

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale .

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Propriétés antimicrobiennes d'un Eucalyptus Algérien et formulation d'un gel hydro alcoolique

Présenté par : HAMZA Hadil

Le 21 /06/2023

LALMI Imane

RASENADJA Djihad

Jury d'évaluation :

Président : Pr MENAD Ahmed (Prof - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Dr ATMANI-MERABET Ghania (MCA - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Examinatrice : Dr DEKDOUK Nadia (MCB- Université Chahid Mostafa Benboulaïd, Batna 2).

Année universitaire
2022 - 2023

Remerciements

On remercie Dieu pour la santé, la volonté, le courage et la détermination qui nous ont accompagnés tout au long de la préparation et l'élaboration de ce manuscrit

Nous tenons tout particulièrement à remercier infiniment et profondément

***Dr Atmani-Merabet Ghania** pour son encadrement et ses constantes orientations en y accordant une méticuleuse attention, ainsi que pour ses conseils, sa disponibilité, sa gentillesse et son extrême amabilité malgré sa grande charge de travail.*

*Nous remercions chaleureusement **Pr Menad Ahmed** qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette soutenance et **Dr Dekdouk Nadia** qui a généreusement accepté d'examiner notre travail.*

*Nos sentiments de reconnaissance et de remerciement vont à **Mme Bekka Amel** Responsable du laboratoire de pharmacie galénique pour son aide pratique et son soutien.*

*Un grand merci pour **Mr Debbi Ali** le responsable du laboratoire de « Mycologie », sans oublier **Mme Ikhlf Assia** la responsable du laboratoire de « Bactériologie et virologie » au Crbt de Constantine.*

*Nos remerciements vont également à **Mme Boulahbel Houda**, **Mr Hakkoum Haimed** et **Mme Meghezzi Asma** ingénieurs au Crbt.*

Toute notre reconnaissance à nos enseignants de Toxicologie que nous avons eu l'honneur d'avoir durant notre parcours universitaire.

A tous nos collègues du master de la promotion 2022-2023.

Enfin, à tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réussite de nos études et à ceux qui liront ce travail.

Dédicace

*A ma mère chérie **Benchikfi Meriem**, aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer la profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect que je vous porte pour ton amour, ta compréhension et ton écoute permanente, que Dieu vous bénisse.*

*A mon père bien-aimé **Hamza Bachir**, qui m'a toujours poussée à aller de l'avant et qui m'a appris les vraies valeurs de la vie ainsi que pour ses précieux conseils, encouragements et la confiance qu'il m'a donnée.*

*A ma jolie sœur **Hanine**, mes adorables frères **Mohamed Abd ElDjalil** et **Abderrahim**, pour leurs soutien et leur amour.*

*A ma grand-mère **Brik Fatiha**, qui m'a toujours motivée et soutenue dans mon parcours universitaire.*

*A tous mes oncles, mes tantes, chacun par son nom en particulier **Lala** mon cher oncle **Lamine** et sa famille qui se trouve à l'étranger.*

*A tous les membres des familles **Hamza**, **Benchikfi** et **Brik***

*A tous mes cousins et cousines, particulièrement **Feriel** que je considère comme une sœur.*

*A tous mes enseignants, mes chers amis, mes collègues de Promo, mon binôme **Imane** et **Djihad** et tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

Hadil

Dédicace

*Avant tout, je rends grâce à Dieu de m'avoir donné le courage de terminer
ce travail que je dédie particulièrement*

*A ma très chère Maman **AMIAR NADJIBA**, symbole de la bonté et de la
générosité. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer
ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé
de me donner depuis ma naissance.*

*Mon père **LALMI ABDLALLI** qui m'a tout donné, qui s'est battu
pour que je puisse étudiée dans de très bonnes conditions.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidée et encouragée, qui étaient
toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnée durant ma vie, mes grands
parents.*

*A tous mes oncles, mes tantes, mes chères sœurs **Rihab, Aya, Ritaj, Arij,**
ma petite princesse **Farah**, et mon frère **Yasser** pour leur
présence dans ma vie et leur soutien moral*

*A mon binôme **Hadil, Djihad** et leur familles*

*A mes amies **Sirine et Elbatoul.***

*Mes dédicaces vont également à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de
loin et à toute personne qui un jour lira ce document.*

IMANE

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A la mémoire de tous ceux que j'ai perdu et qui sont toujours
dans mon cœur*

A mes grands-parents et mes parents

*A ma chère Karima, ma deuxième mère Souhaila et toutes
mes tantes*

A Mes chères frères Oussama et Fateh

*A Ismail et toute personne qui ma soutenue et aidée
de près ou de loin*

A toute ma famille

*A tous mes enseignants, mes amis, mon binôme Hadil et Imane
et toute la promotion de Toxicologie 2022-2023.
J'ai passé des jours inoubliables avec vous.*

Djihad

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
(1)	Production mondiale de dix plus importantes huiles essentielles.	11
(2)	Composition chimique de l'espèce <i>E.globulus</i> .	18
(3)	Formulation des solutions hydro alcoolique selon l'OMS.	24
(4)	Description des souches bactériennes utilisées.	28
(5)	Concentration de l'huile essentielle d'Eucalyptus sp	35
(6)	Rendement de l'huile essentielle d'Eucalyptus sp.	43
(7)	Rendement d'Eucalyptus dans différents régions d'Algérie.	43
(8)	Densité de différentes espèces d'Eucalyptus en Algérie et dans le monde.	45
(9)	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus sp.	46
(10)	Diamètres des zones d'inhibition d'Eucalyptus sp.	47
(11)	L'activité fongique des différentes dilutions d'HE d'Eucalyptus sp	52

Liste des Figures

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Figure 1	Organes sécréteurs chez les plantes.	4
Figure 2	Isoprène (2-méthyl buta-1.3-diène).	5
Figure 3	Structure de quelques monoterpènes.	5
Figure 4	Structure de quelques composés aromatiques.	6
Figure 5	Modes d'extraction des huiles essentielles.	7
Figure 6	Montage d'extraction par hydrodistillation.	8
Figure 7	Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.	8
Figure 8	Répartition des huiles essentielles par secteur de marché.	12
Figure 9	Répartition des Myrtacées dans le monde.	13
Figure 10	Répartition des forêts d' <i>Eucalyptus</i> dans le monde.	14
Figure 11	Arbre d' <i>Eucalyptus</i> .	15
Figure 12	Feuilles d' <i>Eucalyptus</i> .	16
Figure 13	Fleurs et fruits (capsules, boutons floraux) d' <i>Eucalyptus</i> .	16
Figure 14	Lignotuber d' <i>Eucalyptus caesia</i> .	17
Figure 15	Étapes de production de gel désinfectant selon l'OMS.	24
Figure 16	Protocole du bon usage des solutions hydro alcooliques selon l'OMS.	25
Figure 17	Plan parcellaire de l'arboretum de Draa Naga.	26
Figure 18	Dispositif de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau.	27
Figure 19	Préparation des disques.	29
Figure 20	La gélose de Mueller Hinton stérile est coulée dans boîtes de Pétri.	30
Figure 21	Préparation des dilutions.	30
Figure 22	Ensemencement sur milieu solide à l'aide d'écouvillon geltli.	31
Figure 23	Numérotation des boîtes de Petri et placement les disques sur leur surface.	32
Figure 24	Champignon <i>Fusarium oxysporum</i> .	33
Figure 25	Les différentes étapes de la préparation de milieu de culture PDA.	35
Figure 26	Préparation des dilutions.	36

Figure 27	Les différentes étapes de la méthode de contact direct utilisée pour tester la sensibilité de <i>F.oxysporum</i> vis-à-vis de l'huile essentielle d'Eucalyptus.	38
Figure28	Matériel utilisé pour la préparation du gel hydro alcoolique.	40
Figure 29	Les différentes étapes de la préparation du gel hydro alcoolique.	42
Figure 30	Rendements d'Eucalyptus sp en Algérie	44
Figure 31	Huile essentielle d' <i>Eucalyptus sp.</i>	46
Figure 32	Activité antibactérienne des différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus sp.</i>	48
Figure 33	Activité antibactérienne de l'HE d' <i>Eucalyptus sp</i> de la région de Constantine.	49
Figure 34	Morphologie de la croissance Mycélienne de FOL après 4 jours d'incubation.	51
Figure 35	Effet de l'HE d' <i>Eucalyptus</i> sur la croissance mycélienne de FOL.	51
Figure 36	Effet de l'huile d'Eucalyptus sur le Taux d'inhibition de la croissance de <i>Fusarium oxysporum</i> après 96 heures.	53
Figure 37	Caractéristiques du gel hydro alcoolique <i>EUCAL- GEL</i>	55
Figure 38	Etiquette du gel hydro alcoolique <i>EUCAL- GEL</i>	55
Figure 39	Flacons du gel hydro alcoolique <i>EUCAL- GEL</i>	56

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française De Normalisation.

CG : La chromatographie en phase gazeuse.

CG/SM : La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.

CRBT : Centre de Recherche de Biotechnologie de Constantine.

D : Diamètre.

d exp : densité expérimentale

DGF : Direction générale des forêts.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

E : Eucalyptus.

FOL: *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici.

HE : Huile essentielle.

HEs : Huiles essentielles.

HSV : L'Herpes Simplex Virus.

ISO : Organisation internationale de Normalisation.

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

MH : Muller Hinton.

ml : Millilitres.

mm: Millimètres.

mg : Milligrammes.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PDA : Potato Dextrose Agar.

<i>Sommaire</i>	
Sommaire.....	IX
Introduction.....	1
<i>Chapitre 1 : Aperçu bibliographique</i>	
I-Généralités sur les huiles essentielles	
1-Historique	3
2-Définition	3
3-Origine et localisation	3
4-Rôle des huiles essentielles	4
5-Composition chimique	5
6-Notion de chémotype	6
7-Propriétés physicochimiques	6
8-Méthodes d'extraction des huiles essentielles	7
9-Contrôle de qualité et méthodes d'analyses des huiles essentielles	9
10-Propriétés des huiles essentielles	9
11-Conservation des huiles essentielles	10
12-Marché mondial des huiles essentielles	10
<i>II- Le genre Eucalyptus</i>	
1-Historique	13
2-Présentation botanique	15
3-Classification	17
4-Principaux composants du genre Eucalyptus	18
5-Huiles essentielles d'Eucalyptus	19
6-Utilisation d'Eucalyptus	19
7-Activités des Eucalyptus	20
7-1-Activité antibactérienne	20
7-2-Activité antifongique	20
7-3-Activité anti oxydante	20
7-4-Activité anti virale	21
8-Toxicité des Eucalyptus	21

9-Eucalyptus et le coronavirus (COVID-19)	22
<i>III - Solutions Hydro alcooliques</i>	
1-Définition	23
2-Composition	23
3-Formulations selon l’OMS	24
4-Protocole de préparation du gel selon l’OMS	24
5-Protocole du bon usage du gel selon l’OMS	25
<i>Chapitre II : Matériel et méthodes</i>	
1-Travaux antérieurs	26
1-1-Préparation du matériel végétal	26
1-2-Extraction de l’huile essentielle	26
1-Détermination du rendement et de la densité	27
2-1-Détermination du rendement en huile essentielle	27
2-2-Mesure de la densité relative	28
3-Activité antibactérienne de l’huile essentielle	28
3-1-Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)	29
3-2-Préparation des disques	29
3-3-Préparation des boites de pétri	29
3-4-Préparation des différentes concentrations de l’huile essentielle	30
3-5-Préparation de l’inoculum	31
3-6-Ensemencement de dépôt des disques	31
3-7-Expression des résultats	33
4-Activité antifongique de l’huile essentielle	33
4-1-La souche fongique	33
4-2-Préparation du milieu de culture PDA	34
4-3-Préparation des différentes concentrations de l’huile essentielle	35
4-4-Préparation des boites de pétri	36
4-5-Expression des résultats	38
5-Préparation semi solide pour application cutanée : les gels	39
5-1-Définition	39
5-2- Matériel nécessaire pour la préparation du gel hydro alcoolique	39
5-3 Composition du gel hydro alcoolique	39

5-4 Mode opératoire	40
<i>Chapitre III : Résultats et discussion</i>	
1-Densité et rendement de l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus	43
1-1-Rendement	43
1-2-Densité	45
1-3-Caractéristiques organoleptiques	46
2-Activités antimicrobiennes de l'huile essentielle d'Eucalyptus	47
2-1-Activité antibactérienne	47
2-2-Activité antifongique	50
3-Préparation d'un gel hydro alcoolique	54
Conclusion générale	
Références bibliographiques	
	58

Introduction

« La médecine traditionnelle qui est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques reposant rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture, est utilisée pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales » (**selon l'OMS, 2019**). La survie de l'Homme allait dépendre des plantes surtout parce que trois de ces acides gras vitaux ne sont présents que chez les plantes. Aujourd'hui alors qu'on rejette les effets secondaires de certains médicaments modernes puissants, les plantes retrouvent leur place dans notre vie quotidienne. Elles sont utilisées comme diurétique, astringente, dans le traitement des blessures, des rhumatismes, de la fièvre et des douleurs (notamment comme anti-inflammatoire) ainsi que dans différents secteurs : pharmacie, cosmétique et agroalimentaire.

La phytothérapie est très répandue dans la société algérienne, où de nombreuses plantes et leurs extraits sont utilisés en thérapie traditionnelle. L'utilisation de ces plantes n'est pas spécifique aux maladies bénignes, mais s'étend également aux maladies incurables ce qui permis de répertorier un certain nombre de maladies chroniques (**Hamel et al., 2018**).

L'Algérie par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces des plantes vasculaires. **Dobignard et Chatelain, 2013** ont spécifié les plantes de la famille des *Myrtaceés*, du genre *Eucalyptus* qui ont suscité beaucoup d'intérêt scientifique dû au fait qu'elles présentent une source d'antifongique naturels et de molécules biologiquement actives. Par ailleurs, beaucoup d'études récentes ont souligné les propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-infectieuses, antispasmodiques, insecticides et acaricides de l'huile essentielle des espèces d'*Eucalyptus* (**Atmani-Merabet et al., 2018, Barbosa et al., 2016 ; Koziol, 2015 ; Soidrou, 2018 ; Tolba, 2017**).

L'objectif de notre travail est donc de mettre en évidence l'importance des plantes de la famille des Myrtacées à travers une étude de l'activité antimicrobienne et la formulation d'un gel hydro-alcoolique d'une espèce du genre *Eucalyptus*.

Ce mémoire est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre est un aperçu bibliographique sur les huiles essentielles, le genre Eucalyptus, et sur les solutions hydro alcooliques. Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et des méthodes utilisés dans cette recherche. Enfin dans le troisième chapitre sont exposés les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Notre étude se termine par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Aperçu bibliographique

I- Généralités sur les huiles essentielles

1- Historique

L'utilisation des huiles essentielles (HEs) remonte aux plus anciennes civilisations, les aborigènes d'Australie et les chinois en l'an 4000 avant Jésus Christ utilisaient les plantes aromatiques pour leurs vertus médicinales, les égyptiens embaumaient leurs morts avec l'huile de bois de cèdre, les grecs utilisaient les parfums comme anti-inflammatoire, enfin Ibn Senna célèbre médecin et philosophe ouvrit l'œil des arabe sur la branche de la phytothérapie «l'aromathérapie» qui désigne l'utilisation des plantes dans le but de traiter des pathologies et d'améliorer la santé corporelle par l'extraction d'huile essentielle pure par distillation à la vapeur d'eau. Au début du XX^{ème} siècle le père de l'aromathérapie un français du nom de René Maurice Gattefossé (1881-1950), s'investit dans l'étude des huiles essentielles et de leurs vertus médicinales.

Depuis, les gens se sont beaucoup intéressés aux moyens naturels pour se soigner et minimiser ainsi l'utilisation des médicaments qui présentent des effets secondaires souvent néfastes.

2- Définition

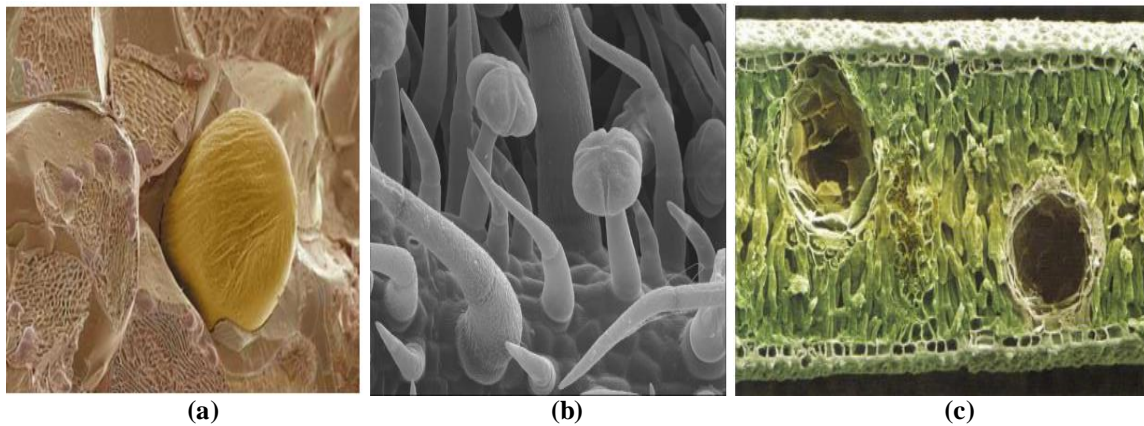
L'huile essentielle, essence ou également appelée huile volatile, est l'ensemble d'extraits volatils de composition complexe obtenu des plantes aromatiques. L'Association Française de Normalisation (**Afnor, 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

3- Origine et localisation

Les huiles essentielles sont synthétisées par les végétaux supérieurs, il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles dont les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae, les Lauraceae et les Myrtaceae. La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées souvent localisées tels que : les poches sécrétrices chez les Myrtacées et les Rutacées, les canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asterraceae, les poils sécréteurs des

Lamiaceae, et les cellules sécrétrices des Zingiberaceae et des Lauraceae. (Figure 1) **(Bruneton, 1999).**

L'accumulation des HEs peut être dans toutes les parties de la plante : sommités fleuries (Lavande), feuilles (Eucalyptus, Thym), écorces (Cannelier), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis).



(a) Cellule sécrétrice d'huile essentielle dans un rhizome de gingembre
 (b) Poils sécréteurs présents sur la face inférieure d'une feuille de tomate
 (c) Poches sécrétrices d'une feuille d'eucalyptus citronné

Figure 1 : Organes sécréteurs chez les plantes
(Robin Deschepper, 2017)

4- Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles permettent d'éloigner les maladies, les parasites, mais aussi jouent un rôle protecteur face aux rayonnements du soleil. Elles jouent un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs. Chaque huile essentielle ne possède pas qu'une action unique. Elle peut avoir de multiples propriétés : antiseptique, diurétique, tonique, antispasmodique, antirhumatisme, antitussive et autre, et ceci du fait de ses éléments chimiques variés. Si leur composition est complexe, les huiles essentielles sont cependant caractérisées par deux à trois composés majoritaires présents relativement en forte concentration de 20 à 70% par rapport aux autres constituants présents parfois sous forme de traces. Ce sont eux qui donnent aux huiles essentielles leurs propriétés thérapeutiques **(Mehani, 2015).**

5- Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables des constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques, les terpénoïdes et les composés aromatiques (**Bruneton, 1999**).

a) Terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (Figure 2).

