

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



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Sciences de l'environnement

Par : MORSLI MESSAOUDA

Thème

La mise en évidence du pouvoir antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus globulus* L de la région de Ghardaïa (Cas d'Oued Metlili).

Soutenu publiquement le : 25/05/2015

Devant le jury :

M^r. BOUNAB Chouaib	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Président
M^{lle}. OUICI Houria	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
M^r. GUERGUEB El Yamine	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur
M^r. BELGHIT Saïd	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur

Année universitaire 2014/2015

Dédicace

J'offris le fruit de mon travail le plus humble au visage du dieu

Tout-Puissant, son prophète et ses compagnons.

A la source des passions et de tendresse, Pour l'esprit de ma chère mère.

Au celui qui illumine ma voie de réussite et de succès pour la lumière de mon cœur mon père. « Que dieu prolonge sa vie ».

Aux celles dont grâce à son existence j'ai gagné une telle puissance et un amour infinie mes chères sœurs, Fatima et Khadija et sa famille

Aux chers de mon cœur mes frères ; Larbi et sa famille, Abdul kadir et sa famille, Lachen, à mon cher compagnon mon frère Hocine.

A mes chères tantes Oum hani.

A toutes mes tantes et leurs conjoints, à mes oncles et leur épouse et leurs enfants.

A chacun qui porte le nom de Morsli et le nom de Boukhari.

A tous mes enfants de mon famille : Hana, Khoulood, Mohammed, Baraee, Abdel moeze, Aicha, Huda, Abdel Allah, Malek, Abdel bassit.

A toutes mes sœurs, et mes chères amies mes collègues de 2ème année master écologie et environnement 2015.

A notre encadreur Melle OUICCI Huria pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'il trouve ici, l'expression de nous profonde reconnaissance, notre immense gratitude et nous grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance ses encouragements.

A Ms directeur d'école primaire MAHDJOUBE Tayab BOUCHENGA Kadour et mes amis et toute l'équipe de mon travail.

MESSAOUDA

Remercimen

الحمد لله الذي هداني لهذا وما كنت لأهتدي لولا ان هداني

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide de ALLAH qui ma donnée la force afin de l'accomplir.

Mes profonds remerciements à Mlle OUCI Houria Maître assistante à l'Université de Ghardaïa. (Maître assistant au département de Biologie à la Faculté des Sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre de Université de Ghardaïa), Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet De recherche, merci pour l'encadrement ;

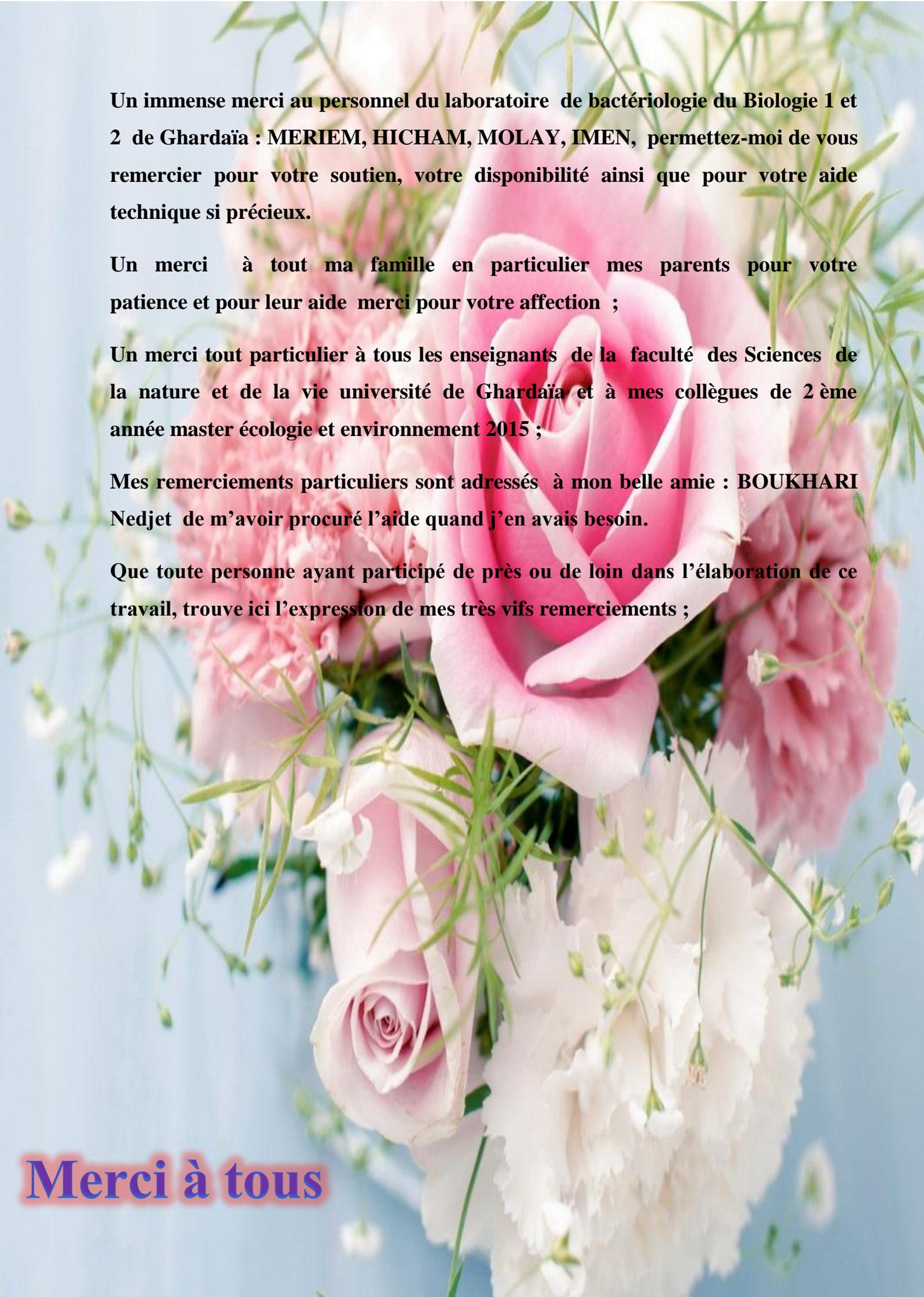
Je remercie vivement les membres de ce jury: Monsieur BOUNNAB CH, Je suis très honorée que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et soyez assuré de ma profonde gratitude.

Monsieur GUERGUEB E - Y, votre venue en tant qu'examineur m'honore, je vous suis très reconnaissante et je vous adresse mes vifs remerciements

Monsieur BELGHIT S, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à mon travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer.

Mes vifs remerciements s'adressent au docteur KAMASSI A pour son aide. .

Je remercie de même Ms. KRIMMAT qui m'a accueilli dans son laboratoire de Biologie du de Ghardaïa, pour les conditions techniques mises à ma disposition afin de réaliser la partie de l'activité antibactérienne.



Un immense merci au personnel du laboratoire de bactériologie du Biologie 1 et 2 de Ghardaïa : MERIEM, HICHAM, MOLAY, IMEN, permettez-moi de vous remercier pour votre soutien, votre disponibilité ainsi que pour votre aide technique si précieux.

Un merci à tout ma famille en particulier mes parents pour votre patience et pour leur aide merci pour votre affection ;

Un merci tout particulier à tous les enseignants de la faculté des Sciences de la nature et de la vie université de Ghardaïa et à mes collègues de 2^{ème} année master écologie et environnement 2015 ;

Mes remerciements particuliers sont adressés à mon belle amie : BOUKHARI Nedjet de m'avoir procuré l'aide quand j'en avais besoin.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements ;

Merci à tous

Résumé :

Le but de notre étude est de déterminer le pouvoir antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus globulus* L. L'extraction de la partie aérienne d'*Eucalyptus globulus* L a été réalisée par la méthode de l'extraction par reflux.

Le test d'activité antimicrobienne a été effectué sur quatre souches bactériennes (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), et quatre souches fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*), les résultats montrent que l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L possède un modéré d'activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition entre 33,5 et 8,5 mm en comparaison avec l'activité antifongique qui atteindrent une diamètre d'inhibition environ de 30,8 et 10 mm avec une sensibilité dans les concentrations faibles de notre extrait. Par contre *Aspergillus niger* est résistant dans les concentrations 100 % et toutes les dilutions.

Mots clés : Activité antibactérienne, activité antifongique, l'extrait aqueux, *Eucalyptus globulus* L, inhibition

Abstract:

The aim of our study was to determine the antibacterial and antifungal power of the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L. The extracting of the aerial part of *Eucalyptus globulus* L was done by the method of reflux extraction.

The antimicrobial activity test in four bacterial strains (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) and four fungal strains (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*) the results show that the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L has a moderate antibacterial activity with inhibition diameters between 33.5 and 8.5 mm in comparison with antifungal activity that achieve an inhibition diameter of about 30.8 mm and 10 mm with a sensitivity to low concentrations of our extract. In the opposite *Aspergillus Niger* is resistant against concentrations of 100% and in all other dilutions.

Key words: activity antibacterial, activity antifungal, the aqueous extract, *Eucalyptus globulus* L, inhibition

ملخص:

المهدف من هذه الدراسة هو تحديد قوة مضادة للبكتيريا و الفطريات من المستخلص المائي لنبات *Eucalyptus globulus* L الذي تم استخلاصه بطريقة الارجاع..

اختبار نشاط المستخلص تم ضد أربع سلالات بكتيرية (*Proteus mirabilis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*) وأربع سلالات فطرية (*Bacillus sibtilus, Lavus Aspergillus, Niger Aspergillus, Fusarium culmorum, Candida albicans*) أظهرت النتائج أن المستخلص المائي *Eucalyptus globulus* L لديه نشاط معتدل ضد سلالات البكتيريا بأقطار تثبيط تتراوح بين 8.5 و 33.5 ملم مقارنة مع نشاطه ضد السلالات الفطرية حيث كان قطر التثبيط فيها ما بين 10 ملم و 30.8 ملم مع حساسية في التركيزات المنخفضة لمستخلصنا، على عكس *Aspergillus Niger* المقاومة حتى في أكبر التراكيز.

كلمات البحث: مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات، المستخلص المائي، *Eucalyptus globulus* L ، تثبيط

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1-	Superficies des communes de la wilaya	05
2-	Données météorologiques de Ghardaïa (2003-2013)	08
3-	Répartition des Eucalyptus à travers dans le monde	14
4-	Classification taxonomique du genre <i>Eucalyptus globulus</i>	16
5-	Masse, rendement et couleur de l'extrait aqueux	37
6-	Diamètres (mm) des zones d'inhibition d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes	38
7-	Diamètres (mm) des zones d'inhibition d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les souches fongiques	44

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Découpage et limites administratives de la wilaya de Ghardaïa	5
02	Localisation géographiques de la commune de Metlili	6
03	Diagramme Ombrothermique de la région de Ghardaïa (2004-2014)	10
04	Etage bioclimatique de Ghardaïa selon de Climagramme d'EMBERGER (2004-2014)	11
05	Formule chimique du 1.8 cinéole	17
06	Formule chimique du phellandral	19
07	Formule chimique du Pipéritone	19
08	Formule chimique d'Aldéhyde isovalérique	19
09	Formule chimique du Citronellal	19
10	Classification d' <i>Eucalyptus globulus</i> L selon Cronquist (1988)	20
11	Activité antibactérienne de solution mère de l'extrait aqueux d' <i>Eucalyptus globulus</i>	39
12	Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-1) et (D-2).	40
13	Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-3) et (D-4)	42
14	Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-5) et (D-6).	43
15	Activité antifongique de l'extrait aqueux sur les souches fongiques.	45

Liste des photos

N°	Titre	Page
01	Les différents types d'eucalyptus qui occupaient, plus de la moitié de la surface plantée.	15
02	<i>Eucalyptus globulus</i> L, dans la région de Metlili	21
03	Les feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	22
04	Dispositif d'extraction des principes actifs par reflux	31
05	Élimination de méthanol	31
06	Méthode de dilution sur milieu liquide	33
07	Boîte Pétri coulées en milieu de culture	33
08	Préparation de l'inoculum	34
09	Méthode d'ensemencement des bactéries dans les boîtes de Pétri	34
10	Application des disques d'aromatogramme	35
11	Effet de l'extrait aqueux sur les souches bactériennes	40
12	Effet de l'extrait aqueux après la dilution (D-1) et (D-2) sur les souches bactériennes	41
13	Effet d'extrait aqueux d' <i>Eucalyptus globulus</i> L sur les souches fongiques	46

Table des matières

Dédicace	
Remerciement	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : présentation de la région d'étude	
1. Présentation générale de la wilaya Ghardaïa	4
1.1. Site d'étude (Metlili)	6
1.1.1. Situation géographique	6
1.1.2. Facteurs géomorphologiques	7
1.1.3. Facteurs pédologiques	7
1.1.4. Facteurs hydrologiques	7
1.1.5. Facteurs climatiques	7
1.1.5.1. Températures	8
1.2.5.2. Précipitation	8
1.1.5.3. Humidité relative	9
1.1.5.4. Vent	9
1.1.5.5. Évaporation	09
1.1.5.6. Insolation	09
1.2. Synthèse bioclimatique	09
1.2.1. Diagramme Ombrothermique	09
1.2.2. Climagramme d'EMBERGER	10
Chapitre II : Généralité sur L'eucalyptus	
1. généralité	13
2. Origine du nom	13
2.1. Noms communs	13
2.2. Nom botanique	13
2.3. Noms vernaculaires	13
3. Famille des myrtacées	14
4. Description botanique	14

5. Domaines d'utilisation	16
5.1. Les huiles essentielles	17
2.5.1.1. Toxicité des huiles essentielles	17
5.2. Les huiles industrielles	17
5.3. Les huiles de la parfumerie et des flaveurs	19
6. Présentation de plante étudiée	19
6.1. Description botanique	19
6.2. Classification d'espèces botanique	20
6.3. Aspect botanique	22
6.3.1. Les feuille	22
6.3.2. Les fleurs	22
6.3.3. Les fruits	23
6.3.4. Les racines	23
6.3.5. Quand récolter	23
6.4. Habita	23
6.5. Propriétés et usage	23
6.6. Utilisation des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> L	24
6.6.1. Utilisation interne	24
6.6.2. Utilisation externe	24
Chapitre III : Matériels et Méthodes	
1. Matériels	27
1.1. Objectif	27
1.2. Matériel végétale	27
1.3. Matériels biologique	27
1.3.1. Les tests biologiques	27
1.3.1.1. Test d'activité antibactérien	27
1.3.1.1.1. Généralités	27
1.3.1.1.2. Les souches bactériennes testées	28
1.3.1.2. Test d'activité antifongique	29
2. Méthodes	30
2.1. Extraction par reflux (extrait aqueux)	30
2.2. Préparation du milieu de culture de MUELLER-HINTON	32
2.3. Préparation du milieu de culture de PDA	32

2.4. Méthode de dilution sur milieu liquide	32
2.5. Tests d'activités antimicrobien et antifongique	33
2.5.1. Préparation de l'inoculum	33
2.5.2. L'ensemencement	34
2.5.3. Préparation des disques d'aromatogramme	34
Chapitre IV : Résultats et Discussion	
1. Résultats	37
1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	37
1.1.1. Extraction	37
1.1.2. Sensibilité des bactéries à l'extrait aqueux d' <i>Eucalyptus globulus</i> L	37
1.1.3. Lecture des résultats	38
1.1.4. Des remarques de l'activité antibactérien	43
1.2. Pouvoir antifongique	44
1.2.1. Lecture des résultats	44
2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	46
CONCLUSION	50
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES	53
ANNEXES	59



Introduction

A travers le temps, l'homme a pu compter sur la nature pour assurer ses besoins de base: nourritures, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (1993، سيد هيكل).

Plus de 80% de la population africaine ont recours aux drogues faites essentiellement de matières végétales qui poussent autour de leur ville. En plus dans le monde, près 25% des prescriptions sont à base de plantes et 60 à 70% des médicaments antibactériens et anticancéreux sont des substances d'origine naturelle (DIALLO., 2005).

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques (DELAVEREAU, 1982).

Les plantes médicinales occupent actuellement un rang très important dans la production agricole et dans l'industrie. Elles présentent un secteur économique très fin et soigné dans les pays producteurs. Les plantes médicinales sont les sources principales des principes actifs utilisés dans le domaine pharmaceutique pour la production des médicaments. Elles sont aussi souvent utilisées dans le domaine de fabrication des produits de beauté, les détergents et autres. Les plantes médicinales sont impliquées dans ces différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont. Notons là les différentes familles des produits biologiques (hormones, cortisones ...) utilisés avec une très grande importance dans la production des produits pharmaceutiques (1995، فرج العطييات).

Aujourd'hui, le traitement à base de plantes revient au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves décroît. Les bactéries et les virus et les fongiques se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (ISERIN., 2001).

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des praticiens traditionnels est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie, emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages.

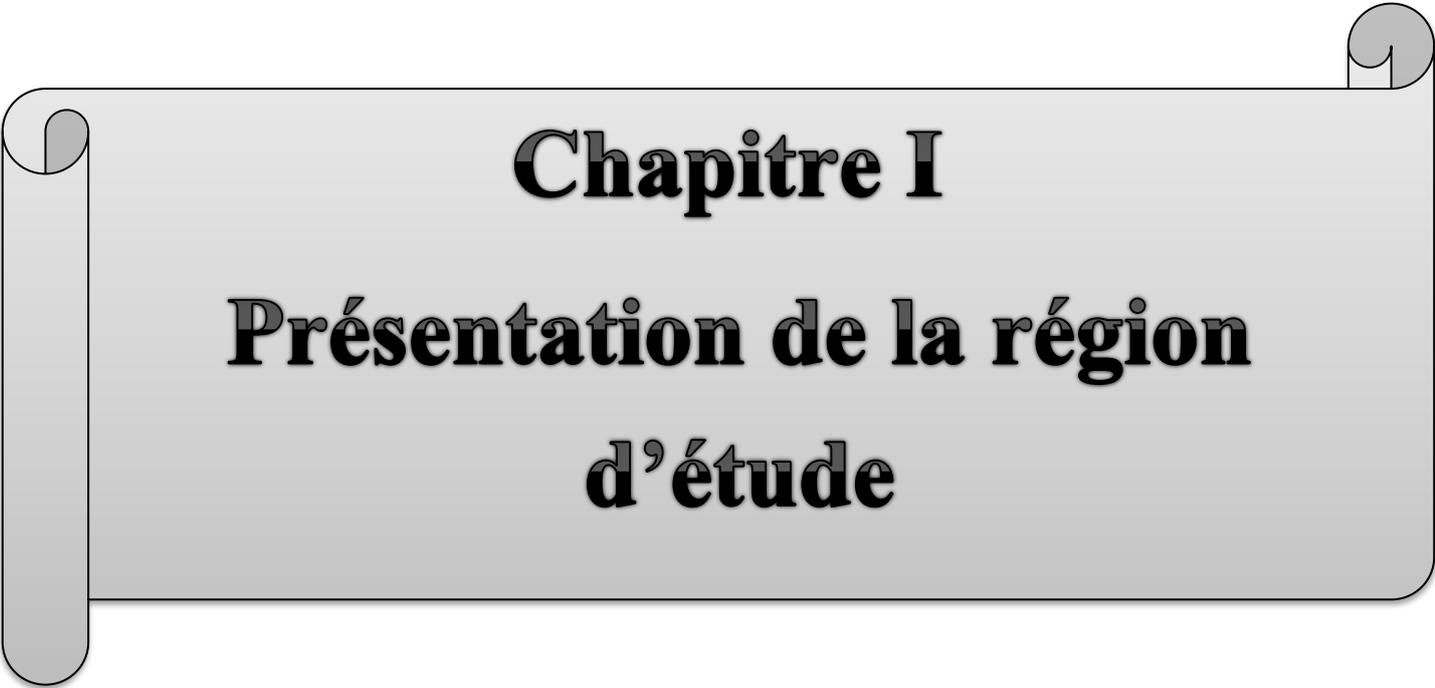
La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethno pharmacologiques (1995، فرج العطيّات).

