend aussi des propriétés de l'HE, par ce que leurs actions inhibitrice et bactéricide sont dues à leur richesse en molécules actives (Farah *et al.* 2001).

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle étudiée sur les souches testées sont rapportés sur les tableaux et les figures suivants.

Tableau 11: Lecture de la microplaque pour la détermination de la CMI

Souches bactériennes testées	Pure	5mg/ml	2,5mg/ml	1,25mg/ml	0,625mg/ml	0,312mg/ml	0,156mg/ml	0,078mg/ml	0,039mg/ml	0,019mg/ml
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>S. epidermidis</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : présence d'un trouble / - : absence d'un trouble

Tableau 12: Comparaison de la sensibilité à l'HE des feuilles d'*E. camaldulensis* de trois des souches testées dans différentes régions d'Algérie

Région	Souches bactériennes		
	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S.aureus</i>
Tébessa (La présente étude)	++	++	+++
Tébessa (Djebbari & Barki, 2021)	+	+	++
Constantine (Sahraoui <i>et al</i> , 2022)	++	+++	++
Ouargla (Mehani, 2015)	+	+	NT
Aïn Témouchent (Salemkeur & Rahaoui, 2019)	NT	-	+++
Sidi Bel Abbès (Ghalem & Benali, 2014)	NT	+++	+++

NT: non testée / +: sensible / ++: très sensible / +++: extrêmement sensible

Staphylococcus aureus a marqué une sensibilité extrême à l'activité de l'HE dans la présente étude (Tébeesa), ce résultat est similaire à celui de Sidi Bel Abbès (Ghalem & Benali, 2014) et Aïn Témouchent (Salemkeur & Rahaoui, 2019), et elle a été très sensible à Tébeesa (Djebbari & Barki, 2021) et Constantine (Sahraoui *et al*, 2022).

Klebsiella pneumoniae a montré une sensibilité à l'espèce *E. camaldulensis* de Constantine (Sahraoui *et al*, 2022), par contre elle a été moins sensible à l'espèce de Tébeesa (Djebbari & Barki, 2021) et Ouargla (Mehani, 2015), et très résistantes dans le cas des résultats qu'on a trouvé (Tébeesa).

E. coli a été extrêmement sensible à l'activité de l'HE de l'espèce de Constantine (Sahraoui *et al*, 2022) et Sidi Bel Abbès (Ghalem & Benali, 2014), très sensible à celle de notre étude (Tébeesa), et moins de sensibilité aux espèces de Tébeesa (Djebbari & Barki, 2021) et Ouargla (Mehani, 2015) contrairement elle a été résistante à l'espèce d'Ain Témouchent (Salemkeur & Rahaoui, 2019).

2.3.3 Les résultats de la CMB (concentration minimale bactéricide)

La détermination de la CMB a été réalisée à partir des puits qui n'ont pas présenté une croissance bactérienne, après incubation de 24h nous avons obtenu les valeurs de la CMB.

Les figures et les tableaux suivants montrent les résultats de la détermination de CMB de l'EH des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*.

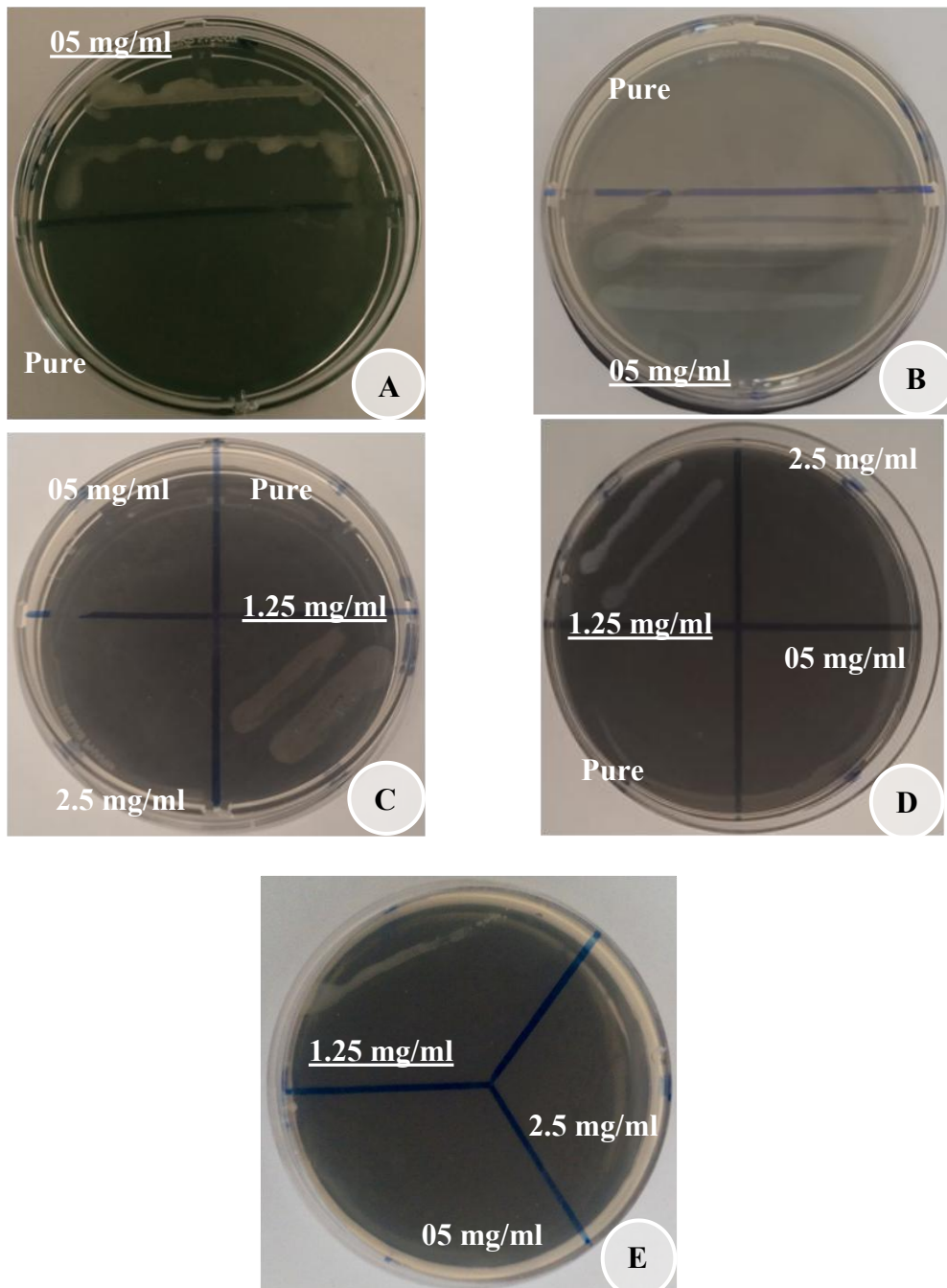


Figure 15: Détermination de la CMB après culture sur MH

A. *S.aureus*, **B.** *S. epidermidis*, **C.** *Escherichia coli*, **D.** *Serratia marcescens*,
E. *Klebsiella pneumoniae*.