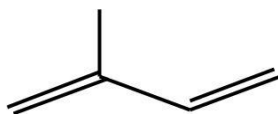


Figure 2: Isoprène (2-méthyl buta-1,3-diène)

Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et quelques diterpènes. Les terpènes sont de structure très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques (**Bruneton, 1999**). (Figure 3)

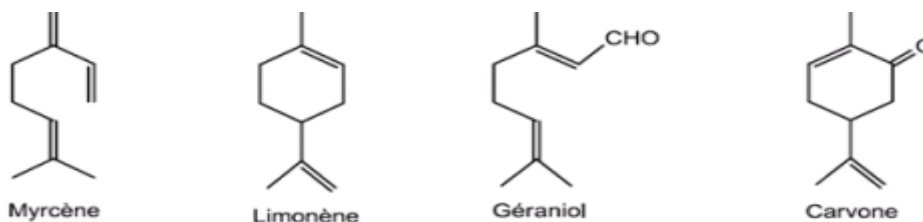


Figure 3 : Structures de quelques monoterpènes

b) Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane sont moins fréquents, mais néanmoins très importants: eugénol, anéthol, vaniline... (Figure 4). Ces composés constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères olfactifs organoleptiques des huiles essentielles par exemple, l'eugénol est responsable de l'odeur du clou de girofle (**Hurtel, 2006**).



Figure 4 : Structures de quelques composés aromatiques

6- Notion de chémotype

La composition chimique de l'huile essentielle peut varier à l'intérieur d'une même espèce, on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Le chémotype, associé à la dénomination botanique de la plante, désigne la ou les molécules actives majoritairement présentes dans l'huile essentielle, c'est sa carte d'identité obtenue grâce à une technique d'analyse pratiquée au laboratoire : la chromatographie. Cette variation peut être due à des facteurs exogènes comme : l'ensoleillement, la nature et les composants du sol, la température et l'altitude et aux facteurs endogènes tels que: la composition génétique des individus. On citera comme exemple : l'espèce *E.globulus* de Constantine est riche en 1,8-cinéole (78,45%) (**Atmani-Merabet et al., 2018**), alors que la même espèce récoltée à Bejaia et à Ain Defla présente un taux en 1,8-cinéole de 55,3% et 48,6% respectivement (**Bey-Ould Si Said et al., 2015 ; Chiba, 2018**). Par ailleurs, on a remarqué que le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57%, alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière contient 75% de chavicol (**Franchomme, 1990**).

7 - Propriétés physico chimiques

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène, Les principales caractéristiques sont:

- ◆ Liquides à température ambiante
- ◆ N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes
- ◆ Volatiles et très rarement colorées
- ◆ Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en Monoterpènes
- ◆ Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en Monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en Monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse

- ◆ Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau
- ◆ Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques
- ◆ Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air. (Atmani-Merabet, 2018 ; Bruneton, 2009 ; Mehani, 2015)

8- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi, les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes (Mehani, 2015). Les méthodes traditionnelles et commerciales utilisées pour extraire les HEs sont (figure 5):

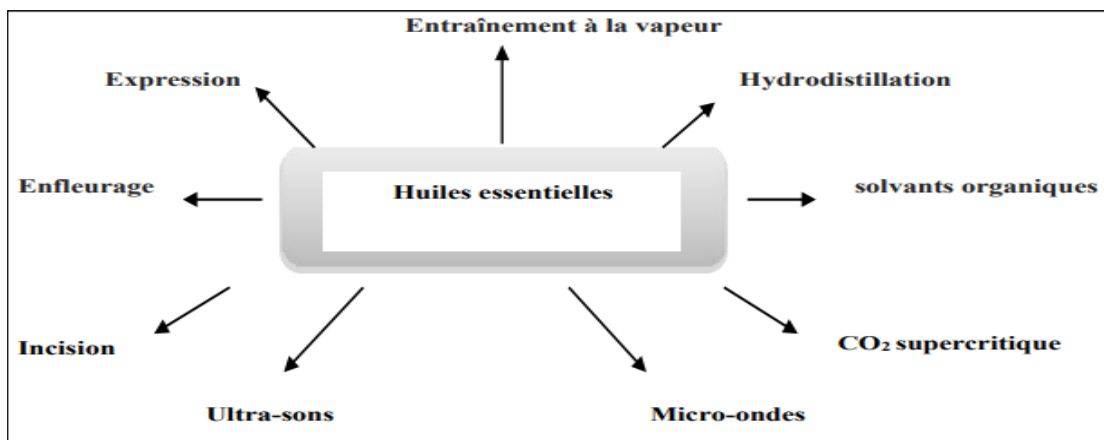


Figure 5 : Modes d'extraction des huiles essentielles
(Ouis, 2015)

a) Hydrodistillation

Elle consiste à émerger directement la matière végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur la première surface et les huiles essentielles sont séparées par différences de densité (Bruneton, 1987) (Figure 6).



Figure 6 : Montage d'extraction par hydrodistillation

(Atmani-Merabet, 2018)

b) Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Ce courant de vapeur entraîne les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile essentielle et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat (**Figure 7**) (Sarni et Yelles, 2017).



Figure 7 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau

(Photo personnelle : Laboratoire de chimie pharmaceutique,
Université Constantine1, 2023)

9- Contrôle de qualité et Méthodes d'analyses des huiles essentielles

Selon la pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques: indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (**Abbes, 2014**). Ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité.

Les méthodes de détermination des caractéristiques physico- chimiques à utiliser sont décrites avec précision dans le recueil de normes publiées par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), elles-mêmes identiques aux normes internationales de l'ISO (International Organization for Standardization) (ISO, 1997) (**Bouguera, 2012**).

Deux autres types d'analyse qui ont pour but d'identifier les différents constituants de l'huile essentielle afin d'en connaître la composition chimique: la chromatographie en phase gazeuse CG et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse CG/SM. La chromatographie en phase gazeuse CG est utilisée pour l'analyse quantitative et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS pour l'analyse qualitative (**Sarni et Yelles, 2017**).

10- Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées en phytothérapie à cause de leurs nombreuses propriétés biologiques qui sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et aux groupements ou fonctions chimiques qu'elles possèdent (**Touhami, 2017**).

Si une huile essentielle, en fonction de son composant principal, possède une activité « importante », elle présentera toujours d'autres activités. Celles-ci sont liées à ses multiples molécules majeures ou mineures (la lavande, par exemple, contient plus d'un millier) (**Lahlou, 2004**). Ainsi, certaines huiles essentielles sont à la fois bactéricides, virucides, acaricides, fongicides et insecticide. Ce qui n'est pas le cas de médicament classique qui ne

contient qu'une ou deux molécules actives, et est donc ciblé sur une pathologie ou un symptôme bien précis. Beaucoup de recherches et d'études scientifiques ont démontrés les activités des HES qui peuvent être anti-infectieuses, anti-inflammatoires, antispasmodiques, antimicrobiennes, anti-oxydantes, cytotoxiques et anticancéreuses. Ce sont des agents antimicrobiens à large spectre et sont utilisées comme pesticide dans la lutte biologique contre les ravageurs et les acariens (Ayad, 2017; Atmani-Merabet *et al.*, 2018; Atmani-Merabet *et al.*, 2020; Dosoky et Setzer, 2018 ; Lanseur, 2017; Manciaty et Ebani, 2020 ; Le Hir *et al.*, 2016 ; Sharifi-Rad *et al.*, 2017).

11- Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative de molécules qui constituent les HES rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

La température : obligation de stockage à basse température (entre 8° et 25°C).

La lumière : stockée dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brune de préférence.

L'oxygène : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recouvrir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans (Bruneton, 1999).

Les règles d'emballage, de conditionnement et de conservation ont été établies par l'agence française de normalisation (AFNOR), dans sa norme NFT75-001 (1996) ou par l'organisation internationale de normalisation (ISO) dans sa norme ISO/TR210 (1999).

12- Marché mondial des huiles essentielles

Sur les 3 000 huiles essentielles connues, environ 150 sont commercialisées sur les marchés mondiaux (Onder *et al.*, 2018). La première en tonnage est l'huile essentielle d'orange, suivie de la menthe des champs et du citron (France AgriMer, 2020). Celles-ci représentent à elles trois, plus des deux tiers de la production mondiale d'huiles essentielles.

Le Brésil est aujourd'hui le plus gros producteur d'huile essentielle d'orange, l'Inde pour la menthe, l'Argentine pour le citron, la Chine pour l'eucalyptus, l'Australie pour l'arbre à thé, la France et la Bulgarie pour la lavande et Madagascar pour le clou de Girofle. Le tableau 1 montre la production mondiale des 10 plus importantes huiles essentielles.

**Tableau1: Production mondiale des dix plus importantes huiles essentielles
(France AgriMer, 2020)**

Huile essentielle	Estimation de la production	Pays producteurs
Orange (douce)	49 000 Tonnes	Brésil, États-Unis, Dominique, Italie, Espagne, Argentine
Menthe des champs (<i>Mentha arvensis</i>)	42 000 Tonnes	Inde, Chine, Brésil
Citron	9 000 Tonnes	Argentine, Italie, États-Unis, Brésil
Eucalyptus (<i>Eucalyptus globulus</i> et <i>radiata</i>)	4 000 Tonnes	Chine, Inde, Australie, Brésil
Menthe poivrée (<i>Mentha x piperita</i>)	3 500 Tonnes	Inde, États-Unis
Citronnelle	3 000 Tonnes	Chine, Indonésie, Inde
Clou de girofle	2 500 Tonnes	Madagascar, Indonésie, Tanzanie, Sri Lanka, Inde
Menthe douce (ou menthe verte : <i>Mentha spicata</i>)	2 000 Tonnes	États-Unis, Inde, Chine
Cèdre	2 000 Tonnes	Chine, États-Unis, Inde, Maroc
Lavandin	1 700 Tonnes	France, Espagne

Les huiles essentielles sont destinées avant tout au secteur agroalimentaire (35%), elles trouvent également des débouchés dans l'industrie cosmétique (29%) (Comme parfum ou produit antibactérien dans les produits d'hygiène, le maquillage, etc.), dans les produits ménagers (17%) (Comme parfum dans les lessives et détergents), dans le secteur pharmaceutique (16%), en tant que substance active. Les huiles essentielles sont aussi le pilier de l'aromathérapie (utilisation médicale des huiles essentielles) et sont aussi utilisées comme pesticides (Ecotoxicologie.fr) (Figure 8).

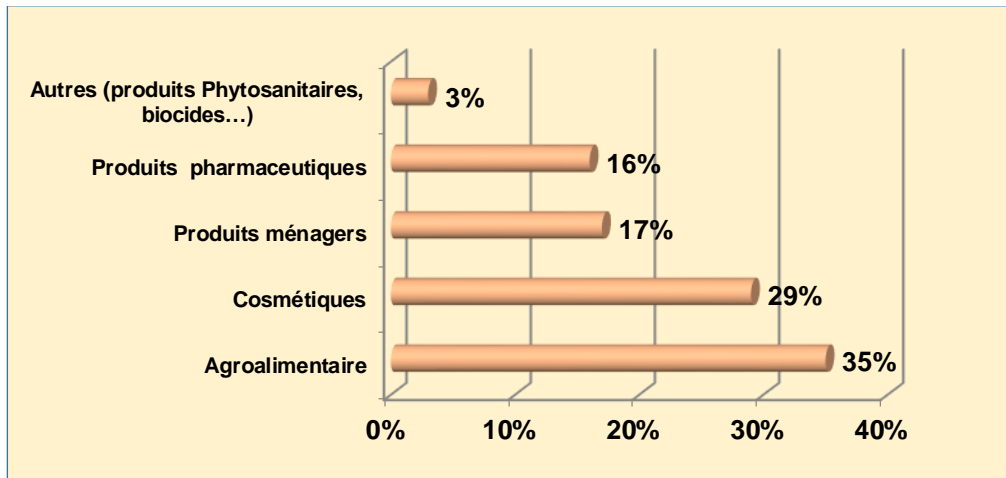


Figure 8 : Répartition des huiles essentielles par secteur de marché
(Figure personnelle, 2023)

L'Algérie malgré sa grande richesse floristique et sa biodiversité est absente sur le marché international des HEs et des plantes aromatiques, sa part du marché mondial est presque inexistante. Si l'on considère les moyennes analysées pour les principaux pays exportateurs et importateurs, l'Algérie reste à des taux insignifiants sur le marché mondial de 0,0007%. Beaucoup reste à faire pour développer ce créneau à commencer par l'identification de ces richesses. Les données autour de cette filière ne sont pas disponibles, et ce n'est que récemment que la direction générale des forêts (DGF) a entamé une étude pour évaluer les ressources nationales en plantes aromatiques et médicinales, en partenariat avec des centres de recherche. Ce retard a fait perdre à l'Algérie sa place sur le marché mondial selon différentes études (Sheriff, 2019).

II- Le genre Eucalyptus

Les Myrtaceae ou Myrtacées sont des arbres et des arbustes souvent producteurs d'huiles aromatiques. Cette famille comprend environ 140 genres et plus de 3000 espèces répartis dans des zones tempérées subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, en région méditerranéenne, en Afrique subsaharienne, à Madagascar, en régions tropicales et tempérées d'Asie, et dans les îles du Pacifique (figure 9) (**Bruneton, 1999**). De très nombreuses Myrtacées ont été introduite en Algérie comme arbres d'ornement ou bien de reboisement en particulier les Eucalyptus (**Quézel et Santa, 1963**). Dans cette famille des plantes dicotylédones, le genre principal est Eucalyptus (**Martin, 2013**).

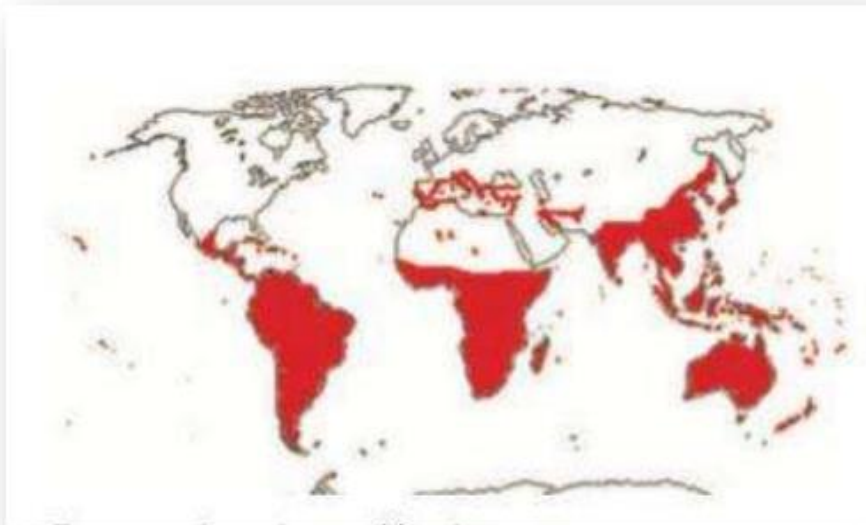


Figure 9 : Répartition des Myrtacées dans le monde

(Géraldine, 2013)

1- Historique

Originaire d'Australie, L'Eucalyptus est l'un des principaux genres forestiers plantés dans le monde, il compte environ 600 à 700 espèces et variétés (**Warot, 2006**). Ce genre possède une exceptionnelle capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît, il assèche rapidement les marais qu'il colonise et il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria, d'où le nom « d'arbre à la fièvre » ou « Australian fever tree ». Il est également connu sous le nom de : gommier bleu ; arbre au Koala et huile de respiration. La répartition de la plante

compose plus de 90% de forêts naturelles. On trouve ce genre également en Tasmanie (île d'Océanie au sud-est du continent australien) et dans les îles indonésiennes. Le genre est très vaste puisqu'on en dénombre plus de 600 espèces (**Melun, et al., 2011**).

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être *E. camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donnés des hybrides dont *Eucalyptus algériensis*. Dans les années 40 et 50 les Eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi-arides. Des pieds d'Eucalyptus ont été plantés à travers tout le pays (**Nait Achour, 2012**). Les Eucalyptus ont été utilisés récemment dans les reboisements industriels, particulièrement dans la région d'El Kala, (L'Est Algérien), pour la production de la pâte à papier à courte rotation (10 à 15 ans) (**Laadel, 2014**).

L'Eucalyptus représente l'espèce dominante dans plus de 40 millions d'hectares de forêts naturelles (Figure 10), ses arbres poussent dans une large gamme d'environnements climatiques et de types de sols. Grace à sa capacité d'adaptation, son taux de croissance extrêmement rapide et ses excellentes propriétés de bois et de fibres, le genre est devenu l'arbre forestier le plus largement planté (18 million d'hectares) à l'échelle mondiale, principalement pour le bois à pâte et le bois d'œuvre (**Teulières et al., 2007**).

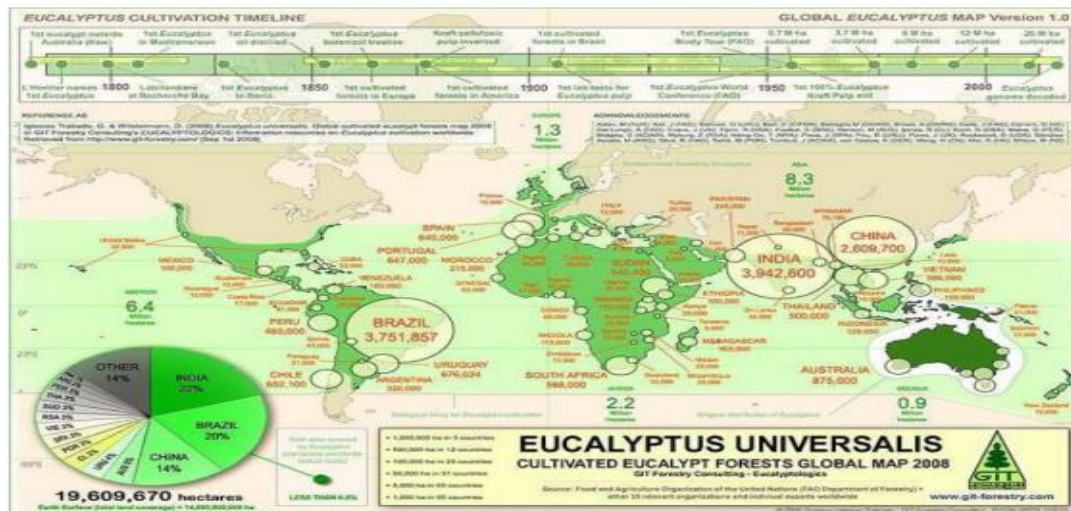


Figure 10 : Répartition des forêts d'Eucalyptus dans le monde (Bouvet, 2013)

Etymologie : «Eu» est un préfixe d'origine grecque et signifiant «bien» et «Kalyptos» veut dire «couverture». Le nom générique signifie donc : «bien couvert», car les pétales et sépales sont soudés.

