



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



Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : Biologie Appliquée

## ***MEMOIRE de fin d'étude***

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Option :** Microbiologie appliquée

**Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux  
plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus  
camaldulensis*).**

**Présenté par :**

**Melle : DJEBBARI Hala**

**Melle : BARKI Dhikra**

**Melle : BOUMAAGOUA Selma**

**Devant le jury :**

<b>Dr. BENHADJ Mebrouka</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Dr. DEBABZA Manel</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Présidente</b>
<b>Dr. FENGHOUR Hind</b>	<b>MCB</b>	<b>Université de Tébessa</b>	<b>Promotrice</b>

**Soutenance : 06/06/2021**

*Note :*

*Mention*

**Année universitaire : 2020/2021**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# **Remerciement**

*Nous tenons d'abord à remercier le tout puissant, notre DIEU, le clément et le miséricordieux, de nous avoir donné la clair voyance et la persévérance, pour mener à terme ce travail, prière et salut sur notre prophète MOHAMED.*

*A nos parents et tous nos frères et sœurs de leur soutien et leur grande affection et les grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements à notre professeur et encadreur **Dr. FENGHOUR Hind**, son savoir, son ouverture d'esprit, ses conseils ont marqué à jamais notre pensée.*

*Un grand remerciement aux honorables membres du jury:*

***Dr. DEBABZA Manel** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'il trouve ici toutes nos expressions respectueuses.*

***Dr. BENHADJ Mebrouka** d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.*

*Nos remerciements s'adressent également à ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Avec un énorme bonheur et une extrême joie je dédie ce modeste travail à tous ceux qui j'aime et que j'apprécie énormément leur aide et leur soutien durant ma vie*

*À Mes chers parents qui m'ont accompagné à chaque pas et m'ont donné les encouragements nécessaires avec amour et tendresse.*

*À mes sœurs dhikra et youssra, mon boule de sucre  
Aram mon neveu.*

*À toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines,  
petit et grand, sans exception.*

*À mes précieuses amies d'enfance qu'ont toujours avec  
moi et derrière mon dos et mes amis parcours.*

*À mon cher Encadreur **Dr.fenghourhind** Merci pour  
votre patience, Vos efforts intenses, et votre  
disponibilité permanente.*

*À toute personne que je connais de près ou de loin, à  
toute la promotion Master II Microbiologie Appliquée  
2021*

*Djebbari hata*

# *Dédicace*

*Je remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage pour*

*Pouvoir réaliser ce modeste travail.*

*Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail :*

*A ma mère Sabah*

*Et mon père Moussa*

*Les deux personnes les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance qui m'ont soutenu nuit et jours durant tout mon parcours.*

*Mes très chères sœurs*

*Rayene, Maram*

*Mon très cher frère*

*Ryade Eddine*

*À mon cher Encadreur Dr.Fenghour Hind*

*Tous mes enseignants*

*Tous mes proches*

*Mes amies*

*Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mémoire et surtout notre future docteur Laila Attia.*

*Barki Dhilera*

# ***Dédicace***

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :*

*À ma mère **Fatima** qui m'a encouragée à aller de l'avant et  
qui m'a donné tout son amour, aucune dédicace ne saurait  
exprimer mes sentiments, que dieu te préserve et te procure  
santé et longue vie*

*À la mémoire de mon père **Hafnaoui** qui nous a quittés voilà  
quatre ans, la personne la plus digne de mon estime et de mon  
respect.*

*À mes deux sœurs **Sameh** et **Sourour** , mon frère **Chouaib***

*À mes chères cousines **Basma** et **Rifka***

*À mon cher Encadreur **Dr.Fenghour Hind** pour votre soutien  
et votre présence*

*Une spéciale dédicace a deux personnes qui ont été très  
généreuses avec moi ma chère tante **Sefahi Nour El Houda** et  
notre future doctorante **Laila Attia***

***Selma Boumaagouda***

## Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques est de plus en plus prononcée donc il est évident de trouver des solutions par l'utilisation des molécules bioactives qui sont à base de plantes

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles issues de deux plantes aromatiques locales (*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis*).

L'activité des huiles essentielles testées (*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis*) sur les quatre souches bactériennes testées (*E. feacalis*, *E. coli*, *K.pneumonia*, *S.aureus*) par la technique d'aromatogramme en milieu solide, basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme montre que toutes les huiles essentielles testées, au volume 10ul, ont montré des effets plus ou moins importants sur les quatre souches bactériennes. Par ailleurs, l'huile essentielle de *Eucalyptus camaldulensis* s'avère plus efficace que l'HE de *Rosmarinus officinalis*; avec une activité plus prononcée sur *Staphylococcus aureus*.

Les résultats nous permettent de conclure que l'effet antibactérien d'une huile dépend de leur composition chimique et le type de bactéries testés.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, Huile essentielle, *Eucalyptus camaldulensis*, *Rosmarinus officinalis*, Aromatogramme.

## **Abstract**

The objective of this study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils from two local aromatic plants (*Eucalyptus camaldulensis* and *Rosmarinus officinalis*).

The resistance of bacteria to antibiotics is more and more pronounced so it is obvious to find solutions through the use of bioactive molecules which are based on plants.

Results of the solid medium aromatogram (disk methods) was used to assess the activity of these essential oils(*Eucalyptus camaldulensis* and *Rosmarinus officinalis*)on the bacterial strains(*E. feacalis* ,*E .coli*, *K. pneumoniae*,*S. aureus*).Indeed, all the essential oils tested, at the concentration 10ul, showed more or less important effects on the four bacterial strains. In addition, the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* is found to be the most effective with a more pronounced activity against *Staphylococcus aureus*.

The results allow us to conclude that the antibacterial effect of oil depends on its chemical composition and the type of bacteria tested.

**Keywords:** Antibacterial activity, Essential oil, *Eucalyptus camaldulensis*, *Rosmarinus officinalis*, Aromatogram.

## ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة من نباتين عطريين محليين *Rosmarinus officinalis* و *Eucalyptus camaldulensis*

إن مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية تتجلى أكثر فأكثر ، لذا من المهم إيجاد حلول من خلال استخدام الجزيئات النشطة بيولوجيًا المستخرجة من النباتات..

تم استخدام الرسم العطري للوسط الصلب (طرق الاقراص) لتقييم نشاط هذه الزيوت الأساسية. في الواقع، أظهرت جميع الزيوت الأساسية التي تم اختبارها ، بحجم عشرة ميكروليتر تأثيرات متفاوتة الأهمية على السلالات البكتيرية الأربعة بالإضافة إلى ذلك ، وجد أن الزيت العطري أوكالبتوس كامالدولينسيس هو الأكثر فعالية مع نشاط أكثر وضوحًا على المكورات العنقودية الذهبية.

تسمح لنا النتائج باستنتاج أن التأثير المضاد للبكتيريا للزيت يعتمد على تركيبته الكيميائية ونوع البكتيريا المختبرة

**الكلمات المفتاحية:** النشاط المضاد للبكتيريا ، الزيت العطري ، أوكالبتوس كامالدولينسيس ، روزمارينوس أوفيسيناليس ، أروماتوجرام .

## Liste des abréviations

Abréviation	Détaille
%	Pourcentage.
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation (Recueil des Normes Français : Huiles essentielles).
<b>G</b>	Gram.
<b>G-</b>	Gram négatif.
<b>G+</b>	Gram positif.
<b>HE</b>	Huile essentielle.
<b>MH</b>	Mueller Hinton.
<b>T</b>	Température.
<i>E coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>Klebsiellapneumoniae</i> .
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>E.faecalis</i>	<i>Enterococcusfaecalis</i> .
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde.
<b>Fr</b>	Français.
<b>En</b>	English.
° C	Degré Celsius.
<b>D</b>	Diamètre.
<b>h</b>	Heur.
<b>Min</b>	Minute.
<b>g</b>	Gramme.
<b>Mm</b>	Millimètre.
<b>m</b>	Mètre.
<b>cm</b>	Centimètre.
<b>µl</b>	Micro litre.

<b>ml</b>	Millilitre.
<b>±</b>	plus ou moins.
<b>n°</b>	Numéro.
<b>Dr</b>	Docteur.
<b>RHE</b>	Rendement en huile essentielle.
<b>MHE</b>	Masse d'huiles essentielles récupérées.
<b>HEs</b>	Huiles essentielles.
<b>he</b>	hectare
<b>mm<sup>2</sup></b>	Le millimètre carré
<b>UFC</b>	Unité formant colonie.

## Liste des Figures

Numéro de figure	Titre	Page
<b>Figure 01</b>	L'appareil d'hydrodistillation	<b>11</b>
<b>Figure 02</b>	Partie aériennes de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	<b>15</b>
<b>Figure 03</b>	la région de récolte de <i>Rosmarinus officinalis</i> et <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	<b>15</b>
<b>Figure 04</b>	Partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> après séchage et broyage.	<b>18</b>
<b>Figure 05</b>	Partie aérienne d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> après séchage et broyage.	<b>18</b>
<b>Figure 06</b>	Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type clevenger	<b>20</b>
<b>Figure 07</b>	Préparation de l'inoculum.	<b>21</b>
<b>Figure 08</b>	préparations des disques.	<b>22</b>
<b>Figure 09</b>	Ensemencement sur milieu solide.	<b>23</b>
<b>Figure 10</b>	Rendements en HEs de <i>R officinalis</i> et d' <i>E camaldulensis</i> .	<b>28</b>
<b>Figure 11</b>	Récupération d'huile d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	<b>30</b>
<b>Figure 12</b>	Récupération d'huile de <i>Rosmarinus officinalis</i>	<b>30</b>
<b>Figure 13</b>	Les résultats d'activité antibactérienne d'huile essentielle pure d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> pour les quatre souches bactériennes testées.	<b>34</b>
<b>Figure 14</b>	Les résultats d'activité antibactérienne d'huile essentielle pure de <i>Rosmarinus officinalis</i> pour les quatre souches bactériennes testées.	<b>35</b>
<b>Figure 15</b>	Effet antibactérien des deux huiles essentielles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> au volume 2.5µl sur les souches bactériennes testées.	<b>36</b>
<b>Figure 16</b>	Effet antibactérien des deux huiles essentielles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> au volume 5µl sur les souches bactériennes testées.	<b>36</b>
<b>Figure 17</b>	Effet antibactérien des deux huiles essentielles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> au volume 10µl sur les souches bactériennes testées.	<b>37</b>

## Liste des Tableaux

Numéro de tableau	titre	page
<b>Tableau01</b>	La composition chimique d'huiles essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	09
<b>Tableau 02</b>	La composition chimique d'huiles essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	09
<b>Tableau 03</b>	Origine des plantes médicinales étudiée.	14
<b>Tableau 04</b>	les souches bactériennes utilisées	17
<b>Tableau 05</b>	Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.	24
<b>Tableau 06</b>	Le rendement de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	26
<b>Tableau 07</b>	les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	29
<b>Tableau 08</b>	Diamètres des zones d'inhibitions des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	31

# Sommaire

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction ..... 1

## Partie I : Synthèse Bibliographique

### Chapitre 01 : Présentation des plantes étudiées

1. *Rosmarinus officinalis* ..... 3

1.1. Répartition géographique ..... 3

1.2. Présentation de la plante ..... 3

1.3. Classification ..... 3

1.4. Description botanique des feuilles ..... 4

1.5. Propriétés thérapeutiques ..... 4

2. *Eucalyptus camaldulensis* ..... 4

2.1. Répartition géographique ..... 4

2.2. Présentation de la plante ..... 5

2.3. Classification ..... 5

2.4. Description botanique des feuilles ..... 5

2.5. Propriétés thérapeutiques ..... 6

### Chapitre II: Les huiles essentielles

1. Définition ..... 8

2. Compositions chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de *Rosmarinus officinalis* ..... 8

3. Les Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles ..... 9

4. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles .....	10
5. Conservation des huiles essentielles .....	10
6. Technique d'extraction d'huile essentielle.....	10
7. Activité antibactérienne des huiles essentielles .....	11
8. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries.....	12
9. Toxicité des huiles essentielles .....	12

## **Partie II : matériels et méthodes**

II.1. But de travail.....	14
II.2. Préparation de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	14
II.2.1. Matériel.....	14
II.2.1.1. Matériel végétale .....	14
II.2.1.2. Matériels biologiques .....	16
II.3. Préparation des plantes médicinales étudiées.....	18
II.4. Extraction des huiles essentielles .....	19
II.5. Détermination du rendement en huile essentielle.....	20
II.6. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles .....	21
II.6.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme) .....	21
II.6.1.1. Préparation de l'inoculum et ajustement de la charge bactérienne .....	21
II.6.1.2. Préparation des disques .....	22
II.6.1.3. Ensemencement et Dépôt des disques .....	22
II.6.1.4. Expression des résultats.....	24
II.6.2. Analyse statistique.....	24

## **Partie III: Résultats et discussion**

III.1. Extraction et détermination du rendement des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .....	26
III.1.1. Rendements de deux huiles essentielles <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .....	26
III.1.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .....	29

III.2. Etude l'effet antibacterin des deux huiles essentielles <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> sur les souches bactériennes.....	30
III.2.1.Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles <i>Rosmarinus officinalis</i> et d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .....	30
III.2.2. Étude comparative de l'effet antibactérien des deux huiles essentielles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	36
Conclusion et perspectives .....	40
Références Bibliographique .....	42
Annexes	

# ***Introduction***

## Introduction

---

### Introduction

Le phénomène de la résistance bactérienne aux antibiotiques augmente régulièrement que ce soit en milieu communautaire ou hospitalier et constitue un véritable problème de santé publique. Les bactéries développent, de plus en plus, de la résistance en s'adaptant aux thérapeutiques antibactériennes et de ce fait l'échec de traitement. Environ 90-95% de souches de *Staphylococcus aureus* dans le monde sont résistantes à la pénicilline ce qui rend de plus en plus difficile, voire impossible, de traiter ce pathogène en raison de l'arsenal pharmaceutique et thérapeutique restreint. Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et de revenir à des solutions alternatives, notamment des médecines dites douces, basées sur les propriétés des plantes médicinales notamment des huiles essentielles (Philippon, 2008 ; Shakouri *et al.*, 2010; Oussou *et al.*, 2010 ; Kempf *et al.*, 2011 ; Punpanich *et al.*, 2012). Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires. Pour la même raison, et il est important de souligner que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (Amarti *et al.*, 2008; Mazari *et al.*, 2010 ; Amarti *et al.*, 2010; Rosato *et al.*, 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012). De ce fait, l'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de *Rosmarinus officinalis* contre des souches bactériennes à Gram positive et à Gram négative responsables d'infections et de faire une comparaison entre l'effet antibactérien de ces huiles testées. Notre étude comporte trois parties :

- La première partie englobe une recherche bibliographique sur l'origine des plantes, ses descriptions, ses classifications et ses propriétés thérapeutiques.
- La deuxième partie présente le matériel et méthodes utilisés pour la réalisation de l'extraction des HEs d'*Eucalyptus Camaldulensis* et de *Rosmarinus officinalis* et ses activités antibactériennes.
- La troisième partie abordera les différents résultats obtenus et leurs discussions.