Les valeurs de la concentration minimale bactéricide que nous avons obtenu présentent une certaine variabilité de souche à l'autre, les souches à Gram négatif possèdent la même valeur de CMB, ainsi que les Gram positives partagent la même CMB.

On constate que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* a la capacité de tuer 99% de souches bactériennes testées à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, et *Staphylococcus epidermidis*, et à Gram négatif : *E. coli*, *Serratia marcescens* et *klebsiella pneumoniae* avec respectivement des concentrations d'HE de 10 mg/ml et 2,5mg/ml.

Tableau 13: Détermination du pouvoir bactéricide ou bactériostatique de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

Souches bactériennes	CMI	CMB	Rapport CMB/CMI
<i>E. coli</i>	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	2
<i>S. marcescens</i>	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	2
<i>K. pneumoniae</i>	1.25 mg/ml	2.5 mg/ml	2
<i>S. aureus</i>	05 mg/ml	10 mg/ml	2
<i>S. epidermidis</i>	05 mg/ml	10 mg/ml	2

Les résultats du rapport CMB/CMI montrent que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* est de nature bactéricide sur toutes les souches bactériennes testées.

Conclusion et perspectives



Conclusion et perspectives

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation, l'huile extraite est caractérisée par une couleur jaune pâle et de texture liquide limpide et d'odeur fraîche et moins eucalyptolée.

Le rendement moyen en huile essentielle des quatre extractions était d'environ 0,32%, il est qualifié comme un faible rendement par rapport à d'autres régions d'Algérie notamment Tnoukla qui a le même climat semi aride et située dans la même wilaya (Tébessa), vu certains facteurs : la nature du sol, la période du récolte de la matière végétale, l'âge de l'arbre, les conditions climatiques, ainsi que le temps d'extraction (Fajar *et al.* 2019 ; Achmad *et al.* 2018).

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle par la méthode de diffusion des disques a montré une variation des résultats.

L'effet inhibiteur de l'HE sur *Staphylococcus aureus* est plus important par rapport aux autres souches testées, Une forte sensibilité a été marquée par les souches suivantes : *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* vis à vis à l'activité de l'HE.

Les valeurs de la concentration minimales inhibitrice sur milieu liquide manifestent l'efficacité de l'activité antibactérienne de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les bactéries à Gram négatif que celles à Gram positif.

- ✧ La CMI de l'HE pour *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* était la plus élevée par rapport aux autres souches testées par une valeur de 7,5 mg/ml
- ✧ Les valeurs de la CMI pour les bactéries à Gram négatif: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, et *Klebsiella pneumoniae*, était proche par une valeur comprise entre 1,875mg/ml et 3,75mg/ml.

Les résultats de la CMI et la CMB montres que l'HE des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* est qualifiée comme bactéricide sur toutes les souches testées.

La CMI des bactéries à Gram négatif est de 2.5 mg/ml pour *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* et *Klebsiella pneumoniae*, alors que pour les bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, est de 05 mg/ml.

En perspectives, il serait intéressant d'élargir le champ d'application de l'huile essentielle aussi bien, sur d'autres souches bactériennes qu'autres souches fongiques, provenant d'autres

Conclusion et perspectives

types d'infections. Également, il est important de déterminer les métabolites secondaires de la plante par un screening phytochimique pour évaluer les composants actifs de la plante.

Enfin, des investigations supplémentaires seront nécessaires pour confirmer l'efficacité réelle *in vivo* de cette huile essentielle testée en tant qu'agent antimicrobien alternatif dans le traitement des infections bactériennes.

Références bibliographiques

-A-

- **Académie nationale de pharmacie française (Acadpharm). (2016).** Diterpène [En ligne]. Disponible sur : <http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Diterp%C3%A8ne> (Page consultée le : 13/05/2023).
- **Achmad H. N., Rana H. E., Fadilla I., Fajar A., Manurung R., & Abduh M. Y. (2018).** Determination of yield, productivity and chemical composition of *Eucalyptus* oil from different species and locations in Indonesia. *Biological and Natural Resources Engineering Journal*, 1(1), 36-49.
- **Alili, D., Brahim, O., Doumandji, A., & Serier Bouchenak N (2022).** Obtention et caractérisation physicochimique et chromatographique de l'huile essentielle des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. (Fenouil sauvage) [En ligne]. *AgroBiologia*, 12(1), 2850-2861. Disponible sur : <https://www.asjp.cerist.dz/en/downArticle/255/12/1/187480> (Page consultée le: 04/05/2023).
- **Arnold R. & Luo J. (2018).** *Eucalyptus camaldulensis*. *Species accounts*, 1(1), 94-99.
- **Australian Native Plants Society. (2023).** *Eucalyptus camaldulensis* [En ligne]. Disponible sur : https://anpsa.org.au/plant_profiles/eucalyptus-camaldulensis/ (Page consultée le : 05/04/2023).
- **Aylward J., Roets F., Dreyer L. L., & Wingfield M. J. (2019).** Teratosphaeria stem canker of Eucalyptus: two pathogens, one devastating disease. *Molecular Plant Pathology*, 20(1), 8-19.
- **Azzaz S., Dehbi T. (2019).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* et son potentiel synergique avec la nisine. Mémoire de fin d'étude : Master en biotechnologie microbienne. Algérie : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 107 pages.

-B-

- **Belhachemi A., Maatoug M. H., & Canela-Garayoa R. (2022).** GC-MS and GC-FID analyses of the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* grown under greenhouses differentiated by the LDPE cover-films. *Industrial Crops and Products*, 178, 114606.
- **Benbelli K. & Ghemit E. H. (2022).** Etude de l'extraction des huiles essentielles et des extraits bruts d'*eucalyptus camaldulensis* et de *pistacia lentiscus*: caractérisation physico-chimiques et screening phytochimique. Mémoire de fin d'étude : Master en génie de procédés de l'environnement. Algérie : Université de Jijel, 102 pages.

- **Ben-Moussa M. T., Khelil K., Harkat H., Lakehal S., & Hedef Y. (2020).** Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Brocchia cinerea* VIS. d'Algérie. *Batna Journal Of Medical Sciences*, 122.

- **Benouaa F. Z. (2021).** Valorisation de l'huile essentielle d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit) [En ligne]. Thèse de doctorat: Chimie industrielle. Algérie : Université Saad Dahlab Blida 1, 69 pages. Disponible sur : <https://di.univ-blida.dz/xmlui/bitstream/handle/123456789/12873/Benoua%20th%e3%a8se%20finale%20corrig%e3%a9e%2011%20juillet.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Page consultée le : 08/05/2023).