Nous avons étudié un échantillon d'extrait aqueux de notre plante. L'extrait aqueux a été obtenue à partir de L'extraction par reflux cette dernière est utilisée pour l'extraction des principes actifs par l'utilisation d'un mélange de solvant (eau + solvant organique). Le matériel végétal a été récolté de la région de Ghardaïa (Metlili).

Notre recherche vise à étudier l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait aqueux de la plante. La plante médicinale et aromatique (*Eucalyptus globulus* L) choisies en fonction de caractéristiques thérapeutiques en médecine traditionnelle.

Notre travail comporte sur cinq parties :

- Le premier chapitre concerne la présentation de la région de Ghardaïa on Metlili.
- Le second chapitre concerne généralité sur *Eucalyptus*.
- Le troisième chapitre présenté la méthodologie adoptée.
- Le quatrième chapitre, concerne les principaux résultats (l'activité antibactérienne et antifongique), et l'interprétation de ces résultats.
- Enfin une conclusion générale sur l'ensemble de ce travail.

A decorative graphic of a scroll, rendered in light gray with a black outline. The scroll is unrolled horizontally across the middle of the page. The top edge is slightly curved, and the bottom edge is also curved, with a small circular detail at the top right corner.

Chapitre I

Présentation de la région d'étude

1. Présentation générale de la wilaya Ghardaïa

Notre étude est menée dans la région de Metlili qui fait partie de la wilaya de Ghardaïa. En effet, elle englobe les mêmes caractéristiques géographiques et climatiques de celle-là.

La wilaya de Ghardaïa se situe au centre de la partie Nord du Sahara. Elle est issue du découpage administratif du territoire de 1984 (D.P.S.B., 2014). À environ 600 Km de la capitale Alger. Ses coordonnées géographiques sont (BICHI et BEN TAMER., 2006).

- Altitude 480 m.
- Latitude 32° 30' Nord.
- Longitude 3° 45' Est.

Elle est limitée :

- Au Nord par la Wilaya de Laghouat (200 km).
- Au Nord Est par la Wilaya de Djelfa (300 km).
- A l'Est par la Wilaya d'Ouargla (200 km).
- Au Sud par la Wilaya de Tamanrasset (1470 km).
- Au Sud-Ouest par la Wilaya d'Adrar (400 km).
- A l'Ouest par la Wilaya El-Bayad (350 km).

La wilaya couvre environ 86 560 km² (Tableau 1), avec une population estimée en 2007 à 361 570 habitants. C'est une région où la phœniciculture est la base de l'activité agricole en raison de sa grande capacité d'adaptation aux conditions climatiques du milieu saharien (D.P.A.T., 2009).

1.1. Site d'étude (Metlili)

1.1.1. Situation géographique

Les échantillons à tester provient d'un *Eucalyptus* à Metlili (Altitude 455 m, Latitude 32°-16° Nord, Longitude 3°-30° Est), elle est distante de 35 ou 40 km du chef-lieu de la wilaya de Ghardaïa, dont elle fait partie (CHEHMA et NOUACER ., 2011).

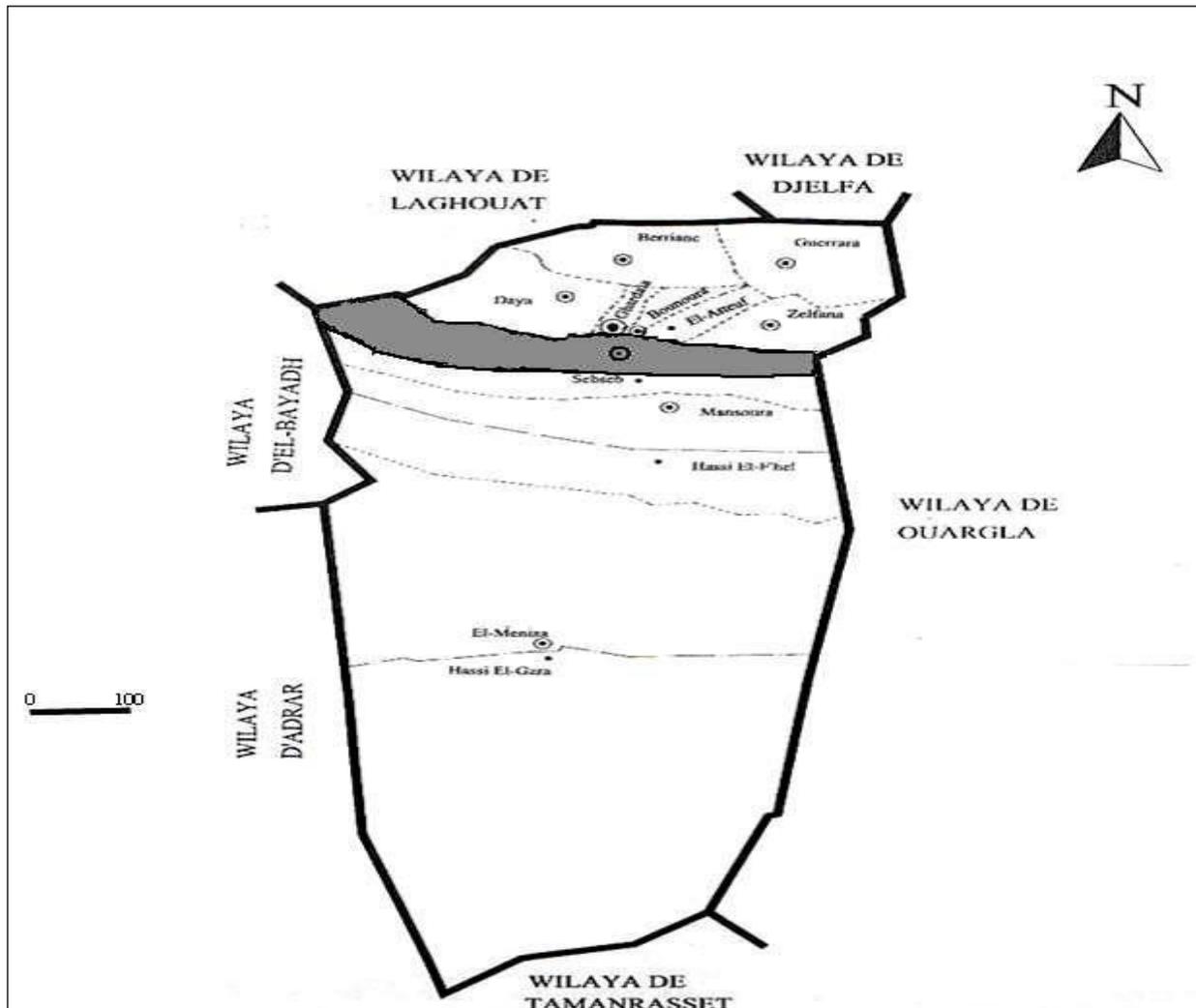


Figure 2 : Localisation géographique de la commune de Metlili (D.P.S.B., 2014 modifié).

1.1.2. Facteurs géomorphologiques

Selon DAOUDI (2010), la région de Metlili est caractérisée par la présence de différentes formes géomorphologiques qui sont :

- **Les Oueds** : Oued Metlili, dont l'orientation est d'Est vers l'Ouest jusqu'aux environs de Ouargla.
- **Hamada** : terre régulée qui existe à l'Est de la région de Metlili.
- **Chebka** : comme une terre rocheuse où existent les lignes des ensembles des Oueds, exemples : Oued Metlili, Oued el-N 'sa, Oued Sebseb.
- **Regs** : ce sont des formations de sables de différents volumes, ils sont soit mobiles ou stables. Ils occupent une grande partie de la superficie totale de la wilaya de Ghardaïa.

1.1.3. Facteurs pédologiques

La Chebka de M'Zab comme étant une formation caillouteuse, avec un relief raviné par un réseau de vallées extrêmement complexe.

Le plateau rocheux représente environ 10% de la superficie totale de la wilaya (HOUICHITI., 2000)

1.1.4. Facteurs hydrologiques

Les ressources hydrauliques de la wilaya sont essentiellement souterraines. Les ressources en eaux de surface proviennent généralement des crues importantes de l'Oued M'Zab inondant ainsi la région de Ghardaïa. Ces crues sont générées par les averses sur la région de Laghouat-Ghardaïa (A.N.A.T., 2005).

Les principales ressources d'eaux souterraines ont pour origine deux nappes principales : Nappe du complexe terminal (C.T) et Nappe du continentale intercalaire (C.I) (A.N.A.T., 2005).

1.1.5. Facteurs climatiques :

Le caractère fondamental du climat Saharien est la sécheresse de l'air mais les microclimats jouent un rôle considérable au désert (ONM., 2003). Le relief, la présence d'une végétation abondante peuvent modifier localement les conditions climatiques (ONM., 2003).

La présente caractérisation du climat de la région est fait à partir d'une synthèse climatiques de 10 ans ; entre 2003 et 2013, à partir des données de la station de Ghardaïa de l'Office National de Météorologie (Tableau 2) (ONM-GHARDAÏA., 2013 ; TUTIEMPO., 2014).

Tableau 2 : Données météorologique de Ghardaïa (2003-2013) (ONM-GHARDAÏA., 2013 ; TUTIEMPO., 2014).

	T. (°c)	P. (mm)	I. (h)	E. (mm)	H. (%)	V.V (m/s)
Janvier	11,37	14,56	250,55	95,88	53,4	3,12
Février	15,81	1,62	245,67	118,11	43,8	2,26
Mars	17,18	8,06	277,44	171	39,6	3,15
Avril	21,4	8,29	295,22	218,22	36,4	3,32
Mai	25,73	3,1	330,89	263,66	29,4	3,22
Juin	30,98	3,39	342,22	357,33	26,2	4,06
Juillet	34,97	2,76	347,67	387,66	22	2,53
Août	32,88	3,74	329,88	349,55	25,2	2,35
Septembre	29,08	20,57	271,33	262,88	37,6	2,66
Octobre	23,78	10,27	276,89	161,88	47,8	2,6
Novembre	17,06	7,21	261,89	118,33	47,8	2,23
Décembre	12,17	5,79	233,89	155,55	51,4	2,51
Moyenne annuelle	22,70	7,44	288,62	221,67	38,38	2,83

1.1.5.1. Températures

La température moyenne annuelle est de 21,57 °C, avec 41,73 °C. Enregistrée pour le mois de Juillet (le mois le plus chaud), et 6,26 °C. Enregistrée pour le mois de janvier (le mois le plus froid).

1.1.5.2. Précipitation

D'une manière générale, les précipitations sont faibles et d'origine orageuse, caractérisées par des écarts annuels et interannuels très importants. Les précipitations cumulées annuelles sont de l'ordre de 103,74 mm.

1.1.5.3. Humidité relative

L'humidité relative de l'air est très faible, elle est de l'ordre de 20,9 % en juillet, atteignant un maximum de 54,59 % en mois de Décembre, et une moyenne annuelle de 37,45 %.

1.1.5.4. Vent

Ils sont de deux types :

- Des vents de sables en Automne, Printemps et Hiver de direction Nord –Ouest.
- Des vents chauds (Sirocco) dominant en été, de direction Sud Nord ; ils sont très sec et entraînent une forte évapotranspiration (BENSEMOUNE., 2007).

D'après les données de site (TUTTIEMPO., 2014), les vents sont fréquents durant toute l'année, avec une moyenne annuelle de 3,36 m/s.

1.1.5.5. Évaporation

D'après l'O.N.M (2010), l'évaporation est très intense, surtout lorsqu'elle est renforcée par les vents chauds. Elle est de l'ordre de 2746,13 mm/an, avec un maximum mensuel de 431,55 mm au mois de Juillet, et un maximum de 48,34mm au mois de Janvier.

1.1.5.6. Insolation

La durée moyenne de l'insolation est de 299,43 h/mois 282,6 avec un maximum de 532,42 au mois d'Avril ; et un maximum de 242,85 au mois de février. La moyenne annuelle est de l'ordre 3593,18 h/an, soit approximativement 9,84 heures /jour (l'O.N.M., 2010).

1.2. Synthèse bioclimatique

1.2.1. Diagramme Ombrothermique

Selon le tableau N° 2 qui se base sur l'enregistrement des données de précipitations et des données de températures mensuelles des années (2004 - 2014), on peut établir la courbe pluviométrique dont le but est de déterminer la période sèche.

Le diagramme ombrothermique de Bagnouls et Gaussen (1953) permet de suivre les variations saisonnières de la réserve hydrique. Il est représenté (Fig.03) :

- en abscisse par les mois de l'année.
- en ordonnées par les précipitations en mm et les températures moyennes en °C.
- une échelle de P=2T.
- L'aire comprise entre les deux courbes représente le période sèche. Dans la région de Ghardaïa, nous remarquons que cette période s'étale sur toute l'année.

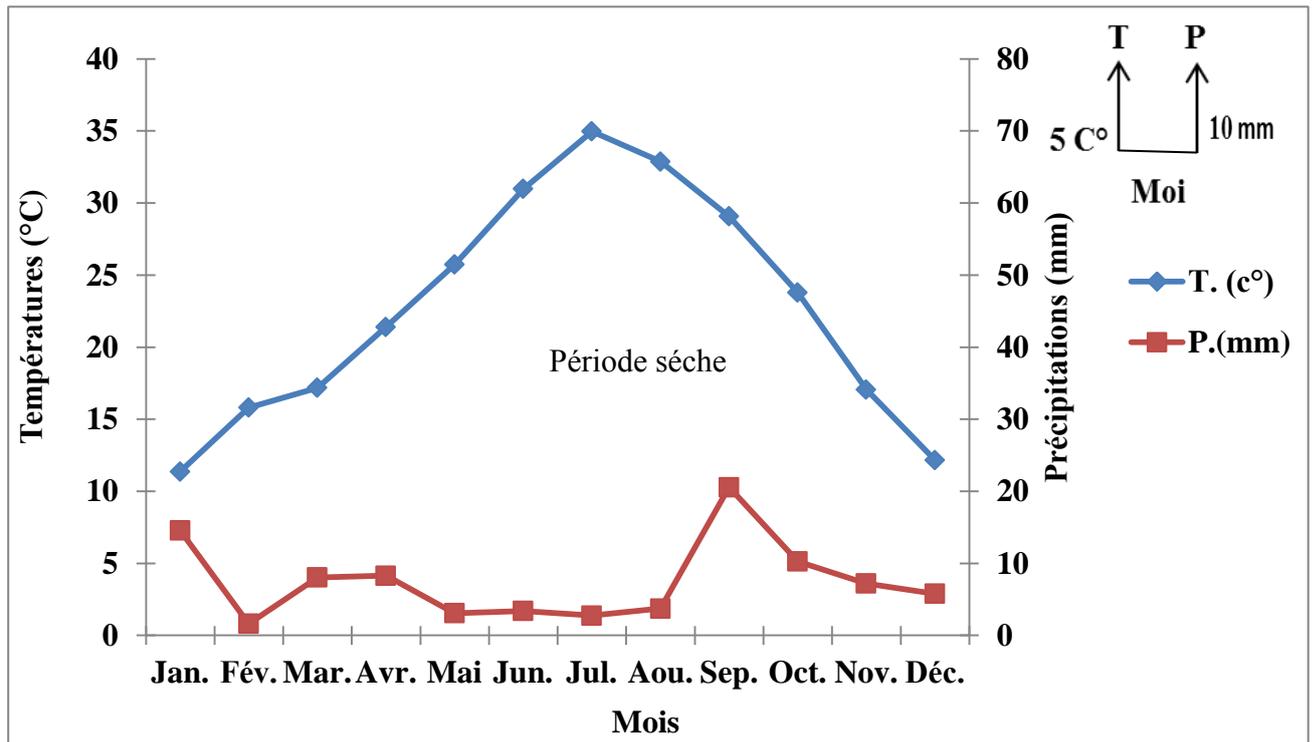


Figure 3 : Diagramme Ombrothermique de la région de Ghardaïa (2004-2014)

1.2.2. Climagramme d'EMBERGER

Il permet de distinguer les différentes nuances du climat méditerranéen et caractériser l'étage bioclimatique d'une région donnée (DAJOZ., 1982). Le quotient pluviothermique d'Emberger est déterminé selon la formule suivante:

$$Q_2 = 3,43 P / M - m$$

Où :

Q_2 : Quotient thermique d'EMBERGER.

P : Pluviométrie moyenne annuelle en mm.

M : Moyenne des maxima du mois le plus chaud en °C.

m : Moyenne des minima du mois le plus froid en °C.

Une fois que cette valeur du quotient est portée sur le Climagramme d'Emberger, elle situe la région d'étude dans l'étage bioclimatique saharien à hiver tempéré et son quotient pluviométrique (Q_2) est de 7.2 (figure 04).