Enfin, nous avons terminé par une conclusion générale avec quelques perspectives.

***Partie J : Synthèse  
Bibliographique***

## 1. *Rosmarinus officinalis*

### 1.1. Répartition géographique

L'aire géographique du romarin spontané est spécifiquement méditerranéenne, il est très exigeant en lumière et en chaleur, et résistant à la sécheresse. C'est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de cette région. Il est cultivé dans le monde entier plus particulièrement dans les régions tempérées (Boullard, 2001 ; McVicar, 2009 ; Larousse, 2013).

### 1.2. Présentation de la plante

#### Famille

La famille des Lamiacée ou Labiée une famille très importante dans la flore d'Algérie, comprenant environ 4000 espèces et 210 genres. Cette famille comporte de nombreuses plantes exploitées pour les essences ou cultivées pour le but de l'ornementation et utilisées dans la médecine traditionnelle que dans la médecine moderne (Escuder, 2007).

#### Espèce

Il existe plusieurs espèces, tous sont remarquables par leur odeur forte et aromatique. Le *Rosmarinus officinalis* est un arbrisseau vertes cultivé dans un endroit ensoleillé, de préférence dans un sol calcaire. Cette plante apprécie les climats chauds mais supporte assez bien les gelées. Il est conseillé de tailler légèrement le romarin au printemps pour lui donner la forme désirée (Escuder, 2007).

### 1.3. Classification

La classification de *Rosmarinus officinalis* selon (Quezel et Santa, 1963) :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Tubiflorales
- Sous ordre : Lamiales
- Familles : Lamiaceae

- Genre : *Rosmarinus*
- Espèce : *Rosmarinus officinalis*
- Noms locaux :(ou vernaculaires arabes):Iklilaljabal, Hatssalouban, Hassalban et Kليل الجبل
- Noms targui (ou berberes) : Lazir, Azir, Ouzbir et Touzala.

#### 1.4. Description botanique des feuilles

Le *Rosmarinus officinalis* est un arbrisseau vert dans tous les saisons de 0,5 à 2 m. Les feuilles sont sessiles, opposées et coriaces, enroulées sur les bords, étroitement lancéolées linéaires (Trujano *et al.*, 2007 ; Bekkara *et al.*, 2007).

#### 1.5. Propriétés thérapeutiques

Les recherches récentes dans les domaines pharmaceutiques s'agissent sur Les propriétés du romarin. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et anti-spasmodiques et d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne comme toutes les plantes aromatiques et médicinales (Gonzalez *et al.*, 2007).

Le romarin a fait partie des plante qui est utilisée en médecine en raison de ses différentes propriétés thérapeutiques. Il a des propriétés anti-mutagéniques, chémopréventives, anti-métastatiques. On le recommande tant qu'analgésique, antiépileptique. Et pour traiter l'ictère et sa fumée a été employée contre la peste.

En raison de leur teneur en HE le romarin est connu en médecine traditionnelle, Il est utilisé en cas de troubles digestifs, en peut le utilisée pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (Ibañez *et al.*, 2000 ; Heinrich *et al.*, 2006 ; Cheung et Tai, 2007 ; Soyalet *al.* 2007).

## 2. *Eucalyptus camaldulensis*

### 2.1. Répartition géographique

L'Eucalyptus est originaire de l'Australie. L'*Eucalyptus camaldulensis* est l'une des espèces les plus cultivées dans le monde et dans le bassin méditerrané. Il a été introduite à l'Algérie en 1857 pour assainir les terrains marécageux. Il a été planté sur 30000 ha (Oyen et Lemmens, 2002).

## 2.2. Présentation de la plante

- **Famille**

La Famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3800 espèces réparties en 133 genres (Oldrichet *al.*, 2005).

- **Espèce**

Le genre *Eucalyptus* compte environ 600 à 700 espèces. L'*eucalyptus* est l'arbre exotique le plus répandu en Algérie. Il est une espèce très cultivée prit rapidement une grande extension en Algérie entre 1860 et 1870 (Warot, 2006 ; Daroui, 2012).

## 2.3. Classification

La Classification d'*Eucalyptus camaldulensis* selon(Guignard, 2001) :

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicote
- Sous-classe : rosides
- Ordre : myrtales
- Familles :Myrtaceae
- Genre : *Eucalyptus*
- Espèce : *camaldulensis*
- Noms vernaculaires :

الكينا شجرة الكاليتوس

Eucalyptus rouge, gommier rouge (Fr).

River red gum, Murray red gum, red gum (En).

## 2.4. Description botanique des feuilles

Les feuilles de jeunesse sont opposées sur trois ou quatre paires, avec d'autres alternées. Elles ont un pétiole, sont lancéolées et mesurent de 2 à 4 cm sur 6 à 12 cm. De couleur est verte, légèrement glauque. Les feuilles adultes sont pétiolées, alternées. La couleur verte est

identique pour les deux faces. Elles sont lancéolées, étroites, en forme de faux (falciforme), de 7 à 22 cm sur 0.4 à 4 cm (Goetz et Ghedira, 2012).

## **2.5. Propriétés thérapeutiques**

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'*Eucalyptus*, soulager la fièvre et les symptômes de l'asthme, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires, de la gorge ou des muqueuses de la bouche (voie interne) ainsi que pour soulager les douleurs rhumatismales (voie externe). L'HE d'*Eucalyptus* est un traitement traditionnel pour éloigner les insectes piqueurs .Au cours d'une étude croisée menée en Suède, un insectifuge a réduit de moitié les morsures de tiques (*Ixodes ricinus*). Certain pays utilisent ces l'HE pour désinfecter les cathéters urinaux dans les hôpitaux (Baudoux, 2001 ; Tesche et Metternich,2008).De nos jours, nombreux pays ont intégré les usages médicaux des feuilles d'*Eucalyptus* dans leur pharmacopée ; plusieurs préparations pharmaceutiques destinées aux diverses affections des voies respiratoires .elle entre dans la fabrication de rince-bouche et de dentifrices et les produits et les solvants endodontiques utilisés en dentisterie (Goldestein et Epstein, 2000).

**Chapitre JJ**

**Les huiles**

**essentielles**

## 1. Définition

Les HEs sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatiles et odorants amenant à la plante une odeur caractéristique et jouent un rôle de protection contre les excès de lumière, Leurs volatilité les oppose aux huiles fixes Les HEs n'ont de commun avec les huiles fixes ou végétales que dans leur aspect physique et leur comportement apolaire. À l'inverse des huiles fixes, les HEs sont volatiles et solubles dans les solvants organiques polaires (**Iserinet al., 2001 ; Kalemba, 2003 ; El Abed, 2003 ; Bastien, 2008**).

Les HEs n'ont pas une présence générale chez tous les végétaux, seulement 1% des espèces produit ces essences, sous forme de très petites gouttelettes d'huile stockées dans diverses parties de la plante, obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits. Chaque huile possède sa propre personnalité aromatique, son caractère et son énergie subtile (**Shirner, 2004 ; Burt, 2004 ; Shirner, 2004 ; Mohammedi, 2006**).

## 2. Compositions chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de *Rosmarinus officinalis*

L'HEs constitués des molécules à noyau aromatique composés d'environ 90 % de terpènes, ces extraits ne sont pas des lipides et ne contenant aucun acide gras, ni aucun autres corps gras mais contiennent en moyenne 20 à 60 composés peu complexes, contenant plusieurs familles biochimiques incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpinols, les cétones, les aldéhydes,...etc.(**Iserinet al., 2001 ; Bastien, 2008**). Le teneur en HEs dans le *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis* varie en fonction de plusieurs facteurs. Plus de 50 composants rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle. Les principaux sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

**Tableau 01** : La composition chimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*(Faraget *al.*, 1989)

Composé	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Camphre	15-25 %
1,8Cinéol	15-50%
Pinène	19.6 %
Limonène	3.6%
Bornéol libre et estérifié	10.0 %

**Tableau 02** :La composition chimique d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis*(Kara et Saidii ,2016)

Composé	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>
Alpha pinène	0.35%
β-pinène	0.15%
a.phelladrene	0.66%
1.8Cinéole	2.23%
Gamma Terpinène	0.29%
Linalol	0.81%
Terpène-4-ol	5.18%
Alpha Terpinéol	2.68%

### 3. Les Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les HEs contiennent des constituants différents et partagent un certain nombre de propriétés physicochimiques, les plus importantes sont les suivantes :

- Liquide à température ordinaire.
- Volatile et très rarement coloré (incolores ou jaune pâle), d'odeurs très fortes.
- Altérable et sensible à l'oxydation il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Bayala, 2014**).

#### **4. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles**

Une huile essentielle présente une variabilité importante au niveau de leur composition et rendement, des facteurs intrinsèques et d'autres extrinsèques s'expliquent cette variabilité. Selon les parties sélectionnées d'une même plante on peut obtenir une différence de composition des HEs par ce que les cellules productrices pouvant se situer dans différents organes. C'est le premier facteur intrinsèque. Le deuxième c'est le stade végétatif au moment de la récolte. Les facteurs extrinsèques sont l'origine géographique, le stockage de la matière première, La méthode d'extraction, et le temps de stockage après l'extraction qui modifient la composition de ces huiles. (Fantino, 1990; Maffei. Sacco, 1997 ; Carett, 2000).

#### **5. Conservation des huiles essentielles**

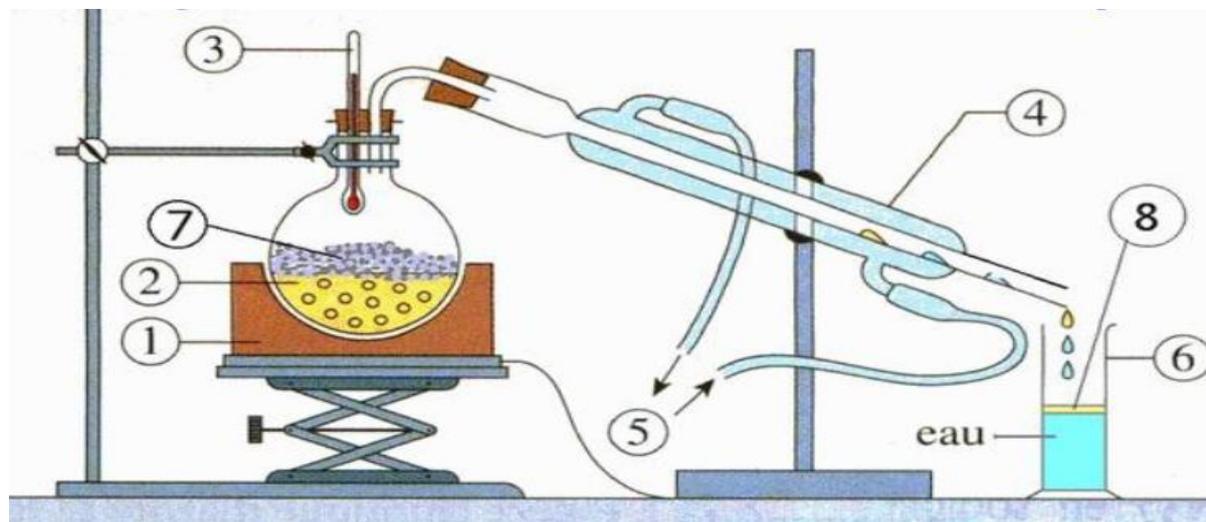
Après extraction, l'HE devrait simplement être décantée. Elle ne doit pas être soumise à aucun traitement chimique ou physique pouvant entraîner une modification importante de sa composition naturelle. Les flacons doivent être en acier inoxydable, en aluminium ou en verres colorés (bleus ou bruns), avec des bouchons inertes (pas de liège). Elles sont conservées à température de 04°C. La durée de conservation d'une HE est de 12 à 18 mois, à une température maximale de 25°C. Ces flacons rangés à l'abri de la chaleur, de l'air et de la lumière ; la polymérisation et l'oxydation sont évitées au maximum. (Raynaud et Blanchet, 2006 ; Faucon, 2012).

#### **6. Technique d'extraction d'huile essentielle**

##### **Hydrodistillation**

L'hydrodistillation c'est la méthode normée pour l'extraction d'une HE. Il s'agit le procédé le plus couramment employé pour l'extraction et elle est considérée comme étant la plus simple et la plus anciennement utilisée. Cette technique consiste à mettre directement le matériel végétal à traiter qu'il soit intact ou broyé dans un alambic (ballon) rempli d'eau, Le tout est ensuite porté à ébullition, à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. Ensuite les molécules volatiles et l'eau distillent simultanément par ce que la chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération de ces molécules qui forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique « eau + HE ». Ce mélange est ensuite envoyé dans un compartiment pour y refroidir passant par un réfrigérant à eau où Les vapeurs hétérogènes sont condensées et l'HEs se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (l'HEs est

plus légère que l'eau) dans le quelle surnage au-dessus de l'hydrolat, a fin de ce récupérée dans un récipient (Lucchesi, 2005 ; Fasty, 2007).



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

**Figure 01:** l'appareil d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

## 7. Activité antibactérienne des huiles essentielles

La première mise en évidence de l'action antibactérienne des HEs a été réalisée par Delacroix en 1881. Depuis, de nombreuses huiles ont été déterminées comme antibactériennes. Avec un spectre d'action très étendu, car elles agissent contre un grand nombre de bactéries (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004). Cette activité variable d'une souche bactérienne à l'autre et d'une huile essentielle à l'autre, elle peut être bactéricide ou bactériostatique (L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide). Les HEs agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif qui reconnue comme la moins sensible grâce a la nature de la paroi cellulaire. Ce paroi contient une membrane externe supplémentaire qui confère une protection, au contraire les bactéries Gram positif possèdent que le peptidoglycane malgré que ce dernier est plus épais (Burt, 2004 ; Oussouet *al.*, 2009 ; Gabriel *et al.*, 2013).