Origine d'Eucalyptus : Australie où il compose 95% des forêts naturelles, Tasmanie, Malaisie et Iles Indonésiennes.

Noms vernaculaires : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus et Kafor, ces noms sont les plus populaires en Algérie où ils sont utilisés dans différentes régions en Algérie.

Nom commun

- Gommier fait allusion à la gomme résineuse qu'ils exsudent quand ils sont blessés.
- Arbre à fièvre dans les régions où ils sont plantés en prévention du paludisme.

2- Présentation botanique

L'Eucalyptus est un arbre ou un arbuste buissonnant, appelé aussi gommier, par rapport à la gomme résineuse qui s'écoule de ses blessures, La hauteur de l'eucalyptus à maturité varie selon les espèces de 3 à 60 m, pour certaines espèces plus de 90 m de haut (Figure 11).



(a) Arbres d'*Eucalyptus*
(photo personnelle, Université Constantine1, 2023)



(b) Eucalyptus arbre au Koala

Figure 11 : Arbre d'Eucalyptus

La plupart des Eucalyptus ont des feuilles persistantes. Comme les autres membres de la famille des Myrtaceae, les feuilles d'Eucalyptus sont couvertes de glandes à huile. L'abondante

production d'huile est une caractéristique importante de ce genre. Les feuilles, bleutées sur les jeunes arbres sont opposées, sessiles, ovales et glauques, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant (Figure 12).



(a) Jeunes feuilles



(b) Feuilles adultes
(photo personnelle, Université Constantine1, 2023)

Figure 12 : Feuilles d'Eucalyptus

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge. Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol (Figure 13) (Bruneton, 1999).



Figure 13 : Fleurs et fruits (capsules, boutons floraux) d'Eucalyptus
(photo personnelle, Université Constantine1, 2023)

Un lignotuber est un renflement riche en amidon qui se forme sur les racines ou les tiges souterraines de certaines plantes telles que les Eucalyptus. Ce sont une assurance de survie pour les plantes en cas d'incendie ou de prédation par les animaux. Les lignotubers font partie des systèmes de défense active des plantes contre les attaques (Figure 14).



Figure 14: Lignotuber d'*Eucalyptus caesia*

3- Classification

Dans la nouvelle classification établie par le groupe des angiospermes (AGP III, 2009), l'*Eucalyptus* est classé comme suit :

Règne	Plantae
Sous-règne	Trachebionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>

4- Principaux composants du genre *Eucalyptus*

- ✓ Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole (eucalyptol) ; Monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, para-cymène ; Sesquiterpènes : Aromadendrene ; Sesquiterpénols : globulol, lédol) (Figure 10).

- ✓ Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myrcétine, kaempférol et rutine).
- Tanins (**Daroui-Mokaddem, 2011**).

Par ailleurs la majorité des espèces du genre *Eucalyptus* sont à chémotype 1,8-cinéole, toute fois il existe beaucoup d'espèces qui possèdent des composés majoritaires différents du 1,8-cinéole (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition chimique de l'espèce *E.globulus*

Composés principaux	Origines	Références
1,8-cinéole (78,45%) <i>o</i> -cymène (2,18%)	Algérie (Constantine)	Atmani-Merabet <i>et al.</i> , 2018
1,8-cinéole (47,05%) α -pinène (7,69 %) globulol (8,65%)	Algérie (Tizi-Ouzou)	Taleb-Toudert, 2015
1,8-cinéole (22,4%) limonène (7,0%) Solanone (6,1%)	Maroc	Benziane <i>et al.</i> , 2009
1,8-cinéole (53,7%) α -pinène (12,0 %) globulol (7,0%)	Tunisie	Ben Salem <i>et al.</i> , 2012
1,8-cinéole (21,4%) <i>o</i>-cymène (21,4%) α -pinène (6,7%)	Egypte	Bakir <i>et al.</i> , 2016
1,8-cinéole (63,0%) α -pinène (16,1%)	Ethiopie	Mekonnen <i>et al.</i> , 2016
1,8-cinéole (84, 9%) α -pinène (5,6%)	Italie	Casella <i>et al.</i> , 2014
terpinèn-4-ol (23,46 %) γ-terpinène (17,01 %) spathulenol (8,94 %) <i>p</i> -cymène (8,10 %)	Nigéria	Abimbola <i>et al.</i> , 2012

5- Huiles essentielles d'*Eucalyptus*

En raison de leurs vertus sur la santé, les HES d'*Eucalyptus* font partie des huiles les plus utilisées sur le marché et les plus prisées dans le domaine de l'aromathérapie (**Koziol, 2015**). Selon leur composition chimique et le constituant exploité, on peut regrouper ces HES en huiles médicinales, huiles industrielles et huiles de parfumerie (**Abdoul Dorosso, 2002**).

- Les premières HEs produites sont riches en 1,8-cinéole. Le principe actif et le principal constituant des huiles essentielles médicinales est le 1,8-cinéole. Pour qu'une huile essentielle soit médicinale, il faut que la teneur en 1,8 cinéole soit supérieure à 70 % ; elle ne doit pas contenir de phellandrene
- Les HEs industrielles renferment les constituants tels que la pipéritone et l'alpha-phellandrene. Les essences riches en phellandrene sont employées en parfumerie comme désinfectant et dans les savons liquides.
- Très peu d'espèces d'*Eucalyptus* sont exploitées pour la production d'huiles essentielles de parfumerie. Les espèces décrites productrices d'huiles essentielles employées en parfumerie sont : *E. citriodora*, *E. staigeriana* et *E. macarthurii*. Les substances parfumantes de ces huiles sont respectivement le citronellal, le citral et l'acétate de géranyle.

6- Utilisation d'*Eucalyptus*

En thérapeutique, l'*Eucalyptus* est indiqué pour soigner les infections et les inflammations de l'appareil respiratoire tel que le rhume, la bronchite aiguë ou chronique, la toux grasse et la sinusite. La partie utilisée de la plante est la feuille, très odorante, elle est riche en HEs dont le composant majeur est l'Eucalyptol qui possède les propriétés mucolytiques, antitussives, antiseptiques et antibactériennes.

L'usage traditionnel de l'*Eucalyptus* est reconnu par l'OMS. L'arbre est également enregistré dans la liste des plantes médicinales de la Pharmacopée française. Les feuilles d'*Eucalyptus* (*E. globulus*) sont utilisées depuis longtemps pour soulager la fièvre, les symptômes de l'asthme et pour traiter l'inflammation des voies respiratoires de la gorge ou des muqueuses de la bouche. L'huile d'*Eucalyptus* citronné est un remède traditionnel pour éloigner les insectes piqueurs et est très efficace pour prévenir les morsures de sangsues. Enfin, La fumée d'*E. camaldulensis* est employée comme un agent de conservation contre les insectes et les champignons dans les lieux de stockage des denrées alimentaires (**Goldstein, 2000 ; Mehani et Segeni, 2014; Tesche, 2008**).

Pour la pâte à papier, La production mondiale de pâte d'*Eucalyptus* est de plus d'un million de tonnes par an. Tous les types de pâtes à papier sont fabriqués selon des procédés :

chimiques, chimico-mécaniques, semi-mécaniques et mécaniques. Sur ce tonnage global, environ les trois quarts sont produits par l'Australie et le Portugal (FAO, Rome, 1982).

En industrie, presque toutes les espèces d'*Eucalyptus* ont dans leurs feuilles des glandes sécrétant des HEs, qui donnent aux feuilles leur odeur caractéristique. Elles sont constituées de toute une gamme de substances, dont l'ensemble compose l'odeur particulière à chaque espèce, et dans lesquelles on peut distinguer un certain nombre de corps chimiques (pas forcément tous présents dans une même espèce), qui peuvent présenter un intérêt pour l'industrie. Par exemple le 1,8-cinéole est employé en pharmacie et dans les produits détachants, le phellandrene est utilisé dans l'industrie comme solvant et dans la flottation des minerais et l'eudesmol comme fixatif pour parfums (FAO, Rome, 1982).

7- Activités des Eucalyptus

7-1 Activité antibactérienne

Les huiles essentielles d'Eucalyptus possèdent une grande activité contre les bactéries (gram-positives et gram-négatives). L'espèce *E.globulus* est douée d'une activité antibactérienne sur les deux souches: *Bacillus cereus* et *Escherichia coli* (Adouani et Merghadi, 2021), par ailleurs l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* a été active sur *E.coli*, *K.pneumoniae*, *S.aureus* et *P.aeruginosa* (Sahraoui et al., 2022).

7-2 Activité antifongique

Les infections fongiques sont très fréquentes dans notre société. Cette extension est largement favorisée par la prescription de manière abusive des antibiotiques, issus en premier lieu de champignons microscopiques. Les groupes aromatiques du genre Eucalyptus sont actifs sur les champignons (Laurent, 2017).

7-3 Activité anti oxydante

Les activités anti oxydantes sont toutes les substances qui peuvent retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques, la capacité anti oxydante des huiles essentielles d'Eucalyptus est étroitement liée à toute teneur en phénol (Annosh et Fatemeh, 2010).

7-4 Activité anti virale

L'HE d'Eucalyptus possède une activité anti virale notamment sur l'Herpes Simplex virus (HSV). Une fois contaminé par le virus HSV on ne peut pas en guérir totalement ils restent des éléments déclencheur, ce sont des symptômes comme le stress, la fièvre, la fatigue...etc. Les études démontrent que l'HE d'eucalyptus a un fort effet sur ces symptômes (**Koziol, 2015**). Par ailleurs beaucoup d'études ont mis en évidence les activités insecticides, acaricides et anti inflammatoire des Eucalyptus (**Rezzag et Chelgui, 2020 ; Atmani-Merabet et al., 2020 ; Tiss, 2021**).

8- Toxicité des Eucalyptus

L'eucalyptus est toxique pour les humains et les animaux de manière générale. Il contient des glycosides cyanogéniques pouvant libérer de l'acide cyanhydrique, qui agit en bloquant la respiration cellulaire. Seul le koala a développé une résistance à cette toxicité.

Plusieurs cas d'intoxication aux huiles d'eucalyptus ont été observés surtout l'huile d'*E. globulus* et d'*Eucalyptus radiata* notamment chez les enfants avec des symptômes comme : nausées, vomissements, diarrhées, ataxies...etc.

L'huile essentielle d'Eucalyptus est contre-indiquée chez la femme enceinte par ce qu'elle cause des brûlures d'estomac, des nausées, une tachycardie ainsi qu'une hypertension artérielle.

Par voie orale l'huile d'Eucalyptus provoque une irritation des reins à cause des monoterpènes α et β pinène et limonène présents dans les feuilles.

L'huile d'Eucalyptus riche en 1,8-cinéole augmente les sécrétions gastriques et stimule les glandes digestives ce qui entraîne l'apparition d'ulcères d'estomac (**Koziol, 2015**).

9- L'Eucalyptus et le coronavirus (COVID 19)

En décembre 2019, une nouvelle pneumonie à coronavirus (COVID-19) est apparue à Wuhan, en Chine. Depuis lors, ce COVID-19 hautement contagieux s'est propagé dans le monde entier, avec une augmentation rapide du nombre de décès. La nouvelle pneumonie infectée par la COVID-19 se caractérise par de la fièvre, de la fatigue, une toux sèche et de la dyspnée (**Kooraki, 2020**).

Une étude a été menée dans toute l'Algérie, qui a démontré l'utilisation par les algériens des plantes médicinales pour purifier l'air et soulager certains symptômes qui peuvent être liés à des infections respiratoires ou même au coronavirus (**Helali, 2020**).

Avec la propagation rapide de l'infection à coronavirus en Algérie comme dans le monde entier, la prévention reste l'une des meilleures mesures à prendre. Le recours aux remèdes naturel peut également constituer une solution alternative pour renforcer l'immunité, lutter et prévenir cette maladie (**Helali, 2020**).

Le potentiel antiviral de nombreuses huiles essentielles est déjà connu et l'effet de l'eucalyptol (1,8-cinéole) molécule présente dans l'huile essentielle d'Eucalyptus sur la COVID-19 a été évalué. En effet, la recherche a montré qu'il y a une liaison entre l'eucalyptol et une enzyme du virus qui joue un rôle vital dans sa reproduction. Ceci pourrait représenter un traitement potentiel pour inhiber la reproduction du virus (**Peron, 2020**).

Enfin des données expérimentales et cliniques ont montré que l'inhalation d'huile essentielle d'Eucalyptus peut permettre de réduire les symptômes de la COVID-19, tels que la douleur, la toux, l'inflammation des voies respiratoires, l'essoufflement et les facteurs de risque de maladie. Elle peut jouer un rôle comme une méthode préventive complémentaire aux directives de l'Organisation Mondiale de la Santé (**Abbass, 2020**).

III- Solutions hydro alcooliques

En décembre 2019, une nouvelle pneumonie à coronavirus (COVID-19) est apparue à Wuhan, en Chine. Depuis lors, ce COVID-19 hautement contagieux s'est propagé dans le monde entier, avec une augmentation rapide du nombre de décès. La progression de l'épidémie a provoqué une pénurie de gels hydro alcooliques, ce qui a poussé l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a publié un **Guide de Production locale des solutions hydro alcooliques (WHO-IER-PSP-2010.5-fr)**.

1- Définition

Les solutions hydro-alcooliques sont des solutions antiseptiques cutanées. Elles sont employées afin d'assurer l'hygiène des mains, notamment lors des soins médicaux. Elles agissent par contact direct et mécanique (en friction) et s'utilisent sans eau.

Les solutions hydro-alcooliques ont des propriétés bactéricides, virucides et fongicides, sans effet nettoyant. Elles doivent être appliquées sur des mains sèches et non souillées. Elles existent sous deux formes :

- a) **SHA** : solution hydro alcoolique : phase liquide, comportant la substance active à base d'alcool, de l'eau, ainsi qu'un émoullient pour empêcher le dessèchement cutané.
- b) **GHA** : Les gels hydro alcooliques : phase semi-solide caractérisée par une viscosité, ainsi que d'un agent épaississant.

2- Composition

Selon **Madi, 2019**, Les produits hydro-alcooliques renferment trois types de constituants: Le principe actif, l'eau et des émoullients.

a. **Principe actif (alcool)** : Les principaux alcools utilisés sont les suivantes : n-propanol 42%, isopropanol 60%, éthanol 77 %.

Les solutions contenant entre 60 et 80% d'alcool sont les plus efficaces. Les concentrations supérieures à 80% sont moins efficaces, car les protéines sont moins facilement dénaturées en l'absence d'eau

b. Eau : Augmente l'action des alcools qui sera d'autant plus efficace en présence d'eau.

c. Emollients : l'hygiène des mains peut causer une sécheresse de la peau. Les principaux émoullients utilisés sont la glycérine, l'alcool myristique, la triéthanolamine, l'hydroxy urée, la diméthicone (huile de silicone) (Bengaly, 2011).

d- Agent Gélifiant : Ce sont des macromolécules hydrophiles d'origine naturelles semi-synthétiques ou synthétiques. Ce sont des épaississants, en faible quantité ils sont capables de former des gels. On a des agents gélifiant naturels et synthétique tels que l'amidon, les dérivés de la cellulose, les carbomères ou des silicates de magnésium. (Madi, 2019).

3- Formulations du gel selon l'OMS

L'OMS propose deux formules de **solutions hydro-alcooliques** (OMS, 2020) (Tableau 3).

Tableau 3 : Formulation des solutions hydro alcooliques selon l'OMS

Formule 1	Formule 2
Éthanol 96%	Isopropanol 99.8%
Peroxyde d'hydrogène 3%	Peroxyde d'hydrogène 3%
Glycérol 98% (ou Glycérine)	Glycérol 98% (ou Glycérine)
Eau distillée stérile (ou Eau portée à ébullition et refroidie)	Eau distillée stérile (ou Eau portée à ébullition et refroidie)

4- Protocole de préparation du gel selon l'OMS

Pour 1 litre de gel, mélangez 833,3 ml d'éthanol 96 %, 41,7 ml de **peroxyde d'hydrogène**, communément appelé eau oxygénée, disponible en pharmacie, et 14,5 ml de glycérol 98 %, ou glycérine, également en vente à la pharmacie. Enfin, ajoutez à la préparation de l'eau bouillie refroidie jusqu'au repère gradué indiquant 1 litre. Mélangez bien le tout puis versez la solution rapidement dans les flacons de distribution (100 ml ou 500 ml) (Figure 15).

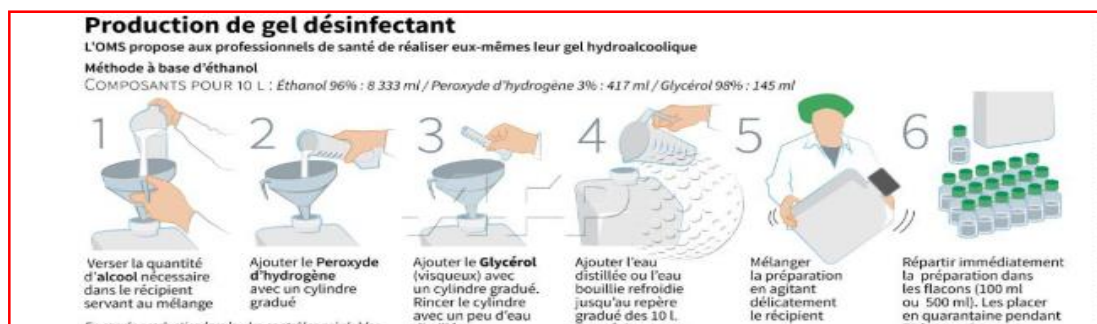


Figure 15 : Etapes de production de gel désinfectant selon l'OMS

Il est nécessaire de placer les flacons remplis en quarantaine pendant au moins 72 heures. C'est le délai permettant la destruction des spores bactériennes potentiellement présentes dans l'alcool ou dans les flacons. **La solution se conserve 3 mois maximum.**

Par ailleurs, il faut privilégier le lavage des mains au savon et à l'eau et ne laisser l'utilisation du gel que quand ceux-ci ne sont pas disponibles.

5- Protocole du bon usage du gel selon l'OMS

Il est important d'identifier et de garantir les bonnes pratiques, en ce qui concerne l'hygiène des mains en respectant les étapes suivantes :

- Respecter la dose et le temps de contact
- Etaler largement sur mains et poignets
- Les mains doivent rester imprégnées de solution pendant toute la durée du geste.
- Frotter les mains, espaces interdigitaux et poignets jusqu'à séchage complet de la solution selon la procédure standardisée dans la figure 16.