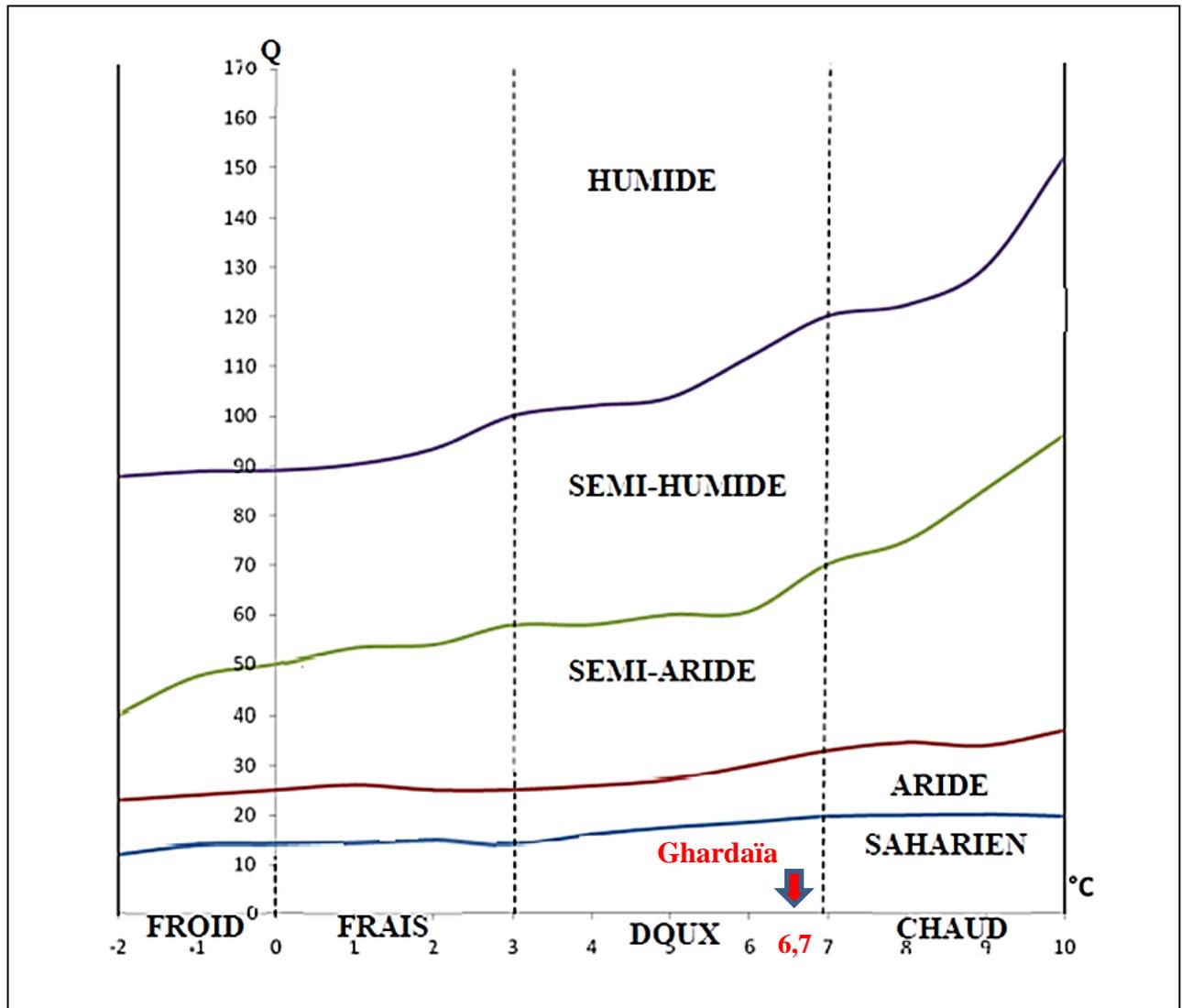
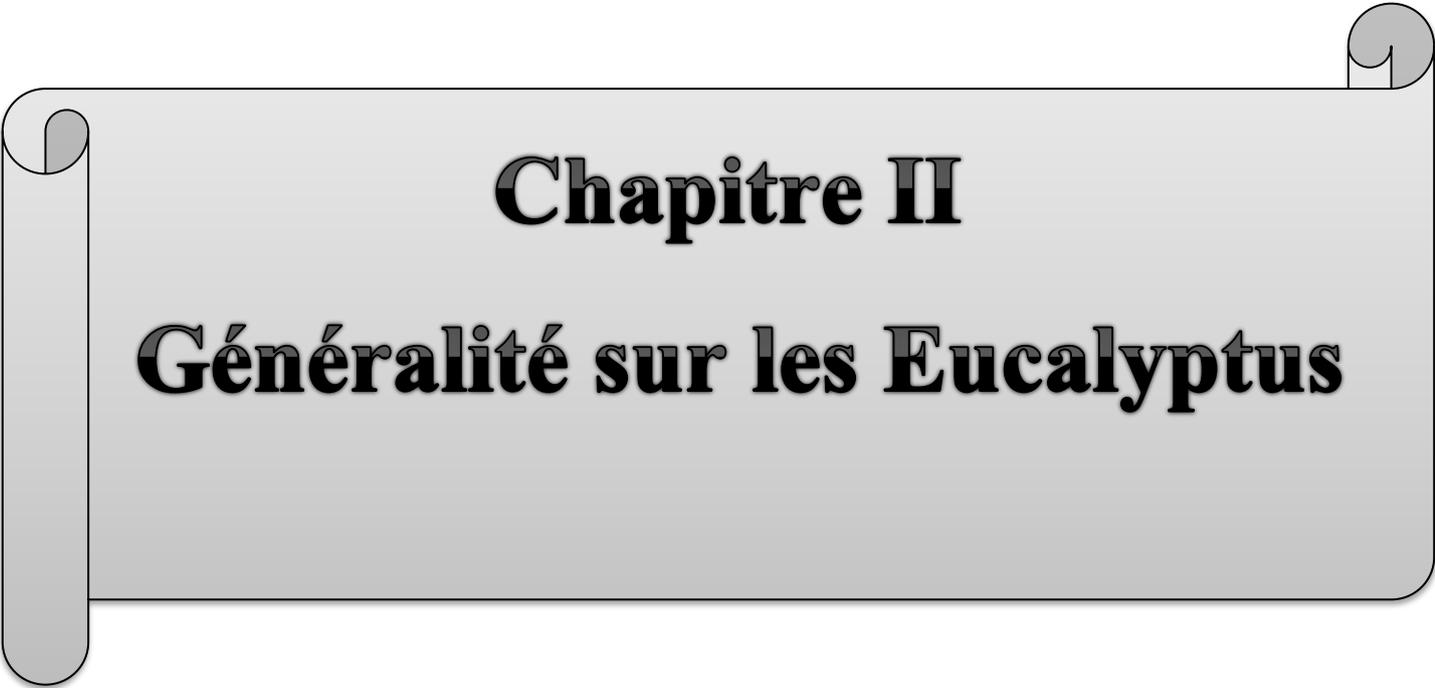


Figure 4 : Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le Climagramme d'EMBERGER (2004-2014).

A decorative graphic of a scroll, rendered in shades of gray, with a black outline. The scroll is unrolled horizontally across the middle of the page. The top edge is slightly curved, and the bottom edge is also curved, with a small circular detail at the top right corner. The text is centered within the unrolled portion of the scroll.

Chapitre II

Généralité sur les Eucalyptus

1. Généralités :

Dans les principaux pays planteurs d'eucalyptus, *Eucalyptus globulus* L a été la principale source commerciale d'huiles essentielles, ses feuilles renfermeraient environ (60-75 %) de cinéol- 1,8 (eucalyptol) (SERVENTY., 1968).

Ces huiles essentielles peuvent constituer un revenu intérieur intéressant étant donné qu'on peut même obtenir des quantités massives de feuilles par les rejets repoussant après l'exploitation du peuplement (SERVENTY., 1968).

2. Origine du nom

Le mot « Eucalyptus » vient du grec ; Eu « bien » et kaluptos « couvert »

2.1. Noms communs :

Gommier, gommier bleu, arbre au koala, arbre à la fièvre.

2.2. Nom botanique :

Eucalyptus globulus et plusieurs autres espèces du genre botanique . *Eucalyptus* (*E. citriodora*, *E. dives*, *E. radiata*, *E. polybractea*...etc.)

2.3. Noms vernaculaires

Arabe : شجرة الكينا، كالتوس

France : eucalyptus

Anglais: eucalyptus, oil of respiration

Allemagne : eukalyptus

Espagne : eucalipto

Italie : eucalypto

Algérie : kalytous

3. Famille des myrtacées :

La famille des Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de trois mille espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques, des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie et en Amérique tropicale (SERVENTY., 1968).

4. Description botanique

Le genre *Eucalyptus* est originaire de Tasmanie en Australie. Il fait partie de la famille des myrtacées, son nom a pour origine les mots grecs : **eu** « bien » et **kaluptos** « couvert ». Il fut décrit et baptisé en 1788 par le botaniste français L'HERIRIER, après qu'il eut examiné des échantillons d'*Eucalyptus obliqua*, parmi les plantes australiennes récoltées par NELSON. Dix-neuf espèces d'eucalyptus avaient été nommées en 1890 et 28 en 1820. En 1840, 71 espèces d'eucalyptus avaient reçu des noms et 149 en 1890. Depuis lors, des savants botanistes se sont succédé dans la description des espèces d'eucalyptus et W.F. BLAKELY, assistant de MAIDEN, décrivait 500 espèces dont 138 variétés en 1938 (BIGENDAKO., 2004).

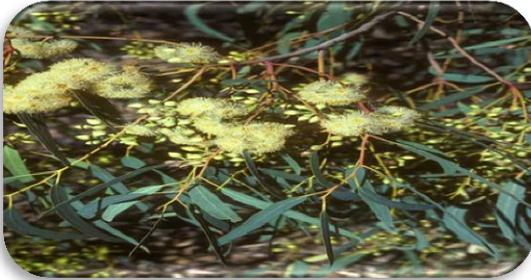
La surface des plantations d'eucalyptus a considérablement augmenté depuis 20 ans, en particulier en Asie et en Amérique du Sud. Les statistiques de l'IUFRO réalisées en 1997 estimaient à 14 millions d'hectares la surface mondiale plantée. Le tableau III-1 représente la répartition des plantations d'eucalyptus à travers le monde (ELDRIDGE et al., 1993).

Tableau 3 : Répartition des eucalyptus à travers le monde.

Continents	Nombre de pays	Surface (10 ³ Ha)
Afrique	37	1513
Amérique Centrale	7	54
Amérique du Sud	13	6200
Asie	12	4737
Méditerranée	7	961
Pacifique	3	183

Le nombre d'espèces d'eucalyptus introduites dans différents pays est supérieur à 150, moins d'une trentaine sont exploitées de façon significative en plantation et quatre espèces (*E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. tereticornis* et *E. grandis*) (photo n°1) occupaient, à la fin des années quatre-vingts, plus de la moitié de la surfaces plantées (ELDRIDGE et al., 1993).

Eucalyptus camaldulensis (site 01)



Eucalyptus globulus (site 02)



Eucalyptus tereticornis (site 03)



Eucalyptus grandis (site 04)



Photo n°1 : les différents types d'eucalyptus qui occupaient, plus de la moitié de la surface plantée.

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*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 l'eucalyptus « Algériensis ». Dans les années 40 et 50 les eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi- arides. Dans ce cadre pas moins de 13 espèces ont été plantés sur le territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'eucalyptus ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bâïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (ANONYME., 1996).

La classification scientifique réalisée par l'AGP (Angiosperms Phylogeny Groupe) sur le genre eucalyptus a permis de déterminer la systématique figurant sur le tableau n° 04 (GUIGNARD., 2001)

Tableau 4 : Classification taxonomique du genre eucalyptus (GUIGNARD., 2001).

Règne	Plantae (végétal)
Embranchement	Phanerogames
Sous Embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous Classe	Rosids_Eurosids II
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacée
Genre	Eucalyptus

5. Domaines d'utilisation

Les eucalyptus possèdent toute une gamme de mécanismes d'adaptation et ont une croissance rapide, c'est ce qui leur a permis d'être la première espèce ligneuse angiosperme de reboisement industriel dans le monde. Les plantations d'eucalyptus ont connu un développement rapide dans les zones chaudes du globe au cours des dernières décennies (BROWN et *all.*, 1999).

La vocation de la quasi-totalité de ces plantations est la production de bios. Le bois d'eucalyptus présente des caractéristiques technologiques intéressantes pour la production de pâte à papier (fibres courtes) qui constitue le débouché principal de la majorité des reboisements industriels dans le monde (CAMPINHOS E., 1999).

Il est également apprécié pour la production de panneaux de particules (MDF) ou de viscose. Dans les zones périurbaines, de nombreux pays en développement utilisent le bios d'eucalyptus pour la production du charbon de bois (BOUVET., 1999).

Comme les autres membres de la famille des Myrtacées, les feuilles d'eucalyptus sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre. Les huiles essentielles d'eucalyptus, commercialisées dans le monde trouvent des applications diverses en fonction de leur compositions chimiques (BOUVET., 1999).

5.1. Les huiles essentielles

Grâce à sa composition chimique et à son principe-actif qui est le 1.8cinéole (figure 05), l'HE d'eucalyptus possède des vertus considérables, elle très recherchée pour son action antiseptique et cicatrisante. Antibiotique naturel, elle est surtout utilisée pour soigner certaines maladies broncho-pulmonaires comme la grippe, la toux, la sinusite, la bronchite et la rhinopharyngite tandis qu'en dermatologie, on s'en sert pour traiter l'acné, entre autres. Son action est particulièrement remarquable au niveau du poumon par sécrétion d'un mucus antiseptique. Pour ceux qui ont des problèmes de fièvre persistante, c'est un excellent fébrifuge qui a la propriété de faire tomber rapidement la fièvre et de régler la température du corps. En outre, de nombreuses maladies gastro-intestinales peuvent également être soulagées par l'huile essentielle d'eucalyptus grâce à ses propriétés anti-infectieuses et antibactériennes (CANDY., 1977).

On lui prête aussi des propriétés balsamique (pour préparer des baumes), hypoglycémiant (pour faire diminuer la concentration en sucre) (MARIE-CLAUDE., 1992). La qualité médicinale d'une huile essentielle est soumise aux normes définies par les pharmacopées. Dans e cas des HE d'eucalyptus, une teneur supérieure à 70% en 1,8 cinéole ainsi qu'une teneur inférieure ou égale à 0.1% en α et β phéllandrene sont exigées. Afin de répondre aux exigences du marché, les fournisseurs ont tendance à pratiquer le mélange et la rectification des HE. La rectification n'est rien d'autre qu'une distillation fractionnée de l'HE afin d'éliminer les fractions à bas point d'ébullition comportant des composés indésirables tels que les alcools supérieurs.

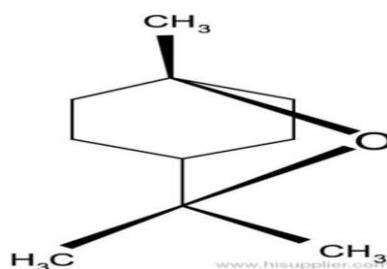


Figure 5 : Formule chimique du 1.8cinéole

2.5.1.1. Toxicité des huiles essentielles :

Les Huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxique.

La toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones mono terpéniques) est connue depuis le siècle dernier.

L'automédication (dangereuse) est favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmacies ; au mépris d'une législation qui réserve la distribution de certains d'entre eux aux pharmaciens garantissant ainsi un contrôle rigoureux d'identité et de conformité. Egalement les huiles essentielles de Lamiaceae ; peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles ingérées à forte dose.

Le menthol lui-même n'est pas sans danger la dose létale pour l'homme est estimée à 2 g et la simple administration se solutés pour instillation nasale ou d'autre produits à base de menthol à jeunes peut déclencher un spasme létale de la glotte. (BOUANANE et BOUSSEHEL., 2005).

5.2. Les huiles industrielles

Durant les années 80, des études ont montré l'efficacité du cinéole autant qu'additif au carburant pour moteurs de voitures. Son rôle est d'assurer une meilleure miscibilité du mélange éthanol/carburant. La majorité des HE d'eucalyptus destinés aux applications médicales, subissent avant leur vente, des rectifications. Les premières fractions contiennent les aldéhydes volatiles, en particulier l'aldéhyde isovalérique (Figure 06) qui est utilisable comme désinfectants (BOLAND et *al.*, 1991).

Les huiles essentielles d'eucalyptus riches en phéllandrene sont exclusivement utilisées pour parfumer les désinfectants bon marché et les savons liquides industriels.

L' α et β pinène sont des composés utilisés dans la manufacture des peintures et aussi comme peinture à l'huile fine, connue sous le nom de la « térébenthine végétale ». Les HE d'eucalyptus riche en cuminal, en phellandral et en cryptone étaient autre fois utilisées dans la fabrication des germicides. Celles riches en pipéritone (figure 07) sont utilisées dans la fabrication d'agents odoriférants (menthol synthétique). La pipéritone est aussi une matière première dans la manufacture des fongicides (thymol synthétique), elle est également utilisée comme additif dans de nombreuses préparations médicales (BOLAND et *al.*, 1991).

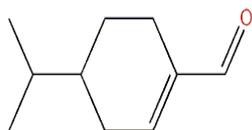


Figure 6 : Formule chimique du Phellandral

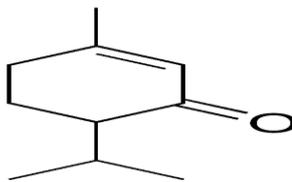


Figure 7 : Formule chimique du Pipéritone

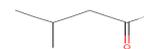


Figure 8 : Formule chimique de l'Aldéhyde isovalérique

5.3. Les huiles de la parfumerie et des saveurs

En parfumerie, l'HE d'eucalyptus entre dans la composition de certaines eaux de Cologne et dans de nombreuses lotions après-rasages. Elle donne un parfum fort agréable aux sachets d'odeur. Le citronellal (figure 09) est surtout utilisé dans la production des parfums de haute gamme. L'eucalyptus staigeriana est exploité pour sa richesse en citral, ce dernier est utilisé dans la composition de la saveur citron (LASSAK., 1998). Certaines espèces d'eucalyptus telles que l'*E.olida* fournissent des HE riches en E-methyl-cinnamate qui est directement exploité comme additif aromatique (CURTIS et *al.*, 1990) L' α et β pinène sont utilisés dans la synthèse de nombreux dérivés terpéniques, utilisés dans les industries de la parfumerie et des arômes (CURTIS et *al.*, 1990).

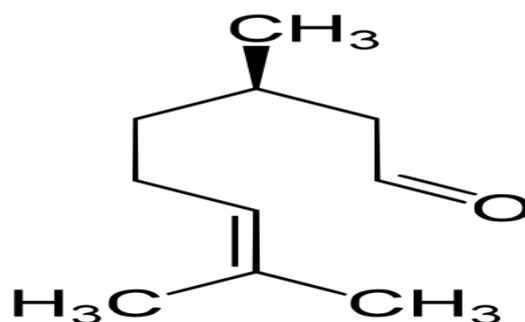


Figure 9 : Formule chimique du citronellal

6. Présentation de plante étudiée

Dans ce contexte nous avons présenté la plante étudiée qui sont : *Eucalyptus globulus* labille.

6.1. Description botanique

Grande arbre ornamental hétérophile poussant rapidement, pouvant atteindre 60m de hauteur, à tronc lisse. Les feuilles polymorphes, larges et opposées sur les plantes juvéniles âges sont alternes et falsiformes, à pétiole tordu et orientées.

Verticalement en raison de leurs deux faces semblables (MARBURG., 1999). L'eucalyptus est un arbre originaire d'Australie où il compose plus de 90% des forêts naturelles. Le genre est très vaste puisqu'on dénombre près de 700 espèces (Anonyme., 2003).