## 8. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries

Jusqu'à présent Le mode d'action des HEs sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé et il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée précise sur cette activité qui est principalement liée au type et des caractéristiques des composants volatils complexe, cette complexité nous expliquer que ce mode d'action est assez difficile à cerner du point de vue moléculaire. (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004 ; Guinoiseau, 2010).L'activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire ; Les molécules lipophiles des HEs sont capables de pénétrer et accumuler dans la double couche phospholipidique. L'accumulation entraîne un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire et donc perturbant ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Les HEs peuvent provoquer une perturbation dans le gradient ionique de la membrane cytoplasmique, bloquant la production de l'énergie cellulaire et diminuant la stabilité membranaire. Les groupements fonctionnels de certains composés des HEs réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique. Certain composés inhiber la décarboxylation des acides aminés et d'autre inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. Certain composés phénoliques de bas poids moléculaires peuvent adhérer aux cellules par fixation aux protéines et lipopolysaccharides membranaires et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman, 2000 ; Carson, 2002 ; Ultee *et al.*, 2002 ;Carson, 2002 ; Burt, 2004 ; Giordani *et al.*, 2008).

## 9. Toxicité des huiles essentielles

Le surdosage, qu'il soit intentionnel ou non, est l'un des cas les plus courants d'intoxication d'HEs. Les jeunes enfants sont les plus sensibles à ce risque. Chez les adultes, l'empoisonnement peut être volontaire, par exemple lors de tentatives de suicide. Il y a un exemple à l'appui: une jeune femme de 18 ans est décédée d'une insuffisance hépatique 6 jours après avoir absorbé 30 ml d'HE du menthol. Aussi le grand nombre de molécules qui composent l'HE a un potentiel sensibilisant, ce qui signifie que le risque d'allergies ne doit pas être sous-estimé. Les allergies aux HE s'expriment principalement sur la peau. Il ne faut pas oublier Par mesure de précaution, les femmes enceintes ne doivent utiliser aucun HE pendant le premier trimestre de la grossesse. C'est le moment de l'embryogenèse et de l'organogenèse, il est donc crucial de ne pas interférer avec ce stade de la grossesse (Baudoux, 2001;Festy, 2008 ; Uteret *et al.*, 2010 ;Staub et Bayer, 2013 ;Faucon et Lobstein, 2015).

***Partie II:  
matériels et  
méthodes***

## II.1. But de travail

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein du laboratoire de microbiologie du département de Biologie appliquée de la faculté des sciences exacte et science de la nature et de la vie, de l'Université Larbi Tebessi de Tébessa pendant une durée d'un mois et 15 jours (février jusqu'au 15 Mars) de l'année universitaire 2021. L'étude consiste à évaluer et comparer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux plantes médicinales le *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis* sur quatre souches bactériennes. Les souches ont été fournies par le laboratoire d'analyses médicales privé Dr Ziadi et le laboratoire El Amal situé dans la ville de Tébessa.

## II.2. Préparation de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis*

### II.2.1. Matériel

#### II.2.1.1. Matériel végétale

Les deux espèces végétales étudiées pour ce travail ont été rassemblées de différents endroits dans leur habitat naturel selon le (tableau 01) de la région de Tébessa sous leurs formes fraîches. La récolte des plantes au lieu durant le moins de février 2021. Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* ont été collectées l'après-midi, sur des arbustes d'apparence saine, et la récolte d'*Eucalyptus camaldulensis* elle concerne seulement la partie aérienne de l'arbre adulte, choisis au hasard.

**Tableau 03** : Origine des plantes médicinales étudiées

Plante	Origine de récolte
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Au niveau des montagnes de la commune de Bekkaria Wilayade Tébessa
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Au niveau de la région de Bekkaria Wilaya de Tébessa



**Figure 02:** Partie aériennes de *Rosmarinus officinalis*(photo personnelle ,2021)



**Figure03 :** La région de récolte de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis* (photos personnelles, 2021)

### II.2.1.2. Matériels biologiques

- **Microorganismes étudiés**

Pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, nous avons utilisé quatre souches bactériennes pathogènes (deux à Gram négatives et deux à Gram positives)(**tableau 04**) ; *Staphylococcus aureus* dans leur milieu sélectif Chapman, *Klebsiella pneumoniae* sur un chromagar, *Escherichia coli* sur le milieu MH, *Enterococcus faecalis* sur un chromagar. Elles proviennent d'un laboratoire d'analyses médicales privé du Dr Ziadi et le laboratoire El Amal situé à la ville de Tébessa proviennent de différentes infections, elles sont repiquées sur gélose nutritive favorable à leur croissance. Leurs caractéristiques sont données dans le tableau suivant après coloration de Gram (**annexe 2**). Les milieux de cultures, les réactifs et l'appareillage et les produits chimiques utilisés dans les différentes étapes dans la partie expérimentale sont reportés dans (**annexe 01**).

Tableau 04 : description Les souches bactériennes utilisées

Nom de la souche	Famille	Forme	Gram	Lieu de récupération
<i>Enterococcus faecalis</i>	Enterococcaceae	coque	Positif	laboratoire d'analyses médicales privé du Dr Ziadi-Tébessa
<i>Staphylococcus aureus</i>	Stahylococcaceae	coque	Positif	laboratoire d'analyses médicales privé du Dr Ziadi Tébessa
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	bacille	Négatif	laboratoire d'analyses médicales privé El Amal Tébessa
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Enterobacteriaceae	bacille	Négatif	laboratoire d'analyses médicales privé du Dr Ziadi Tébessa

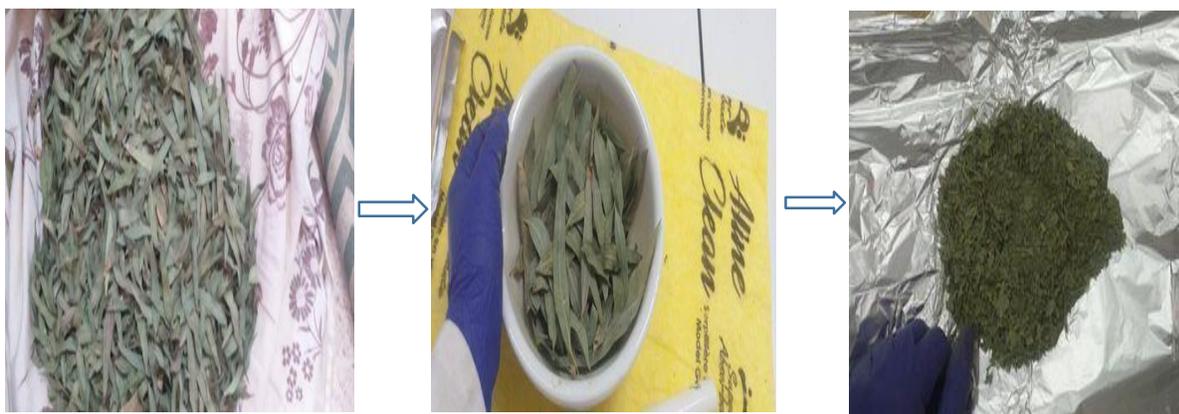
### II.3. Préparation des plantes médicinales étudiées

La matière végétale, cueillie, a été nettoyée, séchée à l'air libre et à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant (10 jours) et sont conservés dans des sacs propres pour éliminer toutes impuretés puis transportées au laboratoire de biologie afin de commencer les procédés d'extraction. Les deux plantes sont broyées manuellement à l'aide d'un mortier.



**Figure 04:** Partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* après séchage et broyage

(Photos personnelles ,2021).



**Figure05 :** Partie aérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* après séchage et

broyage. (Photos personnelles,2021).

## II.4.Extraction des huiles essentielles

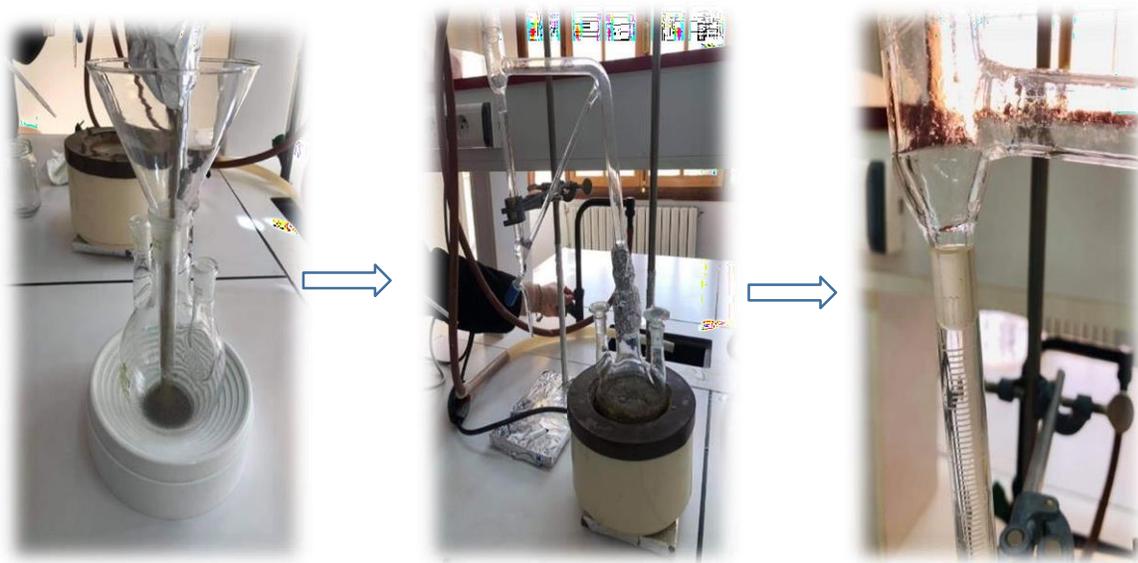
L'extraction des HES à été réalisée au laboratoire pédagogique du département des sciences biologiques à l'université de Tébessa par la méthode d'hydrodistillation.

- **Principe**

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utilisée (Mebarki,2010;Abdelli,2017).Le principe consiste à faire bouillir le mélange d'eau et de plantes pour lequel l'huile essentielle est souhaité extraire, les cellules végétales s'éclatent et libèrent des molécules odorantes, qui sont ensuite emportées par la vapeur d'eau générée ils passent dans un refroidisseur d'eau, où ils se condensent, qui sont ensuite collectés dans une récipient.

- **Mode opératoire**

L'extraction des HES de partie aérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalisa* été effectuée à l'aide d'un dispositif de type clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été rincé avec de l'acétone et l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil pour éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction puis on a introduit 50g de matériel végétal dans un ballon de 1L contenant 500 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 2 h 30 min à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'HE, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité (Figure 06).Après extraction et la récupération, le volume de l'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre stérile. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur jusqu'à son usage pour les tests biologiques.



**Figure 06:** Dispositif d'extraction des HEs de type clevenger (photospersonnelles,2021).

- **Conservation de deux huiles essentielles obtenues**

Elles sont conservées dans un flacon en verre à température comprise entre 4 et 6 °C pour éviter toute dégradation des H.E due à l'action de l'air et de la lumière (Salemkour et Rahaoui,2019).

## II.5. Détermination du rendement en huile essentielle:

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter {sèche}, Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$\text{RHE}\% = (\text{MHE}/\text{Ms}) \cdot 100$$

**RHE:** Rendement en huile essentielle en(g) pour 100g de la matière sèche

**MHE:** Masse d'huile essentielle récupérée (g)

**Ms:** Prise d'essai du matériel végétal(g). (AFNOR,1986)

## II.6. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

### II.6.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre des espèces bactériennes (Mehani, 2015).

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne de l'huile d'*Eucalyptus camaldulensis* et de l'huile de *Rosmarinus officinalis* en présence des germes testés. Des disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité de deux huiles et disposés sur une gélose inoculée avec les souches bactériennes. La diffusion de l'huile dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition.

#### II.6.1.1. Préparation de l'inoculum et ajustement de la charge bactérienne

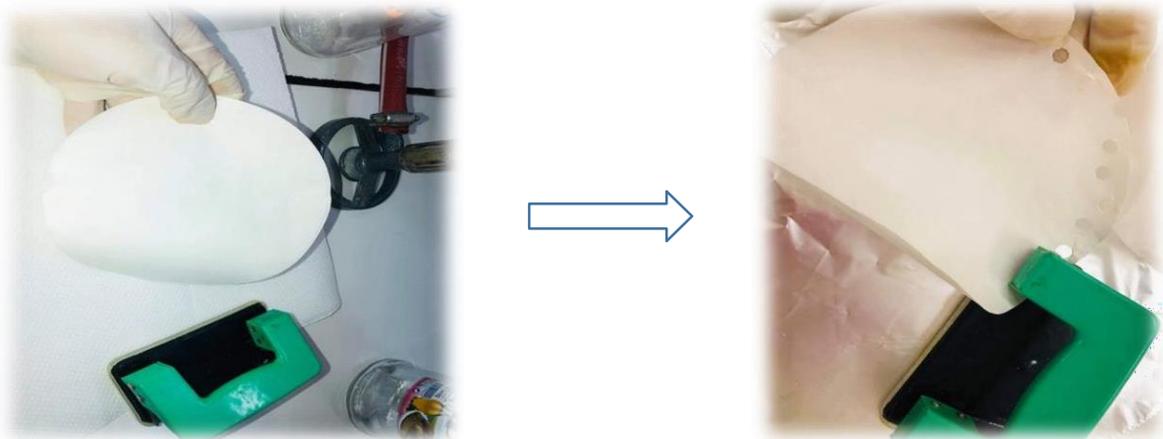
Une suspension microbienne de densité équivalente au standard 0,5 de MacFarland ( $1,5 \times 10^8$  puissance 8 UFC/ml) pour les bactéries est préparée, nous avons raclé à l'aide d'une pipette pasteur scellée 4 colonies bien isolées et parfaitement identiques. Ensuite, nous avons déchargé la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile et nous avons homogénéisé cette dernière (Annexe 03).



Figure 07: Préparation de l'inoculum (photos personnelles, 2021).

### II.6.1.2. 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 ont placé dans l'autoclave pendant 20 minutes à 120 °C pour éviter tous risques de contamination au germe exogène au cours de l'expérimentation.