- **Biomérieux. (2003).** McFarland Standard [En ligne]. Disponible sur : https://dmecc.moh.gov.vn/documents/10182/26846422/upload_00008685_1645355571711.pdf?version=1.0&fileId=26854285 (Page consultée le : 17/05/2023).

- **Bourahla, N., Halfaya, A., & Khelif O. (2020).** Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'une plante médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*). Mémoire de fin d'étude : Master en microbiologie appliquée. Algérie : Université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi, Tébessa, 88 pages.

- **Boutchiche A. (2017).** Etude comparative de quelques méthodes d'évaluation de la concentration minimale inhibitrice des extraits de plantes. Mémoire de fin d'étude : Master en microbiologie appliquée. Algérie : Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 55 pages.

- **Brahimi, S., Dahia, M., Azouzi, B., Nasri, M., & Laouer, H. (2020).** Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Deverra reboudii* (Coss. & Durieu) [En ligne]. *Phytothérapie*, 18(5), 314-320. Disponible sur : <https://www.proquest.com/docview/2488016960?parentSessionId=EEo0ZmvMOTnhsVt5Bef7yeNrwdYKu37ODD9u4DBK0M%3D&pq-origsite=summon&accountid=202267> (Page consultée le : 07/05/2023).

- **Bonou J., Baba-Moussa F., Noumavo P. A., Ahouandjinou H., Adeoti K., Metognon I., Moudachirou M., Djimon G. J., Fatiou T., Kifouli A., Koffi A. & Baba-Moussa L. (2016).** Composition chimique et influence de différents tweens sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles d'*Ocimum gratissimum*, *Ocimum basilicum*, *Laurus nobilis* et *Melaleuca quinquenervia*. *European Scientific Journal*, 12(27).

- **Bouderbala A., Sandli R., Grana N. (2020).** Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord-Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis* et *Citrus sinensis*). Mémoire de fin d'étude : Master en Phytopharmacie et protection de végétaux. Algérie : Université 8 mai 1945 Guelma, 71 pages.

- **Boukhatem M. N., Ferhat A., & Kameli A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature [En ligne]. *AgroBiologia*, 3(4), 1653-1659. Disponible sur : <https://www.asjp.cerist.dz/en/downArticle/255/9/2/120330> (Page consultée le: 08/05/2023).

-**Brain T. (2023)**. SEM of *Klebsiella pneumoniae* bacteria [En ligne]. Disponible sur : <https://www.sciencephoto.com/media/12329/view/sem-of-klebsiella-pneumoniae-bacteria> (Page consultée le: 30/04/2023).

- **Britannica (2022)**. Eucalyptus [En ligne]. Disponible sur : <https://www.britannica.com/plant/Eucalyptus> (Page consultée le: 05/04/2023).

-**C**-

- **CDC Public Health Image Library (PHIL) (2021)**. *Staphylococcus aureus* [En ligne]. Disponible sur : <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/staphylococcus-aureus> (Page consultée le: 30/04/2023).

- **Cerasoli S., Caldeira M. C., Pereira J. S., Caudullo G., & De Rigo D. (2016)**. *Eucalyptus globulus* and other eucalypts in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European atlas of forest tree species*, 90-91.

- **Chaves T. P., Pinheiro R. E. E., Melo E. S., Soares M. J. D. S., Souza J. S. N., De Andrade T. B., Gomes de Lemos T. L. & Coutinho, H. D. (2018)**. Essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn potentiates β -lactam activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* resistant strains. *Industrial crops and products*, 112, 70-74.

- **Chelain E., Lubin-Germain N., Uziel J. (2015)**. Chimie organique. 3^e édition. Paris : Dunod, 204 pages.

- **Clave D. (2019)**. Fiche technique : *Staphylococcus epidermidis*. Toulouse: CTCB (Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique) [En ligne]. Disponible sur : [https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Staphylococcus%20epidermidis%20\(Edition%202019\).pdf](https://www.ctcb.com/documentation/Fiches%20techniques%20BAC/Staphylococcus%20epidermidis%20(Edition%202019).pdf) (Page consultée le : 30/04/2023).

- **Cole, T. C., & Hilger, H. H. (2016)**. Angiosperm Phylogeny poster: Flowering Plant Systematics [En ligne]. Disponible sur: <https://refubium.fu-berlin.de/handle/fub188/18972> (Page consultée le: 04/04/2023).

- **Coppen J.J.W. (2002)**. Eucalyptus: The genus *Eucalyptus*. London: Taylor and Francis, 433 pages.

- **Couic-Marinier F. & Laurain-Mattar D. (2021)**. Huile essentielle de Myrrhe amère [En ligne]. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), 59-61. Disponible sur : <https://www-sciencedirect-com.snd11.arn.dz/science/article/pii/S0515370021000392?via%3Dihub> (Page consultée le : 13/05/2023).

-**D**-

- **Denis F., Ploy M.C., Martin C., Bingen É., Quentin R. (2011)**. Bactériologie médicale: Techniques usuelles. 2^e édition. Paris : Elsevier Masson, 615 pages.

- **Djebbari H. Barki D. & Boumaagouda S. (2021).** Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis*). Mémoire de fin d'étude : Master en microbiologie appliquée. Algérie : Université Echahid Laarbi Tébessi, Tébessa, 81 pages.

- **Donlan M. R. (2001).** Biofilms and Device-Associated Infections [En ligne]. Disponible sur : <https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/2/70-0277-f1#comment> (Page consultée le : 30/04/2023). <https://microbiologie-clinique.com/Diagnostic-bact%C3%A9riologique-Staphylocoque.html> (Page consultée le : 30/04/2023).



- **Eichhorn S. E., Evert R. F., Raven P. H. (2014).** Biologie végétale. 3^e édition. Bruxelles : De Boeck Supérieur, 880 pages.

- **EUCLID. (2020).** *Eucalyptus camaldulensis* subsp. *obtusa* [En ligne]. Disponible sur : https://apps.lucidcentral.org/euclid/text/entities/eucalyptus_camaldulensis_subsp_obtusa.htm?zoom_highlight=camaldulensis (Page consultée le : 14/04/2023).

- **Ez-Zriouli R., ElYacoubi H., Imtara H., Mesfioui A., ElHessni A., Al Kamaly O., Rochdi, A., Zuhair Alshawwa S., A. Nasr F., Benziane Ouaritini Z. & Rochdi A. (2023).** Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities and Acute Toxicity of *Cedrus atlantica*, *Chenopodium ambrosioides* and *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oils. *Molecules*, 28(7), 2974.



- **Fajar A., Ammar G. A., Hamzah M., Manurung R., & Abduh M. Y. (2019).** Effect of tree age on the yield, productivity, and chemical composition of essential oil from *Cinnamomum burmannii*. *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 1(1), 17-22.

- **Farah A., Satrani B., Fechtal M., Chaouch A., & Talbi M. (2001).** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oils from the leaves of *Eucalyptus camaldulensis* and its natural hybrid (clone 583). *Acta Botanica Gallica (France)*, 183-190.