Introduit en Algérie en 1854 cet arbre ne dépasse guère 30m. Il se signale par sa croissance rapide et utilisé dans les reboisements et stations d'arboretum d'Algérie. Les feuilles sont de deux sortes selon qu'elles proviennent de jeunes plants ou de rameaux plus âgés. Les feuilles jeunes opposée, disposées horizontalement sur les rameaux. À pétioles très courts adultes sont portées sur des tiges cylindriques. Elles sont pétiolées, lancéolées et légèrement arquées, longue de 16 à 25cm ; large de 2 à 5 cm. Au froissement, ces feuilles ont une odeur foret balsamique, camphrée. Saveur chaude. (ABDELKADER., 2009).

6.2. Classification d'espèces botanique

- Classification selon Cronquist (1988)

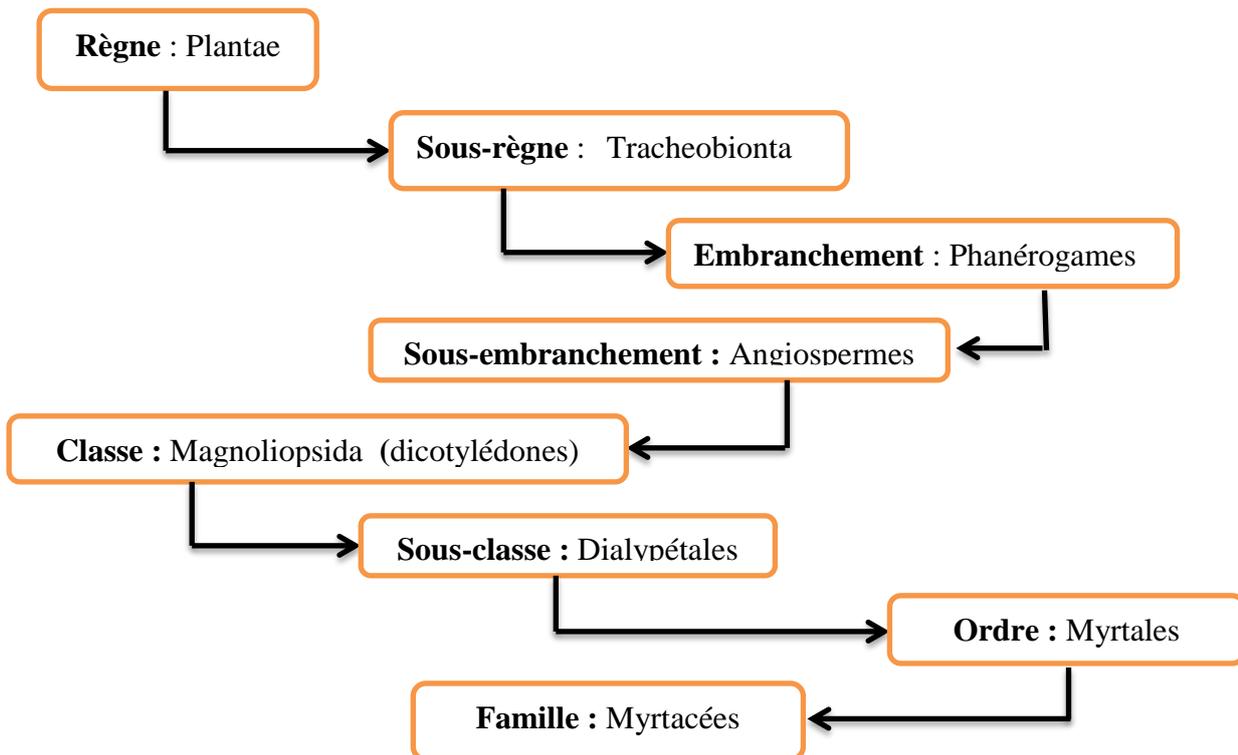


Figure n°10 : Classification d'*Eucalyptus globulus* L selon Cronquist (1988)

- Classification phylogénétique (GUIGNARD., 1977)

La systématique d'*Eucalyptus globulus* L. est résumée comme suit :

Règne : végétal

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Dialypétales

Série : Caliciflores

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtacées

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus* L.

Noms vernaculaires : kalibtous



Photo n°2 : *Eucalyptus globulus* L. dans la région de Metlili (MORSLI M., 2015)

6.3. Aspect botanique

Les eucalyptus c'est des arbres qui peuvent pousser plus haut que 20 mètres à un tronc lisse et cendré (SERVENTY., 1968).

6.3.1. Les feuille :

La plupart des eucalyptus ont des feuilles persistantes, mais quelques espèces tropicales perdent leurs feuilles à la fin de la saison sèche.

Comme les autres membres de la famille des Myrtacées, les feuilles d'eucalyptus sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre (SERVENTY., 1968) (photo n°3).

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique: sur les jeunes arbres, elles 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. Les deux types de feuillage cohabitent dans les mêmes forêts, donnant l'impression qu'elles sont constituées d'arbres différents (SERVENTY., 1968).



Photo n°3 : les feuilles d'*Eucalyptus globulus* L.

6.3.2. Les fleurs :

Sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge.

Au départ, les étamines sont enfermées dans un étui fermé par un opercule formé par la fusion des pétales et des sépales (SERVENTY., 1968).

Pour un même sujet, les opercules peuvent avoir différentes formes. Lorsque les étamines grandissent, elles soulèvent l'opercule et s'étalent pour former la fleur. La pollinisation des fleurs se fait principalement par les insectes, attirés par le nectar (SERVENTY., 1968).

6.3.3. Les fruits :

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 (SERVENTY., 1968).

6.3.4. Les racines :

La plupart des eucalyptus possède également des organes de sauvegarde souterrains appelés lignotubes. Ces lignotubes se présentent sous forme de renflements à la base du collet racinaire; ce sont des massifs cellulaires indifférenciés contenant des réserves glucidiques comme l'amidon (SERVENTY., 1968).

6.3.5. Quand récolter :

Les plantes cueillies dans de bonnes conditions climatiques au moment de leur pleine maturité ont une teneur très élevée en composants actifs (SERVENTY., 1968).

6.4. Habita

Planté dans les parcs et stations d'Arboretum d'Algérie (ABDELKADER., 2009).

6.5. Propriétés et usages

On utilise les feuilles en infusion, en inhalation, fumigation et sous forme de cigarettes (SIJELMASSI., 1991). L'Eucalyptus est un antiseptique et un antispasmodique des voies respiratoires (SIJELMASSI., 1991), sédatif, hypoglycémiant, antirhumatismal, stimulant et vermifuge. On l'utilise donc pour soigner les maladies de refroidissement, le diabète, les douleurs rhumatismales, certaines affections des voies urinaires, les migraines, les sinusites et les vers intestinaux (PERROTI et *al.*, 1999). L'extraction d'huile essentielle est réalisée à partir des feuilles et rameaux (PADRINI et LUCHERONI., 1996).

À une dose de 10 à 30 ml, l'huile essentielle est mortelle chez l'homme (TIBBALLS., 1995 in MARBURG., 1999). Le cinéole, facilement résorbé par voie pulmonaire digestive aussi, bien que par voie cutanée ou rectale, est éliminée par voie par voie rénale (BRUNETON., 1999) et voie pulmonaire (MARBURG., 1999).

6.6. Utilisation des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* :

Les huiles essentielles d'eucalyptus est utilisé par deux voie la voie interne et la voie externe.

6.1. Utilisation interne :

Inflammation et infection des voies respiratoires (bronchite, sinusite, rhume, etc.). Infusion. Infuser de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 150 ml d'eau bouillante durant 10 minutes. Boire deux tasses par jour (SERVENTY., 1968).

Inhalation : Elle consiste à respirer de la vapeur d'eau (par le nez) chargée de quelques gouttes d'huile essentielle (pas plus de 10 gouttes). A défaut d'inhalateur (que vous pouvez acheter en pharmacie), vous pouvez tout simplement vous pencher au-dessus d'un bol d'eau chaude avec une serviette de bain sur la tête pour respirer le plus possible de vapeur. Ne pas dépasser plus de 15 minutes par inhalation. Répéter jusqu'à trois fois par jour (SERVENTY., 1968).

6.2. Utilisation externe :

✓ Inflammation et infection des voies respiratoires

Friction et massage : Appliquées sur la peau, les huiles essentielles pénètrent les tissus et irriguent le corps par le sang. On peut ainsi privilégier les passages veineux comme le poignet ou le coude. En règle générale, il vaut mieux éviter d'appliquer sur la peau des huiles essentielles non diluées. Il est conseillé de les mélanger au préalable avec une huile végétale (jojoba, macadamia, rose musquée, argan, noix de coco, germes de blé, amande douce, olive, noyau d'abricot...) (SERVENTY., 1968).

✓ Mal de gorge

Gargarisme : Infuser durant 10 minutes de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 100 ml d'eau bouillante. Se rincer la bouche ou se gargariser avec la préparation filtrée et refroidie, de deux à

trois fois par jour. On peut également préparer un gargarisme en diluant de 2 à 3 gouttes d'huile essentielle dans 5 ml d'alcool, préparation à laquelle on ajoutera 50 ml d'eau.

✓ **Douleurs rhumatismales**

Friction. Verser de 15 à 20 gouttes d'huile essentielle dans 25 ml d'huile végétale et frictionner les articulations douloureuses, trois fois par jour (SERVENTY., 1968).

✓ **Mal de tête**

Friction. Verser de 1 à 2 gouttes d'huile essentielle dans quelques gouttes d'huile végétale; frictionner les tempes et le front. Ne pas appliquer trop près des yeux (SERVENTY., 1968).



Chapitre III

Matériels et Méthode

1. Matériels

1.1. Objectif

L'objectif de ce travail est de tester l'activité antibactérienne et antifongique de notre extrait aqueux de plante médicinale à savoir *Eucalyptus globulus* L sur des souches pathogènes.

1.2. Matériel végétal

Le matériel végétal se compose des feuilles de plante *Eucalyptus globulus* Labill et de la région de Ghardaïa, la récolte de *Eucalyptus globulus* Labill a été effectuée au mois de Février 2015 de la région de Metlili de la Wilaya de Ghardaïa. Le matériel végétal est séché à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante.

1.3. Matériels biologique

1.3.1. Les tests biologiques

1.3.1.1. Test d'activité antibactérienne

1.3.1.1.1. Généralités

L'homme héberge un très grand nombre de bactéries au niveau de la peau et des muqueuses constitutives de la bouche, des intestins et des voies sécrétrices et génitales...etc. ces micro-organismes sont le plus souvent indispensables à la bonne santé de l'hôte. Ce pendant certains d'entre eux peuvent se produire et envahir les tissus de l'hôte dans un contexte particulier (notamment lors d'une diminution de ses défenses), entraînant des lésions et provoquant des maladies infectieuses qui peuvent conduire à la mort de l'hôte.

Pour se reproduire chez l'hôte, les microorganismes pathogènes utilisent différentes stratégies tel que la production :

- De molécules d'adhésion,
- De facteurs de croissance,
- D'enzymes d'invasion ou de toxines.

En réponse à ces bactéries pathogènes, l'hôte développe des stratégies de défense pour limiter leur prolifération ou pour les détruire totalement, avec des barrières physiques, anatomiques ou biochimiques non spécifiques, les microbiologistes ont aussi développé des stratégies comme les antibiotiques, vaccins, etc. Pour renforcer ces défenses naturelles (MADIGANT et MARTINKO ., 2007).

1.3.1.1.2. Les souches bactériennes testées

Les tests de l'activité biologique ont été réalisés au niveau de laboratoire d'université de Ghardaïa. Les souches bactériennes sont proviennes de laboratoire de microbiologie de l'hôpital de 18 Février à Metlili.

Les germes qui ont été testé pour déceler l'action antimicrobienne des extraits d'*Eucalyptus globulus* L est :

- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Bacillus subtilis*
- *Proteus mirabilis* ATCC 49452

✓ *Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille GRAM négatif radio résistant de la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa taille vraie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3µm), pesant de 0,5 à 5 pico grammes (Bremer et Dennis., 1996).

Ce sont hôte communs de la microflore intestinale de l'homme et des animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). La majorité des souches d'E.coli sont commensales, mais certaines ont toutefois été associées à des pathologies intestinales ou extra-intestinales (SAVOYE., 2011).

✓ *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à GRAM positif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales (CHAMBERS., 1997).

✓ *Bacillus subtilis*

La famille des *bacillaceae*, comprend des bactéries sporulée, mobiles ou immobiles, GRAM positif, aérobies strictes ou facultatives.

Le genre bacillus comprend des bactéries ubiquistes hôtes normales du sol dans lequel elles peuvent persiste très long temps gras à leur spore, et qui sont des saprophytes très communes de l'air. La morphologie de bacillus sont des bâtonnets de 3 à 9 µ de long, de 0,6 à 1 µ de large, isolé, en diplobacilles ou en streptobacilles (PILET et al., 1983).

✓ *Proteus mirabilis*

Proteus est un genre de bactéries de la famille des *enterobacteriaceae*, commensal du tube digestif (MARYSE, DANIELLE., 2004).

Proteus mirabilis est une bactérie de type bacille à GRAM négatif appartenant aux entérobactéries et au genre *Proteus*. Elle est commensale du tube digestif des animaux et peut être responsable d'infections essentiellement urinaires et cutanées. Cette bactérie est habituellement sensible aux antibiotiques actifs sur les entérobactéries, à l'exception de la colistine et des cyclines (MARYSE et DANIELLE., 2004).

Espèce d'Entérobactérie décrite depuis longtemps et bien connue des bactériologistes car elle est fréquemment rencontrée en pathologie humaine (MARYSE et DANIELLE., 2004).

1.3.1.2. Test d'activité antifongique

Au cours des dernières années, nous avons assisté à un changement dans l'épidémiologie de l'infection fongique invasive. Cela a coïncidé avec une augmentation de la survie d'un nombre de plus en plus important de patients immunodéprimés (Mc NEIL et al., 2001, PAPPAS et al., 2003) et avec le développement de formes plus graves de l'immunosuppression.

Les espèces de *Candida* et *Aspergillus* demeurent la première cause des maladies infectieuses fongiques (PFALLER et al., 2006). *Candida albicans* est impliqué dans environ 50% des patients atteints de candidose (PAPPAS et al., 2003, WISPLINGHOFF et al, 2004), mais les infections causées par d'autres espèces, telles que *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* et *Candida lusitaniae*, sont en hausse (TRICK et al., 2002 , HAJJEH et al., 2004).

✓ *Aspergillus flavus* (NRRL 3251, Af)

Cette espèce est plus fréquente dans les zones tropicales où elle se développe sur le fruit de l'arachide sur lequel il peut produire des aflatoxines. *A. flavus* se trouve dans les sols cultivés, sur les graines de céréales telles que le maïs ou l'avoine (MORIN., 2003). Les cultures poussent à 25° et à 37°C.

✓ ***Aspergillus Niger*. Isolat (LBSM, An)**

Espèce très commune dans le monde entier, elle se développe sur des substrats variés. Elle présente un pic de distribution estival en rapport avec son affinité pour les plantes herbacées (MORIN., 2003). Les cultures poussent bien à 25°C mais sont parfois inhibés à 37°C.

✓ ***Fusarium culmorum*. Isolat (LBSM, Fc)**

Fusarium culmorum est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des *Nectriaceae*. C'est un agent phytopathogène, responsable de divers symptômes tels que fonte des semis, pourriture racinaire, fusariose de l'épi, pourriture de la tige, etc. chez de nombreuses espèces de plantes mono- et dicotylédones, en particulier chez les céréales. C'est l'un des champignons responsables de la pourriture sèche du tubercule de la pomme de terre. Chez *Leymus mollis*, graminée américaine des dunes littorales, *Fusarium culmorum* se comporte comme un symbionte non pathogène conférant à la plante une double tolérance au sel et à la sécheresse (BARBARA et al ., 2012).

✓ ***Candidas albicans***

Souvent associé à un champignon microscopique, est un microorganisme de la famille des levures que l'on retrouve normalement dans l'organisme humain en quantité relativement limitée. A l'état normal, cette levure vit en harmonie sur les muqueuses de nos organes digestifs, dans notre bouche, notre estomac et nos intestins sans y causer le moindre trouble (ARSENAULT., 2001).

2. Méthodes

2.1. Extraction par reflux (extrait aqueux)

L'extraction par reflux est utilisée pour l'extraction des principes actifs par l'utilisation d'un mélange de solvant (eau + solvant organique). Elle permet le traitement à chaud de solides (matériel végétal), à l'aide de solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Le corps du dispositif d'extraction, contient un ballon de 1000 ml dans lequel 100 g de poudre végétale est déposée avec suffisamment de solution aqueuse de méthanol (TONK et al ., 2006).

Les extraits aqueux sont obtenus par solubilisation des fractions actives dans de l'eau distillée et de méthanol, le type d'extraction choisie c'est une extraction par reflux. La partie aérienne de la plantes test est rincée à l'eau, est laissée séchée pendant quelques jours à l'air libre et dans la température ambiante. Une fois séchée, elles seront broyées et conservées dans les bocaux en verre

hermétiques fermés, portant une étiquette où le nom de l'espèce, la date et lieu de récolte sont mentionnées, 100 grammes de la poudre végétale sont misent dans un ballon de 500 ml capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol (2 :1) (2/3 de méthanol et 1/3 d'eau distillée). Le ballon est surmonté par un réfrigérant permettant la condensation des fractions volatiles organiques lors de l'extraction. Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures (photo 4). L'homogénat est refroidi et filtre à l'aide d'un papier filtre ordinaire. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotor vapor. Le produit obtenu, est un extrait aqueux qui servira par la suite aux tests biologiques. (Photo 05) (Annexe n°2)

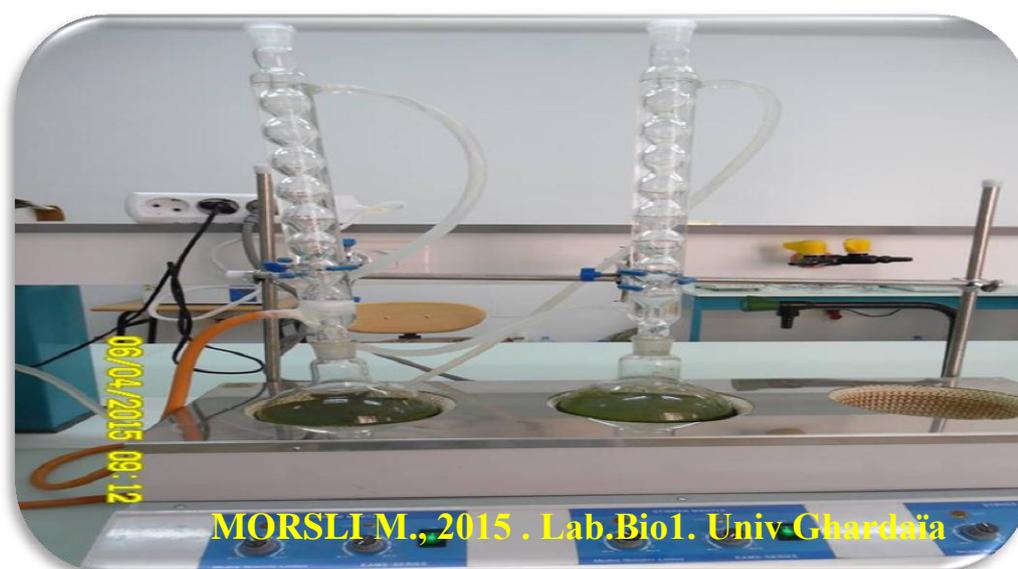


Photo n°04 : dispositif d'extraction des principes actif par reflux (MORSLI M., 2015).