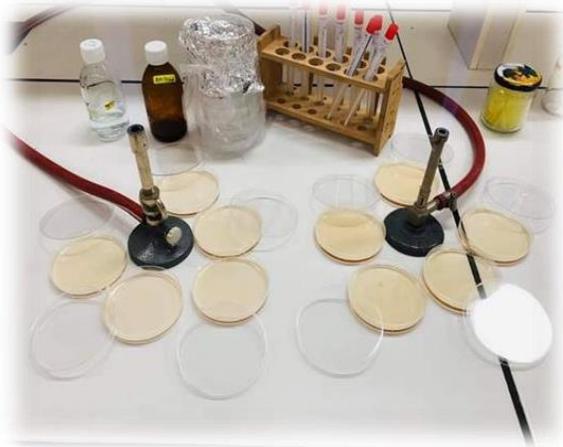


**Figure 08:** Préparations des disques (photos personnelles,2021).

### II.6.1.3. Ensemencement et Dépôt des disques :

La gélose de Mueller Hinton stérile est coulé dans des boites de pétri puis laissées refroidir. L'inoculum bactérien, ajusté à 0.5 Mc Farland est frotté sur la totalité de la surface de MH, nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne .Puis on l'essorer sur les bords, et on fait froter l'écouvillon sur la surface de la boite de haute en bas, en stries serrées. L'opération doit se faire deux fois en tournant la boite de Pétri d'un ongle de 60° à chaque fois. Les boites ainsiensemencées ont été mises à sécher pendant 20min à température ambiante.

A l'aide d'une pince stérile , nous avons préparé pour chaque souche bactérienne3disques stériles de papier Whatman n° 1 de 6 mm de diamètre sont imbibés de 2.5 µl d'HE et un second avec 5 µl et un troisième avec 10 µl ont été déposés à la surface des boites de pétrieensemencées par les souches à tester en les appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile, les boites sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30mn et mise à l'étuve à une température de 37°C pendant24heures.



1-La gélose de Mueller Hinton stérile est coulé dans des boites de pétri (photo personnelle ,2021)



2-préparation des matériels nécessaires (photo personnelle ,2021)



3- Faire tremper l'écouvillon dans une suspension bactérienne et l'essorer sur les bords, (photo personnelle, 2021)



4Faire froter l'écouvillon sur la surface de la boite contenant la gélose MH (Photo personnelle, 2021)

**Figure09** : Ensemencement sur milieu solide (photos personnelles,2021).

### II.6.1.4. Expression des résultats :

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 exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition (**tableau03**)

**Tableau05** : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (**Ponce A.G ; FritzR ; DelvalleC.et Roura S.I, 2003**).

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

### II.6.2. Analyse statistique

Pour réaliser une étude comparative de l'effet de deux HE sur les souches bactériennes nous avons utilisé le logiciel statistique Graph Pad Prism7.

***Partie III:***  
***Résultats et***  
***discussion***

### III.1. Extraction et détermination du rendement des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*

L'hydrodistillation de la partie aérienne de chaque plante médicinale a été réalisée avec le dispositif de clevenger, au mois de février. Nous avons effectué plusieurs hydrodistillations afin d'obtenir une quantité suffisante de l'huile. Selon (AFNOR, 2000), les HEs sont habituellement liquides à la température ambiante et volatile. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité en général inférieure à celle de l'eau. Après avoir suivi toutes les étapes décrites dans le protocole expérimental on est parvenu aux résultats suivants :

#### III.1.1. Rendements de deux huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*

Les valeurs des rendements des deux HEs *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis* sont rapportées dans le tableau 06 :

**Tableau 06:** Le rendement de l'HE de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Les plantes médicinales	Nombres d'extractions	Durée de distillation (h)	Matière Végétal (g)	Eau distillée (ml)	Poids d'H.E (g)	Rendement (%)	Moyenne± l'écart type
<i>Rosmarinus officinalis</i>	01	2h	50	500	1.11	2.22	<b>1.66 ±0.56</b>
	02		50	500	0.55	1.11	
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	01		50	500	0.48	0.96	<b>0.98±0.017</b>
	02		50	500	0.49	0.99	

- **Rendements de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis***

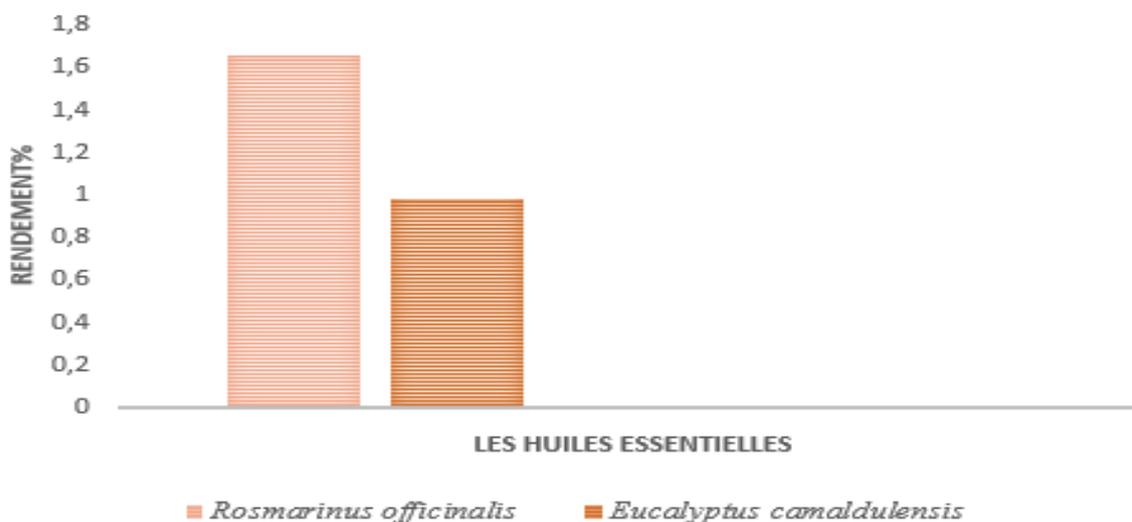
La moyenne de rendement de deux extractions a été calculée en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante (les feuilles). Les échantillons locaux de *Rosmarinus officinalis* ont fourni un taux relativement moyen d'environ **(1,66%)**. La comparaison de nos résultats avec d'autres travaux sur la même espèce et qui ont utilisé la même méthode d'extraction, nous a amené à dire que notre résultat est presque similaire à celui de **(Boutabia et al., 2016) (1,60%)** ; inférieur à celui rapporté par **(Fechtalet al., 2001) (2,5%)** et **(Ayadi, 2011)(1,85%)** , et il est supérieur à celui cité par **(Tahire,2018) (0,4%)** et **(Biljana et al., 2007)(1,18%)**.Le rendement en HE peut varier selon la méthode d'extraction, Une étude réalisée par **(EL Kamliet al., 2017)** sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis* qui soumises à l'extraction par les trois techniques de distillation, l'étude est révélé des différentes rendements en HE **2.25%, 2.14% et 2.41%**.

D'un autre côté, le rendement en HE varier selon la région d'étude ; **(Boutabia et al., 2016)** sont réalisés une étude dans trois stations de la wilaya de Tébessa (Youkous, Draa Hammam et Ammacha) qui est permis d'avoir un rendement comprise entre **(1.60% et 2.29%)**et notre rendement obtenu fait parti de ce intervalle.

- **Rendement de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis***

Le résultat du rendement de deux extractions des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* locaux est d'environ **(0,98%)**. Ce dernier est proche de celui cité par **(Mehani, 2015)** qui a trouvé **(0 ,99 %)**, inférieur à celui cité par **(Siramonet al.,2008)** qui trouvé un rendement de **(2,23%)**, et il est supérieur à celui cité par **(Salemkour et Rahaoui, 2019)** qui ont enregistré un rendement de **(0,6 %)**.**(Sefidkonet al.,2009)** ont révélé une teneur en HE obtenu au cours de notre extraction et comprise entre **(1,07 % et 2,13%)** pour la même espèce, et ils ont signalé que le rendement en HE d'*Eucalyptus* diffère selon la période de collecte et selon la région.**(Tsiriet al.,2003)** ont trouvé que le rendement en HE d'*Eucalyptus camaldulensis* variait au cours de l'année. Les rendements les plus élevés ont été obtenus pendant les mois chauds de l'été avec des valeurs qui dépassent **(2.7%)**, et les rendements les plus faibles ont été enregistrés pendant l'hiver (Février) avec une valeur moyenne inférieure à **(1.2%)**.

Les valeurs représentant la moyenne des rendements en HEs de deux plantes étudiées varient de **0,98 à 1.66%**, et le rendement de feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont les plus élevés (Figure 10).



**Figure 10** : Rendements en HEs de *R officinalis* et d'*E camaldulensis*.

En générale, cette diversification entre les différents résultats est due aux plusieurs facteurs. Cependant, plus de la région géographiques et le pays de la plante, la période et la saison de collecte, la méthode d'extraction au laboratoire (nous avons remarqué des résidus de l'HE au niveau du réfrigèrent qui correspond à des pertes); Il faut noter que le rendement en HE dépend d'autre facteur tels que la maturation et l'origine de la plante (**Sidi (Boulouar et Ziane, 2003)**). Il est également varie selon les espèces et le génotype de la plantes, les organes, le degré les conditions, la température de séchage et la présence des mauvaises herbes (**Ghasemian, 2019**). La nature du sol, la qualité de la matière végétale utilisée peuvent aussi influencer le rendement (**Akroutet al., 2010**). Ainsi, (**Williams et Lusunzi, 1994**), a démontré que la composition en HE, extraite par hydrodistillation, peut être influencée par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés son peu solubles dans l'eau.

### III.1.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*

Parmi les paramètres qui permettent d'évaluer la qualité d'une HE sont leurs caractères organoleptiques (couleur, odeur et apparence)

**Tableau 07** : les propriétés organoleptique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Les HEs	Caractéristiques organoleptiques	Normes (AFNOR,2000)	Les HEs extrait
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Aspect	Liquide mobile Limpide	Liquide, mobile
	Couleur	Presque incolore à Jaune pale	Jaune pale
	Caractéristiques	Caractéristique fraîche plus ou moins camphrée de l'origine	Fraiche camphrée
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile
	Couleur	Presque incolore à jaune pâle	Jaune foncé
	Caractéristiques	fraîche, plus ou moins Eucalyptolée selon l'origine	Fraîche Eucalyptolée

Les paramètres organoleptiques de l'HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les Normes (AFNOR, 2000).



**Figure 11:**Récupération d'huile d'Eucalyptus *camaldulensis* (photo personnelle, 2021)



**Figure 12:**Récupération d'huile de *Rosmarinus officinalis* (Photo personnelle, 2021)

### III.2. Etude l'effet antibactérien des deux huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les souches bactériennes

La méthode de diffusion sur disque est la méthode de référence pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles selon plusieurs auteurs (**Benjaliet al.,1986 ; Satraniet al.,2007 ; Billerbecket al.,2002 ; Pibiri et al.,2005 ; Mehaniet al.,2014**), par ce qu'elle permet le contact direct de l'HE avec la bactérie testé. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné des extraits étudiés ; a noter que le diamètre du disque est (6mm) a été inclus dans le calcul du diamètre de la zone d'inhibition et le DMSO n'a pas d'effet antibactérien sur les souches testées donc ce dernier est bien inerte vis-à-vis de cette activité, toutes les valeurs des zones d'inhibition sont exprimées en moyenne de trois essais  $\pm$  écart type(**annexe 05**).

#### III.2.1.Évaluation de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*

(**Ponce et al.,2003**)ont donnés L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et ont classé les diamètres de zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 4 classes :

- Extrêmement sensible (+++) : plus de 20mm

- Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm
- Sensibles (+) : 8 mm à 14mm
- Non sensibles(-) : moins de 8 mm.

Les résultats issus de l'activité antibactérienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis* sont indiqués dans le tableau 08.

**Tableau 08** :Diamètres des zones d'inhibitions des HES de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*.

Les souches bactériennes		Les huiles essentielles											
		<i>Rosmarinus officinalis</i>						<i>Eucalyptus camaldulensis</i>					
		2,5 µl		5 µl		10 µl		2,5 µl		5 µl		10 µl	
		D (mm)	S	D (mm)	S	D (mm)	S	D (mm)	S	D (mm)	S	D (mm)	S
G+	<i>S aureus</i>	6.17±0.22	-	6.83±0.22	-	8±0.67	+	11.67±1,11	+	14.33±0.89	+	17.67±1.56	++
	<i>E faecalis</i>	7.33±1.11	-	8.33±1,78	+	9,67±2,89	+	7.83±0.89	-	9.50±1.33	+	10.67±1.44	+
G-	<i>E coli</i>	7.50±1.00	-	8.67±1.56	+	9.83±2.11	+	6.33±0.22	-	6.83±0.22	-	8.17±0.56	+
	<i>K pneumoniae</i>	7.17±0.56	-	8.83±0.89	+	9.50±1.67	+	6.50±0.33	-	7.17±0.56	-	8.33±1.11	+

*E.faecalis*: *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, *E.coli*: *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*, G+: Gram+, G- : Gram -D : Diamètre, S : sensibilité (++) : Très sensibles(+): Sensibles(-) : Non sensibles

Les volumes d'huile essentielle utilisées dans notre étude sont respectivement 2,5 et 5 et 10 $\mu$ l :

- **Le volume de 2,5 $\mu$ l d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis***

Les deux HEs n'ont aucun effet antibactérien sur Les quatre souches bactériennes testées, sauf dans le cas de l'huile essentielle *Eucalyptus camaldulensis* sur avec *S.aureus* qui a marqué son effet antibactérien avec un diamètre d'inhibition de 12.96mm.

- **Le volume de 5 $\mu$ l d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis***

L'HE de *Rosmarinus officinalis* a montré un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes sauf sur *S. aureus*. Tandis que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* a inhibé la croissance des bactéries à Gram positives.

- **Le volume de 10 $\mu$ l d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis***

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a exercé une activité antibactérienne moyenne sur toutes les bactéries testées à Gram positives et à Gram négatives. D'abord, Pour les Gram positif notamment, *E. feacali* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition varient de 8mm à 9,67mm. Concernant les Gram négatif, l'huile essentielle a montré un effet remarquable sur *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 9,83mm et *K. pneumoniae* avec diamètre d'inhibition de 9,50mm.

Dans le cas de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis*, l'huile a montré son 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'*E. feacalis* tandis que les souches bactériennes à Gram négatives notamment, *E. coli* et *K. pneumoniae* l'huile a marqué une effet antibactérien moyen avec de faibles diamètres d'inhibitions de 8,17mm. Ces résultats nous permettent de conclure que l'accroissement du volume d'HE induit l'amélioration de son pouvoir inhibiteur. Ceci peut être expliqué par l'augmentation du pourcentage des molécules bioactives responsable de son effet antibactérien (Kheyaret al., 2014).