- **Fenghour H., Bouabida H., Dris D., & Houhamdi M. (2021).** Antibacterial effect of essential oils of two plants *Eucalyptus camaldulensis* and *Artemisia herba alba* on some bacterial strains. *Biosystems Diversity*, 29(2), 73-77.

- **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2021).** Near east and north Africa regional forest resource assessment 2020: extent, changes and trends, 2021, Cairo, 180 pages.

- **Foroughbakhch R., Carrillo-Parra A., Hernández-Piñero J. L., & Guzmán-Lucio M. A. (2017).** Growth and yield of an *Eucalyptus* subtropical plantation in a Northeastern Mexico degraded land soil. *Madera y bosques*, 23(3), 71-85.

-G-

- **Ghasemian A., Eslami M., Hasanvand F., Bozorgi H., & Al-Abodi H. R. (2019).** *Eucalyptus camaldulensis* properties for use in the eradication of infections. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 65, 234-237.

-H-

- **Hamad, A. (2018).** Modélisation et intérêt hydrogéologique des réservoirs carbonatés karstiques: contribution du SIG (2D/3D), des données géophysiques et approches hydrochimie et isotopique-cas du bassin Transfrontalier (Tébessa-Kasserine/Algérie-Tunisie). Thèse de doctorat : Hydrogéologie appliquée. Algérie : Université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa, 425 pages.

- **Hardjito L., Huq A., & Colwell R. R. (2002).** The influence of environmental conditions on the production of pigment by *Serratia marcescens* [En ligne]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 7, 100-104. Disponible sur : https://www.researchgate.net/figure/Scanning-electron-microscope-photograph-of-the-freshwater-isolate-of-Serratia-marcescens_fig1_226007445 (Page consultée le: 30/04/2023).

-J-

- **Juergens L. J., Worth H., & Juergens U. R. (2020).** New perspectives for mucolytic, anti-inflammatory and adjunctive therapy with 1, 8-cineole in COPD and asthma: review on the new therapeutic approach. *Advances in therapy*, 37(5), 1737-1753.

-K-

- **Kheyar N., Meridja D., & Belhamel K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(1), 18-26.

-L-

- **Labri K., Moghrani H., Ihadadene R., Hamitouche H., & Maachi R. (2022).** The application of the full factorial design and Response Surface Methodology in optimization

conditions for essential oils extraction from *Lavandula stoechas*, *Carum carvi* and *Eucalyptus camaldulensis*: Effect of plants particle size on the extraction of essential oils. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100830.

- **Liu P., Liu X., Saburi T., Kubota S., Huang P., & Wada Y. (2021)**. Thermal stability and oxidation characteristics of α -pinene, β -pinene and α -pinene/ β -pinene mixture [En ligne]. *RSC advances*, 11(33), 20529-20540. Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9033991/> (Page consultée le : 13/05/2023).

- **Loi n° 03-10** du 19 juillet 2003 relative à la protection de l'environnement dans le cadre du développement durable. Journal Officiel de la République Algérienne, n° 43, 2003, p.6-18.

- **Loi n°84-12** du 23 juin 1984, portant régime général des forêts. Journal Officiel de la République Algérienne, n° 26, 1984, p.2-9.



- **Madigan M., & Martinko J. (2007)**. Brock : Biologie des micro-organismes. 11^e édition. France : Pearson Education France, 1080 pages.

- **Mehani M. (2015)**. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la région d'Ouargla. Thèse de doctorat : Biologie. Algérie : Université Kasdi Merbah, Ouargla, 174 pages.

- **Midireh I. (2022)**. Diagnostic bactériologique Staphylocoque [En ligne]. Disponible sur :

- **Missouri Botanical Garden (2023)**. *Eucalyptus camaldulensis* [En ligne]. Disponible sur: <http://legacy.tropicos.org/Image/100179352> (Page consultée le: 04/04/2023).

-**Morot-Gaudry J-F., Maurel C., Moreau F., Prat R., Sentenac H. (2017)**. Biologie végétale : Nutrition et métabolisme. 3^e édition. Paris : Dunod, 256 pages.

- **Mouas Y., Benrebiha F. Z., & Chaouia C. (2017)**. Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis L.* *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.

- **Mubarak E. E., Landa Z. A., Ahmed I. F. A., Ahmed, A. B. A., & Taha, R. M. (2015)**. Essential oil compositions and cytotoxicity from various organs of *Eucalyptus camaldulensis* [En ligne]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 17(2), 320-326. Disponible sur : https://www.researchgate.net/profile/Rosna-Taha/publication/271079639_Essential_Oil_Compositions_and_Cytotoxicity_from_Various_Organs_of_Eucalyptus_camaldulensis/links/565fd18508ae1ef929856afa/Essential-Oil-Compositions-and-Cytotoxicity-from-Various-Organs-of-Eucalyptus-camaldulensis.pdf (Page consultée le: 10/04/2023).

-N-

- **National Center for Biotechnology Information (2023)**. PubChem Compound Summary for CID 6430754, 10-epi-gamma-Eudesmol [En ligne]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10-epi-gamma-Eudesmol>. (Page consultée le: 13/05/2023).
- **National Center for Biotechnology Information (2023)**. PubChem Substance Record for SID 198941074, .Alpha.-Phellandrene, Source: FDA Global Substance Registration System (GSRS) [En ligne]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/198941074>. (Page consultée le 13/05/2023).
- **National institute of allergy and infectious diseases. (2015)**. *Escherichia coli* [En ligne]. Disponible sur : <https://www.microbiologyinpictures.com/bacteria-photos/escherichia-coli-photos/e.coli-bacteria-sem.html> (Page consultée le: 30/04/2023).
- **National Parks (Singapore): Flora and fauna web. (2023)**. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. [En ligne]. Disponible sur : <https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/2/8/2885#:~:text=Juvenile%20leaves%20opposite%20at%20first,to%20blue%20green%20in%20colour.&text=Fairly%20insignificant%20flowers%2C%20white%20or,11%20borne%20in%20axillary%20umbels>. (Page consultée le : 04/04/2023).
- **Ngugi M. R., Doley D., Cant M. & Botkin D. B. (2015)**. Growth rates of *Eucalyptus* and other Australian native tree species derived from seven decades of growth onitoring. *Journal of Forestry Research*, 26, 811-826.
- **NSW National Parks and Wildlife Service. (2023)**. River red gum [En ligne]. Disponible sur : <https://www.nationalparks.nsw.gov.au/plants-and-animals/river-red-gum> (Page consultée le: 05/04/2023).

-P-

- **Perrin J. F. (2016)**. Antibiotiques : effets bactériostatiques et bactéricides, CMI, CMB, méthode par dilutions en milieu liquide [En ligne]. Disponible sur : <http://www.perrin33.com/polys/micro-bt-tp/tp-ab-cmicmb.pdf> (Page consultée le: 09/05/2023).
- **Plants Of The World Online, Royal Botanic Gardens. (2023)**. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.[En ligne]. Disponible sur : <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:592777-1> (Page consultée le : 07/04/2023).