Photo n°05 : Elimination de méthanol (MORSLI M., 2015).

2.2. Préparation du milieu de culture de MUELLER-HINTON

Le milieu de culture utilisé pour étudier l'activité antibactérienne est l'Agar de Muller Hinton (MH) parce que c'est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens (MAYACHIEW & DEVAHASTIN., 2008).

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit:

Dissoudre 36 g de la gélose Muller-Hinton (Annexe 2) dans un litre d'eau distillée. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 20 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boîtes de Pétri.

2.3. Préparation du milieu de culture de PDA

Le milieu de culture utilisé pour la réalisation des tests antifongiques est le suivant :

Préparation de Potato Dextrose Agar (PDA).

PDA est le milieu usuel de culture pour la plupart des champignons. Du sucre sous forme de dextrose et de la gélose (Agar). Il est préparé selon la procédure suivante :

- Peser 19 gramme de poudre de (PDA) ;
- Ajouter ½ litre d'eau distillée ;
- Mettre au bain-marie pour faciliter la dissolution de la gélose ;
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 min à une pression de 1,2 bar ;
- Laisser refroidi jusqu'à 55°C pour éviter la condensation de vapeur ;

2.4. Méthode de dilution sur milieu liquide

Dans cette technique, des tubes à essai (8 tubes) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, qui est la plus faible concentration de l'agent antimicrobien qui inhibe la croissance des microorganismes.

Dans chaque tube à essai, est déposé 9 ml de l'eau distillée. Ensuite, 10 ml de l'extrait à tester est introduite dans le 1^{er} tube. Après avoir bien mélangé le contenu du 1^{er} tube, 1 ml est prélevé, puis déposé dans le 2^{ème} tube, et ainsi de suite jusqu'au 7^{ème} tube. Par conséquent, nous obtenons une dilution ½ entre chaque tube. Le dernier tube représente de témoins négatifs : le tube n°8 contient uniquement l'eau distillée stérile (photo n°6).



Photo 06 : Méthode de micro dilution sur milieu liquide (MORSLI M., 2015).

2.5. Tests d'activités antimicrobienne et antifongique

2.5.1. Préparation de l'inoculum

A partir des boites contenant les germes testés, on prépare des suspensions microbiennes de chacune. Pour cela on prend avec une pipette pasteur une ou deux colonies et les mettre dans un tube stérile contenant 9 ml d'eau physiologique, on l'agite et on le laisse pendant 30 minutes pour les utiliser lors de l'ensemencement par inondation des boites qui hébergeront les disques imbibés des différents extraits ainsi obtenus (photos n°8).



Photo 07: boite pétri coulées en milieu de culture (MORSLI M., 2015)

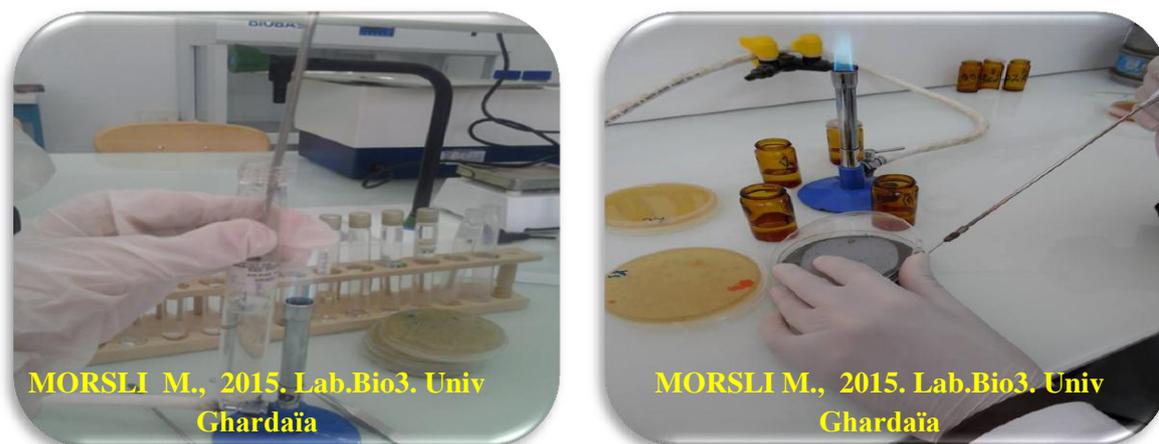


Photo 08 : Préparation de l'inoculum (MORSLI M., 2015).

2.5.2. L'ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller – Hinton, qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens. La suspension microbienne préparée a été coulée sur gélose de Muller-Hinton. Après l'inondation de toute la surface du milieu par la suspension microbienne, le surnageant a été jeté (photos n°9). Les boîtes ainsi ensemencées ont été mises à sécher 15min à 37C°.

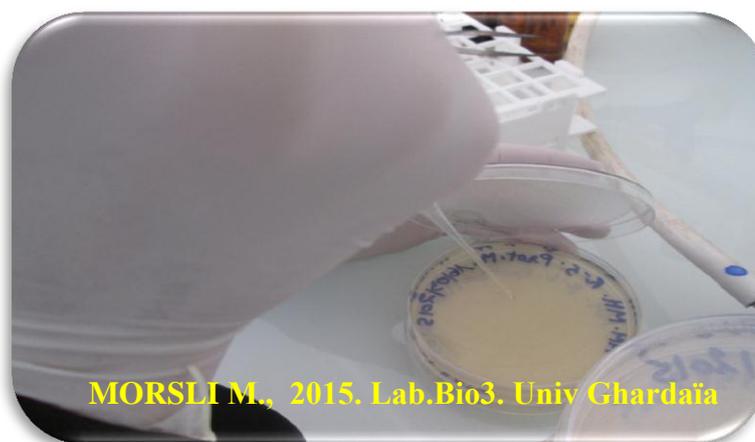


Photo 09 : Méthode d'ensemencement des bactéries dans les boîtes de pétries (MORSLI M., 2015).

2.5.3. Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont préparées à partir de papier filtre , avec un diamètre de 5,5 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce (photos n°10), ensuite ils sont mis dans un tube à essai, et stérilisés à l'autoclave.

Une fois les géloses Muller – Hinton sontensemencées, les disques imbibés de l'extrait sont disposés sur la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

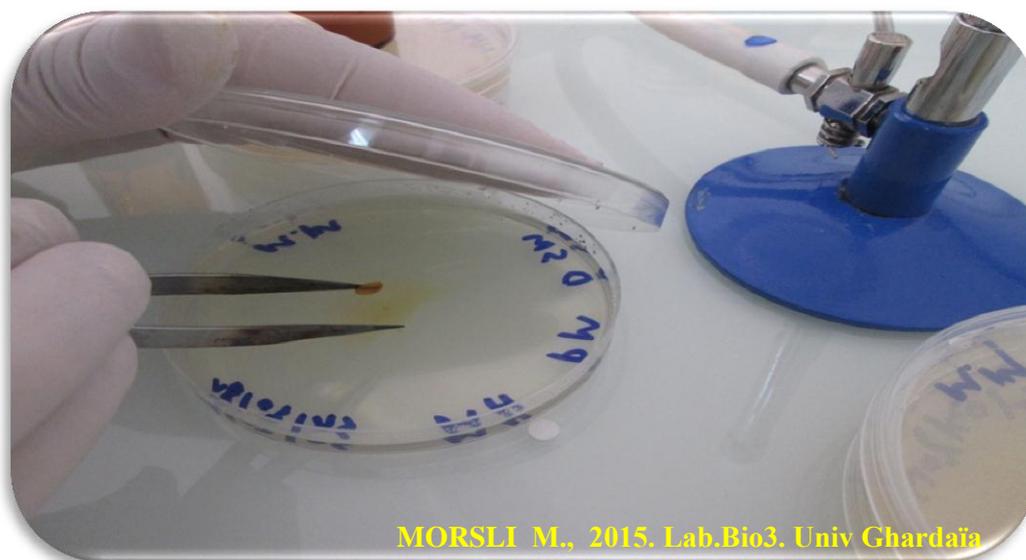


Photo 10 : application des disques (MORSLI M., 2015).



Chapitre IV

Résultats et discussions

1. Résultats

Le présent travail vis-à-vis étudier l'activité antibactérienne de l'extrait aqueuse d'*Eucalyptus globulus* L sur quatre souches bactériennes, à savoir *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*. Et quatre souches fongiques, à savoir *Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*.

1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

1.1.1. Extraction

L'extrait (Extrait aqueux) a été obtenu par la méthode de reflux par le méthanol et l'eau distillée. Notre extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement (tableau n°5)

Tableau 5 : Masse, rendement et couleur de l'extrait aqueux

Extrait	Masse(g)	Rendement (%)	Couleur
<i>Eucalyptus globulus</i> L Feuilles	300	0,29	Marron

Le rendement a été déterminé par rapport au poids du matériel végétal sec transformé en poudre. Le résultat a été exprimé en pourcentage.

1.1.2. Sensibilité des bactéries à l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérienne de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus* vis-à-vis de quatre bactéries. Qui est présent dans le tableau n°5.

Tableau 6 : diamètres (mm) des zones d'inhibition d'*Eucalyptus globulus* L sur les souches bactérienne

Les souches	T	SM	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6
<i>P.M</i>	6	33.15	18.65	8	<8	<8	<8	<8
La sensibilité	-	+++	++	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	6	27	12	8.5	7	6	6	6
La sensibilité	-	+++	+	-	-	-	-	-
<i>Sph. A</i>	6	27.5	15.66	12	9.5	10	9	7.5
La sensibilité	-	+++	++	+	+	+	-	-
<i>B. c</i>	6	23.5	9.5	11.8	11.5	10	8.5	8.5
La sensibilité	-	+++	+	+	+	+	-	-

P.M** : *Proteus mirabilis* ***E.coli** : *Escherichia coli* * **Sph.a** : *staphylococcus aureus*B.c** : *Bacillus sibtillus*

1.1.3. Lecture des résultats

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied de coulisse ou une règle en (mm).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm. (REMDANE, 2009).

D'après le tableau n°6 nous constatons facilement que l'extrait aqueux de *Eucalyptus globulus* L présente une activité biologique très forte dont les diamètres des zones d'inhibition dépassent 30 mm.

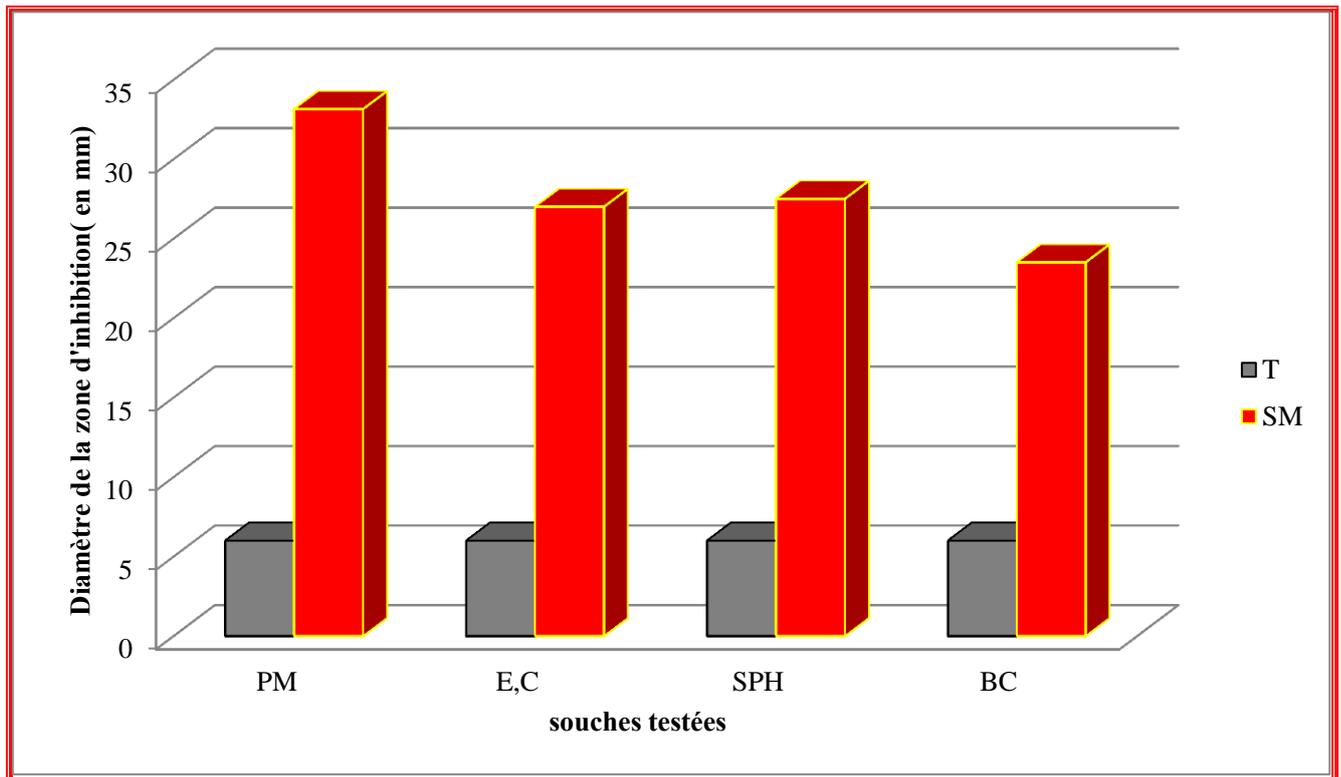


Figure n°11 : Activité antibactérienne de solution mère de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L.

T : Témoins négatifs, **SM** : Solution Mère, **PM**: *Proteus mirabilis*, **E,C** : *Escherichia coli*,

SPH: *staphylococcus aureus*, **BC** : *Bacillus sibtillus*

Au vu des résultats de la figure n°11 et la photo n°10, nous avons observé que les différentes souches bactériennes étudiées réagissent différemment à l'extrait aqueuse testé. L'activité d'extrait aqueux sans dilution est très importante contre *Proteus mirabilis* avec un diamètre de 33.5 mm, il est extrêmement sensible (+++) avec les autres souches : *staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus sibtillus* avec un diamètre 27,5 mm, 27 mm, et 23 mm sont respectivement enregistré.

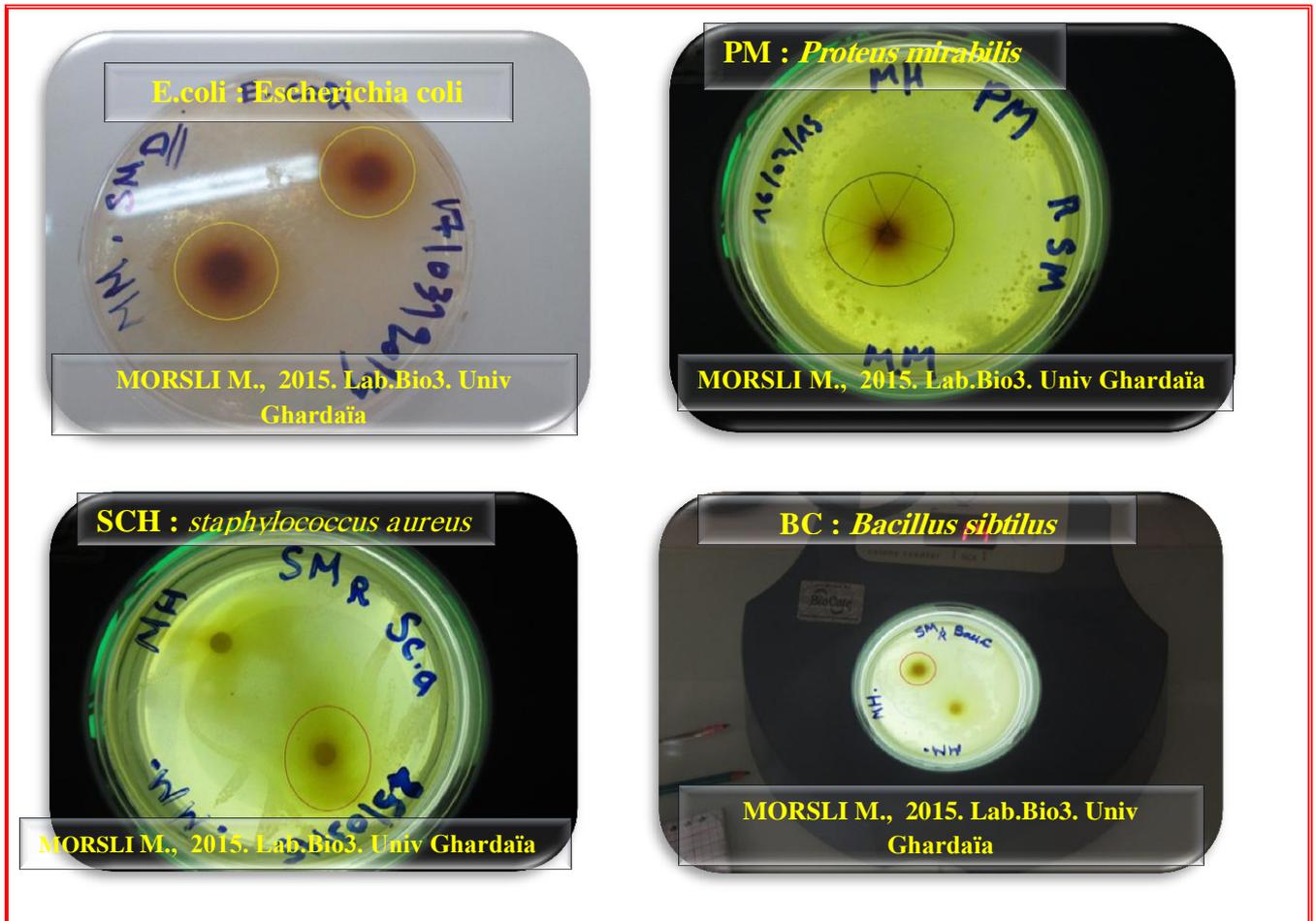


Photo n° 11 : Effet de l'extrait aqueux sur les souches bactériennes

Les résultats obtenus après la dilution de l'extrait, sont présentés dans le tableau n°6 et les figure ci-dessous :

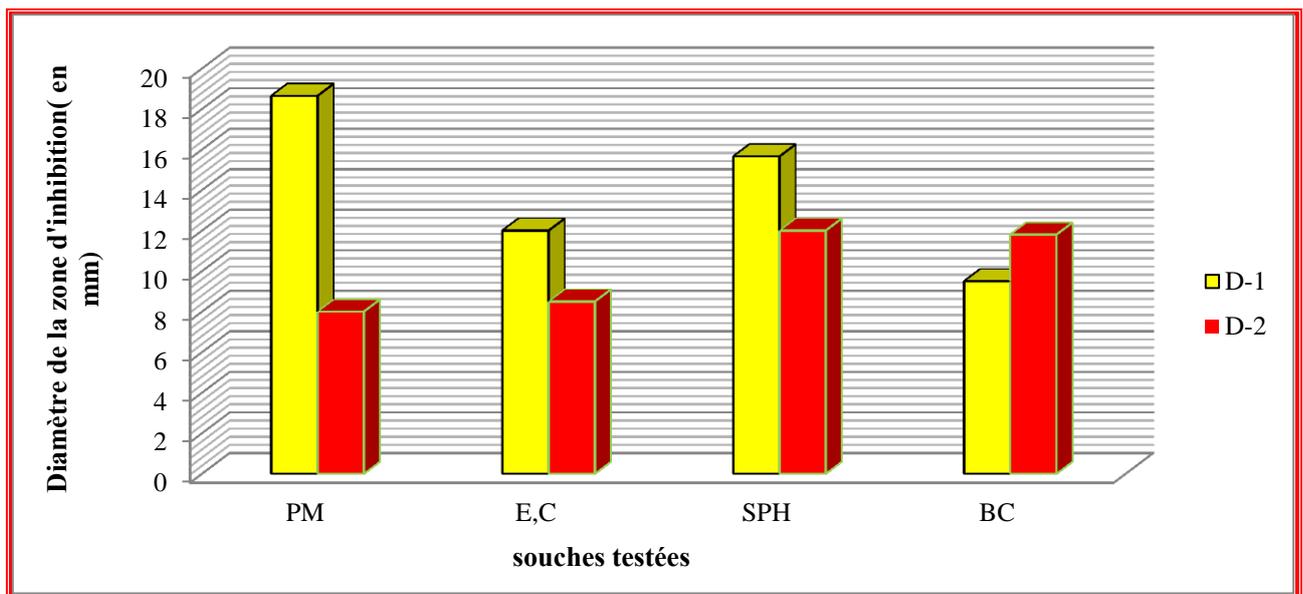


Figure n°12 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-1) et (D-2).