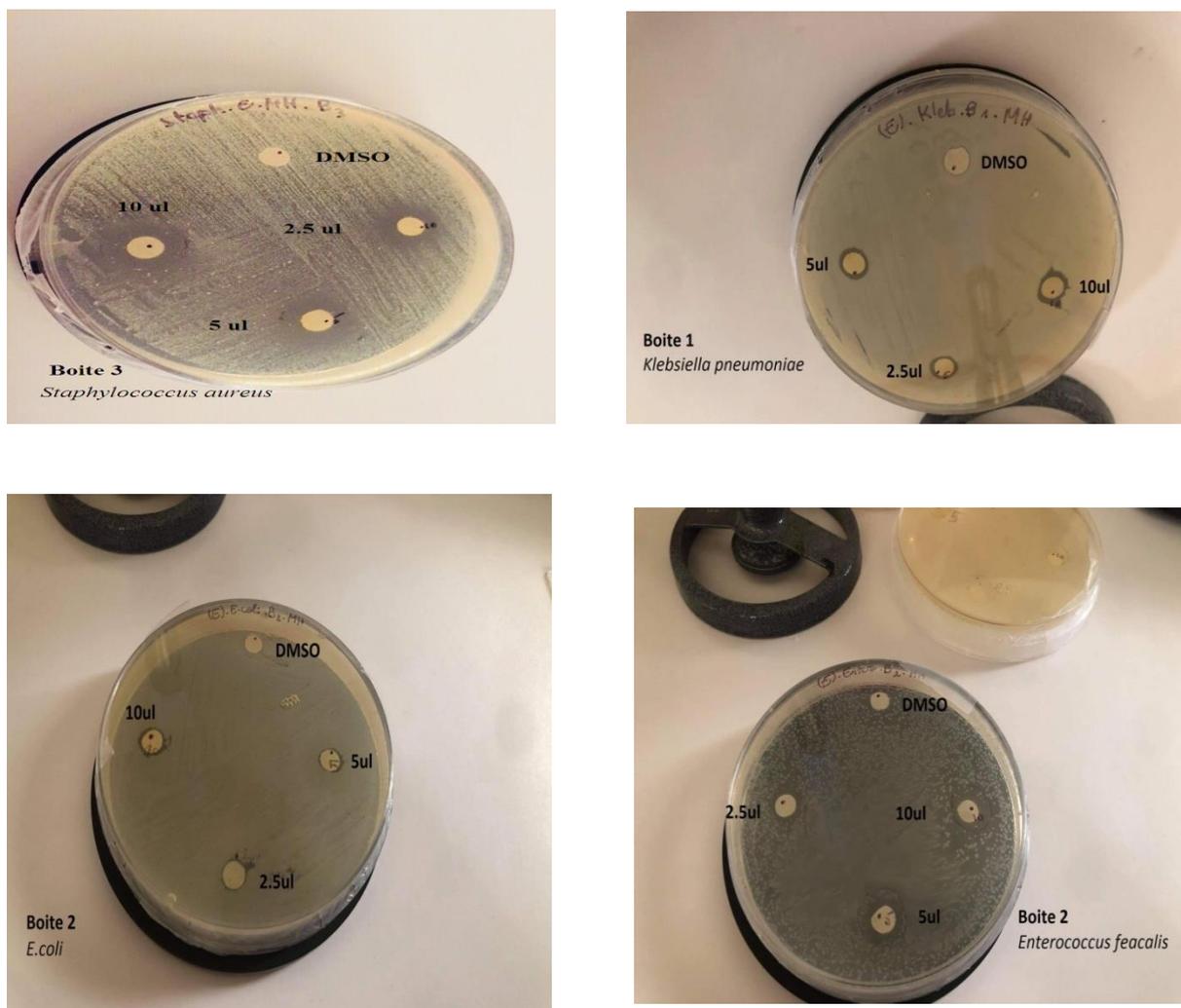
Nous constatons également que l'activité est proportionnelle au volume des HEs, plus le volume d'extraits est élevés plus leur activité antibactérienne est meilleure. La plus grande

susceptibilité de *S. aureus* vis-à-vis des HEs par rapport aux autres espèces bactériennes testés s'expliquerait par une meilleure perméabilité d'un ou des composé(s) actif (s).

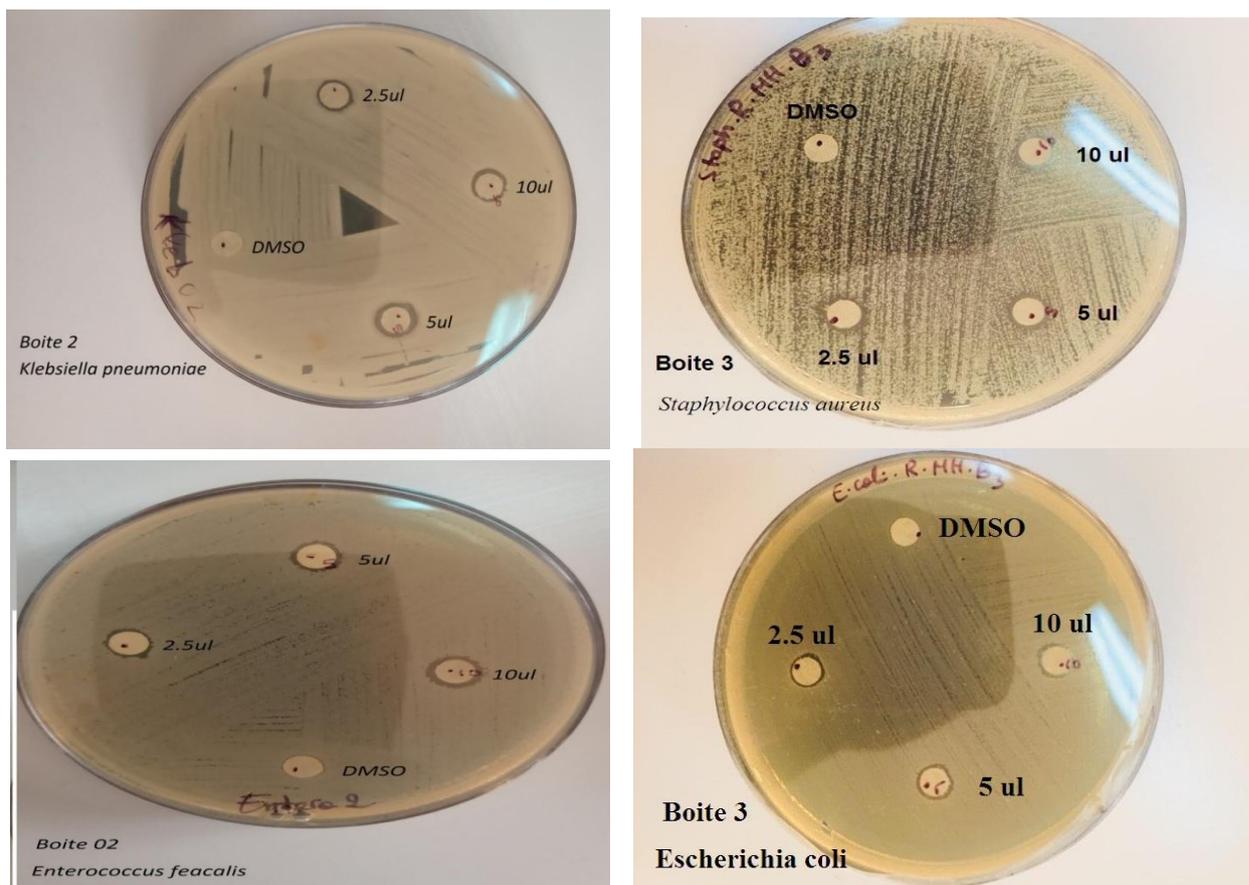
Nos résultats concordent avec ceux rapportés par (Yesil Celiktazet *et al.*,2007),ils montrent que l'HE de *Rosmarinus officinalis* à une activité antibactérienne sur *E.feacaliset K. pneumoniae*. (Gachkaret *al.*,2007) ils ont trouvés que *S. aureus* et *E. coli* sont sensible avec une différence dans le degré de sensibilité.

Des études similaires ont été rapporté par (Abdellaah *et al.*,2013) montre que le *S. aureus* est la plus sensible vis-à-vis l'*Eucalyptus camaldulensis*. Ce dernier a une activité inhibitrice sur *E. coli*,*E. feacaliset K. pneumoniae* d'après (Mehni, 2005). Des résultats similaires ont été rapportés par (Bourahla *et al.*,2020) qui sont réalisées leurs travailles dans le laboratoires de microbiologie de départements de biologie appliquer de l'université de Laarbi Télessi et ils montrent que l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Télessa possède un large spectre d'activité antibactérienne sur le *S. aureus*.

Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HE confirment que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux HEs que les bactéries Gram (-). Cette résistance est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane (Poole, 2001 ; Burt, 2004 et Busattaet *al.*,2008) qui présente une perméabilité sélective, Par contre (Moreiraet *al.*,2005) ont montrés que les bactéries Gram (-) peuvent être sensibles à l'action des HEs. En effet, cette sensibilité dépend aussi des propriétés de l'HE, par ce que l'action inhibitrice et bactéricide des HE est due à leur richesse en molécules actives (Satraniet *al.*,2001).



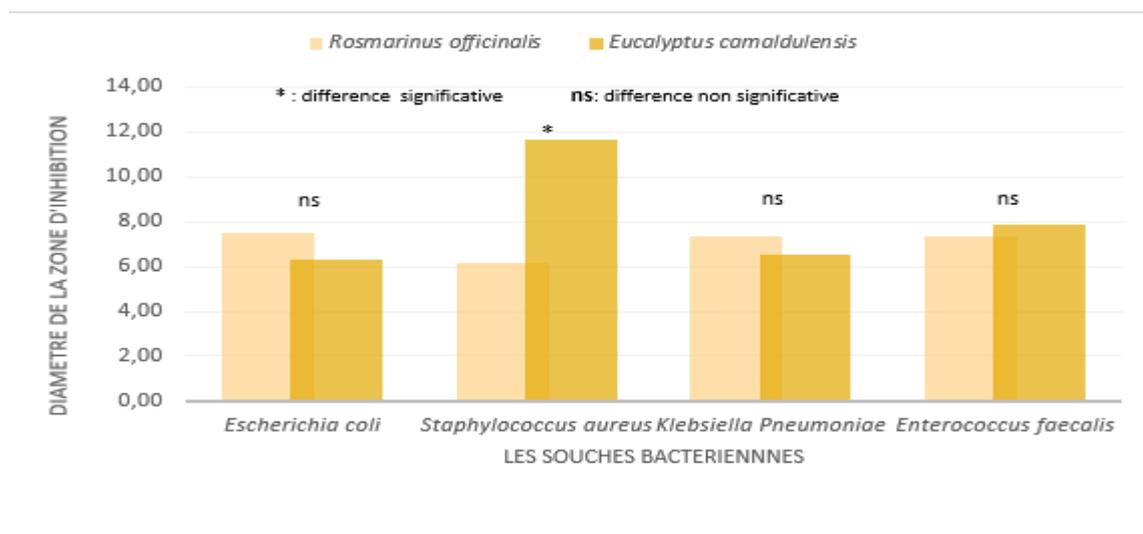
**Figure 13 :** Les résultats d'activité antibactérienne de différentes concentrations d'huile essentielle pure d'*Eucalyptus camaldulensis* pour les quatre souches bactériennes testées.



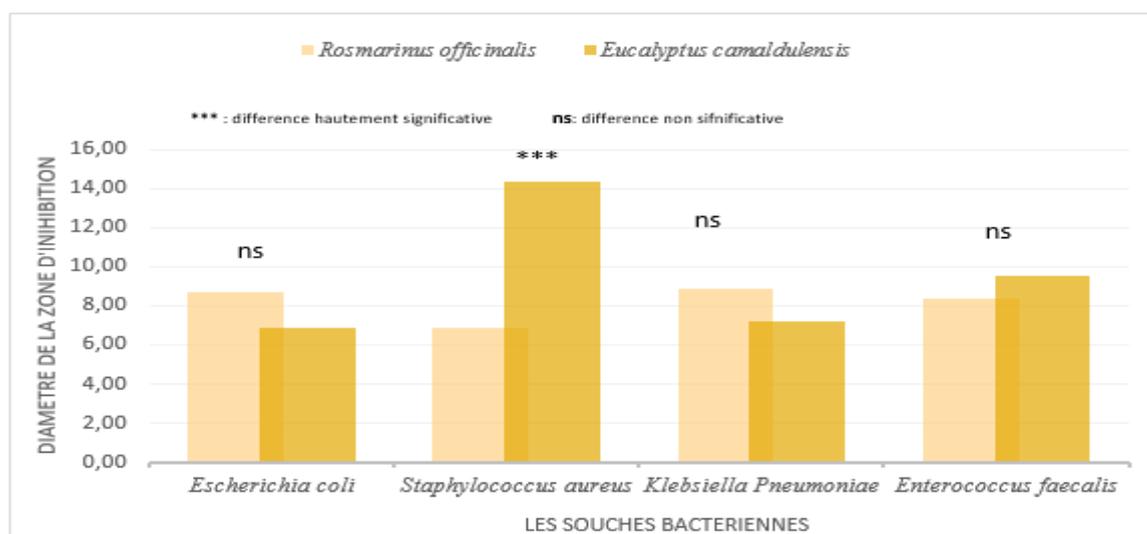
**Figure 14:** Les résultats d'activité antibactérienne de différentes concentrations d'huile essentielle pure de *Rosmarinus officinalis* pour les quatre souches bactériennes testées.