-R-

- **Randrianarivo R. (2021)**. Activités antibactérienne et antibiofilm de trois plants endémiques de Madagascar de la famille des *Rubiaceae*. *Revue des Sciences, de Technologies et de l'Environnement*. 3^e édition. Mahajanga, page 161.



- **Sa C., Liu J., Dong Y., Jiang L., Gentana G., & Wurita A. (2021).** Quantification of eucalyptol (1, 8-cineole) in rat serum by gas chromatography–mass/mass spectrometry and its application to a rat pharmacokinetic study [En ligne]. *Biomedical Chromatography*, 35(6), e5080. Disponible sur : <https://analyticalsciencejournals-onlinelibrary-wiley-com.snd11.arn.dz/doi/full/10.1002/bmc.5080> (Page consultée le: 13/05/2023).
- **Sabo V.A. & Knezevic P. (2019).** Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Industrial crops and products*, 132, 413-429.
- **Sahraoui M., Lahiouel Z., Merzouki B. (2022).** Etude Phytochimique et Activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Mémoire de fin d'étude : Master en Toxicologie. Algérie : Université Frères Mentouri Constantine 1, 2022.
- **Salemkour B., & Rahaoui R. (2019).** Etude de l'effet antimicrobien des extraits et de l'huile essentielle d'une plante médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*) de la région d'Ain Temouchent. Mémoire de fin d'étude : Master en microbiologie appliquée. Algérie : Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn–Témouchent, 91p.
- **Sanou S., Ouedraogo A. S., Hema A., Ouattara A., Ouedraogo R., Ouedraogo G. A., Godreuil S. & Jean-Pierre H. (2020).** Les mines de crayon pour critérium comme alternative aux tiges de platine (Inoclic) dans la réalisation de l'antibiogramme en milieu gélosé pour les pays à ressources limitées?. In *Annales de Biologie Clinique*, 78(1), 54-60.
- **Socasau F. C. (2017).** Les huiles essentielles référencées à l'agence européenne du médicament [En ligne]. Thèse de Doctorat en Pharmacie. France : Université de Bordeaux, 101 pages. Disponible sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01719690/document> (Page consultée le: 06/04/2023).



- **The Nature Foundation of Will County. (2022).** How to tell how old a tree is without cutting it down [En ligne]. Disponible sur: <https://www.reconnectwithnature.org/news-events/the-buzz/how-to-tell-how-old-a-tree-is-without-cutting-it-down/> (Page consultée le : 14/05/2023).



- **Vecchio M. G., Loganes C., & Minto C. (2016).** Beneficial and healthy properties of Eucalyptus plants: A great potential use. *The Open Agriculture Journal*, 10(1).
- **Vuong Q. V., Chalmers A. C., Jyoti Bhuyan D., Bowyer M. C., & Scarlett C. J. (2015).** Botanical, phytochemical, and anticancer properties of the *Eucalyptus* species. *Chemistry & biodiversity*, 12(6), 907-924.

-W-

- **WWF Australia (2023)**. Treatment: 5 culturally-significant trees used in Aboriginal and Torres Strait Islander medicine [En ligne]. Disponible sur :

[https://www.wwf.org.au/news/blogs/5-culturally-significant-trees-in-aboriginal-torres-strait-islander-](https://www.wwf.org.au/news/blogs/5-culturally-significant-trees-in-aboriginal-torres-strait-islander-medicine#:~:text=There%20are%20a%20number%20of,common%20name%20for%20Eucalyptus%20wandoo)

[medicine#:~:text=There%20are%20a%20number%20of,common%20name%20for%20Eucalyptus%20wandoo](https://www.wwf.org.au/news/blogs/5-culturally-significant-trees-in-aboriginal-torres-strait-islander-medicine#:~:text=There%20are%20a%20number%20of,common%20name%20for%20Eucalyptus%20wandoo) (Page consultée le : 05/04/2023).

Annexes



Annexe 01 : L'âge de l'arbre d'*Eucalyptus camaldulensis*

Pour déterminer l'âge d'un arbre sans le découper, on doit d'abord mesurer sa circonférence à hauteur de poitrine (CHP) : 1.5 m, puis on calcule le diamètre du tronc.

En utilisant le diamètre, nous pouvons déterminer l'âge approximatif de l'arbre en le multipliant par le facteur de croissance (The Nature Foundation of Will County, 2022).

On calcule le diamètre du tronc de l'arbre selon la règle générale :

$$D = \frac{CHP}{\pi}$$

La circonférence mesurée est **CHP = 69.2 cm**

$$D = \frac{69.2 \text{ cm}}{\pi}$$

$$D = 22.03 \text{ cm}$$

$$\text{Age de l'arbre} = \frac{D}{FC}$$

FC : facteur de croissance

Les augmentations du diamètre à hauteur de poitrine (DHP) des arbres pour l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* est approximativement **1.89 cm/an** (Foroughbakhch *et al.* 2017).

$$\text{Age de l'arbre} = \frac{22.03}{1.89}$$

$$\text{Age de l'arbre} = 11 \text{ ans}$$



Figure : L'arbre échantillon d'*Eucalyptus camaldulensis* (site périurbain de la ville de Tébessa) (Photo personnelle, 2023).

Annexe 02 : Le rendement de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

Tableau : Le rendement de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*

Essai	Poids sec (g)	Volume d'eau (ml)	Poids d'HE (g)	R_{HE} (%)
01	50	500	0.08	0.16
02	50	500	0.11	0.22
03	100	1000	0.39	0.39
04	100	1000	0.52	0.52
Moyenne	75	750	0.28	0.32

Annexe 03 : Matériel utilisé

Le tableau ci-dessous présente le matériel non biologique utilisé dans la partie expérimentale de ce travail.

Tableau : Matériel non biologique utilisé dans la partie expérimentale

Les milieux de culture	Réactifs et produits	Appareillage	Verrerie	Petit matériel
Gélose de Mueller-Hinton (MH)	DMSO : diméthyl sulfoxyde	Appareil d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de type Clevenger.	Eprouvette de 1000 ml	Micropipettes
Bouillon Mueller-Hinton (MHB)	Les colorants de Gram		Flacons en verre.	Tubes Eppendorf
Bouillon nutritif	Ethanol	Agitateur vortex	Pipette Pasteur	Disque de papier Whatman de 06 mm de diamètre
Gélose nutritive ordinaire	Huile à immersion	Etuve de 37°C	Pipettes graduées	Boîtes de pétri de 90 mm de diamètre
Gélose de Chapman (MSA)	Tween 80	Réfrigérateur	Tubes à essais	Pince
	Eau distillée	Microscope optique X100	Béchers	Ecouvillons
		Balance de précision	Lames de microscope	Anse de platine
		Réfrigérateur pour la conservation.		Plaque de microtitration à 96 puits
				Pied à coulisse