Figure 16 : Protocole du bon usage des solutions hydro alcooliques selon l'OMS

Chapitre II

Matériel et méthodes

1- Travaux antérieurs

Le séchage des feuilles de la plante ainsi que l'extraction des parties aériennes de l'espèce étudiée ont été réalisées antérieurement par Dr. Atmani-MerabetGhania.

1-1 Préparation du matériel végétal

La plante a été récoltée au mois de mars 2022 au niveau de l'arboretum de Draa Naga de la forêt de Djebel El Ouahch de la wilaya de Constantine (Figure 17). Après séchage des feuilles dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes ont été coupées en petits morceaux et pesées (700 g).

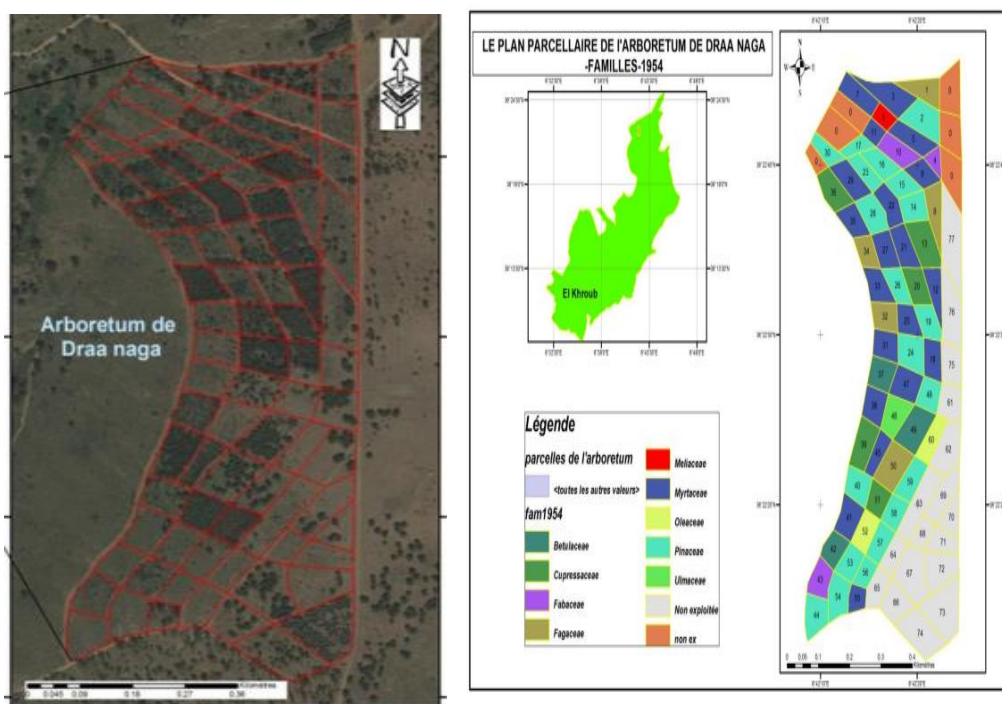


Figure 17 : Plan parcellaire de l'Arboretum de Draa Naga (Source : la conservation des forêts de Constantine)

1-2 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'HE des feuilles d'Eucalyptus par entrainement à la vapeur d'eau a été réalisée au niveau de l'unité de recherche : Valorisation des ressources naturelles, Molécules bioactives et Analyses Physico-chimiques et Biologiques à l'université Constantine1 (Figure 18).



Figure 18 : Dispositif de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau
(Photo Dr Atmani-Merabet, mars 2022)

Mode opératoire

700 g de matériel végétal a été introduit dans un ballon situé à une certaine distance au dessus du ballon du fond qui est rempli d'eau. La plante est en contact avec la vapeur d'eau et l'huile est entraînée par celle-ci et est récupérée à la fin (Figure 15). Le volume et la masse de l'huile essentielle obtenue ont été mesurés. L'huile est transvasée dans un flacon en verre stérile couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière et conservée dans un réfrigérateur.

2- Détermination du rendement et de la densité

2-1 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 et calculé par la formule suivante:

$$\mathbf{R (\%) = \text{Masse de l'HE} / \text{Masse (MVS)} \times 100}$$

R (%) : Rendement en huile essentielle **Masse (HE)** : masse de l'huile essentielle **Masse (MVS)** : masse du matériel végétal sec (AFNOR, 1986).

2-2 Mesure de la densité relative (AFNOR NF T 75 -111. 2000)

La

densité relative de l’HE est définie comme étant le rapport de la masse d’un certain volume d’huile à 20°C et la masse de volume d’eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est d_{20} .

On a mesuré la densité à l’aide de la formule suivante : $\rho = m / v$ ρ : masse volumique de l’huile (g/ml) m : masse du volume (v) de l’huile (g). v : volume de l’huile (ml).

On effectue la correction à 20°C par la formule :

$$d_{20} = d_{exp} + 0,00073 (T_{exp} - 20)$$

d_{20} : Densité à 20° d_{exp} : Densité mesurée par la relation : $d_{exp} = \rho_{(HE)} / \rho_{(eau)}$ [$\rho_{(eau)} = 1 \text{ g/l}$]

T_{exp} : Température ambiante (21°C) (Kebisi, 2011).

3- Activité antibactérienne del’huile essentielle

L’activité antibactérienne de l’espèce d’Eucalyptus a été réalisée au laboratoire de bactériologie et virologie du centre de recherche de biotechnologie de Constantine (Crbt). Nous avons utilisé deux souches bactériennes pathogènes *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sur une gélose Muller Hinton (MH). Leurs caractéristiques sont données dans le tableau4.

Tableau 4 : Description des souches bactériennes utilisées

Nom de la souche	Famille	Forme	Gram	Lieu de récupération
<i>Staphylococcus aureus</i>	Stahylococcaceae	Coque	Positif	(Crbt) Centre de recherche en biotechnologie de Constantine
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	Bacille	Négatif	

L’évaluation de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle d’Eucalyptus a été réalisée par la méthode d’aromatogramme, qui a prouvé son efficacité dans le test des bactéries.

3-1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

L'aromatogramme est une méthode dans laquelle l'activité antibactérienne permet de déterminer la sensibilité d'une huile essentielle donnée. Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé adapté et à l'ensemencer avec la souche microbienne testée. (Boutabia *et al.*, 2016). L'étude a été réalisée par méthode de diffusion, conçue initialement pour les antibiotiques, mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés d'huiles essentielles.

3-2 Préparation des disques

Le papier Whatman n°1 est utilisé pour la préparation de nos disques de 6 mm de diamètre (Figure 19). Une fois préparés les disques sont placés dans un flacon en verre et auto-clavés à une température de 120°C pendant 20 min pour éviter tous types de contamination.



Figure 19 : Préparation des disques (Photos personnelles, 2023)

3-3 Préparation des boîtes de pétri

On a procédé à la liquéfaction de la gélose à l'aide d'un micro-onde à 120°C pendant 25 min, puis on a versé une quantité égale de gélose dans les boîtes de pétri qu'on a laissé bien sécher dans la hotte (Figure 20).

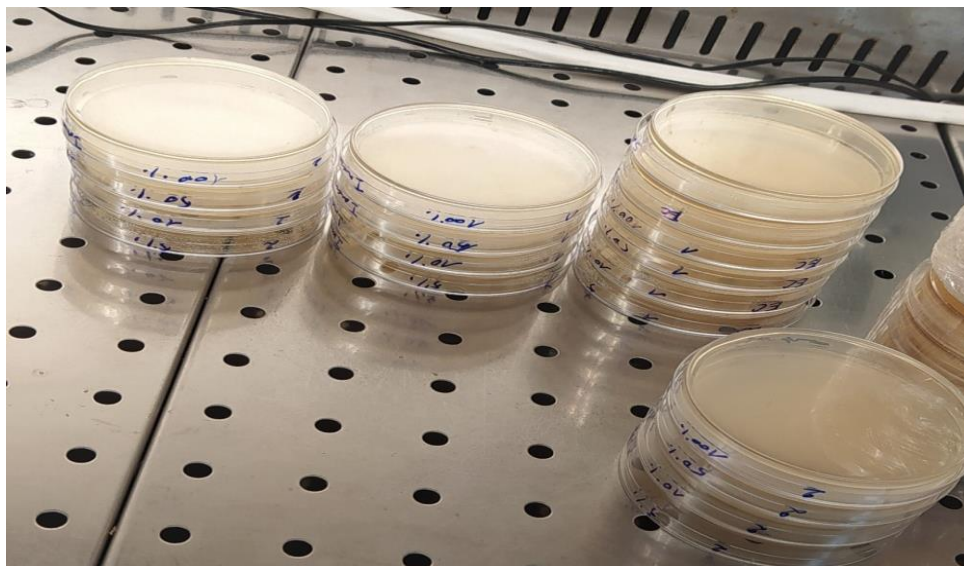


Figure 20 : La gélose de Mueller Hinton stérile est coulée dans des boîtes de pétri (Photos personnelles, 2023)

3-4 Préparation des différentes concentrations de l'huile essentielle

Les concentrations de l'HE utilisées sont :

Dilution	Concentration	Quantité
1ère dilution	5%	50 μ l HE+ 950 μ l DMSO
2ème dilution 10%	100 μ L HE +900 μ l DMSO	
3ème dilution 50%	500 μ l HE+500 μ l DMSO	
4ème dilution (HE pure)	100% 1000 μ l HE+ 0 μ l DMSO	

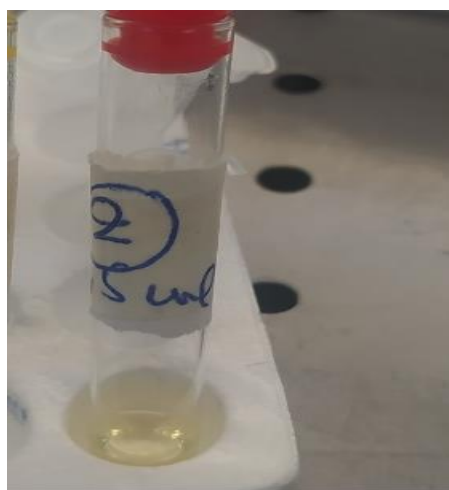


Figure 21 : Préparation des dilutions (photos personnelles, 2023)

3-5 Préparation de l'inoculum

À partir d'une culture jeune (18 à 24 h) et pure sur milieu d'isolement on a raclé à l'aide d'une pipette pasteur stérile 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques, ensuite on décharge la pipette pasteur dans 5 ml du milieu (MH) stérile (ce milieu peut être remplacé par de l'eau physiologique). Cette suspension est ajustée à une densité optique de 0.13 – 0.19 à 600 nm et cet inoculum a servi à ensemercer les géloses de (Muller Hinton liquide) stérile coulées dans des boîtes de pétri par un écouvillon imbibé dans la suspension par des stries serrées.

3-6 Ensemencement et dépôt des disques

Après préparation du milieu de culture, on effectue l'ensemencement sous forme de bandes étroites à l'aide d'un écouvillon geltli trempé dans la suspension. Le processus a été répété 3 fois, en tournant la boîte de pétri d'un angle de 60° à chaque fois (Figure 22).

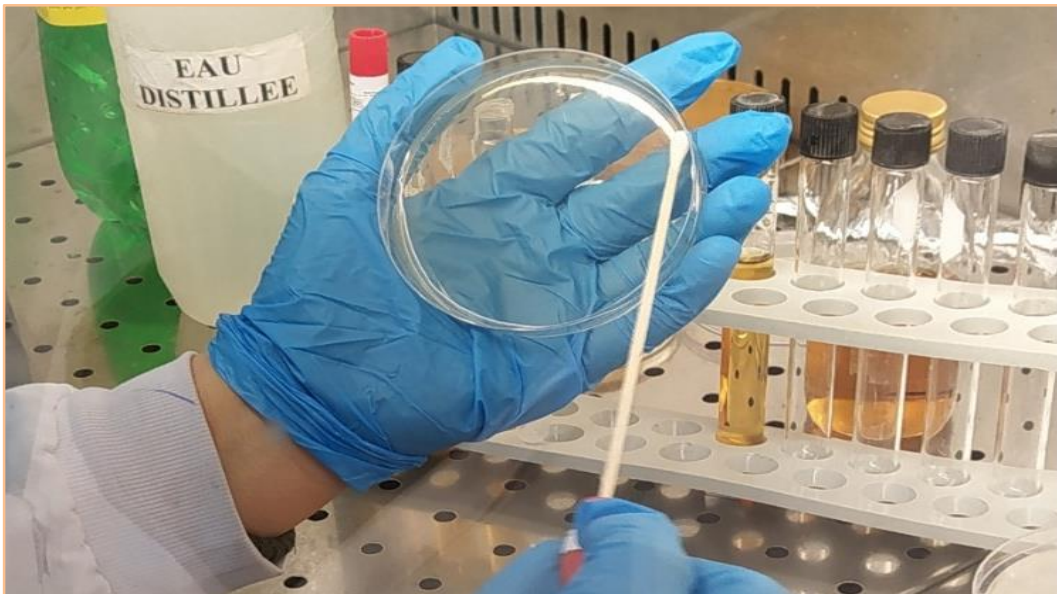


Figure 22: Ensemencement sur milieu solide à l'aide d'écouvillon geltli (Photo personnelle, 2023)

On a numéroté la base de chaque boîte de pétri avec des numérotations convenant au nombre de dilution (Figure 23a), puis on a trempé des disques de papier whatman de 6 mm de diamètre à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen dans de l'huile essentielle de différentes concentrations (Figure 23b).

Les disques ont été placés sur la surface des boîtes de pétri (Figure 23c). On a répété l'opération deux fois dans chaque boîte et pour chaque dilution.

Les boîtes ensemencées contenant les disques d'huiles essentielles ont été mises à 4°C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion de l'HE. Enfin après 24 heures d'incubation à 37° C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

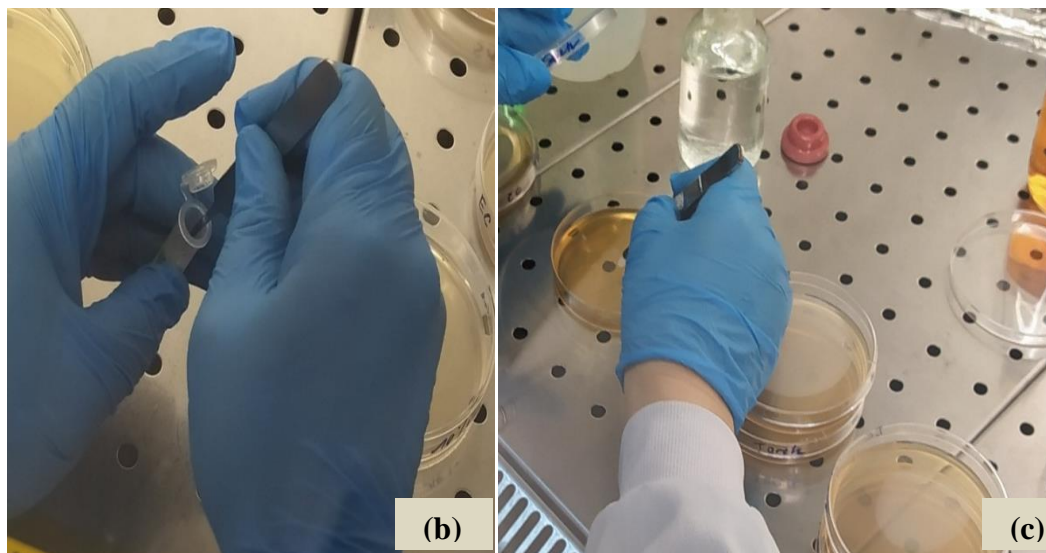
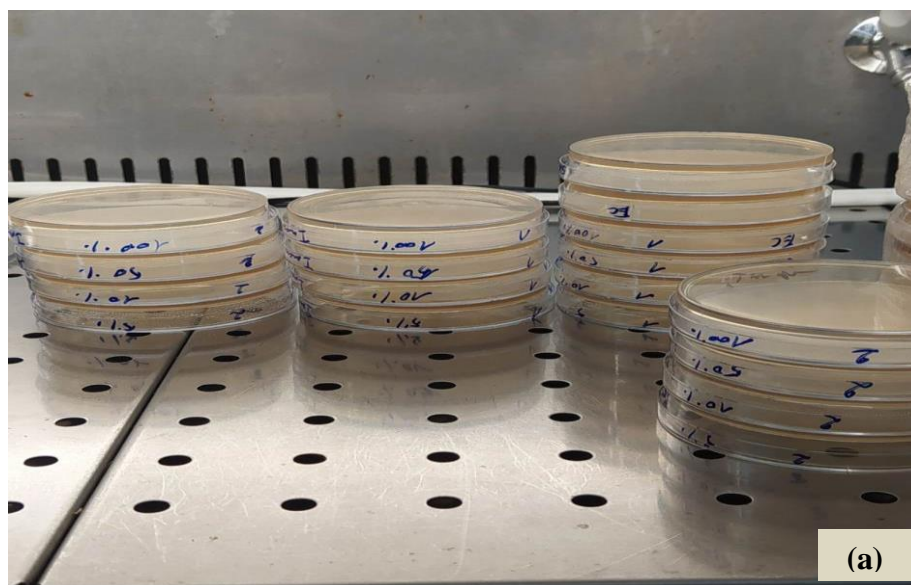


Figure 23 : Numérotation des boîtes de pétri et placement des disques sur Leur surface (Photos personnelles, 2023)

3-7 Expression des résultats

La lecture se fait par la mesure précise du diamètre (D) de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle qui permet de classer l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans l'une des catégories ci-dessous :

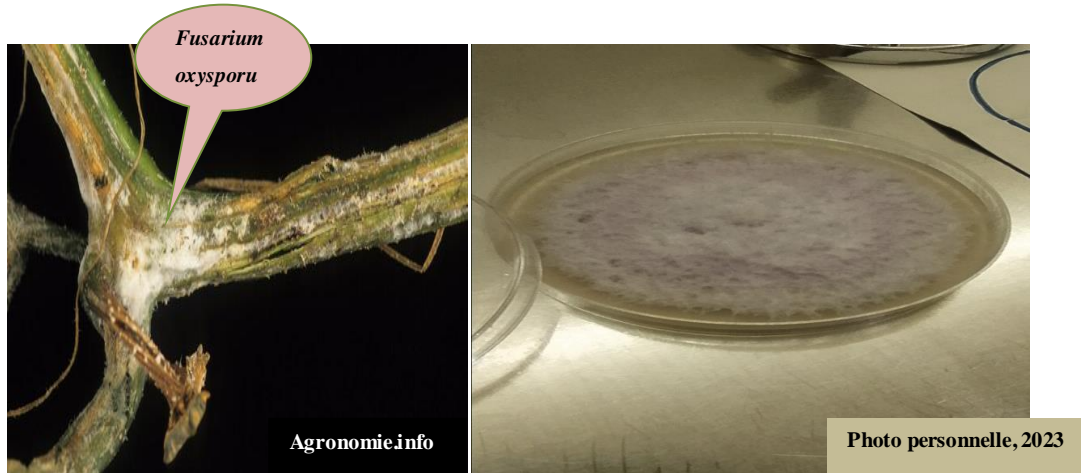
Non sensibles(-) : moins de 8 mm Sensibles (+) : 8 mm à 14mm Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm Extrêmement sensible (+++) : plus de 20mm (Poncé *et al.*, 2003).

Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

4- Activité antifongique de l'huile essentielle

4-1 La souche fongique

L'évaluation de l'activité antifongique de la plante par la méthode de contact direct a été réalisée au laboratoire de Mycologie du centre de recherche de biotechnologie de Constantine (Crbt), où on nous a fourni la souche fongique *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici (FOL). Ce champignon est une espèce fongique responsable des pourritures grises et flétrissement, il cause des dégâts considérables aux cultures sous serre de la tomate (Figure 24).



(a)

Fusarium oxysporum
sur une tige de tomate

(b)

Fusarium oxysporum
vue macroscopique

Figure 24: champignon *Fusarium oxysporum*

4-2 Préparation du milieu de culture PDA (PotatoDextrose Agar)

Le choix d'un milieu de culture PDA est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. La composition du milieu « PDA » (Potato Dextrose Agar) est la suivante :

Pomme de terre.....	160g
Glucose.....	16g
Agar agar.....	12g
Eau distillée.....	800 ml

Principe

- Faire bouillir 160g de pomme de terre éplucher et couper en dé dans 500 ml d'eau pendant 15 minutes (Figure 25a). Filtrer l'eau de pomme de terre à l'aide d'un papier filtre et d'un entonnoir pour obtenir le jus de pomme de terre.
- Mettre dans un erlenmeyer 16g de glucose, le jus de pomme de terre et ajouter progressivement 12g d'agar agar pour éviter la formation des bulles d'air. Le tout est bien mélangé grâce à un mélangeur magnétique (Figure 25b).
- Ajouter au mélange de l'eau distillée jusqu'à ce que la ligne de charge atteigne 800 ml, puis mettre l'erlenmayer sur un agitateur magnétique chauffant. Dès l'ébullition on éteint l'appareil (Figure 25c).
- Répartir le PDA dans 8 erlenmeyers de 100ml, recouvrir et mettre dans un autoclave pour la stérilisation.

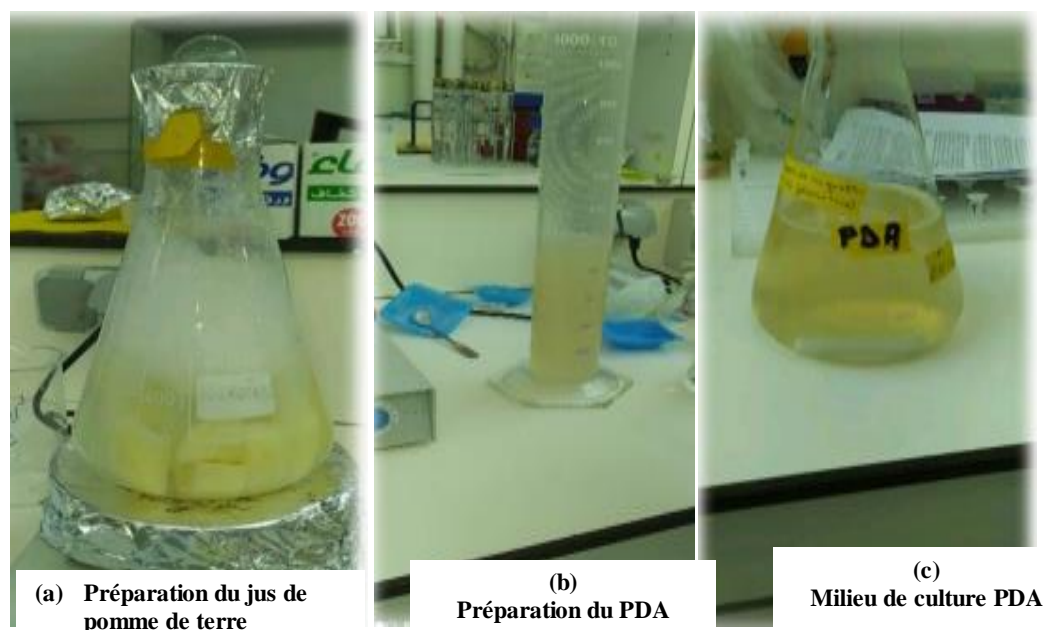


Figure 25 : les différentes étapes de la préparation du milieu de culture PDA (Photo personnelle, 2023)

4-3 Préparation des différentes concentrations de l'huile essentielle

A l'aide d'une micropipette on a préparé les différentes concentrations de l'huile d'Eucalyptus (Tableau 5) (Figure 26).

Tableau 5 : Concentrations de l'huile essentielle d'Eucalyptus

Dilutions	1 ^{ère} dilution	2 ^{ème} dilution	3 ^{ème} dilution
Concentrations	0,2%	0,1%	0,05%
Quantités	200 µl huile + 800 µl DMSO	100µl huile + 900 µl DMSO	50 µl huile + 950 µl DMSO

L'huile essentielle et le DMSO sont bien mélangés par un vortex pour obtenir des résultats expérimentaux valides.



Figure 26 : Préparation des dilutions(Photo personnelle,2023)

4-4 Préparation des boîtes de pétri

La méthode de contact direct a été appliquée pour tester la sensibilité de *F.oxysporum* vis à vis de l'huile essentielle d'Eucalyptus. La technique consiste à additionner l'huile à différentes concentrations au milieu de culture encore liquide. Après solidification du milieu de culture, un disque mycélien est déposé à la surface du milieu gélosé au centre de la boîte de pétri. L'incubation a été effectuée dans une étuve à la température de 37°C pendant 96 heures pour *Fusarium oxysporum*.

Principe

- Préparer 16 boîtes de pétri, chaque boîte contient 100 ml de PDA plus l'huile à différentes concentrations. Le témoin positif est composé de PDA seulement.(Figure 27a). Le test est répété 4 fois pour chaque concentration et le témoin.
- A l'aide d'une pipette, on prépare des disques de 5 mm de diamètre à partir du champignon FOL (Figure 27b).
- Après solidification du milieu de culture, on prélève un disque de FOL et on le dépose au centre de la boîte de pétri (Figure 27c).
- Les diamètres (mm) des zones d'inhibition sont mesurés après 96 heures d'incubation dans une étuve à 37°C.

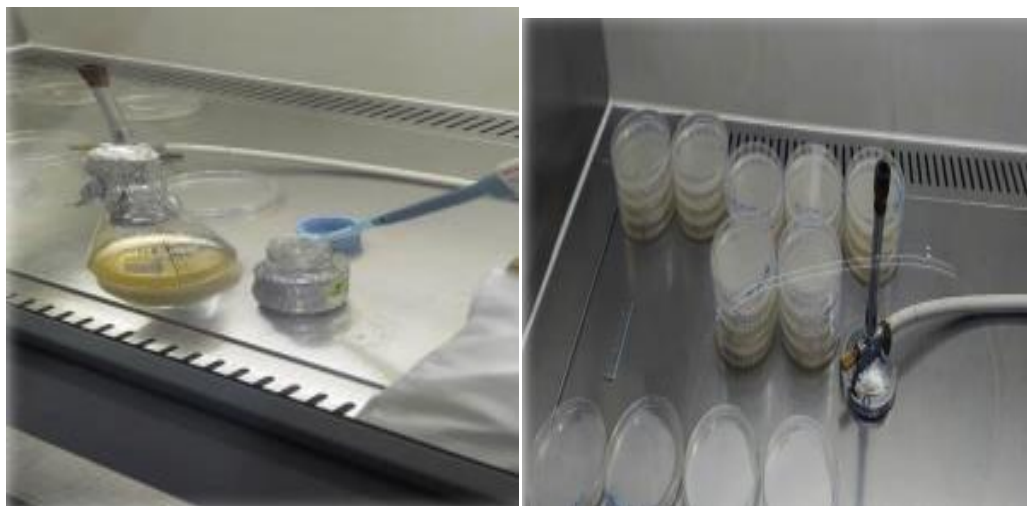


Figure 27 a : Préparation des boîtes de pétri

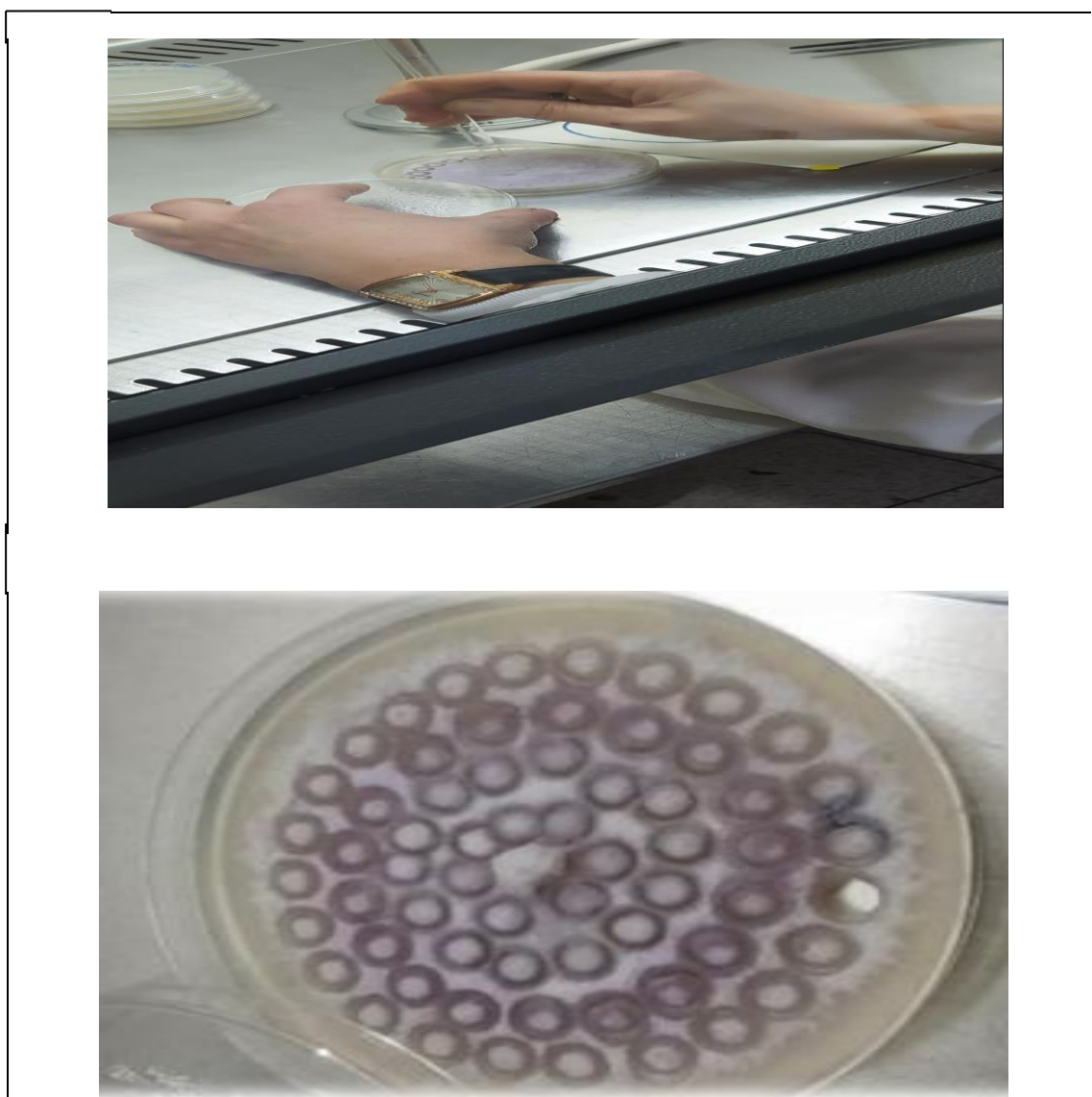


Figure 27 b : Préparation des disques de FOL



Figure 27c : Disposition des disques de FOL dans les boites de pétri

Figure 27 : Les différentes étapes de La méthode de contact direct utilisée pour tester la sensibilité de *F.oxysporum* vis à vis de l'huile essentielle d'Eucalyptus

(Photos personnelles, 2023)

4-5 Expression des résultats

L'activité antifongique de l'huile essentielle d'Eucalyptus étudiée a été évaluée selon le pourcentage de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles donné par **Abd- Ellatif *et al.*, 2010.**

- 30 à 40% : faible activité
- 50 à 60% : activité modérée
- 60 à 70 % : bonne activité
- >70 % : excellente activité.

5- Préparation semi solide pour application cutanée : Gels hydro alcooliques

La formulation et la préparation du gel hydro alcoolique a été réalisée au laboratoire de Pharmacie galénique du département de pharmacie de la Faculté de Médecine de l'Université Constantine 3.

5-1 Définition

Un gel hydro-alcoolique, sous statut biocide, est destiné à désinfecter les mains des utilisateurs (ou d'autres surfaces). Il doit permettre d'éliminer les micro-organismes nuisibles pour l'Homme ou les animaux. Les micro-organismes à éliminer peuvent être des bactéries, des virus, des champignons ou des levures.

5-2 Matériel nécessaire pour la préparation du gel hydroalcoolique

Le matériel utilisé pour la préparation du gel hydro-alcoolique est le suivant :

- Balance
- Verre de montre
- Becher
- Spatule
- Cure-mortier (Capsule Porcelaine avec Pilon lisse) (Figure 28).



Figure 28: Matériel utilisé pour la préparation du gel hydro-alcoolique(Photo personnelle, 2023)

5-3 Composition du gel hydro-alcoolique

Pour préparé 100g de gel hydro-alcoolique on a besoin de :

Alcool (Ethanol 96 %)	66,5g
Cabomère940	0,4g
Eau distillée	33g
Triéthanolamine.....	jusqu'a gélification.
Huile essentielle d'Eucalyptus.....	gouttes

5- 4 Mode opératoire

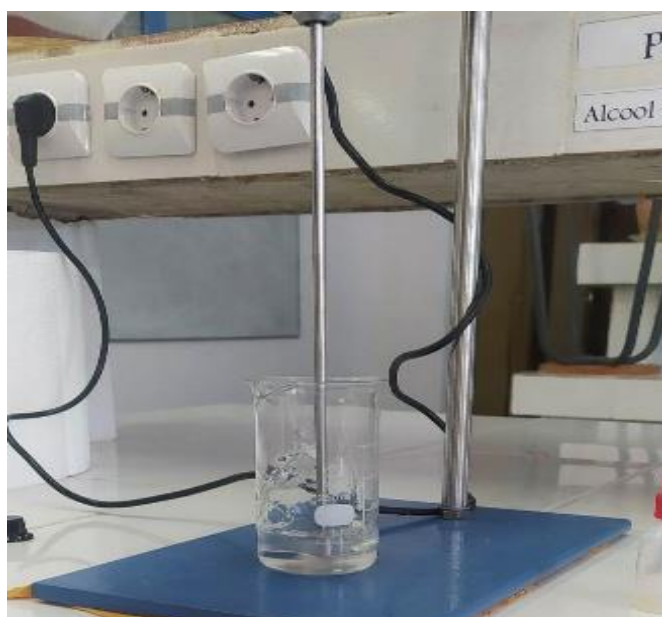
Mettre dans un cure-mortier 66g d'eau distillée avec 0,8g de cabomer940 (agent gélifiant) en fraction jusqu'à dispersion totale (éviter les bulles d'aires : source de contamination) (Figure 29a). Ajouter l'éthanol progressivement jusqu'à obtention d'une solution homogène à l'aide d'un homogénéisateur (Figure 29b). Mélanger avec 3 à 5 gouttes de triéthanolamine (agent neutralisant) jusqu'a gélification. (On a préparé 200g de gel hydro-alcoolique, donc les quantités ont été doublées).

1^{er} gel hydro-alcoolique : 100g de gel + 5 gouttes d'huile essentielle d'Eucalyptus.

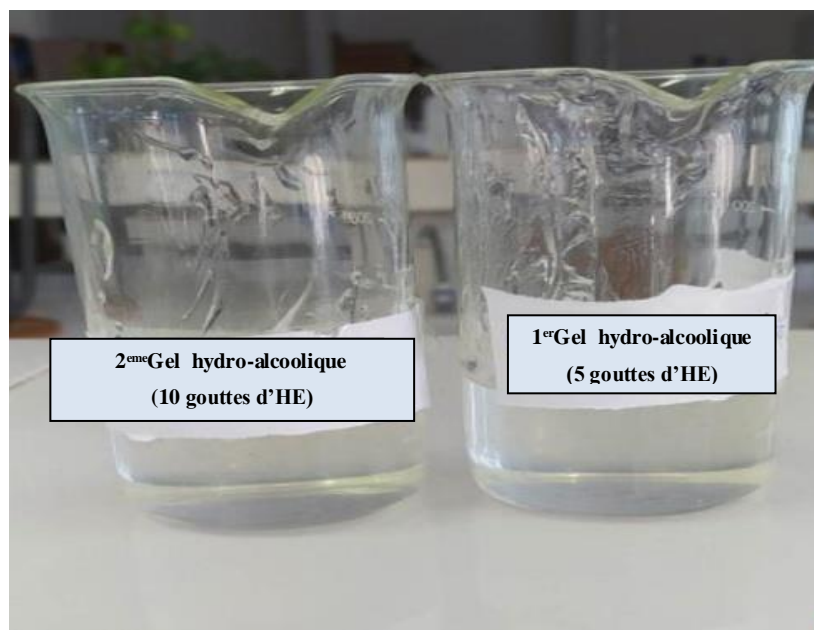
2^{em} gel hydro-alcoolique : 100g de gel + 10 gouttes d'huile essentielle d'Eucalyptus. (Figure 29c).



(a) Mélange de l'eau et du carbomère940



(b) Gel homogénéisé grâce à un homogénéisateur



(c) forme du gel hydro-alcoolique finale

Figure 29 : Les différentes étapes de la préparation du gel hydro-alcoolique
(Photos personnelles, 2023)

Faire le contrôle sur le produit fini : Voir l'aspect, la texture et l'odeur.

Coller l'étiquette d'identification sur le flacon du gel hydro-alcoolique.

Chapitre III

Résultats et discussion

1- Densité et rendement de l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus

1-1 Rendement

Le rendement en huile essentielle de la matière sèche de la partie aérienne (feuilles) de la plante est indiqué dans le tableau 6. Le rendement pour la même espèce dans différentes régions peut être différent à cause des facteurs tels que : l'âge de l'arbre et des feuilles, l'altitude, la saison, le moment de la récolte et l'application d'engrais (Bruneton, 2016).