### III.2.2. Étude comparative de l'effet antibactérien des deux huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis*

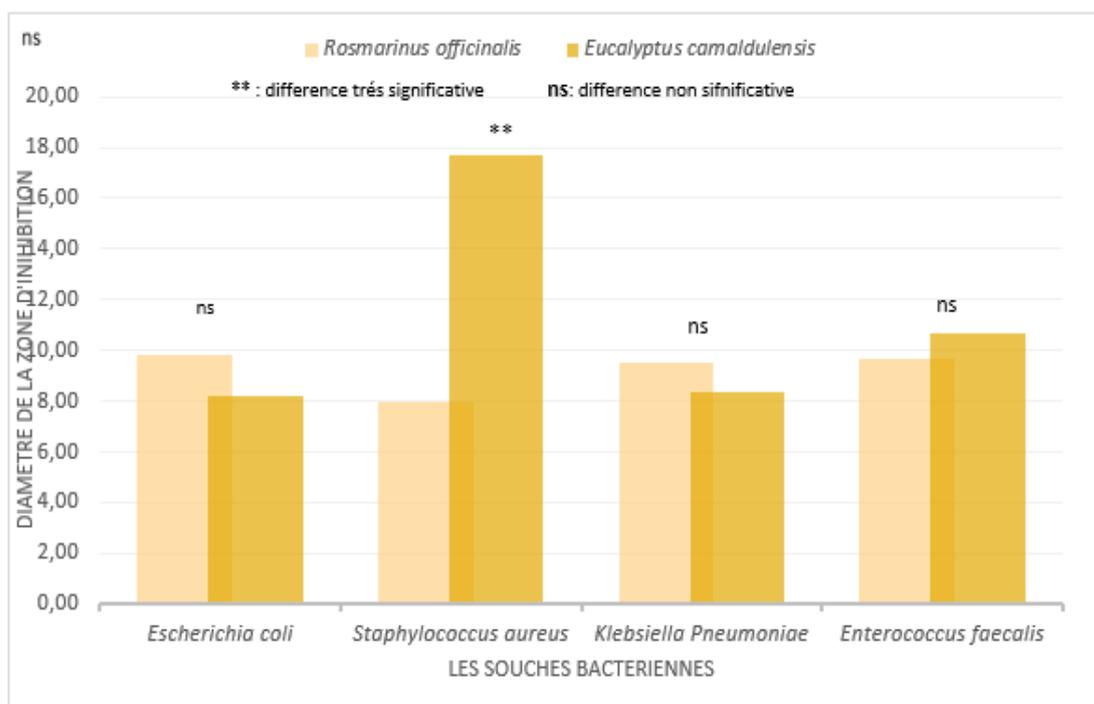
Les résultats de l'analyse statistique par le logiciel prisme version 7 nous ont permis de tracer les histogrammes suivants :



**Figure 15** : Effet antibactérien des deux huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis* à 2.5µl sur les souches bactériennes testées.



**Figure 16** : Effet antibactérien des deux huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis* à 5µl sur les souches bactériennes testées.



**Figure 17 :** Effet antibactérien des deux huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Rosmarinus officinalis* à 10 $\mu$ l sur les souches bactériennes testées

- **Cas d'*Escherichia coli***

Les résultats obtenus indiquent que les deux huiles ont montré un effet inhibiteur vis-à-vis d'*E. coli*. Des diamètres d'inhibition allant de 6,33 mm à 9,83 mm sont observés. Le meilleur résultat obtenu vis-à-vis de cette souche est celui de l'huile de *Rosmarinus officinalis* avec un diamètre d'environ 9,83 mm. Plus le volume des huiles élevées, meilleure est l'activité, donc l'activité est proportionnelle à le volume des huiles essentielles (Figure 15,16 et 17).

- **Cas de *Klebsiella pneumoniae***

Les deux huiles *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis* ont inhibé la croissance de l'espèce *K. pneumoniae*. Des diamètres d'inhibitions inférieure ou égales à 9,50 mm sont observés. Les volumes 2,5 et 5 $\mu$ l, ont donné des diamètres d'inhibitions inférieures à 8,33 mm (Figure 15,16 et 17).

- **Cas d'*Enterococcus faecalis***

Une meilleure inhibition est observée pour d'*Eucalyptus camaldulensis* contre la souche *E. faecalis* avec des diamètres d'inhibition calculés sont 7,83 mm, 9,50 mm et 10,67 mm pour les

volumes 2,5 et 5 et 10 $\mu$ l respectivement de celle de *Rosmarinus officinalis* avec des diamètres d'inhibition allant de 7,33 à 9,67mm.

En effet, de point de vue statistique, les deux HEs de *Rosmarinus officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis* au volumes 2,5 et 5 et 10 $\mu$ l n'ont présentées aucune différence significative pour leur effet antibactérienne sur *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. faecalis* (Figure 15,16 et 17).

- **Cas de *Staphylococcus aureus***

L'activité inhibitrice d'*Eucalyptus camaldulensis* est importante que celle des cas précédents. Des diamètres d'inhibition allant de 11,67 à 17,67mm ont été enregistrés. Ce qui indique la sensibilité et l'effet inhibitrice de ces huiles vis-à-vis *S. aureus*.

Une meilleure inhibition est observée pour d'*Eucalyptus camaldulensis* de celle de *Rosmarinus officinalis* qui présente des diamètres d'inhibition allant de 6,17 à 8,00 mm.

Il existe une différence significatives, très significatives et hautement significative (pour les volumes 2.5 et 5 et 10 $\mu$ l respectivement) ( $P > 0,05$ ) entre les deux HEs *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis* vis-à-vis de *S. aureus* (Figure 15,16 et 17).

On peut dire alors que l'effet antibactérien d'une HE dépend de leur composition chimique et leur volume et de type des bactéries testés (**Abdellah, 2013**).

# ***Conclusion et perspective***

### Conclusion et perspectives

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales aromatiques locales de la région de Tébessa qui sont *Eucalyptus camaldulensis* et le *Rosmarinus officinalis* sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus faecalis*.

L'extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation a montré un rendement en huile essentielle de  $1.66 \pm 0.56$  pour la plante de *Rosmarinus officinalis* et de  $0.98 \pm 0.017$  pour *Eucalyptus camaldulensis*. Les propriétés organoleptiques de ces essences ont été déterminées. En effet, l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* est de couleur jaune foncé, une odeur agréable avec un aspect liquide et mobile, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est de couleur jaune pâle, à une odeur fraîche camphrée avec un aspect liquide et mobile. En effet, ils répondent aux normes **AFNOR 2000**.

Les deux huiles essentielles n'ont pas montré le même effet antibactérien contre les souches testées. Cependant, L'évaluation qualitative de l'effet antibactérien montre que les deux huiles essentielles n'ont aucun effet antibactérien au volume 2.5µl sur les souches bactériennes : *E. faecalis*, *E. coli*, *K.pneumoniae*, sauf contre *S. aureus* avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* qui a marqué son effet antibactérien avec un diamètre d'inhibition de 12.96mm. Alors qu'au volume 5µl l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* a inhibé la croissance des bactéries à Gram positives seulement ; *E. faecalis* avec un diamètre d'inhibition de 9,50mm et *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de 14,33mm .Enfin au volume 10µl, les deux HE ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes avec des zones d'inhibitions allant de 8mm à 17,67mm.

L'étude comparative de l'effet antibactérien de l'huile d'*Eucalyptus camaldulensis* et de *Rosmarinus officinalis* a montré que le meilleur résultat obtenu est celui de l'huile de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* avec les trois volumes 2,5µl, 5µl et 10µl ,alors que une meilleure inhibition de la croissance bactérienne est observée avec l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* par rapport à celle de l'HE de *R officinalis* contre la souche *E. faecalis* avec les trois volumes 2,5µl ,5µl et 10µl . Enfin l'activité inhibitrice d'*Eucalyptus camaldulensis* vis-à-vis *S aureus* est importante par rapport à celle de l'HE de *Rosmarinus officinalis* avec les trois volumes 2,5µl, 5µl et 10µl.

Ces résultats préliminaires obtenus s'avèrent prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal thérapeutique des plantes dotées de propriétés antibactériennes. Leur criblage permettrait de découvrir de nouveaux antibactériens, qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces. Toutefois, les méthodes *in vitro* utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différents extraits sont insuffisantes et nécessitent d'autres tests supplémentaires plus avancés tels que l'étude de l'activité antibactérienne *in vivo*.

En perspective, nos résultats obtenus restent préliminaires et méritent d'être exploités et il est intéressant d'envisager dans un proche avenir de déterminer les différents composants de ces deux HEs, en utilisant la CPG couplée à une spectrométrie de masse. Tester l'activité antibactérienne des dilutions de cette HE, sachant qu'il existe des substances agissant à faible dose. Déterminer la CMI et CMB de l'HE de ces huiles essentielles et enfin, élargir l'échantillonnage (le nombre des plantes testées).

**Références**  
**Bibliographique**

### Références Bibliographique :

#### A

1. **Abdelli W., (2017).**Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD : Microbiologie Appliquée : Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 104p.
2. **AFNOR., (2000).** « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, 2000, 661-663.
3. **Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. *Phytothérapie*. 6, 342–347.
4. **Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S., Boti J.B., Casanova J., (2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11.
5. **Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S., Boti J.B., Casanova J., (2007).** Composition chimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Univ. Tlemcen. Pp: 6-10.
6. **Ayadi C., (2011).** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie, Jerribi, M. Abderrabba Unité de recherche Physico-Chimie Moléculaire. IPEST, Boite postale 51, 2070 la Marsa, Tunisie.

#### B

7. **Bastien F., (2008).** Effet larvicide des huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse doctorat. Université Paul-Sabatier. Toulouse. P : 25-26.
8. **Baudoux D., (2001).** L'aromathérapie-Se soigner par les huiles essentielles, Atlantica, 132-133.
9. **Bayala B., (2014).** Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et antimigratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, U.R.R. Sciences et Technologies, université Blaise Pascal. p583.
10. **Benjlali B., Tantaoui-elarki A., Ismaili-alaoui M., (1986).** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant. Méd. Phytothér.*, 155-167.
11. **Billerbeck V-G., Roques C., Vanière P., Marquier P., (2002).** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Rev. Hygiène*, Vol X - N°3, pp248.
12. **Boullard B., (2001).** Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed) Paris 660 p.
13. **Bourahla N., Halfaya A., Khelif O., (2020).** Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'une plante médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*). Université de Larbi Tébessi -Tébessa-. p35.

## Références Bibliographie

---

14. **Boutabia L., Telailia S., Bouguetof I., Guenadil F., Chefrour A., (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, 2016, p. 174 – 189.
15. **Burt S.,(2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.

### C

16. **Carette A.S., (2000).** La lavande et son huile essentielle. Thèse de doctorat.,université de Toulouse. p : 100.
17. **Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V.,(2002).**Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus*determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46: 1914–1920.
18. **Celiktas O.Y., Hames Kocabas E.E., Bedir E., Vardar Sukan F., Ozek T., BaserCheung S.,Tai J.,(2007).** Anti-proliferative and ant ioxidant propreties of rosmaroy *Rosmarinus officinalis*. Oncology reports. 17 (6): 1525-1531.

### D

19. Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé (DEQM). Pharmacopée Européenne 8.0. Tome I. 8è édition. Strasbourg : Conseil de l'Europe, 2013, 1568p.
20. **Daroui-Mokaddem, H., (2012).** Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniolumolusatrum* (Apiaceae), *Asteriscusmaritimus* et *chrysanthemumtrifurcatum* (asterarceae). [en ligne].Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. UniversiteBadji Mokhtar-Annaba.P8,14,28.
21. **Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen, R., Tikkanen M.J., (2003).**Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected *Lamiaceae* herbs. Food Chem. 83: 255-262.

### E

22. **El abed N., Kambouche., (2003).**Les huiles essentielle.Edition: Dar El Badr.91p.
23. **Escuder O., (2007).** Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 255p.

### F

24. **Fantino N.S., (1990).**Etude du polymorphisme au d'une population de lavande(*Lavandulaangustifolia* Mill.) Détermination de critères précoces de sélection. Thèse de doctorat.Université de La Rochelle.p :41-45.
25. **Farag et al.,(1989).**Activity antioxidant of Spice essentiel oils, JAOCS, vol66, n°6, P 7.
26. **Faucon M., (2015).**Utilisation des huiles essentielles et des huiles végétales naturelles « autour de la naissance ». Vocation Sage-femme, 14(115), 35-38.
27. **Fechtal M., Ismaili R., Zine el Abidine A., (2001).**Effet de la transplantationsur la qualité et le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis* L).
28. **Festy D ., (2008).**Ma bible des huiles essentielles: guide complet d'aromathérapie. Paris: Leduc.s Ed.

### G

## Références Bibliographique

---

29. **Gabriel I., Alleman F., Dufoureq V., Perrin F., Gabarrou J.F., (2013).** Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles. 2. Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. INRA Productions Animales., 26(1) : 13-24.
30. **Giordani R., Hadeff Y., Kaloustian J., (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79: 199-203.
31. **Goetz P et Ghedira K., (2012).** Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
32. **Goldstein H.B., Epstein B.J., (2000).** La dentisterie non conventionnelle : Parais 4, les pratiques et les produits dentaires conventionnels. *J Can. Dent. Assoc.*; 66: 564-568.
33. **Gonzalez-Trujano M.E., Pena E.I., Martínez A.L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Deciga-Campos M., Lopez-Munoz F.J., (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis L.* Using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 111: 476-482.
34. **Guignard J.I., (2001).** Abrégé Botanique : Systématique Moléculaire .12Ed. Paris. Elsevier Masson, 290P. ISBN 2-294-00452-3.
35. **Guinoiseau E., (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse.

### H

36. **Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayana M., (2006).** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol.* 107: 157-160.

### I

37. **Ibañez E., Cifuentes A., Crego A.L., Señoráns F.J., Cavero S., Reglero G., (2000).** Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 48 (9): 4060-4065.
38. **Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De laage de meus A., Moulard F., Zha E., De la roque R., De la roque O., Vican P., Deesalle-feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A., (2001).** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.

### K

39. **Kalembe D., Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829.
40. **Kaloustian J., Hadji-Minaglou F., (2012).** La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer-Verlag France, Paris. 210 p.
41. **Kara K., Saidii S., (2016).** Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus L entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de la forêt de Harouza (Commune de Tizi-Ouzou).
42. **Kempf M., Eveillard M., Kowalczyk., Rossines E., Panhelleux G., Joly-Guillou M.L., (2011).** Etude de la sensibilité de 224 bactéries isolées d'infections hospitalières vis-à-vis des composés JCA 250 et JCA 251 à base d'huiles

essentielles issus de la recherche. Aroma Technologies Pathologie Biologie. 59, 39–43.

43. **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(2014)18-26 18

### L

44. **Larousse., (2013)** .Larousse des plantes médicinales. Paris, 335p. 2013.
45. **Lucchesi M.E., (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat, université de la Réunion, France.