D-1 : dilution -1. D-2 : dilution -2, PM: *Proteus mirabilis*, E.C : *Escherichia coli*,

SPH: *staphylococcus aureus*, **BC :** *Bacillus sibtillus*

Les résultats obtenus après la dilution (D-1) et (D-2) de l'extrait aqueux sont présent dans la figure n°12 et la photo n°11, montre que les quatre souches sont sensibles à l'extrait mais avec un contraste de la sensibilité.

- La souche *Proteus mirabilis* donne un diamètre de 18,65mm avec la dilution (-1) et une zone de 8 mm avec la dilution (-2).
- La souche *Escherichia coli* donne un diamètre de 12mm avec la D (-1) et une zone de 8,5 mm avec la D (-2).
- La souche *staphylococcus aureus* donne un diamètre de 15,66mm avec la D (-1) et une zone de 12 mm avec la D (-2).
- La souche *Bacillus sibtillus* donne un diamètre de 9,5 mm avec la D (-1) et une zone de 11,8 mm avec la D (-2).

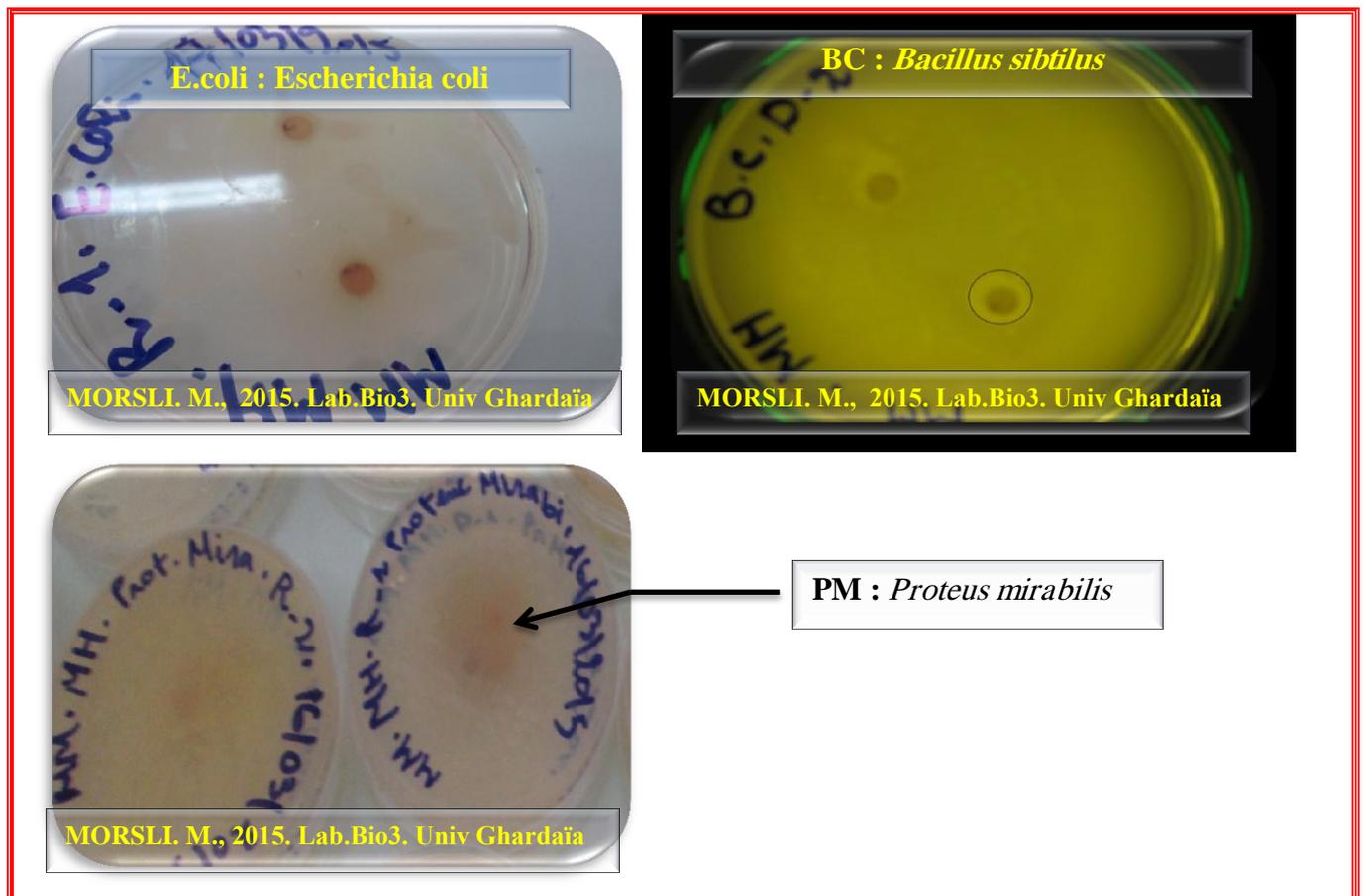


Photo n 12 : Effet de l'extrait aqueux après la dilution (D-1) et (D-2) sur les souches bactériennes.

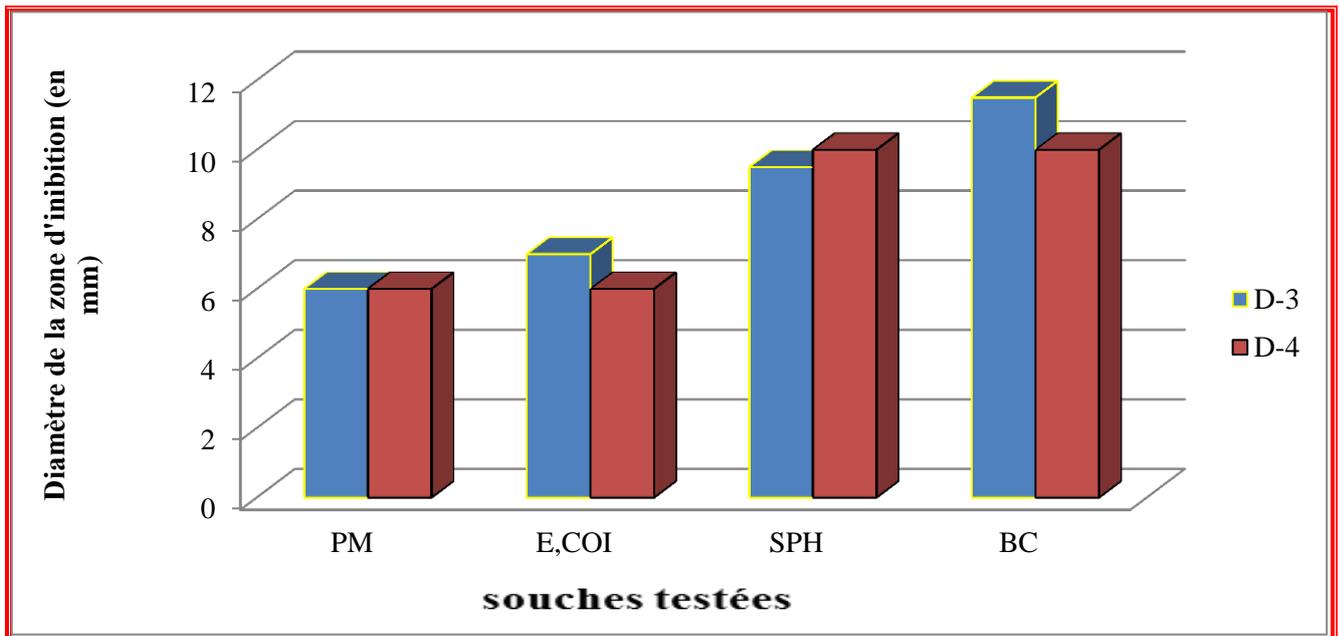


Figure n°13 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-3) et (D-4).

D-3 : dilution -3. **D-4** : dilution -4, **PM**: *Proteus mirabilis*, **E.C** : *Escherichia coli*,

SPH: *staphylococcus aureus*, **BC** : *Bacillus sibtillus*

D'après la figure n° 13 et tableau n°6 montre que les souches bactérienne qui sensible à l'extrait sont ; *staphylococcus aureus* donnée un diamètre de 9,5mm avec la dilution (-3) et un zone de 10mm avec la dilution (-4), et la souche *Bacillus sibtillus* donnée un diamètre de 11,5mm avec la dilution (-3) et un zone de 10mm avec la dilution (-4), et pour les souches ; *Proteus mirabilis* et *Escherichia coli*, enregistré que les deux souche sont résistante avec un diamètre ne dépasse pas 8mm.

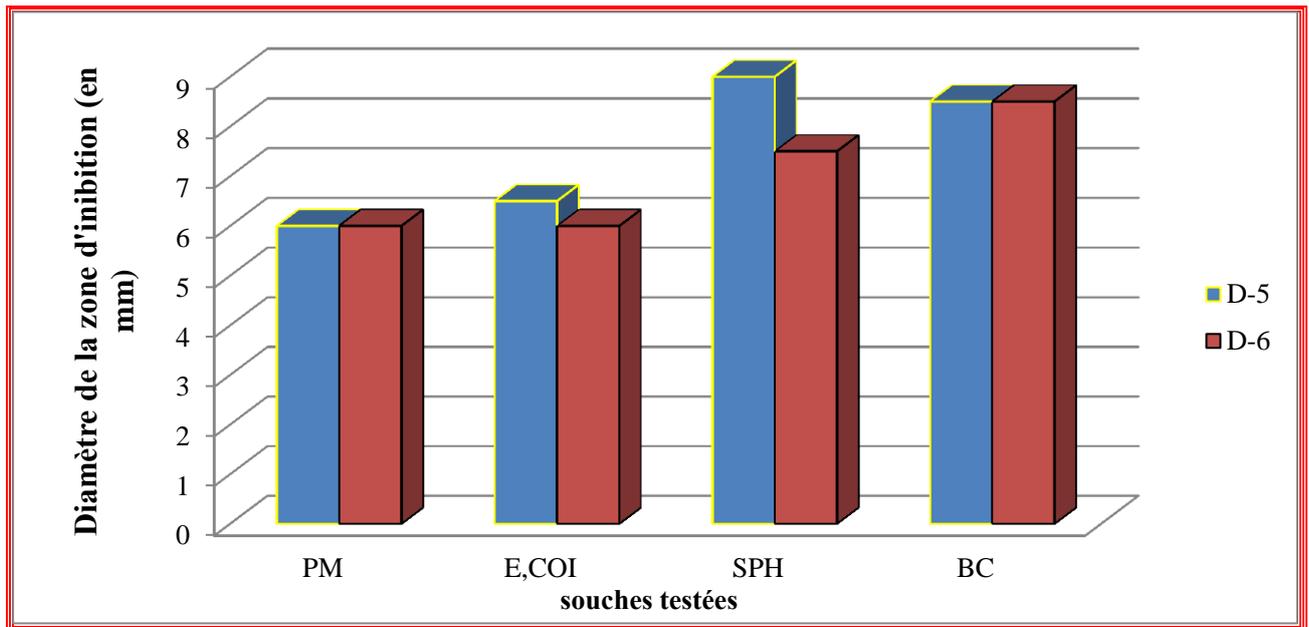


Figure n°14 : Activité antibactérienne de l'extrait aqueux après la dilution (D-5) et (D-6).

D-5 : dilution -5. **D-6** : dilution -6, **PM**: *Proteus mirabilis*, **E.C** : *Escherichia coli*,

SPH: *staphylococcus aureus*, **BC** : *Bacillus sibtilus*

La lecture de ces résultats montre que les quatre souches donnée un diamètre ne dépasse pas 9 mm donc il y un effet très faible de extrait sur la souche *staphylococcus aureus* avec la dilution (-5) et les autres souches en remarqué un résistante très fort avec un diamètre 8, 7 et 6 mm.

1.1.4. Des remarques de l'activité antibactérien

- ✓ L'extrait d'*Eucalyptus globulus* L à une activité antibactérienne plus importante contre les quatre souches bactérie ; *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *Bacillus sibtilus*.
- ✓ Les quatre souches données des diamètres >> a 20mm, donc c'est extrêmement sensible (+++) avec l'activité de l'extrait pure.
- ✓ *Proteus mirabilis* est très sensible avec la dilution (-1), et après la dilution (-2) est résistance à notre extrait.
- ✓ *Escherichia coli* est sensible (+) a l'extrait avec la dilution (-1) et résistance après la dilution (-2).
- ✓ La souche *staphylococcus aureus* est sensible (+) avec la dilution (-1) jusqu'à la dilution (-5), et résistance a la dilution (-6).
- ✓ La souche *Bacillus sibtilus* c'est la bactérie le plus sensible que les autres souches, car il sensible dans toutes les dilutions.

- ✓ ont remarqué que notre extrait efficace fort dans les différentes concentrations sur les souches a gram (+) par contre a les souches a gram(-) leur efficacité est faible.

1.2. Pouvoir antifongique

L'extrait aqueux testé pour leur activité contre la croissance des quatre espèces fongiques, ont tous montré une certaine activité contre un champignon donné. Cette dernière se traduit par l'inhibition de la croissance des champignons sur le milieu de culture contenant les différentes concentrations pour l'extrait. Les concentrations non actives n'ont montré la formation d'aucune auréole d'inhibition ; par contre, ceux de l'extrait actif ont abouti à l'apparition d'un halo d'inhibition.

Les résultats de l'antifongigramme que nous avons réalisé, ainsi que celles du screening antimicrobien de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L sont consignés dans le tableau n° 7.

Tableau 7 : diamètres (mm) des zones d'inhibition d'*Eucalyptus globulus* L sur les souches fongiques

Les fongiques	SM	D-1	D-2	D-3	D-4	D-5	D-6
<i>AS F</i>	30.8	16.5	13	9.5	9	8	8
La sensibilité	+++	++	+	+	+	-	-
<i>As Niger</i>	6	6	6	6	6	6	6
La sensibilité	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium c</i>	30.25	15.5	15	10.5	10	10	8.5
La sensibilité	+++	++	++	+	+	+	-
<i>Candida</i>	25.3	15.4	25.25	20.5	20.15	10	8
La sensibilité	+++	++	+++	+++	+++	+	-

AS F: *Aspergillus flavus* * **As Niger:** *Aspergillus Niger* * **Fusarium c:** *Fusarium culmorum*

1.2.1. Lecture des résultats

Les résultats de diamètre de l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L. sont présent dans le tableau n°7 et la figure n°15. Elles varient entre 0 et 30 mm (y compris le diamètre de disque).

- Le premier résultat en observé c'est la souche *Aspergillus Niger* est résistante a l'extrait avec des diamètres ne dépasse pas le diamètre de disque 6 mm.
- La souche *Aspergillus flavus* donnée un diamètre de 30,8 mm avec la solution mère, et des zones varient entre 16,5 et 8 mm avec les dilutions (-1, -2, -3, -4, -5, -6).
- La souche *Fusarium culmorum* donnée un diamètre de 30,25 mm avec la solution mère, et des zones varient entre 15,5 et 8,5 mm avec toutes les dilutions (-1,-2,-3,-4,-5, -6).
- La souche *Candida albicans* donnée un diamètre de 25,3 mm avec l'extrait net, et des zones varient entre 15,4 et 8 mm avec les dilutions (-1,-2,-3,-4,-5, -6).