Annexe 04 : Composition et préparation des milieux de culture :

- Les milieux solides :

Milieu de culture	Composition	Préparation
Gélose Muller Hinton (MH)	<p>Infusion de viande de bœuf : 300 g/l</p> <p>Hydrolysate de caséine : 17,5 g/l</p> <p>Amidon : 1,5 g/l</p> <p>Agar : 17 g/l</p> <p>pH 7,4 ± 0,2</p>	Prête à l'emploi
Gélose de Chapman (MSA)	<p>Peptone : 10 g/l</p> <p>Extrait de viande de bœuf : 1 g/l</p> <p>Chlorure de sodium : 75 g/l</p> <p>Mannitol : 10 g/l</p> <p>Rouge de phénol : 0,025 g/l</p> <p>Agar : 15g</p> <p>pH=7,5</p>	<p>Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.</p> <p>Mettre 111 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée stérile.</p> <p>Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.</p> <p>Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.</p> <p>Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.</p>
Gélose nutritive (GN)	<p>Extrait de viande de bœuf : 1 g/l</p> <p>Extrait de levure : 2 g/l</p> <p>Peptone : 5 g/l</p> <p>Chlorure de sodium : 5 g/l</p> <p>Agar : 15 g/l</p> <p>pH 7,4 ± 0,2</p>	<p>Mettre en suspension 20 g de milieu déshydraté (BK144) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.</p> <p>Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante.</p> <p>Répartir en tubes ou en flacons.</p> <p>Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.</p>

- **Les milieux liquides :**

Milieu de culture	Composition	Préparation
Bouillon Muller Hinton (MHB)	Infusion de viande : 2,0 g/l Hydrolysate de caséine : 17,5 g/l Amidon de maïs : 1,5 g/l pH final 7,3 ± 0,1 Ca ²⁺ : 20 - 25 mg/L Mg ²⁺ : 10 - 12,5 mg/L	Mélanger 25 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée stérile jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes. Répartir en tubes ou flacons stériles (BioRad).
Bouillon nutritif (BN)	Extrait de viande de bœuf : 1 g/l Extrait de levure : 2 g/l Peptone : 5 g/l Chlorure de sodium : 5 g/l PH 7,4 ± 0,2	Mettre en solution 20,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. Agiter lentement jusqu'à dissolution complète. Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Refroidir le bouillon à température ambiante. (BIOKAR)

Annexe 05 : Examen microscopique par coloration de Gram

1- Prélèvement

- Déposer une goutte d'eau physiologique sur une lame de verre.
- À l'aide d'une anse de platine stérile, prélevez une petite quantité de la culture bactérienne et étalez-la sur la lame de verre pour obtenir un frottis mince et uniforme.
- Laissez sécher à l'air.



Figure : Préparation du frottis (photos personnelles, 2023)

2- Fixation

- Faites passer la lame à travers une flamme pour fixer les bactéries sur la surface de la lame. Assurez-vous de ne pas surchauffer la lame, ce qui pourrait endommager les cellules.

3- Réalisation de la coloration

- Disposer les lames de frottis horizontalement sur un support de lame

Coloration par le cristal violet oxalate (violet de gentiane) :

- 1-Recouvrir la lame avec la solution de cristal violet
- 2-Laisser agir 1 min
- 3-Rincer à l'eau pour enlever toute trace de colorant en excès

Coloration au liquide de lugol stabilisé :

- 1-Rincer avec un jet de solution de lugol pour enlever toute trace d'eau
- 2-Recouvrir la lame avec la solution de lugol
- 3-Laisser agir 1 min

4-Rincez rapidement à l'eau

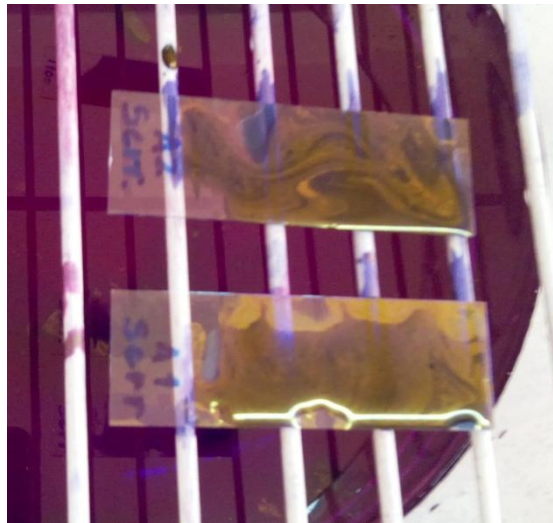


Figure : Application du lugol (photo personnelle, 2023)

Décoloration à l'alcool

-Recouvrir la lame d'alcool 100°

-Attendre 15 secondes

Recoloration à la fuchsine :

1-Recouvrir la lame avec la solution de fuchsine

2-Laisser agir 1 min

3-Rincer à l'eau de robinet pour enlever toute trace de colorant en excès

4-Sécher les lames.

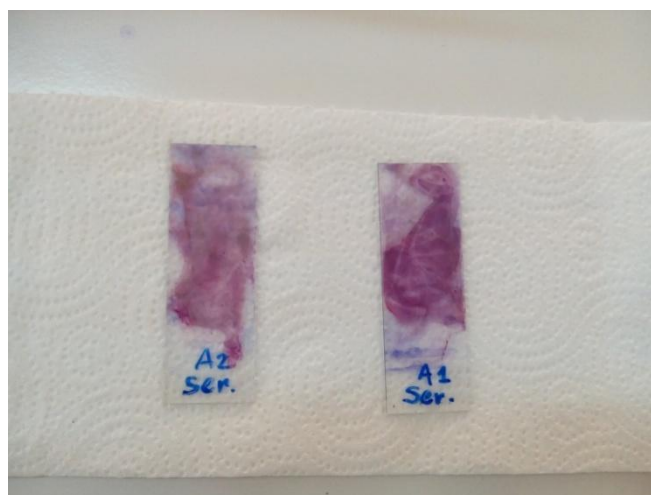


Figure : Séchage des lames (photo personnelle, 2023)

4- Observation microscopique

-Observer à l'objectif x100 avec une goutte d'huile à immersion.