### M

46. **Madadori M.K., (1982).**Les plantes médicinales .Guides vert .Salar.624p.
47. **Maffeiet Sacco., (1997).**Perfumer and flavorist. . Flavour and Fragrance Journal.13 : p:611
48. **Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C et Fernandez X., (2010).**Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea*L. and *Cupressus sempervirens* L. Journal of Medicinal Plants Research. 4(10), 959-964, 18.
49. **McVicar J., (2009).** La passion des herbes : aromatiques, culinaires, médicinales, cosmétiques et comment les cultiver. 3e ed. revue et augmentée. Laval (Québec) : Guy Saint Jean ed., 304p.
50. **Mebarki N., (2010).**Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne. [En ligne]. Magister : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques Boumerdes: Université M'hamed Bougara Boumerdes,137p.
51. **Mee B.J et al.,(2002).**Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy, Antimicrob, Agents Ch. 46(6), 1914-1920.
52. **Mehani M.,(2015).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la région d'Ouargla. [En ligne]. Thèse de doctorat: Microbiologie.
53. **Mehani M., Ladjel S., (2014).**Biological Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camendulensis* on Some Fungi and Bacteria. Journal of Engineering Research and Applications., 4, 71-73.
54. **Meziane H., (1997).**Contribution à l'étude des formations anthropozoïques dans la région de Tlemcen. Thèse.Ing. Univ. Abou Bakr belkaid Tlemcen.pp.18-52.
55. **Mohammedi Z., (2006).**Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Option: Produits naturels, activité biologique et synthèse. Faculté des Sciences. Université ABB. Tlemcen. Algérie.

### O

56. **Oldrich L., Klejdus B., Ladislav K., Michaela D., Khaled A., Vlastimil K., Richard H.,(2005).** Biochemical systematics and Ecology 33, p. 983-992.
57. OMS, 2003; Fintelmann et Weiss, 2004 ; Eddouks et al., 2007; De Vos, 2010).

## Références Bibliographique

---

58. **Oussou K., Yolou S., Tue B., Kanko Bi C., Boti J., Ahibo C., Casanova J., (2010).** Etude Chimique Bio-Guidée de L'huile Essentielle de *Ocimum Gratissimum* (Lamiaceae) Euro Journals Publishing, Inc. Pp 51.
59. **Oussou K.R., (2009).** Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l' Université de Cocody-Abidjan, 241p.
60. **Oyen, L.P.A ., Lemmens, R.H.M.J .,(2002).** Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Programme PROTAWageningen. Pays-Bas. 207 pp. ISBN 90-77114-033 .

### P

61. **Philippon A., (2008).** Résistance bactérienne: définition, mécanisme, évolution. EMC. (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladie infectieuse. 8-006-N-10.
62. **Pibiri M-C., (2005).** Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse N °3311, Lausanne Suisse.
63. **Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C., Roura S.I., (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic* 36:679-684.
64. **Punpanich W., Nithitamsakun N., Treeratweeraphong V ., Suntarattiwong P., (2012).** Risk factors for carbapenem non-susceptibility and mortality in *Acinetobacter baumannii* bacteremia in children. *International Journal of Infectious Disease*. 16, e811–e815.

### Q

65. **Quezel et Santa., (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. C.N.R.Sc. Paris. pp.781-783-793.

### R

66. **Rameau J.C., Mansion D., Dume G., Gauberville C., (2008).** Flore forestière française. Tome 3 Région méditerranéenne. Editeur : IDF (Institut pour le développement forestier). France. 2432p.
67. **Raynaud J., Blanchet J.M., (2006).** Prescription et conseil en aromathérapie. Paris : Tec & Doc, 247p.
68. **Rosato A., Piarulli M., Corbo F., Muraglia M., Carone A., Vitali M E et Vitali C.,(2010).** In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 3289-3295.
69. **Rouabah Y.,(2010).** Contribution à une étude quantitative des huiles essentielles dans deux espèces végétales: *Globularia alypum L.* et *Rosmarinus officinalis L.* dans le P.N.B. Mém. Ing. Univ. Batna. 68 P.

### S

70. **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 de Ain Temouchent. Mémoire de Master en Sciences Biologiques Option : Microbiologie Appliquée, Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn – Témouchent. 91p.

## Références Bibliographique

---

71. **Sanon E., (1992).**Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686Alger. 121p.
72. **Shakouri ., Azanowsky J-M., (2010).** Maitrise de la diffusion des bactéries multiresistantes aux antibiotiques importées en France par des patients rapatriés ou ayant des antécédents d'hospitalisation à l'étranger. Haut Conseil de la santé publique. Pp 38.
73. **Shirner M., (2004).**Huiles essentielles. Description et utilisation de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Gy Trédaniel Editeur.
74. **Siramon P., Ohtani Y., Ichiura H., (2008).** Biological performance of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand against the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki. Journal of wood science, 55(1): 41-46.
75. **Soyal D., Jindal A., Singh I., Goyal P.K., (2007).** Modulation of radiation-induced biochemical alterations in mice by rosemary (*Rosemarinus officinalis*) extract. Phytomedicine. 14: 701-705.
76. **Staub H., Bayer L., (2013).** Traité approfondi de phyto-aromathérapie avec présentation de 750 huiles essentielles connues. 1ère ed. Paris: Grancher.
77. **Sullivan J.B., Rumack B.H., Thomas H., Peterson R.G., Bryson, P., (1979).** Pennyroyal oil poisoning and hepatotoxicity. JAMA 242, 2873–2874.
78. **Sefidkon F., Bahmanzadegan A., Assareh M. H., Abravesh Z., (2009).** Seasonal variation in volatile oil of Eucalyptus species in Iran. Journal of herbs, spices & medicinal plants, 15(1): 106-120.

### T

79. **Taha EL Kamli T., Errachidi F., Eloutassi, N., Houmane M., Chabir R., Bour A., (2017).** Comparaison Quantitative Et Qualitative Des Huiles Essentielles De *Rosmarinus officinalis* Obtenues Par Différentes Méthodes. European Scientific Journal July 2017 edition Vol.13, No.21 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857-7431.
80. **Tesche S., Metternich F., (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Eur. Arch. Otorhinolaryngol. Nov; 265(11):1355-1359.
81. **Tsiri D., Kretsi O., Chinou I. B., Spyropoulos C.G., (2003).** Composition of fruit volatiles and annual changes in the volatiles of leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. Growing in Greece. Flavour and Fragrance Journal, 18(3): 244-247.

### U

82. **Uter W., Schmidt E., Geier J., Lessmann H., Schnuch A., Frosch P., (2010).** Contact allergy to essential oils: current patch test results (2000-2008) from the Information Network of Departments of Dermatology (IVDK). Contact Dermatitis, 63(5), 277-283.

### W

83. **Wendakoon et Sakaguchi M., (1995).** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of Enterobacter aerogenes by active components in spices, Journal of Food Protection 58, p. 280-283.

## ***Références Bibliographie***

---

84. **Williams LR., Lusunzi I.,(1994).** Essential oil from *Melaleuca dissitiflora*: a potential source of high quality tea tree oil. *Industrial Crops and Products*, 2: 211–217. *Annales de la recherche forestière au Maroc*, 34: 94.
85. **Warot, S ; (2006).** Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie .Préparatrice en pharmacie.[En ligne]. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. 31P.

# ***Annexes***

## Annexes

---

### Annexes :

#### 01-Composition et préparation des milieux de culture :

##### Les milieux solides :

Milieu	Composition	Préparation
<b>Gélose nutritif (GN)</b>	-Extrait de viande.....1,0 g/L -Extrait de levure .....2,5 g/L -Peptone ..... 5,0 g/L -Chlorure de sodium...5,0 g/L -Agar-agar.....15,0 g/L - PH = 7,0	- 20 g de milieu déshydraté - 1 L d'eau distillée
<b>Muller-Hinton (MH)</b>	Infusion de viande de bœuf déshydraté.....300g - Hydrolysate de caséine.....17.5g - Amidon de maïs ...5g - Agar-agar.....13g - Eau distillée.....1l	Prêt à l'emploi

##### Le milieu liquide :

Milieu	Composition	Préparation
<b>Solution physiologique</b>	- Eau distillée. - Chlorure de sodium (NaCl)	9 g NaCl -1 L d'eau distillée.

**Appareillage, produit et réactifs chimiques utilisés :**

Appareillage		produits chimiques	les réactifs chimiques
<b>Grands matériels</b>	Petits matériels	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Éthanol</li> <li>• Eau distillé</li> <li>• Acétone</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Les colorants de Gram</li> <li>• DMSO</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Mortier avec pilon</b></li> <li>• <b>Chauffe ballon</b></li> <li>• <b>Appareil d'hydrodistillation de type « Clevenger »</b></li> <li>• <b>Réfrigérateur</b></li> <li>• <b>Balance électronique</b></li> <li>• <b>Étuve</b></li> <li>• <b>Plaque chauffante</b></li> <li>• <b>Agitateur</b></li> <li>• <b>Autoclave</b></li> <li>• <b>Bain marie</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Éprouvette</li> <li>• Flacons en verre</li> <li>• Bec Bunsen</li> <li>• Boîtes de pétri</li> <li>• Anse de platine</li> <li>• Portoirs</li> <li>• Micropipettes</li> <li>• Pipettes Pasteurs</li> <li>• Spatule</li> <li>• Barreaux magnétique</li> <li>• Papier Whatman n°1 de 6mm de diamètre</li> <li>• Écouvillons stériles</li> <li>• Pince</li> <li>• Fond noire</li> <li>• Seringue</li> <li>• Embouts</li> <li>• Pied à coulisse.</li> <li>• Les flacons</li> <li>• Béchers gradués</li> <li>• Tubes à essai stériles</li> <li>• Lames et lamelles</li> </ul>		

### **02- Examen microscopique par coloration de Gram :**

#### **❖ Objectif :**

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne.

Elle permet de renseigner sur :

- ❖ le type Gram + ou Gram –
- ❖ la forme des bactéries (coque, bacille) et autre détails morphologiques (extrémités arrondies...)
- ❖ la taille
- ❖ le mode de regroupement
- ❖ l'homogénéité de la forme et de la couleur.

#### **❖ Matériel nécessaire:**

- ✓ une lame dégraissée
- ✓ du Violet de Gentiane
- ✓ du lugol
- ✓ de l'alcool (éthanol à 95°) très peu dilué
- ✓ de la Fuschine fraîchement préparée
- ✓ de l'eau déminéralisée
- ✓ du papier filtre
- ✓ microscope photonique : objectif x 40 et x100

❖ Méthodologie :

Étape	Mode opératoire			
<b>Réalisation du frottis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sur une lame propre et dégraissée. , déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée (en le passant sous le bec benzène), une goutte de la colonie isolée</li> <li>Étaler sur 1 à 2 cm par un mouvement circulaire en partant du centre de la lame L'étalement doit se faire en couche mince</li> </ul>			
<b>Dessiccation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Laisser sécher à l'air.</li> </ul>			
<b>Coloration</b>	étapes	Protocole	But	photo
	<b>Coloration au Violet de Gentiane (Cristal violet)</b>	-Recouvrir la lame de violet de gentiane laissé agir de 30 secondes à 1 min - Rincer à l'eau distillée	La tache primaire (cristal violet) se lie au peptidoglycane, colorant les cellules en violet. Les cellules gram-positives et gram-négatives ont dû peptidoglycane dans leurs parois cellulaires, de sorte que toutes les bactéries se colorent d'abord au violet.	

<p><b>Mordantage au Lugol</b></p>	<p>-étaier le lugol et laisser agir 1 minute - Rincer à l'eau distillée</p>	<p>iodure de Gram (iode et iodure de potassium) est appliqué en tant que mordant ou fixateur. Les cellules à Gram positif forment un complexe cristal violet-iodure.</p>	
<p><b>décoloration (rapide) à l'alcool</b></p>	<p>-Tenir la lame inclinée et faire couler pendant quelques secondes de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore. - Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter</p>	<p>L'alcool est utilisé pour décolorer les cellules. Les bactéries à Gram négatif ont beaucoup moins de peptidoglycane dans leurs parois cellulaires, cette étape les rend donc essentiellement incolores, tandis que seule une partie de la couleur est éliminée des cellules à Gram positif, qui contiennent plus de peptidoglycane (60 à 90% de la paroi cellulaire). L'épaisse paroi cellulaire des cellules à Gram positif est déshydratée par l'étape de décoloration, ce qui entraîne leur rétrécissement et le piégeage du complexe colorant-iodure à l'intérieur.</p>	

	<b>Contre coloration à la Safranine (ou à la Fuchsine)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Recouvrir la lame de laisser agir de 1 minute</li><li>- Rincer à l'eau distillée</li><li>- Égoutter entre 2 morceaux de papier-filtre et laisser sécher</li></ul>	l'étape de décoloration, un contre-colorant est appliqué (généralement de la safranine, mais parfois de la fuchsine) pour colorer les bactéries en rose. Les bactéries à Gram positif et à Gram négatif ramassent la tache rose, mais elle n'est pas visible sur le pourpre plus foncé des bactéries à Gram positif. Si la procédure de coloration est effectuée correctement, les bactéries à Gram positif seront violettes, tandis que les bactéries à Gram négatif seront roses.	
--	--	---	---	--

### ❖ Mise au point :

- Repérer les bactéries à l'objectif x40.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis
- Faire la mise au point en forte luminosité (condensateur levé et diaphragme ouvert) objectif x100.
- Se placer dans un endroit où la répartition des bactéries est homogène et la coloration nette
- Éliminer les lames dans le bocal déchets non infectieux.

### ❖ Observations :

On peut noter la morphologie des bactéries et la coloration de celles-ci : les bactéries violettes sont dites Gram positives, celles qui sont roses sont dites Gram négatives. On peut également noter l'homogénéité de coloration de la bactérie.

### 03-Standard McFarland :

Les normes McFarland sont utilisées comme référence pour ajuster la turbidité des suspensions bactériennes pour que le nombre de bactéries se situe dans une gamme de concentrations donnée afin de normaliser les tests microbiens.