Tableau 6 : Rendement de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* sp

Espèce	Masse de la matière végétale sèche (g)	Masse de l'huile essentielle (g)	Rendement (%)
<i>Eucalyptus</i>	700	9,4610	1,35

Les rendements rapportés dans la littérature dans plusieurs régions d'Algérie et pour différentes espèces d'*Eucalyptus* varient entre 0,2% et 6,27% avec la valeur la plus élevée pour *E. globulus* de Tizi Ouzou et la plus faible pour *E. globulus* de Blida (Tableau 7).

Tableau 7 : Rendement d'*Eucalyptus* dans différentes régions d'Algérie

Espèce	Rendements (%)	Origines	Références
<i>Eucalyptus</i> sp	1,35	Constantine	Notre travail
<i>Eucalyptus</i> sp	0,31	Mostaganem	Kaddour et Nezrouk, 2021
<i>E. globulus</i>	0,84	Tiaret	Aid et et Filali, 2015
	0,44	Biskra	Mokeddem & Benaouda, 2020
	1,67	Oum El Bouaghi	Adouani et Merghadi, 2021.
	0,2	Blida	Boukhatem, 2014.
	6,27%	Tizi Ouzou	Kara & Saidi, 2016
	2,64%	Saida	Benabdslem <i>et al.</i> , 2020
<i>E. camaldulensis</i>	0,86	Jijel	Grid et Methanni, 2016
	0,78	Guelma	Bouderbala <i>et al.</i> , 2020
	0,98	Tébessa	Djebbari <i>et al.</i> , 2021
	0,99	Ouargla	Mehani, 2015

Tableau 7: Rendement d'*Eucalyptus* dans différentes régions d'Algérie (Suite)

Espèce	Rendements (%)	Origines	Références
<i>E. saligna</i>	1,16 %	Alger	Foudil-Cherif, 2000
<i>E. bosistoana</i>	1,1%	Tamanrasset	Bouzabata <i>et al.</i> , 2014
<i>E. amygdalina</i>	0,77	Constantine	Atmani-Merabet <i>et al.</i> , 2020

Par ailleurs, beaucoup de travaux de recherche ont été faits sur le genre *Eucalyptus* qui est très répandu en Algérie (Figure 30).

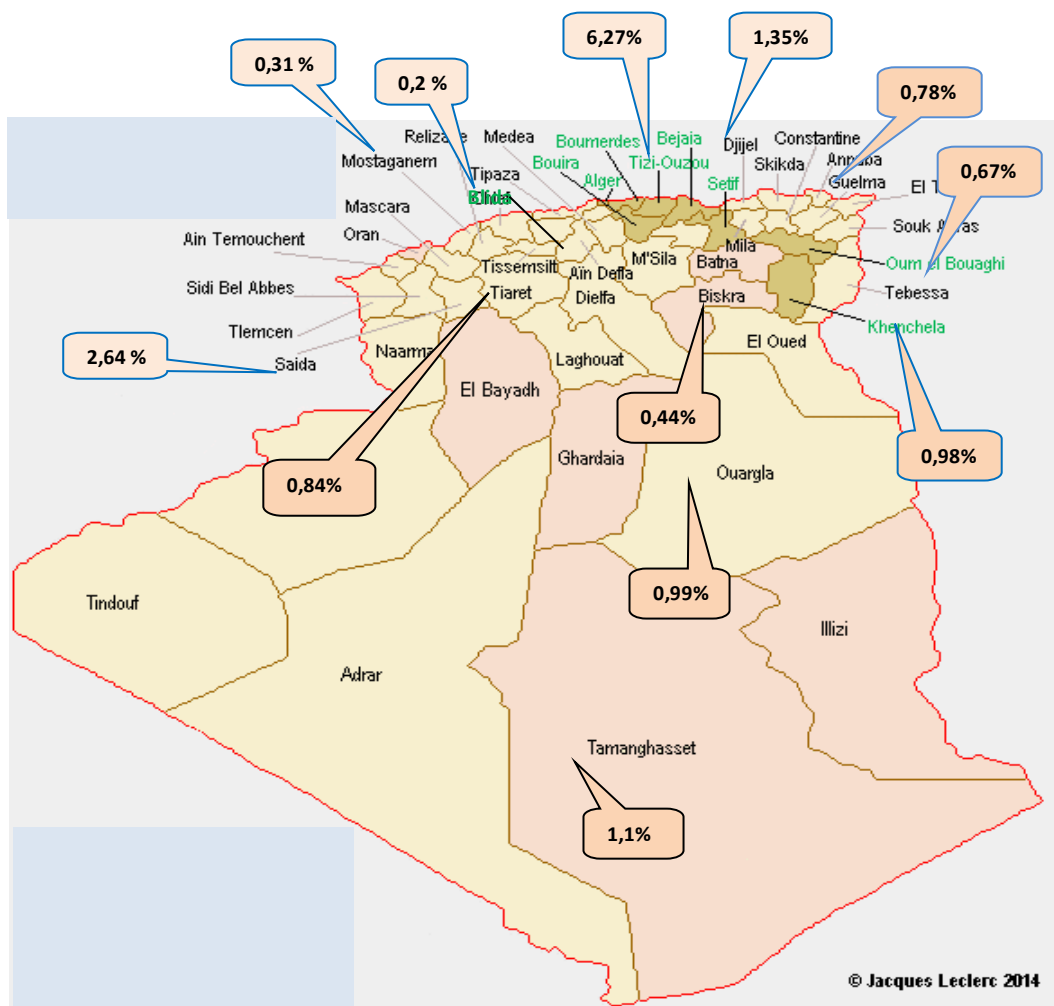


Figure 30 : Rendements d'*Eucalyptus* sp en Algérie (Image personnelle, 2023)

Selon l'étude de **Barbosa *et al.*, 2016** sur différentes espèces d'*Eucalyptus* dans le monde, le rendement enregistré varie entre 0,07% pour *E. maculata* et 6,07% pour *E. cinerea*, deux espèces du Brésil.

1-2 Densité

Chaque huile essentielle est caractérisée par différentes constantes physiques permettant de l'identifier et de contrôler son origine géographique ainsi que son absence de falsification ou sa pureté. Les critères à déterminer selon la pharmacopée Européenne, les normes ISO et AFNOR sont : densité, solubilité dans l'alcool, point de fusion, point de congélation, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, d'acide et d'ester et le résidu d'évaporation, (Faucon, 2012 ; Franchomme *et al.*, 2007).

La densité est une caractéristique physique de l'huile essentielle selon la norme (Norme NFT 75 -111. 2000). Elle sert à convertir les masses en volumes et inversement. La densité d'HE d'eucalyptus selon AFNOR est estimée entre 0.9060 à 0.925, mais il y'a des facteurs qui contrôlent la densité d'HE d'eucalyptus comme l'espèce, la région du plante, la méthode d'extraction, le broyage, l'état du matériel végétal et son stockage avant la distillation (Bruneton, 1999 ; Benini, 2007) (Tableau 8).

Tableau 8 : Densité de différentes espèces d'Eucalyptus en Algérie et dans le monde

Espèce	Densité à 20°C	Région	Références
	0,9060 - 0,9250		AFNOR
Notre espèce	0,9282	Constantine (Algérie)	Notre travail, 2023
<i>E.camaldulensis</i>	0.9035	Ouargla (Algérie)	Mehani, 2015
	09146	Inde	Singh <i>et al.</i> , 1989
<i>E.globulus</i>	0,9122	Constantine (Algérie)	Atmani-merabet <i>et al.</i> , 2018
	0,919	Blida (Algérie)	Boukhatem, 2014
	0,88	Pakistan	Hussain <i>et al.</i> , 2003
<i>E.citriodora</i>	0,86	Algérie (Alger)	Tolba, 2017
	0,85	Pakistan	Saba <i>et al.</i> , 2013

La densité d'HE obtenue à 20°C (0.9282) est conforme aux normes publiés par l'association française de normalisation AFNOR. Ceci prouve la bonne qualité de l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus étudiée.

1-3 Propriétés organoleptiques

L'importance des huiles essentielles d'Eucalyptus dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, parfumerie...) suscite l'intérêt de vérifier la qualité de ces derniers. La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées. Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale telles que : AFNOR (Association Française de Normalisation et ISO (International Organisation for Standardization)). Parmi ces analyses on a les propriétés organoleptiques qui consistent à évaluer l'aspect, l'odeur et la couleur de l'huile essentielle. Par ailleurs, les huiles essentielles sont sensibles à l'oxydation et changent de couleur, il convient donc de les conserver à l'abri de la chaleur et de la lumière (wikimemoires.net).

Les propriétés organoleptiques (l'aspect, la couleur et l'odeur) ont été évaluées à base de la méthode sensorielle impliquant la vue et l'odorat. Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de l'espèce d'Eucalyptus étudiée (Figure 31) sont regroupées dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus sp

Aspect	Couleur	Odeur	Références
Liquide, mobile, limpide.	Presque incolore à jaune pâle	Fraîche, plus ou moins Eucalyptolée selon l'origine.	AFNOR, 2000
Liquide, mobile, limpide	Jaune pâle	Fraiche, camphrée	Notre résultat, 2023

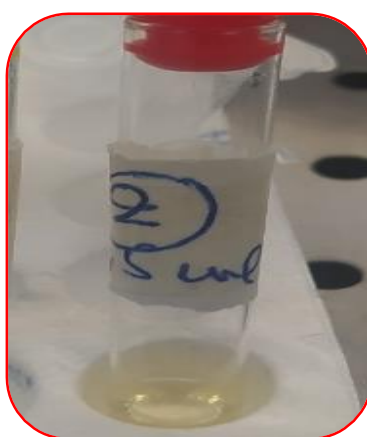


Figure 31 : Huile essentielle d'Eucalyptus sp

2- Activités antimicrobiennes de l'huile essentielle d'Eucalyptus

2-1 Activité antibactérienne

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires procaryotes. Elles se trouvent partout autour de nous et sont divisées en : bactéries bénéfiques qui contribuent à certaines fonctions biologiques, et en bactéries dangereuses voir même mortelles. Il existe principalement deux grands types de bactéries : les bactéries à Gram positif (paroi épaisse de peptidoglycane mais sans membrane externe) et celles à Gram négatif (à paroi cellulaire mince mais avec membrane externe).

L'évaluation de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle a été faite sur deux bactéries par la méthode de diffusion sur disque qui permet à l'HE d'entrer en contact direct avec les bactéries testées. Le DMSO (diméthyl sulfoxyde) solvant utilisé pour préparer les différentes dilutions de l'HE est sans effet sur la croissance des bactéries.

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

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

Très sensibles (++) : Diamètre de 15 mm à 19 mm

Sensibles (+) : Diamètre de 8 mm à 14 mm

Nom sensibles(-) : diamètre moins de 8 mm.

Les valeurs des zones d'inhibition sont exprimées en moyenne de quatre essais \pm écart type et les diamètres obtenus lors de cette étude vont de 6 mm à 20mm (Tableau 10).

Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibitions d'Eucalyptus sp

Bactéries	Dilution (N1) 5 μ l	Dilution (N2) 10 μ l	Dilution (N3) 50 μ l	Dilution (N4) 100 μ l	DMSO
<i>Escherichia coli</i> G-	9 mm \pm 1,41 (+)	9.5 mm \pm 0,71 (+)	13 mm \pm 0 (+)	20 mm \pm 0 (++)	0,0
<i>Staphylococcus aureus</i> G+	6 mm \pm 0 (-)	7.5 mm \pm 0.71 (-)	12 mm \pm 1,41 (+)	16,5 mm \pm 2,12 (++)	0,0

G+: Gram+, G- : Gram -, (+++) Extrêmement sensible (++) : Très sensibles, (+): Sensibles, (-) : Non sensibles

Dilution 5% : L'huile essentielle d'Eucalyptus n'a enregistré aucun effet sur la croissance de *S. aureus* (6 mm). Par contre la souche bactérienne *E.coli* a un faible effet (9 mm).

Dilution 10% : L'huile essentielle d'Eucalyptus a enregistré un effet moyen sur la croissance d'*E.coli* (9.5 mm). Cela n'a pas affecté la croissance et la propagation de *S. aureus* (7.5 mm).

Dilution 50% : L'huile essentielle d'Eucalyptus a enregistré un bon effet sur la croissance et la reproduction de toutes les bactéries testées *E.coli* (13 mm) et *S. aureus* (12 mm).

Dilution 100% : L'huile essentielle d'Eucalyptus a un très bon effet sur *S. aureus* (16.5 mm) et une excellente activité sur *E.coli* (20 mm) (Figures 32,33).

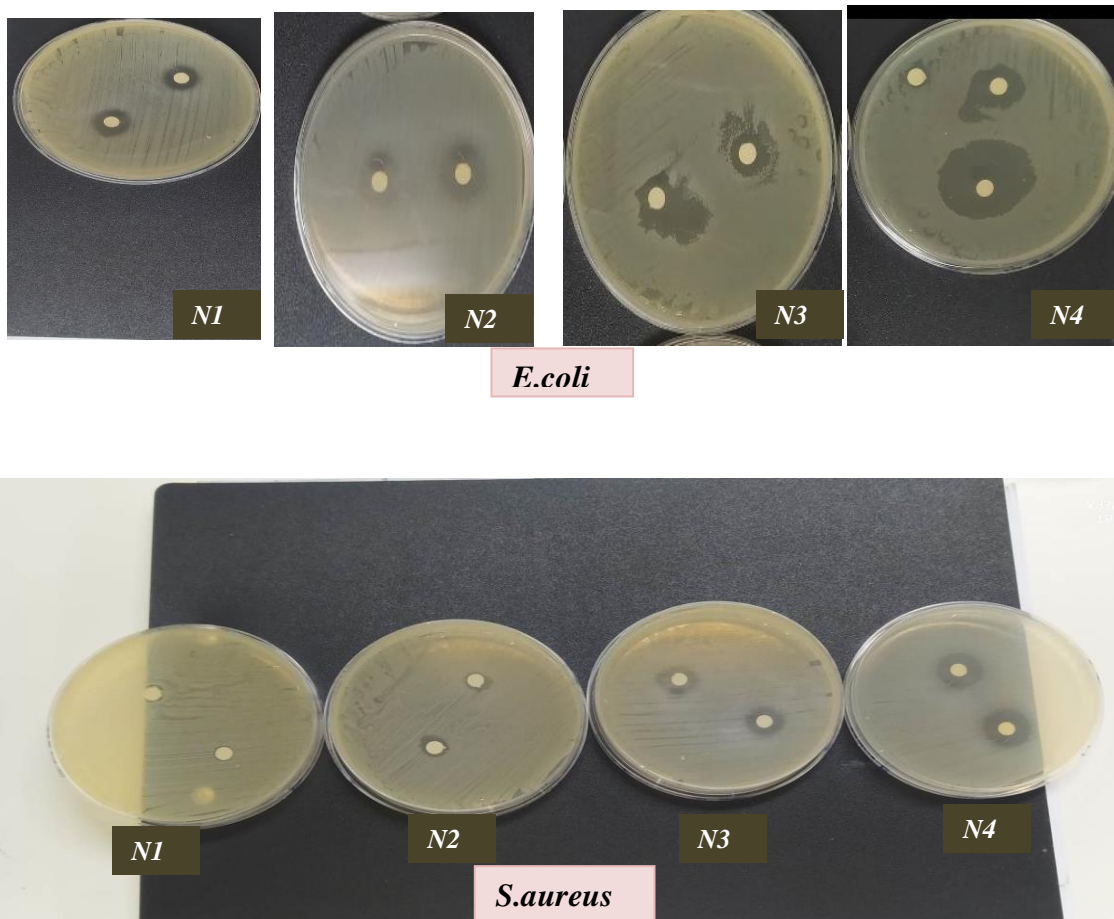


Figure 32: Activité antibactérienne de différentes concentrations de l'huile essentielle d'Eucalyptus sp

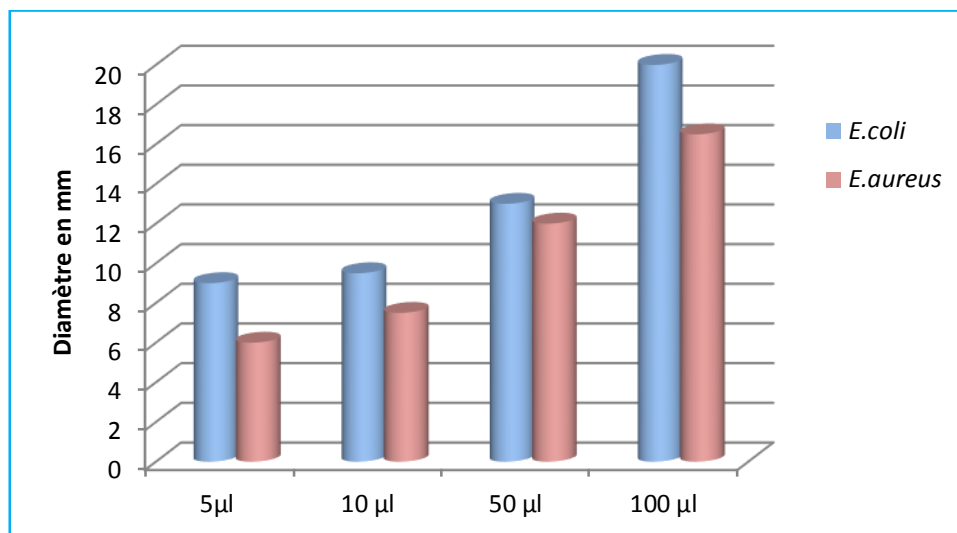


Figure 33 : Activité antibactérienne de l'HE d'Eucalyptus sp de la région de Constantine

Nos résultats indiquent que le pouvoir inhibiteur de l'huile augmente avec la concentration. Ceci peut être expliqué par l'augmentation du pourcentage des molécules bioactives responsables de son effet antibactérien (Kheyar *et al.*, 2014). Les résultats montrent aussi que l'HE d'Eucalyptus étudiée est plus active sur *E. coli* (G-) que *S. aureus* (G+). Le même résultat a été trouvé par plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs, elles ont confirmé que les bactéries Gram (+) sont moins sensibles aux HEs que les bactéries Gram (-). Cette résistance est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane (Barbosa *et al.*, 2016).

Des études ont montré que les huiles essentielles d'*E. citriodora*, *E. grandis* et *E. robusta* ont de fortes activités antibactériennes. Les deux dernières espèces sont des produits naturels antibactériens à large spectre (Andrianarison, 2021).

Selon Elangovan et Mudgil, 2023, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-négatives *E. coli* ainsi que les bactéries Gram-positives *S. aureus*. Ils indiquent également que l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* peut être exploitée comme antibiotique naturel pour traiter de nombreuses maladies infectieuses causées par ce type de bactéries

Enfin l'espèce *E. camaldulensis* cultivée en Iran a montré une activité significative contre certaines bactéries Gram positives et Gram négatives, et est considérée comme un agent antibactérien et bactéricide efficace dans le traitement des maladies infectieuses (Asiaei, 2017).