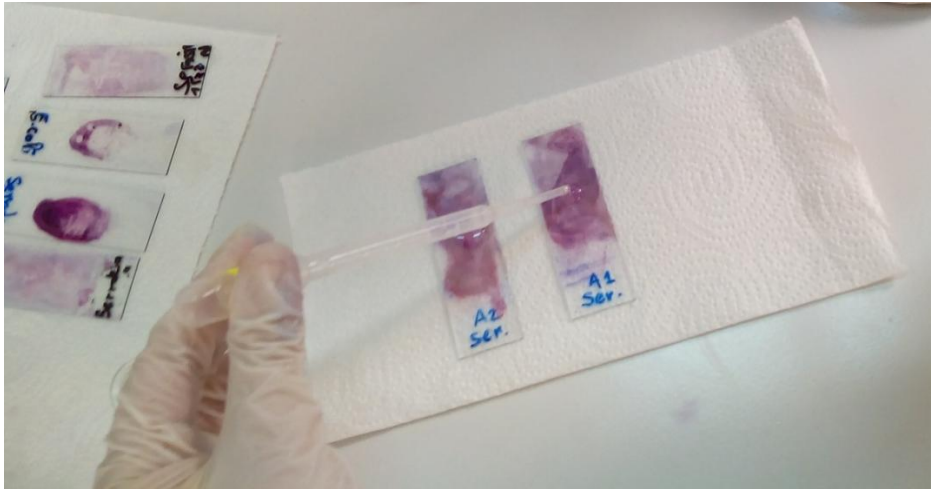


Figure : Application de l'huile à immersion sur les lames(photos personnelles, 2023)

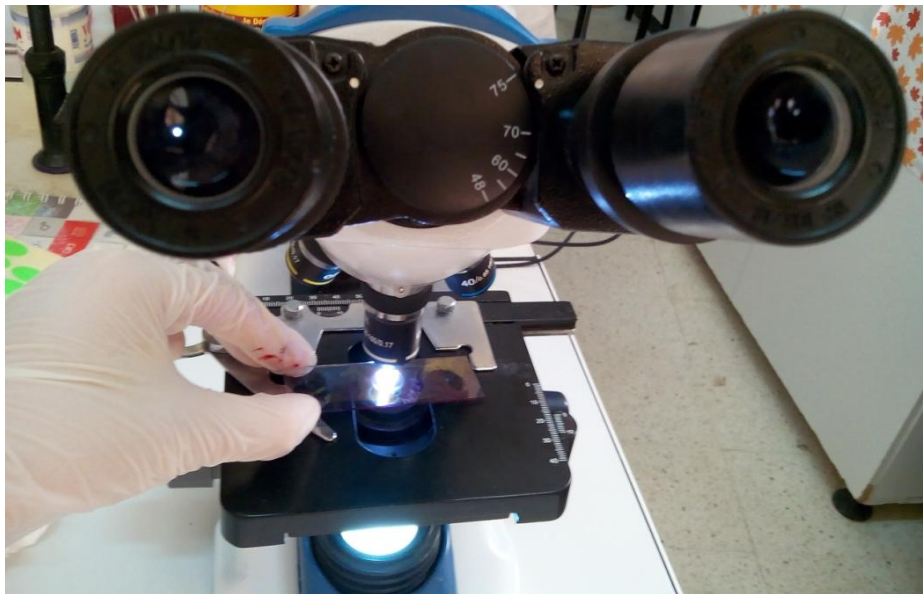


Figure : Mise en place de la lame au microscope optique x100 (photos personnelles, 2023)

Après l'observation : Les bactéries à Gram(-) apparaissent rose et bactéries à Gram (+) violettes

Annexe 06: Caractéristiques des souches bactériennes testées :

1- Souches bactériennes à Gram positif

- *Staphylococcus aureus*

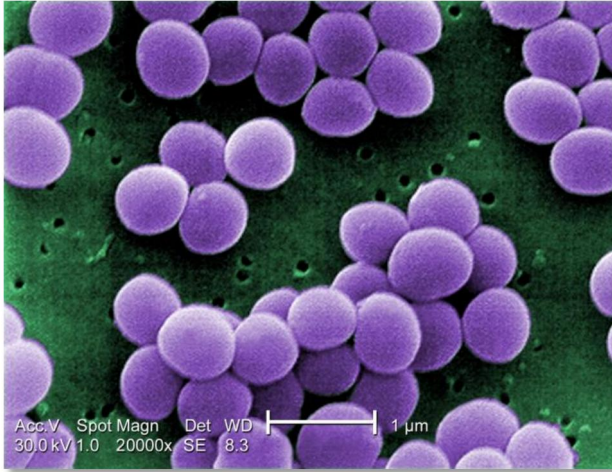


Figure : *Staphylococcus aureus*

observées par microscope électronique à balayage (CDC Public Health Image Library (PHIL), 2021).

Gram : positif (+)

Aspect macroscopique : (sur la gélose au sang) colonies pigmentées (crème /gris / gris-blanc avec une teinte jaunâtre allant du jaune à l'orange), lisse, entière, légèrement surélevée et hémolytique varient entre 1 à 3 mm de diamètre en 24 h (Midireh, 2022).

Aspect microscopique : cocci en grappes de raisin

Lieu de récupération : EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria - Tébessa

- *Staphylococcus epidermidis*

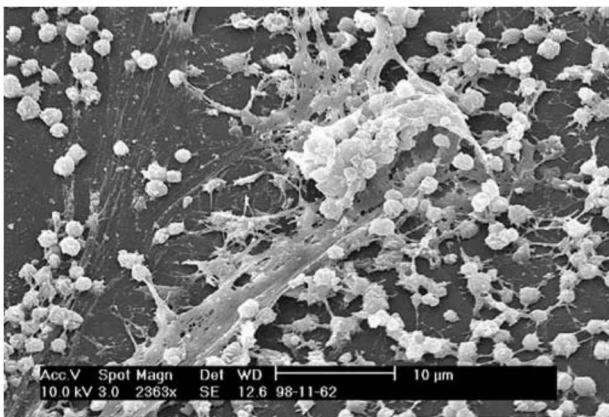


Figure : *Staphylococcus epidermidis*

formant un biofilm observée par microscope électronique à balayage (Donlan, 2001).

Gram : positif (+)

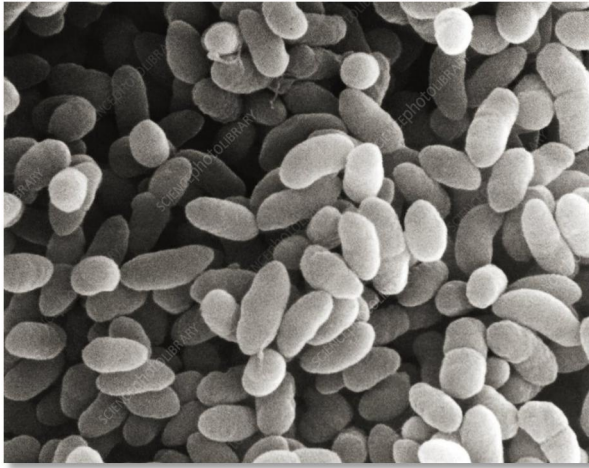
Aspect macroscopique : Les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées, non pigmentées en 18 heures, non hémolytiques sur gélose au sang de mouton. Sur milieu de Chapman, les colonies sont mannitol négatif (Clave, 2019).

Aspect microscopique : cocci en amas, immobiles.

Lieu de récupération : EPH Bouguerra Boulaaras Bekkaria - Tébessa

2- Souches bactériennes à Gram négatif

- *Klebsiella pneumoniae*



Gram : négatif (-)

Aspect macroscopique : L'aspect général des colonies sur gélose nutritive: colonies larges, bombées, très muqueuses, lisses et brillantes (Denis *et al.*2011).