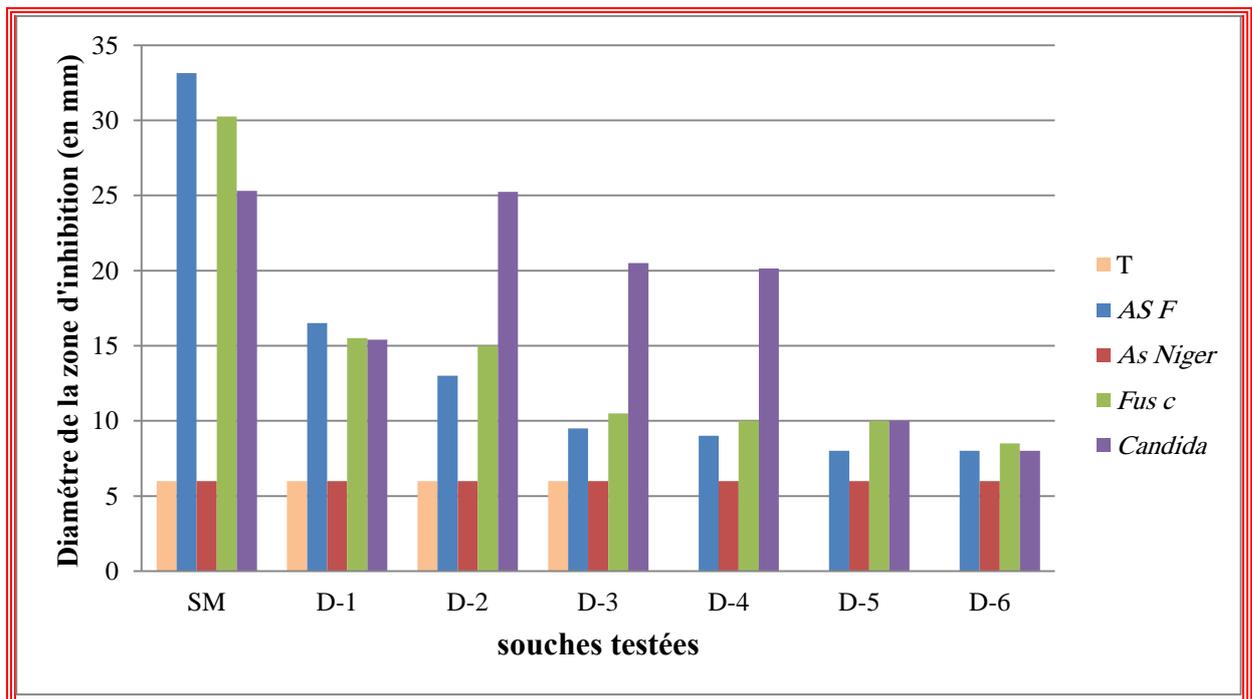


Figure n°15 : Activité antifongique de l'extrait aqueux sur les souches fongiques

AS F: *Aspergillus flavus* * **As Niger:** *Aspergillus Niger* * **Fusarium c:** *Fusarium culmorum*

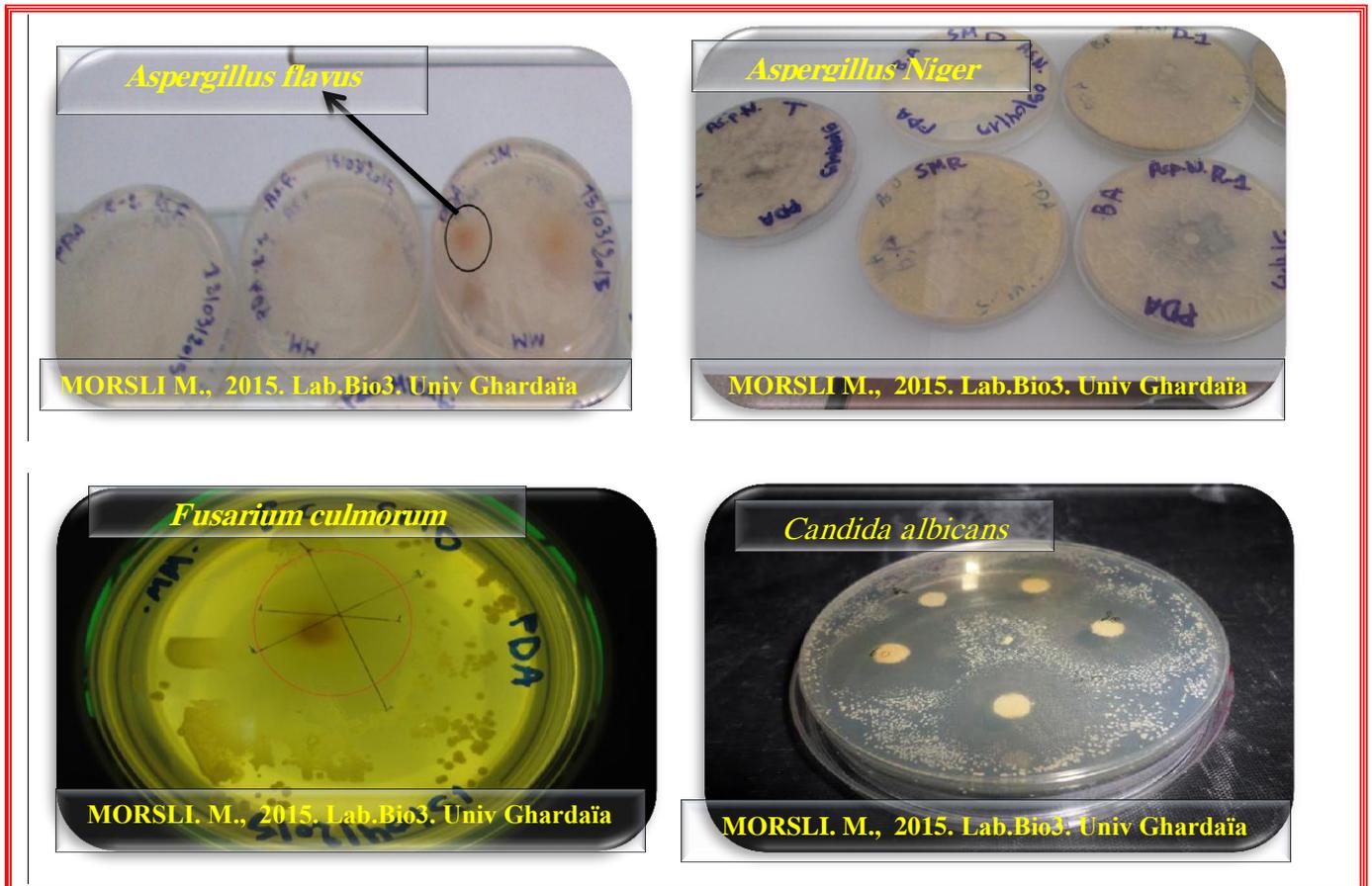


Photo n°13: effet d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L sur les souches fongiques

2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Notre travail s'est inscrit en cette deuxième partie, dans le cadre de l'étude de l'activité antifongique et antibactérienne des extraits aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* L.

Pour l'extraction des substances, nous avons effectué extraction par reflux. Le rendement de ce mode de préparation a été 0, 29 % pour l'infusé des feuilles de *Eucalyptus globulus* L., Toutefois, il est difficile de comparer les résultats du rendement avec ceux de la bibliographie, car le rendement n'est que relatif et dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, ainsi que de l'origine géographique de l'espèce.

La méthode de diffusion sur disque est largement utilisée pour étudier l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de plantes. Ces tests sont basés sur l'utilisation des disques en tant que réservoir, contenant des solutions à examiner.

Toutes les concentrations d'extrait de plante ont montré une certaine activité, selon une souche fongique donnée et/ ou une souche bactérie. Ces extraits exercent une activité antifongique et antibactérien dose dépendante. Les plus fortes inhibitions ont été obtenues avec les décoctés et les

extraits aqueux, notamment contre *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium culmorum*, *Bacillus subtilis*, *staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*.

D'après l'essai de KESBI Amran., (2011), l'huile essentielle de la plante *Eucalyptus globulus* L a une activité inhibitrice de 10 mm sur la bactérie de (*Proteus mirabilis*), par contre, notre extrait aqueux présente une activité inhibitrice important de 33,15 mm sur la même souche. *Escherichia coli* par leur diamètre de sensibilité de (27 mm) de notre extrait aqueux est extrêmement sensible par rapport à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* L à une activité inhibitrice de 8,5 mm sur la même bactérie.

En revanche, *Aspergillus niger* était la plus résistante des souches fongiques à 100 µg/ml (BEN BNINA et al., 2010; PANDEY et al., 2011). Ce phénomène peut s'expliquer par le fait qu'*Aspergillus niger* présente une résistance intrinsèque de la membrane externe restrictive.

Certes, l'activité inhibitrice des extraits aqueux sur l'ensemble des mycoses testées est faible, par rapport à celle due aux antifongiques de référence. Toutefois, nos extraits exercent une activité antimicrobienne dans la mesure où ils ne sont pas des produits purs, mais des extraits bruts (WERNER et al., 1998).

La nature du principe actif est un facteur évident qui influence l'activité antifongique ou antibactérienne d'une plante. Les substances actives d'origine végétale ont une constitution chimique extrêmement. Elles peuvent être des alcaloïdes, des glycosides, des tanins, ... Ainsi, elles peuvent être différemment réparties dans le végétal. Plusieurs cas de figure sont possibles. La concentration en principe actif peut varier en fonction du stade de développement de la plante. Elle peut être maximale au début de la végétation, au moment de la floraison ou en fin de croissance (WERNER et al., 1998).

La lumière, la chaleur et la quantité d'eau ont une influence très variable sur la concentration en principes actifs des plantes. La nature du sol et la fertilisation peuvent toutefois influencer la teneur des plantes en substances actives (La fumure azotée favorise en général la synthèse des alcaloïdes). Sans oublier le rôle potentiel des techniques de cueillette ou de récolte et de stockage du matériel végétal (WERNER et al., 1998).

Le mode de préparation et d'obtention de la drogue végétale est un autre facteur important qui influence l'activité des remèdes à base de plantes. Ainsi, changer le protocole d'extraction de même que les solvants utilisés permettent de déceler des activités antifongiques ou antibactériennes chez *Eucalyptus globulus* L. De plus la quantité du produit déposé sur les disques est plus faible dans notre cas que dans les autres méthodes (dilution) (WERNER et al., 1998).

KLERVI (2005), ajoute que l'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de la plante et de la souche testée.

En outre, le fractionnement des extraits peut donner de meilleur résultats, car il y aurait dans les extraits non fractionnés des composés inhibiteurs masquant les composés actifs (KLERVI, 2005; CAVIN, 2007)



Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude biologique sur l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L de région de Ghardaïa – Algérie.

Les résultats de nos travaux indiquent que la plante étudiée possède des propriétés bactéricide et/ou fongicide. L'intensité des effets sur la croissance des germes, varie en fonction de la plante, du type de microorganisme et du Gram de ces derniers (GRAM positif ou GRAM négatif).

Le rendement d'extrait réalisé sur la plante d'*Eucalyptus globulus* L est moyenne environs 0.29 %.

De même que l'activité biologique de l'extrait aqueux présent un pouvoir antibactérienne assez important surtout sur les souches bactériennes *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus sibtilus*. Et un pouvoir antifongique très important sur les souches fongiques *Aspergillus flavus*, *Fusarium culmorum*, *Candidas albicans*. Ces activités permettent à notre extrait d'être utilisé dans pas mal de domaine en tant que bactéricide et fongicide naturel.

La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L, vis-à-vis de quatre bactéries, ce pouvoir est relativement foret e avec des zones d'inhibitions variant entre 33,5 et 8 mm.

L'activité antibactérienne d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L, évaluée par la méthode de dilution, a permis de révéler une activité forte sur la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Bacillus sibtilus* ATCC 49452 donnée un diamètre d'inhibition de 27,5 et 8,5 a solution mère et tous les dilutions, alors que *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922 Présentant une sensibilité avec la concentration 100 % de l'extrait variant entre 33,5 et 27 mm, mais avec les dilutions en remarqué une faible sensibilité ou bien résistant avec des diamètres d'inhibition de 18,65 et 6 mm respectivement.

La méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L, vis-à-vis de quatre souches fongiques.

L'activité antifongique d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L s'est avéré un agent antifongique efficace contre les 3 souches *Aspergillus flavus*, *Fusarium culmorum*, *Candidas*

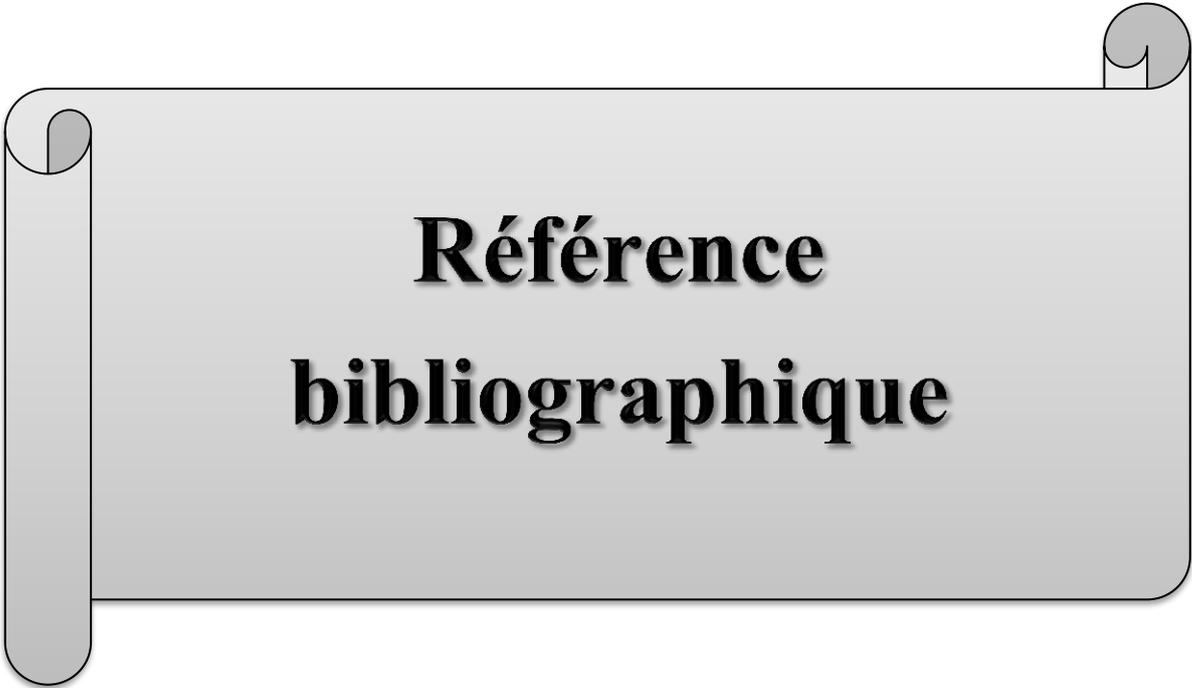
albicans à une dose de 100 % d'extrait, par contre la souche *Aspergillus Niger* est présente un résistants très forte dans tous les concentrations avec un diamètre ne dépasse pas 6mm.

Nous résultats indiquent que d'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L n'a pas une activité antibactérienne intéressante en revanche, elle a montré des bonnes activités antifongiques sur les trois souches par contre a *Aspergillus Niger* et aussi une activité important sur les bactéries à Gram positif (+) que les bactéries a Gram négatif (-).

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies (tests antioxydant, détermination de la concentration minimale inhibitrice des souches bactériennes, mode d'application, cout, essai sur d'autres souches microbiennes, ect.) afin d'exploiter les propriétés antibactériennes et antifongiques ainsi que le teste d'activité fongistatique/fongicide.

En perspectives pour l'avenir, cette étude permet encore une fois la mise en valeur de l'exploitation de l'extrait aqueux dans les domaines, pharmaceutique et cosmétique et comme conservateur dans le domaine de l'industrie agroalimentaire.



**Référence
bibliographique**

- ✚ A.N.R.H., 2003. Notes relatives à l'étude de la nappe phréatique de la vallée du M'Zab, Rapport de l'Agence nati. res. hyd.

- ✚ ABDELKADER B., 2009. Plantes Médicinales d'Algérie. 5^{ème} Edition. © Office des publication universitaires ., Edition ; 2.01. 4267. 88p.

- ✚ ANONYME., 2003. Information Eucalyptus : Présentation générale de l'Eucalyptus. Afocel : lettre d'information semestrielle eucalyptus Numéro 1. Fiche Information Eucalyptus n° 1, pp. 1-4.

- ✚ ANONYME., 1996. « La forêt algérienne » éditer par l'institut national de recherche forestière – Bainem- Alger février- mars 1996 page 10.

- ✚ ARSENAULT C., 2001. Malaises et maladies, le *Candidas albicans*. Contact Autisme. J. La Jasette Officielle. Vol. 1 : 1-2.

- ✚ BAGNOULS F., GAUSSEN H., 1953 : Saison sèche et indice xérothermique, Volume I. Carte des productions végétales, art. 8, Toulouse, 47 P.

- ✚ BARBARA S., VIRGILIO B., FRANCESCA S., GIOVANNA P., GIOVANNA D., MATIAS P AND QUIRICO M. 2012. Molecular Plant Pathology. 2012. *Fusarium culmorum*: causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. Molecular Plant Pathology, vol. 14, n°4, p. 323-341. May 2013

- ✚ BEN BNINA E, HAMMAMI S, DANII- REMADI M, BEN JANNET H, MIGHRI Z., 2010.chemical composition and antimicrobial effects of Tunisian *Ruta chalpensis* essential oils. Journal de la society chimique de Tunisie, vol.12, n°31, p 1-9

- ✚ BENSEMAOUNE., 2008. Les parcours sahariens dans la nouvelle dynamique spatiale : contribution à la mise en place d'un schéma d'aménagement et de gestion de l'espace (S.A.G.E.)- cas de la région de Ghardaïa. Mém. de magister : Agronomie Saharienne. Département des sciences agronomiques université Kasdi merbah, Ouargla.

- ✚ BICHI H, BEN TAMER F., 2006. Contribution à l'étude de la variabilité climatique dans les régions d'Ouargla et Ghardaïa. Mém. Ing, kasdi merbah, Ouargla. 115 P.

- ✚ BOLAND D.J, BROPHY J.J, HOUSE A.P.N., 1991. Eucalyptus leaf oils use, chemistry, distillation and marketing ACIAR/CSIRO INKATA PRESS Melbourne. Sydney 1991, page 08-page 15.
- ✚ BOUVET J.M., 1999. Les plantations d'eucalyptus. Évolutions récentes et perspectives. Le Flamboyant, 49,4-14.
- ✚ BROWN A.G, NAMBAIR E.K.S., COSSALTER C., 1999. Plantations in the tropics- their role, extent and nature. In: Management of soil, nutrient and water in tropical plantations forest. Eds E.K.S. NAMBIAR et A.G. BROWN, ACIAR Monograph No 43,1-19.
- ✚ BRUNETON J., 1999. Pharmacognosie. Phytochimie-plantes médicinales. 3^e édition Technique & Documentation. 1120 pages.
- ✚ CAMPINHOS E., 1999. Sustainable plantations of high-yield Eucalyptus trees for production of fiber: the Aracruz case. New Forests, 17,129-143.
- ✚ CANDY G., 1977. Investigation into Composition and potential of a selected number of Rhodesian eucalyptus Unpublished Thesis, Univ of Rhodesia, Dept of Pharmacy.
- ✚ CAVIN A. L., 2007. Contribution à la connaissance taxonomique et chimique de fruits africains du genre Detarium (Fabaceae-Caesalpinioideae) : *D. microcarpum* Guill. Et Perr. Et des formes comestibles et toxiques de *D. seneegalense* J.F.Gmel. Thèse doct. Genève. 277p.
- ✚ CRONQUIST A., 1988. The Evolution and Classification of Flowering Plants. Scend Edition. Ed. Bronx, Ny: The New York Botanical Garden. 555p.
- ✚ CURTIS A, SOUTWELL IA and STIFF IA., 1990. Eucalyptus a new source of cinnamate. Essential Oil Res 2, 105-110.
- ✚ D.P.A.T., 2009. D.P.A.T., 2009 _ Annuaire statistique de la wilaya de Ghardaïa, direction de la Planification et de l'Aménagement du Territoire, 14ème édition, volume I, 84 P.
- ✚ D.P.S.B., 2014. Annuaire statistique de la wilaya de Ghardaïa 2013. Direction de la Programmation et du Suivi Budgétaires, Wilaya de Ghardaïa. 180P.
- ✚ DAJOZ R., 1982. Précis d'écologie. Paris, Bordas.
- ✚ DAOUADI C., 2010. situation de l'écosystème oasien dans la région de Metlili déclin ou recomposition. MEM. D'ingénieur. Université d'Ouargla.