2-2 Activité antifongique

L'HE d'Eucalyptus possèdent une activité antifongique contre différents champignons qui sont des êtres vivants eucaryotes, ils causent des maladies, des infections et aident à l'accumulation des mycotoxines (**Batista et al., 2015 ; Gakuube et al., 2017 ; Park et al., 2016**).

Notre étude a porté sur le « *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici » champignon tellurique mondialement répandu. Décrit pour la première fois en Europe à la fin du XIXe siècle, il est maintenant présent dans plusieurs dizaines de pays notamment en Algérie (**Debbi, 2019**) et il est réparti sur tous les continents, où ses dégâts changent en fonction de la race et de la variété cultivée (**ephytia.inra.fr**).

La méthode de contact direct a été appliquée pour tester la sensibilité du champignon (*Fusarium oxysporum*) vis-à-vis de l'huile essentielle'activité antifongique de l'HE d'Eucalyptus a été évaluée in vitro selon deux approches :

a) La croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée après 96 heures d'incubation, en mesurant les trois diamètres sans prendre en compte le diamètre du disque. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins ayant démarré le même jour et dans les mêmes conditions (**Benouaer, 2016**). Les résultats que nous avons obtenus sont représentés sur les figures 34 et 35.

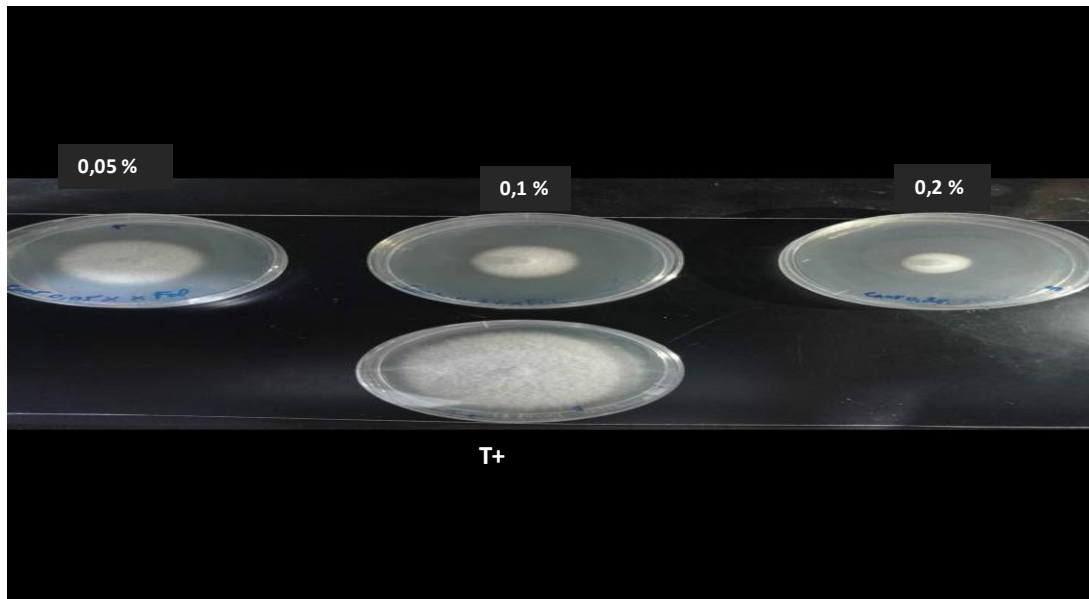


Figure 34 : Morphologie de la croissance mycélienne de FOL après 4 jours d'incubation.

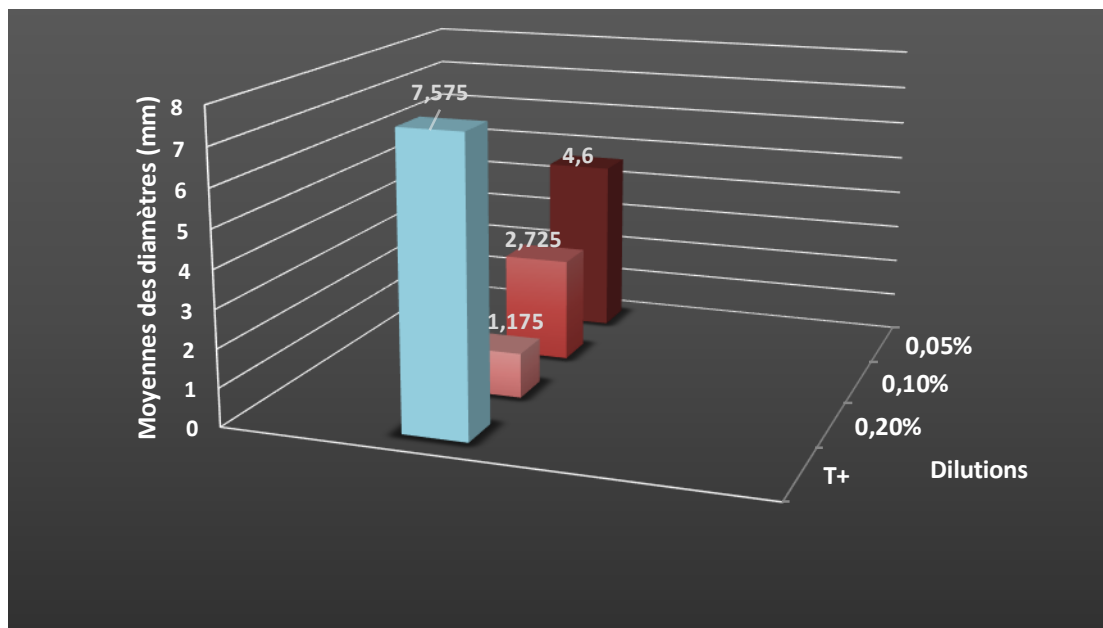


Figure 35 : Effet de l'HE d'Eucalyptus sp sur la croissance mycélienne de FOL

Selon les résultats obtenus on remarque que la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici diminue avec l'augmentation de la concentration de l'HE.

Le plus grand diamètre de la croissance mycélienne a été enregistré avec la concentration 0,05% (4,6 mm) parce que la concentration est faible et n'a pas beaucoup empêché la divergence des filaments du FOL. Pour 0.1% Le diamètre est 2,725 mm et 1,175 mm pour la concentration la plus grande 0,2%. Le témoin + a enregistré un diamètre de 7.575 après 96 heures.

b) Le taux d'inhibition

L'activité antifongique de la plante a été déterminé aussi par la mesure du taux de l'inhibition de la croissance de la colonie fongique, en utilisant la formule décrite par (Leroux et Credet,2003).

$$I\% = C - T / C \times 100$$

I% :Taux d'inhibition de la croissance.
T :Diamètre de la colonie dans l'expérience

C :Diamètre de la colonie témoin.

La valeur du taux de l'inhibition de la croissance mycélienne sera donc :

$$I\%(0.2\%) = 84.48\%.$$

$$I\%(0.1\%) = 64.02\%.$$

$$I\%(0.05\%) = 39.27\%.$$

Les résultats obtenus ont été interprétés selon le taux de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles donné par **Abd- Ellatif et al., 2010**.

- 30 à 40% : faible activité
- 50 à 60% : activité modérée
- 60 à 70 % : Bonne activité
- >70 % : excellente activité.

Finalement , l'Eucalyptus étudié possède in vitro une excellente activité antifongique sur *Fusarium oxysporum* aux concentrations 0,2% et 0,1% et une faible activité à 0,05% (Tableau 11).

Tableau 11 : l'activité fongique des differents dillution d'HE d'Eucalyptus

Dilutions	0.2%	0.1%	0.05%
Taux d'inhibition (I %)	84,48% (+++)	64,6% (++)	39,27% (+)

(+++): Excellente activité (++) : Bonne activité (+) : Faible activité

Le pourcentage d'inhibition de la croissance diamétrales des talles est montré sur la figure 36.

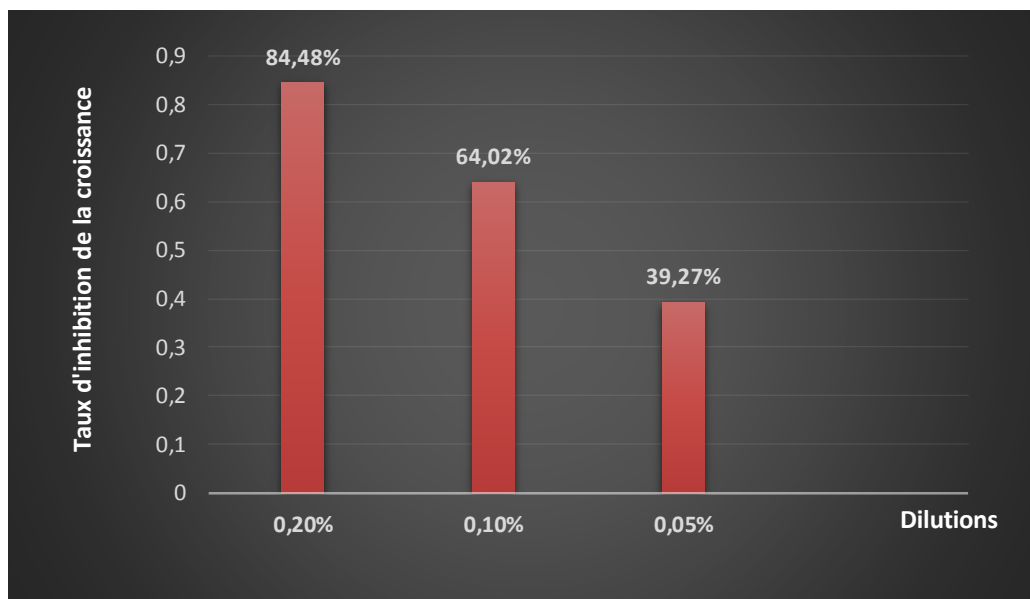


Figure 36 : Effet de l'huile d'Eucalyptus sp sur le taux d'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum* après 96 heure

Les résultats que nous avons obtenu montre que l'activité antifongique de l'huile essentielle d'Eucalyptus étudiée est à mettre en relation avec sa concentration, plus nous augmentons la concentration d'HE plus le diamètre du FOL diminue, en plus ces résultats indiquent que la croissance mycélienne du témoin est importante avec un diamètre différent qui dépend du temps d'incubation.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Dahou, 2017** et **Mehani, 2015** qui ont trouvé une relation inverse entre la concentration de l'huile essentielle et la croissance mycélienne.

Enfin et selon **Mohammedi et al, 2005**, l'HE de Ciste a une activité antifongique contre : *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*. Les souches fongiques ont montré une sensibilité à la concentration d'HE où le diamètre de la colonie se réduit à chaque fois qu'on augmente la dose d'HE.

Finalement, notre plante possède une bonne activité antifongique sur *F.oxysporum* à certaines doses. Elle pourra donc avoir un rôle inhibiteur sur différentes souches fongiques non seulement les champignons mais les micro-organismes aussi.

En conclusion, l'Eucalyptus étudiée possède une activité sur les bactéries *E.coli* et *S.aureus* et une activité antifongique sur *F.oxysporum*. Selon différentes études et recherches

sur les espèces du genre *Eucalyptus*, les activités biologiques qu'elles présentent sont dues au 1,8-cinéole ou eucalyptol qui est le chémotype le plus répandu dans ce genre ainsi qu'aux composés minoritaires qui agissent d'une manière synergiques (Atmani-Merabet *et al.*, 2020, Amadi *et al.*, 2020 ; Barbosa *et al.*, 2016).

3- Préparation d'un gel hydro alcoolique

L'espèce d'*Eucalyptus* de la région de Constantine a présenté une activité antibactérienne sur *E.coli* et *S.aureus* et une activité antifongique sur *F.oxysporum*. Ce qui nous a encouragés à préparer un gel hydro alcoolique « *EUCAL_GEL* » selon les normes de l'OMS, présentant un effet antimicrobien plus important avec une odeur d'*Eucalyptus* agréable et spécifique.

Après la préparation du gel, les flacons ont été placés en quarantaine pendant 72 heures. C'est le délai permettant la destruction des spores bactériennes potentiellement présentes dans l'alcool ou dans les flacons. **Le gel se conserve 3 mois maximum.**

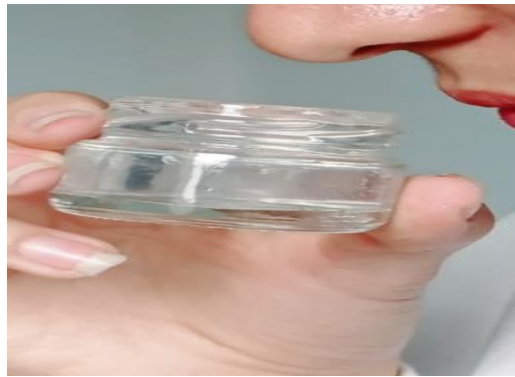
Un contrôle sur le produit fini a été effectué où on a testé la texture (Figure 37a), l'aspect (Figure 37b) et l'odeur (Figure37c).



(a)
Texture épaisse



(b)
Aspect transparent



(c)
Odeur agréable et eucalyptolée

Figure 37 : Caractéristiques du gel hydro alcoolique *EUCAL_GEL*
(Photos personnelles, 2023)

Enfin, l'étiquette d'identification du produit a été faite selon les normes et collée sur les flacons du gel hydro alcoolique (Figure 38, 39).

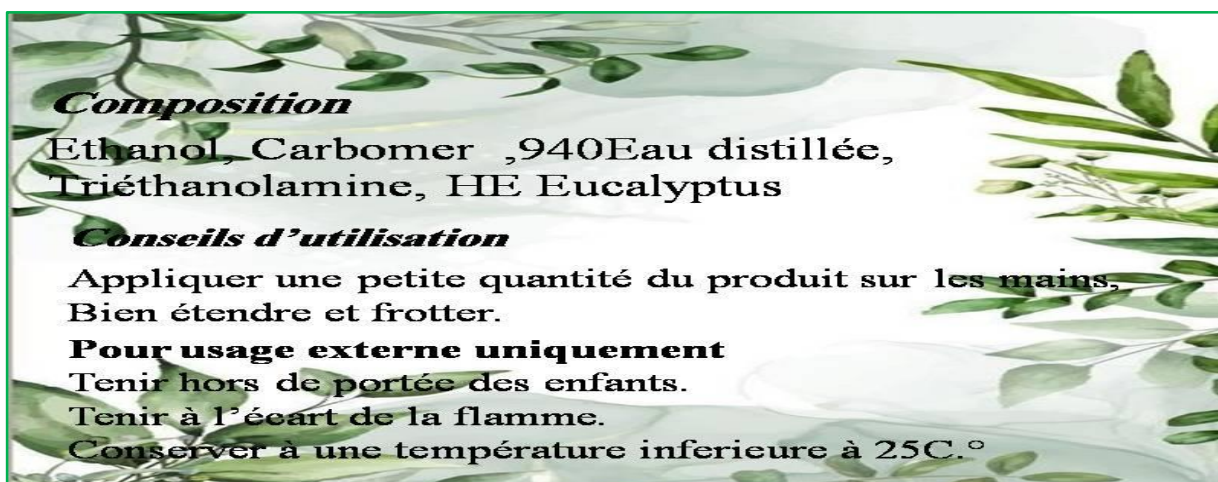


Figure 38 : Etiquette du gel hydro alcoolique *EUCAL_GEL*



Figure 39 : Flacons du gel *hydro alcoolique EUCAL_GEL*

Conclusion

Conclusion générale

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une espèce d'Eucalyptus, plante médicinale et aromatique, locale de l'arboretum de Draa Naga de la forêt de Djebel El Ouahch. Les souches bactériennes utilisées sont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et la souche fongique *Fusarium oxysporum*. Un gel hydro alcoolique à base de l'huile d'Eucalyptus a été préparé.

L'espèce d'Eucalyptus a enregistré un rendement de 1,35%, des propriétés organoleptiques et une densité conformes aux exigences de la norme AFNOR.

L'activité antibactérienne de notre huile a été réalisée par la méthode de diffusion sur disque sur les souches *E.coli* et *S.aureus*. La bactérie *E.coli* était la plus sensible donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (20 mm). Une excellente activité antifongique de l'huile a été observée sur *Fusarium oxysporum* avec un taux d'inhibition de 84,28% à la concentration de 0,2%.

Un gel hydro alcoolique normé et contenant l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus a été préparé présentant une odeur agréable et eucalyptolée et un effet antimicrobien plus prononcé.

Enfin, nos résultats indiquent que l'HE étudiée peut être considérée comme agent antimicrobien prometteur pour l'industrie pharmaceutique sous différentes formes pharmaceutiques.

Toutefois, ces résultats restent préliminaires et méritent d'être approfondis par la détermination des différents composants de l'huile essentielle d'Eucalyptus et l'étude de ses activités biologiques.

*Références
bibliographiques*

Abbas H S (2020). Eucalyptus essential oil, on off-label use to protect the world from Covid-19 pandemic : Review-based hypotheses. Univer. J. Phaum 5: 57- 60.

Abbas N et Guerriche F (2016). Etude phytochimique du thym *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) et évaluation insecticide de son extrait éthanolique brut vis-a-vis de deux insectes, nuisible *Aphis fabae* et utile *Apis mellifera*. Mémoire de Master, Université M'hamed Bougara, Boumerdès, Algérie.

Abbes A (2014). Evaluation de l'activité anti oxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata*« Noukha » de la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

Abd-Ellatif S, Abdel Rahmane SM, Deraz SF (2011). Promising antifungal effect of some folkloric medicinal plants collected from El-hammam habitat, Egypt against dangerous pathogenic and toxicogenic fungi. ARPN journal of Agricultural and Biological Science 6 (9):26-32.

Abdoul Dorosso S (2002). Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation. Thèse de Doctorat, Université de Ouagadougou.

Abimbola AS, Idiat I D, Olayinka AJ, Olawumi OO, Olalekan AM, Theophilus OA (2012). Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north -central Nigeria. J Nat Prod Plant Resour2(1): 1-8.

Adouani L, Merghadi I (2021). Étude des activités biologiques des extraits et l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Mémoire de Master, Université Constantine1, Algérie.

AFNOR (1986). Recueil de Norme Française, coros gras, graines oléagineuses et produits dérivés. AFNOR Ed., Paris, 527 p.

AFNOR (2000). « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris : 661-3.

Aidet K et Filali F, (2015). L'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur le développement des bactéries isolées du lait marmiteux. Mémoire de mastère. Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Algérie.

Amadi CC, Amujiri, A N and Nwadinigwe CC (2020). Pharmaceutical effluent pollution in Amaranthus Hybridus. Bioscience Research 17(3): 2215-2222.

Andrianarison RJ, Andriamitantsoa MSS, Rakotsoana R, Ralambondrahety R, Andrianarison E R (2021). Composition chimique et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de trois espèces d'*Eucalyptus* de la région d'Analamanga. International journal of

progressive Sciences and Technologies (IJPSAT) ISSN : 2509-0119.Vol. 29 No. 1 pp.358-367.