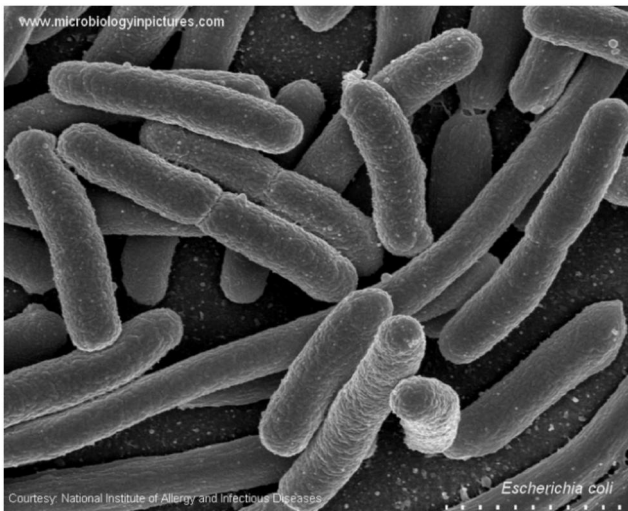
Aspect microscopique : bacilles immobiles.

Lieu de récupération : EPH Bouguerra
Boulaaras Bekkaria - Tébessa

Figure : *klebsiella pneumoniae*

observées par microscope électronique à balayage
(Brain, 2023).

- *Escherichia coli*



Gram : négatif (-)

Aspect macroscopique :

Colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées sur les milieux géloses, elles peuvent être hémolytiques sur gélose au sang.

Aspect microscopique : bacilles le plus souvent mobiles.

Lieu de récupération : Laboratoire d'analyses médicales Hannibal - Tébessa

Figure : *Escherichia coli* observée par microscope électronique à balayage

(National institute of allergy and infectious diseases, 2015).

- *Serratia marcescens*

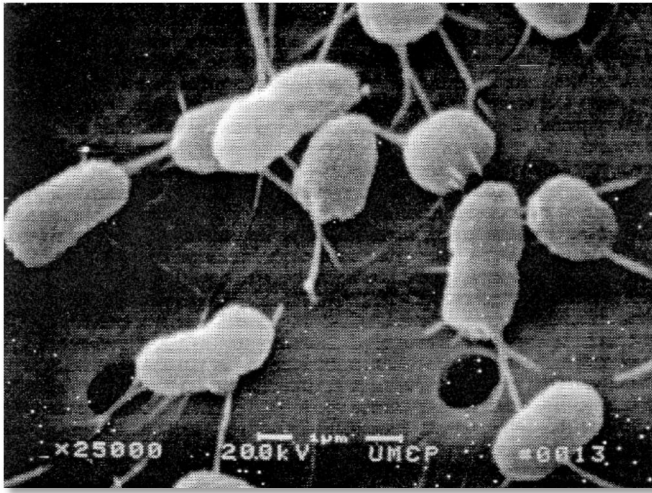


Figure : *Serratia marcescens* observée par microscope électronique à balayage (Hardjito *et al.* 2002).

Gram : négatif (-)

Aspect macroscopique : colonies rondes, bombées, lisses, pigmentées en rose.

Aspect microscopique : bacilles généralement mobiles

Lieu de récupération : Laboratoire d'analyses médicales Hannibal - Tébessa

**Annexe 07 : Lecture des concentrations minimales bactéricides d'HE
d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les souches testées**

Tableau : Lecture des concentrations minimales bactéricides d'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les souches testées

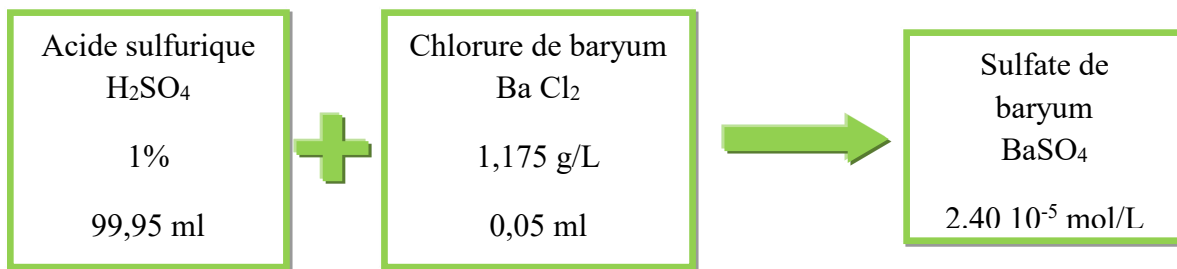
Dilutions	Souches bactériennes				
	<i>E. coli</i>	<i>S. marcescens</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
10 mg/ml	-	-	-	-	-
05 mg/ml	-	-	-	-	-
2.5 mg/ml	-	-	-	+	+
1.25 mg/ml	-	-	-	+	+

Annexe 08 : Standard McFarland

Pour standardiser la turbidité des suspensions bactériennes, on a préparé un standard de McFarland 0,5.

Composition du standard :

Le standard de McFarland 0,5 est préparé en utilisant une solution de sulfate de baryum (BaSO_4) à une concentration de $2.40 \cdot 10^{-5}$ mol/l, préparée à partir d'Acide sulfurique H_2SO_4 et du chlorure de baryum Ba Cl_2 .



Préparation :

1. Préparation de la solution de chlorure de baryum : Dissoudre 1.175 g de chlorure de baryum dans 1L de l'eau distillée pour obtenir la concentration désirée : 1,175 g/L.
2. Préparation de la solution d'acide sulfurique : Diluer de l'acide sulfurique concentré dans de l'eau distillée pour obtenir une solution d'acide sulfurique diluée à 1%.



Préparation de l'acide sulfurique H₂SO₄ sous la haute

3. Combinaison des solutions : Mélanger la solution de chlorure de baryum avec la solution d'acide sulfurique : 0,05 ml de la solution de chlorure de baryum avec 99,95 ml de la solution d'acide sulfurique.
4. Homogénéisation du mélange : bien mélanger les solutions d'acide sulfurique et de chlorure de baryum pour obtenir une homogénéité dans la concentration et la turbidité.
5. Vérification de la turbidité : Utiliser un spectrophotomètre pour mesurer la densité optique du mélange. L'objectif est d'obtenir une densité optique correspondant au standard de McFarland 0,5, qui se situe généralement entre 0,08 et 0,1. Si la densité optique est inférieure au standard, ajustez le mélange en ajoutant plus de solution de chlorure de baryum ou en augmentant la concentration d'acide sulfurique.



Mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 625 nm

Interprétation :

Selon la fiche technique du standard de McFarland du biomérieux :

Le standard de McFarland 0.5 est l'équivalent d'une suspension bactérienne à une concentration de **150 × 10⁶ UFC/ml**.