- ✚ DELAVEAU P., 1982. Histoire et renouveau des plantes médicinales Paris Albin Michel P : 348

- ✚ DIALLO A.M., 2005. Etude des plantes médicinales de niafunke (région Tombouctou) Phytochimie et pharmacologie de *Maerua crassifolia* Forsk. (Capparidacée). Thèse de Doctorat. Université de Bamako. 125p.

- ✚ ELDRIDGE K, DAVIDSON J, HARWOOD C, VAN WYCK G., 1993. Eucalypt domestication and breeding. Clarendon Press, Oxford, 288p.

- ✚ GUIGNARD J., 1997. Abrégé de Botanique à l'usage des Etudiants en Pharmacie. MASSON, PARIS. Page 257.

- ✚ GUIGNARD J.L., 2001. Abrégé Botanique Systématique Moléculaire 12 Eds Révisée. MASSON.

- ✚ HAJJEH RA, SOFAIR AN, HARRISON LH et *al.* 2004. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol.* . 42: 1519 –27.

- ✚ HOUICHTI R., 2009. Caractérisation d'un agro système saharien dans une perspective de développement durable : Cas de l'Oasis de SEBSEB (Wilaya de GHARDAIA), Mém. Ing, Univ. Kasdi merbah, Ouargla, 90 P.

- ✚ ISERIN P., 2001. Larousse des plantes médicinales, identification, préparation, soins. Ed. Larousse. Pp : 15-16, 68. 210p.

- ✚ KESBI A., 2011. étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. Mém. De master: Génie chimique. Faculté des sciences et de la technologie et science de la matière d'Ouargla.

- ✚ KLERVI L. L. 2005. Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud).

- ✚ LASSAK E.V., 1998. The Australian eucalyptus Oil Industry? Past and Present, *Chemistry in Australia* 55,396-406.

- ✚ MADIGANT M, MARTINKO J ., 2007. Biologie des micro-organismes. 11^e Edition. pages 1047.

- ✚ MARBURG M., 1999. Plantes thérapeutiques - Tradition, pratique officinale, science et thérapeutiques. 3^e édition technique & documentation. 636 pages.
- ✚ MARIE CLAUDE F, GENIN A, MERIGOUX J, MOGET E., 1992. Herboristerie familiale. octobre 1992, page 53.
- ✚ MARYSE A, DANIELLE C., 2004. Fiche technique _ Bactériologie 051. EN.FTBAC. 27-08-11.01. Laboratoire de Bactériologie Hygiène CHU Toulouse Rangueil. Emis le 12 octobre 2004.
- ✚ MAYACHIEW P., DEVAHASTIN S., 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology 41; pp. 1153-1159.
- ✚ Mc NEIL MM, NASH SL, HAJJEH RA, PHELAN MA, CONN LA, PLIKAYTIS BD., 2001. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980 – 1997. Clin Infect Dis. 2001; 33: 641 – 7.
- ✚ MORIN O., 2003. Aspergillus et aspergillose : biologie. Encycl. Méd. Chir, Maladies infectieuses. Vol. 8 (600) : 1-7.
- ✚ O.N.M., 2015. Données météorologiques de la wilaya de Ghardaïa (2004 - 2014), Office Nationale de Météorologie Station. Noumérat de Ghardaïa, 2 P.
- ✚ PADRINI F, LUCHERONI M T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles. Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et l'aromassage Energétiques avec plus de 100 photographies. Edition de Vecchi, paris 11, 15,61 et 111.
- ✚ PANDEY R, BALANCO J, UDOLP H., 2011. The Glucuronyl transferase GLcAT-P is required for stretch growth of peripheral Nerves in *Drosophila*. Europe PMC, vol.6, n°11.
- ✚ PAPPAS PG, REX JH, LEE J, HAMILL RJ, LARSEN RA, POWDERLY W, ., 2003 A prospective observational study of candidemia : epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. Clin Infect Dis. 2003; 37: 634 – 43.
- ✚ PERROTI C, CARAFFA N, AILI S., 1999. Se soigner par les plantes. Berti Editions. pages 118.
- ✚ PFALLER MA, PAPPAS PG, WINGARD JR., 2006. Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends. Clin Infect Dis. 2006; 43 (Suppl 1): S3 – S14.

- ✚ PILET C, BOURDON JL, TOMA B, MARCHAL N, BALBASTRE C., 1983. Bactériologie médicale et vétérinaire, systématique bactérienne. 2^e Edition, 3^e tirage. Biologie appliquée collection publiée sous la direction de A.OBRE et R.BUTTIAUX. p 227-228.
- ✚ Pr. Dr. BIGENDAKO M.J., 2004. Identification et Zonage des Eucalyptus Globulus au Rwanda, Chemonics International Inc., projet ADAR, août 2004. P01.
- ✚ REMDANE F., 2009. Analyse et caractérisations de quelques métabolites secondaires de la plante *Nauplius graveolens* (Shousb) de Tamanrasset. Thèse de Magister, Université KASDI Merbah d'Ouargla p 16.88.
- ✚ SAVOYE F., 2011. Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. Thèse Docteur. Univ Bourgogne. Page 16.
- ✚ SERVENTY V., 1968. Wildlife of Australia. Thomas Nelson Ltd, Canada.
- ✚ SIJELMASSI A., 1991. Les plantes médicinales du Maroc. 2^{eme} Ed, le feunec. Page 125.
- ✚ TONK S, BARTARYA R, K. KUMARI M, BHATNAGAR V. P, and SRIVASTAVA S. S., 2006. Effective method for extraction of larvicidal component from leaves of *Azadirachta indica* and *Artemisia annua* Linn. Journal of Environmental Biology, vol. 27(1): 103-105.
- ✚ TRICK WE, FRIDKIN SK, EDWARDS JR, ., 2002 Secular trend of hospital acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989 –1999. Clin Infect Dis. 2002; 35: 627 – 30.
- ✚ WERNER S, PETRES KG, LONGAKER MT., 1998. Keratinocyte Growth factor: A Unique Player in Epithelial Repair Processes. Cytokine Growth factor rev, vol. 9, issue 2 , page 153-165
- ✚ WISPLINGHOFF H, BISCHOFF T, TALLENT SM., 2004. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals : analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. Clin Infect Dis. 2004; 39: 309 – 17.
- ✚ محمد السيد هيكل، ع. عبد الرزاق عمر، (1993)، النباتات الطبية والعطرية. كميأؤها. إنتاجها. فوائدها، الطبعة الثانية، منشات المعارف الاسكندرية. 134-13.
- ✚ الدكتور أحمد فرج العطيات، (1995)، النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي زراعة وتصنيع النباتات الطبية في الوطن العربي. المؤسسة العربية لدراسات و النشر ص 22-21.

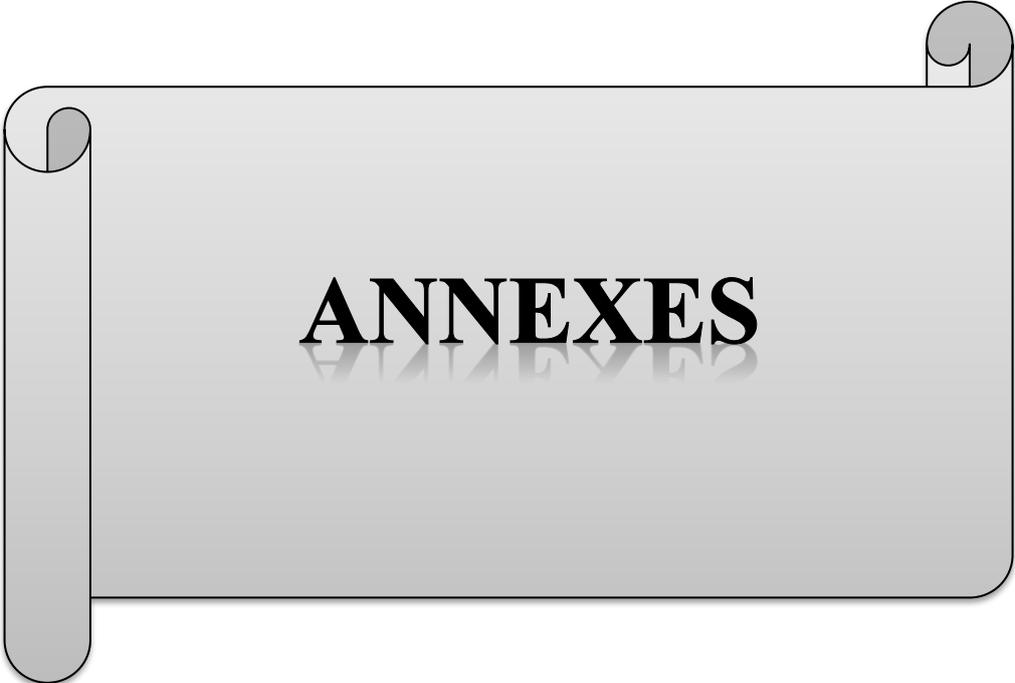
Références électroniques:

Site 01 : [http://www.cpbr.gov.au/cpbr/WfHC/Eucalyptus camaldulensis/Eucalyptus camaldulensis-flowers-photo.html](http://www.cpbr.gov.au/cpbr/WfHC/Eucalyptus_camaldulensis/Eucalyptus_camaldulensis-flowers-photo.html)

Site 02 : <http://luirig.altervista.org/pics/display.php?pos=48542>

Site n03 : [http://plantsandlandscapes.com.au/prov_site/Eucalyptus tereticornis](http://plantsandlandscapes.com.au/prov_site/Eucalyptus_tereticornis)

Site 04: <http://swbiodiversity.org/seinet/imagelib/imgdetails.php?imgid=307717>



ANNEXES

Annexes 1

-Activité antibactérienne : activité déterminant la résistance ou la sensibilité vis-à-vis à des souches bactériennes en présence du principe actif végétal.

-Activité antifongique : activité déterminant la résistance ou la sensibilité vis-à-vis à des souches fongiques en présence du principe actif végétal.

-Activité antimicrobien : se dit d'une substance qui inhibe ou tue les cellules des micro-organismes.

-Infections : Présence et croissance d'un organisme au sein d'un hôte.

-Gram (coloration de Gram) : coloration différentielle permettant de classer les bactéries suivant leur capacité à fixer le cristal violet. Celles qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'éthanol (Gram- négatives) alors que celles qui n'en possèdent pas retiennent le colorant (Gram positives).

-Micro-organisme : organisme microscopique constitué d'une cellule unique ou d'un groupe de cellules. Les virus (non cellulaires) sont aussi considérés comme des micro-organismes.

-Pathogène : Organisme responsable d'une maladie.

Annexes 2

Extraction par reflux



Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* séchées pendant quelques jours à l'air libre et dans la température ambiante.



Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* séchées et broyées



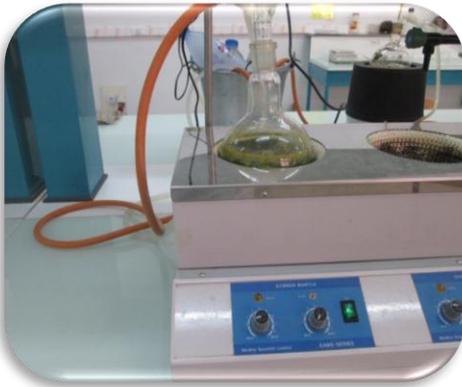
600 ml solution aqueuse de méthanol + 100 g matière végétale



400 ml Méthanol + 200 ml l'eau distillée



100g de matière végétale séchée et broyées



Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures



L'homogénat est refroidi et filtre à l'aide d'un papier filtre ordinaire



Eliminer le méthanol par d'un rotor vapor

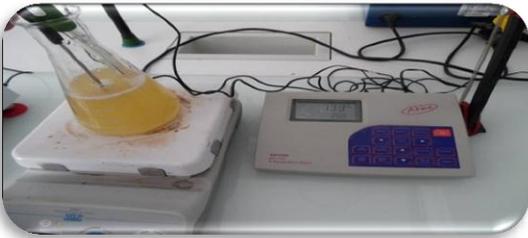


Extrait aqueux qui servira dans un flacon par la suite aux tests biologiques.

Les matériels utilisés dans les labos :



Balance analytique



Agitateur magnétique +
pH mètre



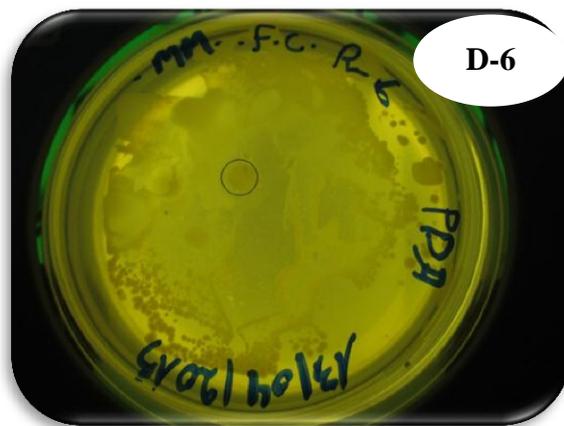
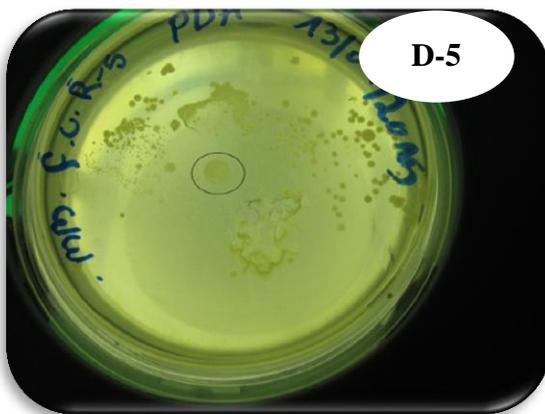
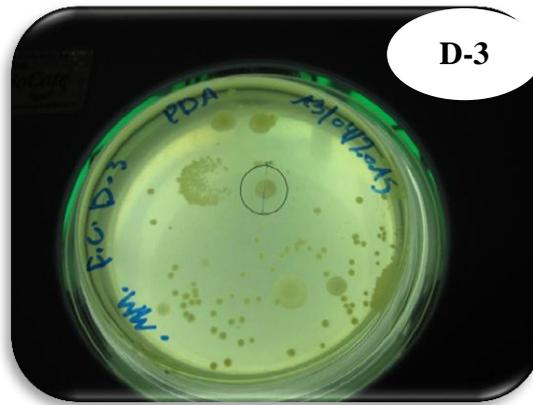
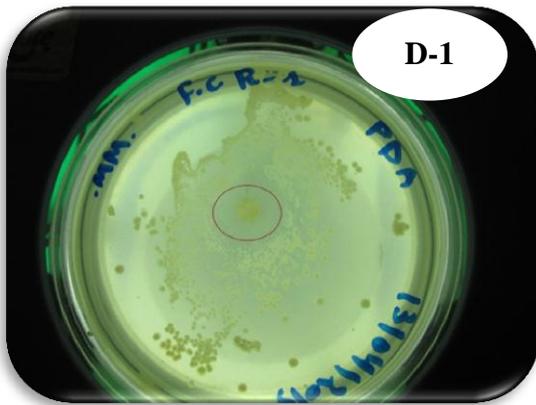
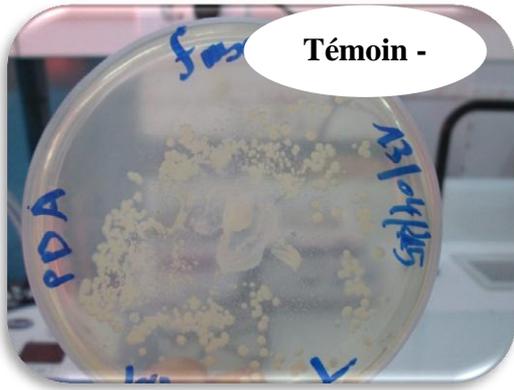
Autoclavage des
milieux de culture



Des boites pétries
incubées dans l'étuve



La hotte



Zones d'inhibition de *Fusarium culmorum* dans toutes les dilutions

SM : solution mère de l'extrait * F.C : *Fusarium culmorum* * D (-1 ; -3.-5.-6) : dilution

Résumé :

Le but de notre étude est de déterminer le pouvoir antibactérien et antifongique de l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus globulus* L. L'extraction de la partie aérienne d'*Eucalyptus globulus* L a été réalisée par la méthode de l'extraction par reflux.

Le test d'activité antimicrobienne a été effectué sur quatre souches bactériennes (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), et quatre souches fongiques (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*, les résultats montrent que l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* L possède un modéré d'activité antibactérienne avec des diamètres d'inhibition entre 33,5 et 8,5 mm en comparaison avec l'activité antifongique qui atteindrent une diamètre d'inhibition environ de 30,8 et 10 mm avec une sensibilité dans les concentrations faibles de notre extrait. Par contre *Aspergillus niger* est résistant dans les concentrations 100 % et toutes les dilutions.

Mots clés : Activité antibactérienne, activité antifongique, l'extrait aqueux, *Eucalyptus globulus* L, inhibition

Abstract:

The aim of our study was to determine the antibacterial and antifungal power of the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L. The extracting of the aerial part of *Eucalyptus globulus* L was done by the method of reflux extraction.

The antimicrobial activity test in four bacterial strains (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) and four fungal strains (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus Niger*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*) the results show that the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* L has a moderate antibacterial activity with inhibition diameters between 33.5 and 8.5 mm in comparison with antifungal activity that achieve an inhibition diameter of about 30.8 mm and 10 mm with a sensitivity to low concentrations of our extract. In the opposite *Aspergillus Niger* is resistant against concentrations of 100% and in all other dilutions.

Key words: activity antibacterial, activity antifungal, the aqueous extract, *Eucalyptus globulus* L, inhibition

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد قوة مضادة للبكتيريا و الفطريات من المستخلص المائي لنبات *Eucalyptus globulus* L الذي تم استخلاصه بطريقة الارجاع.

اختبار نشاط المستخلص تم ضد أربع سلالات بكتيرية (*Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* *Bacillus sibtilus*) وأربع سلالات فطرية (*flavus Aspergillus*, *Niger Aspergillus*, *Fusarium culmorum*, *Candida albicans*) أظهرت النتائج أن المستخلص المائي *Eucalyptus globulus* L لديه نشاط معتدل ضد سلالات البكتيريا بأقطار تثبيط تتراوح بين 33.5 و 8.5 ملم مقارنة مع نشاطه ضد السلالات الفطرية حيث كان قطر التثبيط فيها ما بين 30.8 ملم و 10 ملم مع حساسية في التركيزات المنخفضة لمستخلصنا، على عكس *Aspergillus Niger* المقاومة حتى في أكبر التراكيز.

كلمات البحث: مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات، المستخلص المائي، *Eucalyptus globulus* L ، تثبيط