#### ❖ Composition :

- ✓ -Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) : 9,95 ml
- ✓ -Chlorure de barium(BaCl<sub>2</sub>) : 0,05 ml

Standard McFarland	1% BaCl <sub>2</sub> (mL)	1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	Approximatif Bactérien Suspension / ml
0.5	0.05	9.95	1.5 x 10 <sup>8</sup>

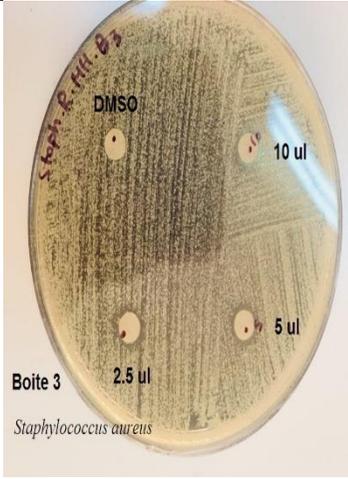
#### ❖ Procédures :

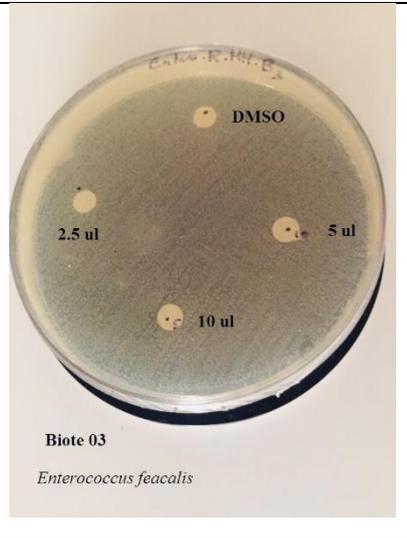
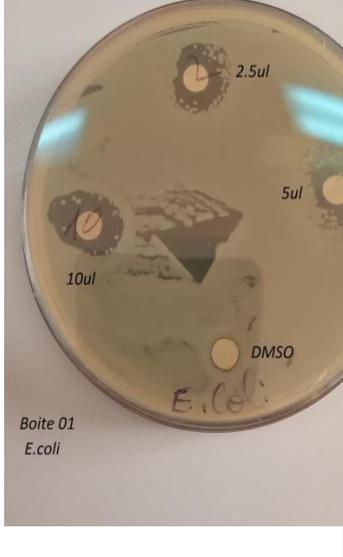
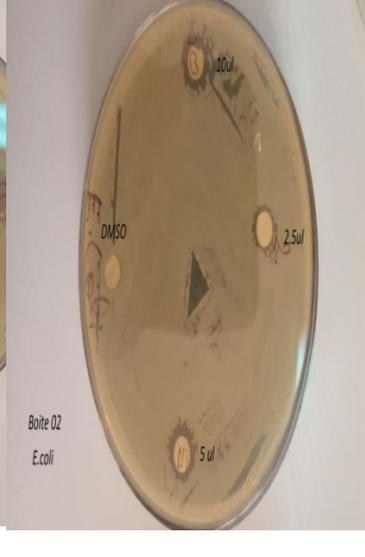
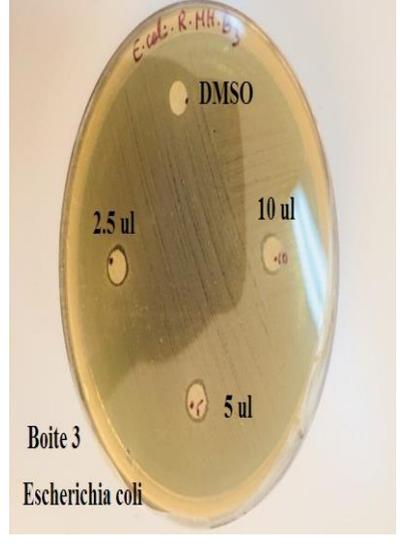
1. Mélanger la solution de McFarland Standard sur un mélange vortex avant l'examen. Assurez-vous que McFarland Standard est aliquoté dans un tube c'est la même taille et le même diamètre que le tube utilisé pour préparer la suspension d'essai.
2. Préparez une suspension d'essai en obtenant une culture pure de l'organisme d'essai et inoculer un bouillon approprié.
3. En présence d'un bon éclairage, visuellement comparer la turbidité de la suspension d'essai avec celle de la norme McFarland en comparant la clarté des lignes sur le Wickerham carte.
4. Si la suspension d'essai est trop légère, inoculer avec des organismes supplémentaires ou incubé le tube jusqu'à ce que la turbidité corresponde à celle de la norme. Si une dilution est nécessaire, utiliser une pipette stérile et ajouter suffisamment de bouillon ou de solution saline pour obtenir une turbidité qui correspond à celle de la norme.

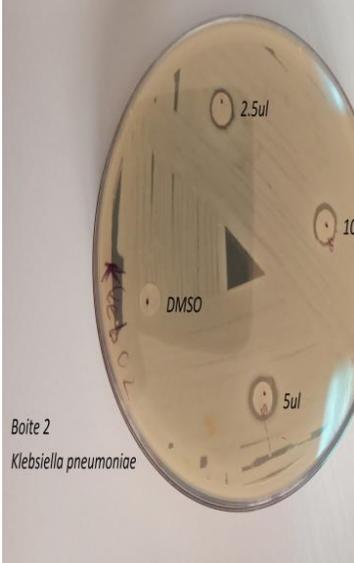
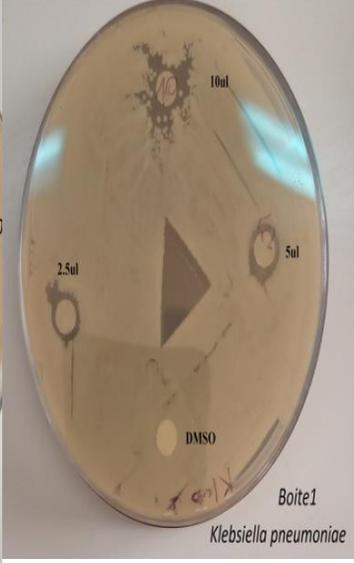
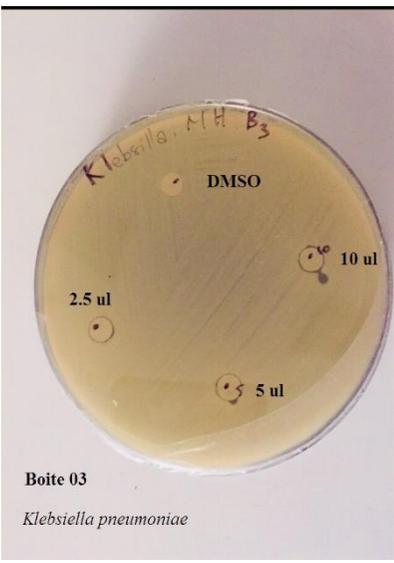
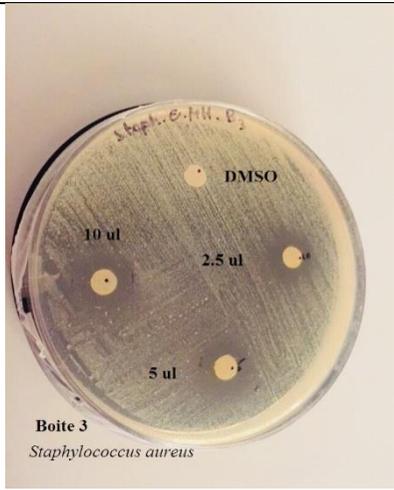


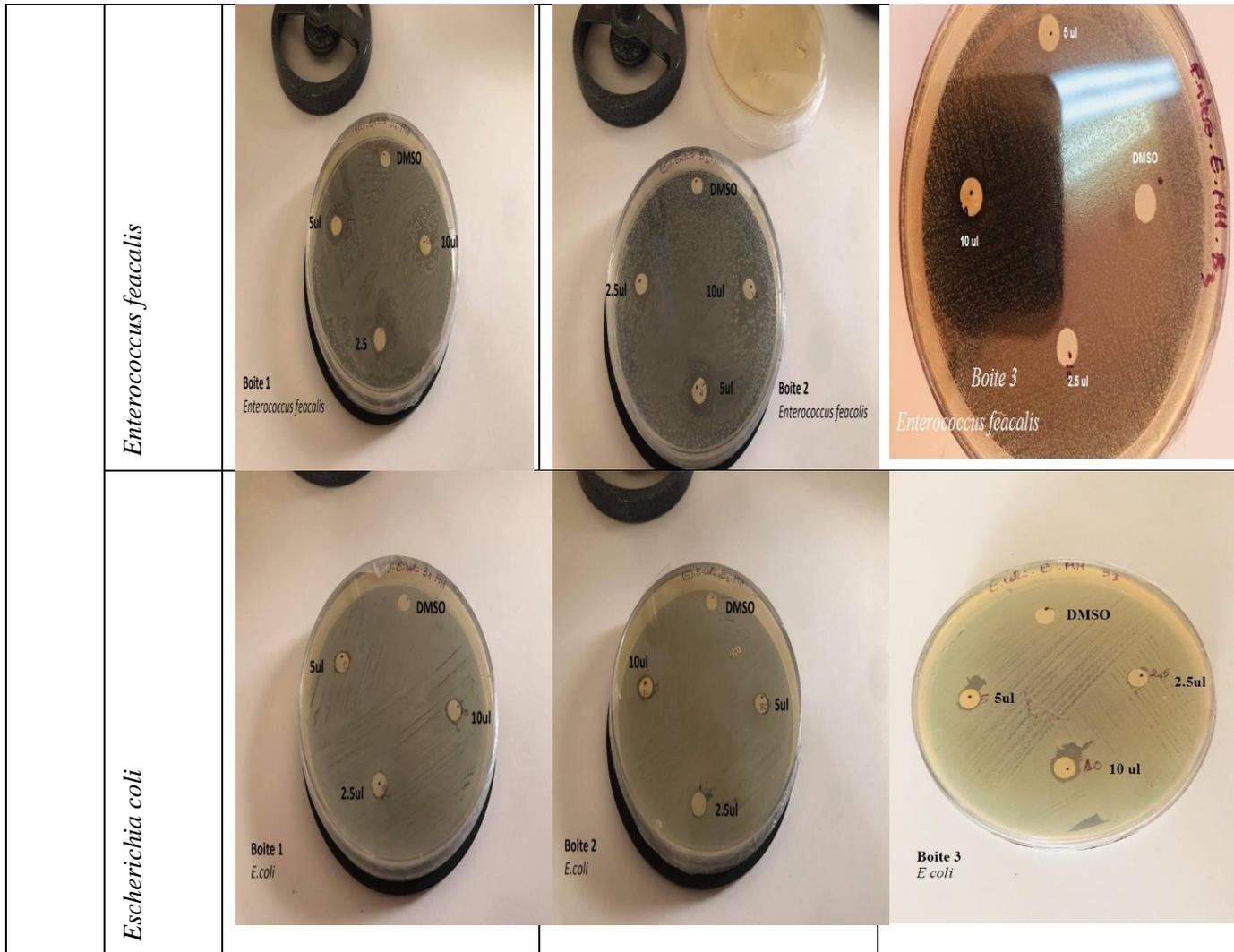
**Figure :** Préparation standard de McFarland( photo personnelle ,2020).

4-Les résultats d'activité antibactérienne d'huile essentielle pure d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Romarinus officinalis*:

	Les souches	Boite 1	Boite 2	Boite 3
L'HE de <i>Romarinus officinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	 <p>Boite 2 <i>Staphylococcus aureus</i></p>	 <p>Boite 1 <i>Staphylococcus aureus</i></p>	 <p>Boite 3 <i>Staphylococcus aureus</i></p>

<p><i>Enterococcus faecalis</i></p>	 <p>Boite 01 <i>Enterococcus faecalis</i></p>	 <p>Boite 02 <i>Enterococcus faecalis</i></p>	 <p>Boite 03 <i>Enterococcus faecalis</i></p>
<p><i>Escherichia coli</i></p>	 <p>Boite 01 <i>E. coli</i></p>	 <p>Boite 02 <i>E. coli</i></p>	 <p>Boite 3 <i>Escherichia coli</i></p>

	<p><i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	 <p>Boite 2 <i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	 <p>Boite 1 <i>Klebsiella pneumoniae</i></p>	 <p>Boite 03 <i>Klebsiella pneumoniae</i></p>
<p><i>l'HE d' Eucalyptus camaldulensis</i></p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i></p>	 <p>Boite 1 <i>Staphylococcus aureus</i></p>	 <p>Boite 2 <i>Staphylococcus aureus</i></p>	 <p>Boite 3 <i>Staphylococcus aureus</i></p>



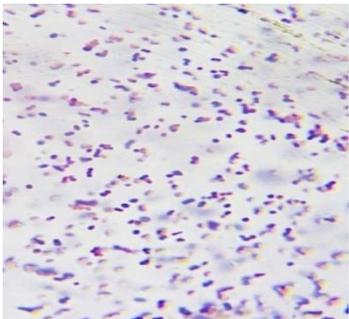


## Annexes

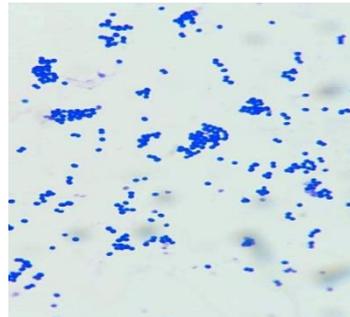
5-Diamètre des zones d'inhibitions pour chaque essai avec les quatre souches pour les deux HE d'*Eucalyptus camaldulensis* et *Romarinus officinalis*

		L'HE de <i>Romarinus officinalis</i>			L'HE d' <i>Eucalyptus</i> <i>camaldulensis</i>				
Concentration des huiles pure		10ul	5ul	2,5ul	10ul	5ul	2,5ul	DMSO	
Les souches	Les boites	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 1	Essai 2	Essai 3		
		D (mm)							
Gram positives	<i>Staphylococcus aureus</i>	Boite 01	7	6.5	6	17	15	13	0
		Boite 02	8	7	6	20	15	10	0
		Boite 03	9	7	6.5	16	13	12	0
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Boite 01	14	11	9	11	10	9	0
		Boite 02	9	8	7	12.5	11	8	0
		Boite 03	6	6	6	8.5	7.5	6.5	0
Gram négatives	<i>Escherichia coli</i>	Boite 01	13	11	9	7.5	6.5	6	0
		Boite 02	9	8	7	8	7	6.5	0
		Boite 03	7.5	7	6.5	9	7	6.5	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Boite 01	12	10	8	10	8	7	0
		Boite 02	8	9	7	8	7	6	0
		Boite 03	8.5	7.5	6.5	7	6.5	6.5	0

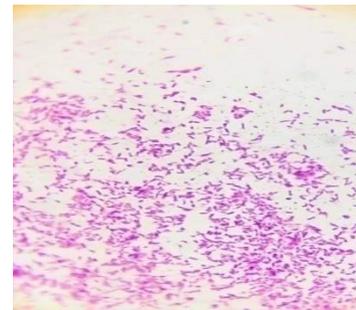
**6. les quatre souches testées Sous microscope Après coloration de Gram**



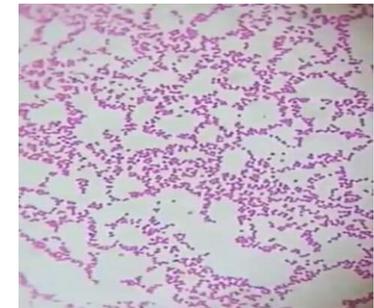
*E. faecalis*



*S. aureus*



*E. coli*



*K. pneumoniae*