Annosh E et Fatemeh S (2010). Determination of total phenolic and flavonoids contents in Methabolic and Aqueous Extract of *Achillea Millefolium*. Iran Journal org. Chen vol 2: 81-84.

APG II (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society 141: 399-436.

APG III (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 105–121.

Asiaei EO, Moghimipour E, Fakoor M H (2017). Evaluation of Antimicrobial Activity of *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oil against the Growth of Drug-Resistant Bacteria. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical 13(4)65050.

Atmani-Merabet, G (2018). Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie : composition et activité acaricide (*Varroa destructor*), Thèse de Doctorat, Université Constantine1, Algérie.

Atmani-Merabet G, Belkhiri A, Dems AM, Khalfaoui Z, Lalaouna A, Mosbah B (2018). Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. Current issues in pharmacy and medical sciences 31(2): 89-93.

Atmani-Merabet G, Fellah S, Belkhiri A (2020). Comparative study of two Eucalyptus species from Algeria: chemical composition toxicity and acaricidal effect on *Varroa destructor*. Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences 33(3): 144-148.

Ayad A (2017). Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'Ouest algérien. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.

Bakir HY, Bayoumi SAL, Yones DA (2016). Chemical composition and efficacy of some selected plant oils against *Pediculus humanus capitis* in vitro. Parasitol Res 115: 3209-18.

Baptista EB, Zimmermann-Franco DC, Lataliza AAB, Raposo NRB (2015). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Eucalyptus smithii* against dermatophytes. Rev Soc Bras Med Trop 48(6):746–52.

Barbosa LCA, Filomeno CL, Teixeira RR (2016). Supplementary Materials: Chemical Variability and Biological Activities of Eucalyptus spp Ess Oils. Molecules 21, 1671.

Benabdesslem Y, Hachem K & Mébarki M. (2020). Chemical Composition of the Essential Oil from the Leaves of *Eucalyptus globulus* Labill. Growing in Southwest Algeria. Journal of Essential Oil Bearing Plants 23:5, 1154_1160.

Bengaly L, (2011). Implantation et évaluation d'un programma de promotion d'hygiène des mains dans un hôpital national du Mali. Thèse Doctorat. Faculté des Sciences de l'Université de Genève , Bamako (Mali).

Benini C (2007). Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingéniorat. Université Gembloux.

Benouaer M, (2016). L'activité antifongique des extraits aqueux et des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur des champignons potentiellement mycotoxigéniques du blé dur(*Triticum durum* var Vitron). Mémoire de Mastère, Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.

Ben Salem Y, Elaissi A, Khouja ML, Mabrouk S, Rouis Z, Salem NAB (2012). Chemical composition of 8 Eucalyptus species essential oils and the valuation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMCComplementary and Alternative* 12(1): 81.

Benziane Z, Boukir A, Derwich E(2009). GC/MS analysis of volatile constituents and antibacterial activity of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* in AtlasMedian from Morocco. *Ad Nat Appl Sci* 3: 305–13.

Bey-Ould Si Said Z, Boudria A, Harkat-Madouri L, Khodir M, Si Saida K, Rigouc PD (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind Crops and Prod* 78: 148-53.

Bouderbala A, Sandli R, Grana N (2020). Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord-Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis* et *Citrus sinensis*). Mémoire de Mastère. Université 8 mai 1945 Guelma, Algérie.

Bouguerra A (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magistère, Université Mentouri Constantine1, Algérie.

Boukhatem MN, Farhat M.A, Kameli A, Saidi F, Kerkadi W, Sadok Bouziane M (2014). Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy* 17(3) : 303-315.

Boutabia L, Telailia S, Bouguetof I, Guenadil F, Chefrou A (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin dela Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 85 :147 – 189.

Bouvet JM (2013). L'Eucalyptus une essence majeure pour le reboisement à Madagascar. Conférence. Université d'Antananarivo, Madagascar.

Bouzabata A, Bighellia A, Abedb L, Casanova J and Tomia F (2014). Composition and Chemical Variability of *Eucalyptus bosistoana* Essential Oil from Algerian Sahara. Natural Product Communications 9(5) : 701-702.

Bruneton J (1987). Déments de phytochimie et de pharmacognosie. Lavoisier, Paris.

Bruneton J (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 3ème éd., Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

Bruneton J (2009). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd., Tec & Doc. Editions médicales internationales, Paris.

Bruneton J (2016). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 5ème édition, édition Lavoisier Tec & Doc.

Casella S, Ebani VV, Fratini F, Leonardi M, Pisseri F, Pistelli L et al., (2014). Antibacterial activity of EOs, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. Fitoterapia 96: 1–7.

Chiba S & Djouaher F (2018). Activité antibactérienne, anti oxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'Eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana, Algérie.

Dahou FZC (2017). Effet d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* L, sur l'activité bactérienne et fongique. Mémoire de Mastère, Université de Ghardaia, Algérie.

Daroui-Mokaddem H (2011). Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae), Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba, Algérie.

Debbi A (2019). Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici agent du flétrissement de la tomate et recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. A l'égard de l'agent pathogène. Thèse de Doctorat, ENSA, Alger, Algérie.

Djebbari H, Barki D, Boumaagouda S (2021). Etude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (*Rosemarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis*) Mémoire de Mastère, Université Larbi Tebessi, Tebessa, Algérie.

Dobignard A & Chatelain C (2013). Index synonymique de la Flore d'Afrique du Nord. (Vol. 1-2-3-45). Conservatoire et Jardin botanique de la ville de Genève, Genève.

Dosoky N S et Setzer W N (2018). Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. International journal of molecular sciences 19 (7), 1966, 2018.

Elangovan S et Mudgil P (2023). Antibacterial properties of *Eucalyptus globulus* essential oil against MRSA : A Systematic Review. School of Medicine, Western Sydney University, Campbelltown, NSW 2560, Australia. Antibiotics 12(3): 474.

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

Faucon, M (2012). Traité d'aromathérapie Scientifique et médicale : Fondements et aide à laprescription. Paris : Sang de la Terre et Médical : 880 p.

Foudil-Cherif Y, Meklati B. Y, Verzera A, Mondello L & Dugo G. (2000). Chemical Examination of Essential Oils from the Leaves of Nine Eucalyptus Species Growing in Algeria, Journal of Essential Oil Research 12(2): 186-191.

France AgriMer (2020). Production et marchés des huiles essentielles. Aromadays.

Franchomme P, Jollois R, Penoel D (2007). L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1^{ère} éd. Paris : Roger Jollois, p490.

Franchomme P & Penoel D (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, Roger Jallois éditeur, Limoges.

Gakuubi MM, Maina AW, Wagacha JM(2017). Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against Selected Fusarium spp. International Journal of Microbiology vol 7.

Géraldine C (2013). Myrtacées et aromathérapie. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier, Faculté de Pharmacie, p: 42- 48.

Goldstein HB & Epstein BJ (2000). La dentisterie non conventionnelle : Paris 4, les pratiques et les produits dentaires conventionnels. J Can. Dent. Assoc 66 : 564-568.

Grid S, Methanni N (2016). Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques et l'activité antifongique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et médicinales. Mémoire de Mastère. Université Med Seddik Benyahia, Jijel, Algérie.

Hamel T, Sadou S, Seridi R, Boukhdir S, Boulemtafes A (2018). Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien). Ethnopharmacologia n°59.

Helali A, Mokhtari C, Ghoul M, Belhadef M S (2020).Prévenir l'infection par le Covid 19 : quelle place pour les plantes médicinales selon la population Algérienne. Algerian Journal of pharmacy 3 (1) : 2602-795.

Hurtel JM (2006). Noix de muscade, *Myristica fragrans*, fiche médicale sur cette épice aphrodisiaque et son huile essentielle antiseptique, phytomania : phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Phytomania.com.

Hussain, A.I.; Iqbal, Z.; Yasin Ashraf, H.M. Genetic variability oil contents and composition of five species of Eucalyptus. Pak.J.Bot, 2003, 35(5): 843-852.

Kaddour I, Nezrouk M (2021). Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques Eucalyptus sp. et Laurus sp. sur le champignon Fusarium sp. Mémoire de Mastère. Université Abdelhamid Ibn-Badis, Mostaganem, Algérie.

Kara K & Saidi 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). Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri, Algérie.

Kebsi A (2011). Etude des propriétés physico-chimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* dans la région de Ourgla. Mémoire de fin d'étude, Université Kasdi Merbah, Ourgla, Algérie.

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

Kooraki S MD, Hosseiny M MD, Mgers L MD, Gholamrezanezhad AMD (2020). Coronavirus (COVID-19) Outbreak : What the Department of Radiology Should Know. Journal of the American College of Radiology 17(4): 447-451.

Koziol N (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse pour obtenir le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université de Lorraine, France.

Laadel N (2014). Impact de la faune entomologique sur le dépérissement d'*Eucalyptus camaldulensis* dans les régions de Sétif et Bordj Bou Arreridj. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abass Sétif 1, Algérie.

Lahlou M (2004). Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Res 18 : 435-48.

Lanseur Radia (2017). Activités anti-oxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles du fruit de *Citrus lemon*. Mémoire de Master, Université de Bejaia, Algérie.

Laurent J (2017). Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine.

Le Hir A, Chaumeil JC, Brossard D (2016). Pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments Editeur : Elsevier Masson (10^{ème} édition).

Madi K (2019). Préparation et caractérisation d'une formule d'un gel hydro alcoolique. (Licence professionnalisant), Université Akli Mohand Oulhadj, Bouira, Algérie.

Mancianti F, Ebani VV (2020). Biological Activity of Essential Oils. *Molecules* 25(3) : 678.

Martin P (2013). Les Familles des Plantes à fleurs d'Europe, Botanique systématique et utilitaire. 2^{ème} édition. P.65.

Mehani M. (2015). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région d'Ouargla, thèse doctorat. Université de Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie.

Mehani M et Segni L (2014). Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus camaldulensis* sur certaines bactéries pathogènes. *Annales Sci et Technol* 6(1).

Mekonnen A, Taddese S, Tesema A, Yitayew B (2016). In Vitro Antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *Int J Microbiol* : 1–8.

Melun FS et al (2011). *Eucalyptus gundal* : une espèce remarquable pour la production de biomasse. FCBA Institut Technologique.

Mezache Y, Litim E (2018). L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*: Activité antibiofilm et effet préventif et anti-inflammatoire sur la colite induite par l'acide acétique chez les rats femelles. Mémoire de Master, Université Constantine 1, Algérie.

Mohammedi Z (2005). Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Magistère. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

Mokeddem F, Benaouda R (2020). Etude de la lutte biologique contre la pourriture de l'inflorescence du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). Mémoire de Mastère. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie.

Nait Achour K (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'Eucalyptus poussant dans la région de Tizi-Ouzou. Mémoire de Magister, Algérie.

Noura S. Dosoky and William N. Setzer (2018). Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Curcuma Species. *Nutrients*, 10 : 11960.

Onder A et al (2018). Potential of essential oils. IntechOpen.

Ouis N. (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de Doctorat, Université d'Oran 1, Algérie.

Park JW, Wendt M, Heo GJ (2016). Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. *Lab Anim Res.* 32 : 87–90.

Peron A (2020). L'eucalyptol, prometteur contre le Covid-19.

Poncé AG, Fritz R, Delvalle C, Roura SI (2003). Anti microbial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologie* 36:679684.

Quezel P, Santa S (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS (Ed). Paris, Tome 1.

Rezzag A et Chelgui A (2020). Etude de l'activité insecticide des extraits végétaux d'Eucalyptus contre le puceron noir de la fève (*Aphis fabae*). Mémoire de Mastère. Université de Ghardaia, Algérie.

Robin Deschepper (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. *Sciences pharmaceutiques.* ffdumas-01515314f

Saba I, Iqbal MJ, Iqbal M (2013). Bioactivity of *Eucalyptus citriodora* leaves essential oil. *Agrochemical Vol. LVII-N_2.*

Sahraoui M, Lahiouel Z, Merzouki B (2022). Etude Phytochimique et Activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Mémoire de Master, Université, Constantine1, Algérie.

Sarni, T et Yelles, D. (2017). Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cedrus atlantica* et *Origanum compactum* : application sur la tomate. Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.

Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M et al., (2017). Biological Activities of Essential Oils: from Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules* 22, 70.

Sherif E (2019). Algérie : la dynamique naissante des huiles essentielles. *Agroligne*, N°113.

Singh AK, Nagui AA, bhattacharya AK(1989). Chemical constituent of essential oils in different Eucalyptus grown in Kumaon hills (Ramikhet India). *Herba Hung* 28(3): 55-58.

Soidrou SH (2018). Eco-synergie et activité anti oxydante des mélanges tertiaires de trois plantes : l'*Eucalyptus citriodora*, le *Piper pyrifolium* et l'*Ocimum canum*. Quali REG. Les rencontres de l'agroalimentaire en océan Indien, Moroni, Comores.

Taleb-Toudert K (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri, TiziOuzou, Algérie.

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* 265 (11): 1355-1359.

Teulières C, Bossinger G, Moran G, Marque C (2007). Stress Studies in Eucalyptus. *Plant Stress* 1(2): 197-215. Global Science Books.

Tiss Y (2022). L'activité antibactérienne des feuilles Eucalyptus. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master académique, Université de Tissemsilt, Algérie.

Tolba H (2017). Extraction des huiles essentielles des plantes de la flore algérienne, Etude des effets thérapeutiques en vue d'une application pharmaceutique. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Alger, Algérie.

Touhami A (2017). Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de Doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie .134p.

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

WHO-IER-PSP-2010.5-fr: World health organization. Guide de Production locale des solutions hydro alcooliques, 2010.

Résumé

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'importance de l'huile essentielle d'une espèce d'Eucalyptus de la région de Constantine et ce à travers l'étude de ses propriétés antimicrobiennes et la formulation d'un gel hydro alcoolique.

Le rendement enregistré par cette espèce est de 1,35%. Les propriétés organoleptiques et la densité sont en accord avec les normes AFNOR, ce qui rend l'huile de cette espèce de bonne qualité.

L'espèce possède une activité antibactérienne sur les souches *S. aureus* et *E.coli*. La bactérie *E.coli* était la plus sensible donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (20 mm). Une excellente activité antifongique de l'huile a été observée sur *Fusarium oxysporum* avec un taux d'inhibition de 84,28% à la concentration de 0,2%.

Un gel hydro alcoolique normé et contenant l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus a été préparé présentant une odeur agréable et eucalyptolée et un important effet antimicrobien.

L'huile essentielle d'Eucalyptus étudiée s'est avérée dotée des propriétés antimicrobiennes.

Mots clés : Eucalyptus sp, huiles essentielles, activités antimicrobiennes

Abstract

The objective of our work is to highlight the importance of Eucalyptus sp essential oil from the Constantine region, through the study of its antimicrobial properties and the formulation of a hydro alcoholic gel.

The yield recorded by this species is 1.35%. The organoleptic properties and the density are in accordance with the AFNOR standards, which makes the oil of this species of good quality.

The species has antibacterial activity on the *S.aureus* and *E.coli* strains. The *E.coli* bacterium being the most sensitive, giving the greatest value of the diameter of the inhibition zone (20mm). An excellent antifungal activity of the oil was also observed on *Fusarium oxysporum* with an inhibition rate of 84.48% at a concentration of 0.2%.

A standardized hydro alcoholic gel containing the essential oil of the eucalyptus species has been prepared with a pleasant eucalyptol odor and a significant antimicrobial effect.

The eucalyptus essential oil studied was found to have the antimicrobial properties.

Key words: Eucalyptus sp, essential oils, antimicrobial activities.

ملخص

الهدف من عملنا هو تسليط الضوء على اهمية زيت لنوع من نبات الكاليتوس من منطقة قسنطينة ، من خلال دراسة خصائصه المضادة للميكروبات و صياغة هلام مائي كحولي.

المردود المسجل لهذا النوع %1.35 ، الخصائص الحسية و الكثافة مطابقة لمعايير AFNOR ، مما يجعل زيت هذا النوع ذو نوعية جيدة.

هذا النوع له نشاط مضاد للجراثيم على سلالات *S.aureus* و *E.coli*، تعتبر بكتيريا *E.coli* الاكثر حساسية حيث اعطت اكبر قيمة لمنطقة التثبيت بقطر (20مم). كما لوحظ نشاط مضاد للفطريات ممتاز للزيت على *Fusarium oxysporum* مع معدل تثبيط 84.48 % بتركيز 0.2 %.

تم تحضير هلام كحولي مائي معياري يحتوي على الزيت العطري لبهارات الكاليتوس برائحة الأوكاليتول اللطيفة و تأثير كبير مضاد للميكروبات.

وجد أن زيت الكاليتوس الأساسي الذي تمت دراسته له خصائص مضادة للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: زيت الكاليتوس ، الزيوت الأساسية ، الأنشطة المضادة للميكروبات.

<p align="center">Année universitaire : 2022-2023</p>	<p align="center">Présenté par : Hamza Hadil Lalmi Imane Rasenadja Djihad</p>
<p align="center">Propriétés antimicrobiennes d'un Eucalyptus Algérien et formulation d'un gel hydro alcoolique</p>	
<p align="center">Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie</p>	
<p>Résumé</p> <p>L'objectif de notre travail est de mettre en évidence l'importance de l'huile essentielle d'une espèce d'Eucalyptus de la région de Constantine et ce à travers l'étude de ses propriétés antimicrobiennes et la formulation d'un gel hydro alcoolique.</p> <p>Le rendement enregistré par cette espèce est de 1,35%. Les propriétés organoleptiques et la densité sont en accord avec les normes AFNOR, ce qui rend l'huile de cette espèce de bonne qualité. L'espèce possède une activité antibactérienne sur les souches <i>S. aureus</i> et <i>E.coli</i>. La bactérie <i>E.coli</i> était la plus sensible donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (20 mm). Une excellente activité antifongique de l'huile a été aussi observée sur <i>Fusarium oxysporum</i> avec un taux d'inhibition de 84,28% à la concentration de 0,2% .</p> <p>Un gel hydro alcoolique normé et contenant l'huile essentielle de l'espèce d'Eucalyptus a été préparé présentant une odeur agréable et eucalyptolée et un important effet antimicrobien.</p> <p>L'huile essentielle d'Eucalyptus étudiée s'est avérée dotée des propriétés antimicrobiennes.</p>	
<p>Mots-clés : Eucalyptus sp, huiles essentielles, activités antimicrobiennes</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de la Faculté de Médecine (Université Salah Boubnider, Constantine 3).</p>	
<p>Président : Pr MENAD Ahmed (Prof - Université des Frères Mentouri, Constantine 1). Encadreur : Dr ATMANI-MERABET Ghania (MCA - Université Salah Boubnider, Constantine 3). Examinatrice : Dr DEKDOUK Nadia (MCB- Université Chahid Mostafa Benboulaïd, Batna 2).</p>	