

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 18.11.16.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 25.05.18 Bulletin 18/21.

⑤⑤ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦① Demandeur(s) : REMMAL ADNANE — MA.

⑦② Inventeur(s) : REMMAL ADNANE, OUKHOUIA
MOUNIA, SENNOUNI CHAIMAE IMANE, MOUSSA
HAKIMA et MARZOUQ MERYEM.

⑦③ Titulaire(s) : REMMAL ADNANE.

⑦④ Mandataire(s) : AQUINOV.

⑤④ COMPOSITION STABLE SOLIDE A BASE DE COMPOSE AROMATIQUE ET UTILISATIONS.

⑤⑦ L'objet de l'invention est une composition sous forme
solide, stable et dispersible dans l'eau, caractérisée en ce
qu'elle comprend:

- au moins un alcool aromatique,
- au moins un agent émulsifiant,
- au moins un agent texturant, et
- au moins un couple acide-base effervescent.

L'invention vise également ses utilisations, en particulier
comme produit phytosanitaire.



COMPOSITION STABLE SOLIDE A BASE DE COMPOSE AROMATIQUE ET UTILISATIONS

La présente invention se rapporte à une composition stable à base de composé aromatique naturel ou synthétique ainsi qu'à ses différentes utilisations, en particulier dans le domaine agricole.

Face à une population sans cesse croissante l'agriculture mondiale est confrontée à plusieurs défis notamment la demande accrue en denrées alimentaires. Or, le domaine agricole végétal et animal est sujet à plusieurs problèmes biotiques à savoir les maladies causées par les bactéries, les virus, les champignons, les nématodes et tous autres insectes et ravageurs. Pour pallier à ces problèmes la plupart des agriculteurs et des éleveurs utilisent des produits chimiques (pesticides et désinfectants) qui sont très nocifs pour la santé humaine et pour l'environnement.

Il est donc urgent et nécessaire de trouver une alternative à ces produits qui soit à la fois efficace contre les attaques biotiques des cultures et inoffensive pour l'homme et l'environnement.

Plusieurs alternatives ont été récemment proposées pour remplacer les pesticides et les désinfectants chimiques, en particulier :

- l'utilisation de biopesticides microbiens (bactéries, champignons ou virus) mais ces produits présentent un coût élevé, sont non industrialisables à grande échelle, et il existe des risques importants de mutation et de développement de résistance,
- le recours à des variétés de plantes résistantes en utilisant des gènes de résistance, mais ces produits ne sont pas satisfaisants notamment du fait de leur temps de développement important, de la qualité médiocre des fruits obtenus et des gènes qui sont très influencés par l'environnement et sont souvent mal exprimés,
- les biopesticides à base d'extraits de plantes, mais ces produits ne sont pas non plus adaptés en raison à la fois de leur forme liquide qui rend l'entreposage assez délicat car il nécessite une température et une humidité précises, et à la fois du risque d'évaporation des principes actifs.

Parmi les biopesticides à base d'extraits de plantes, plusieurs recherches ont porté sur les huiles essentielles et leurs composés majoritaires tels que thymol, carvacrol, eugénol notamment (KoulO. et al.(2008). *Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. Biopestic. Int.* 4(1): 63–84;Isman, M.B. and Machial, C.M. (2006). *Pesticides basedon plant essential oils: from traditional practice tocommercialization. In M. Rai and M.C. Carpinella(eds.), Naturally Occurring Bioactive Compounds,Elsevier, BV, pp 29–44*). Ces composés ont en effet des propriétés très prometteuses. Cependant, ils présentent des problèmes liés à leur volatilité, à leur faible solubilité dans l'eau et à leur aptitude à être oxydés rapidement (Moretti MDL et al.(2002). *Essential Oil Formulations Useful as a New Tool for Insect PestControl. AAPs Pharm. Sci. Tech.* 3 (2): 13). La volatilité de ces composés est à l'origine de leur faible durée de vie en solution. Ceci se répercute négativement sur la qualité de la formulation puisque les fabricants doivent en utiliser de grandes quantités ou utiliser des méthodes de stabilisation sophistiquées et onéreuses telles que la micro et la nano-encapsulation (WO2007063267A1), qui rend ces produits non compétitifs par rapport aux pesticides chimiques.

Le but de la présente invention est donc de trouver une solution à ces problématiques et de proposer en particulier une formulation stable comprenant des composés aromatiques de nature volatile ayant une activité antimicrobienne (antibactérienne, antifongique, antivirale et antiparasitaire) et/ou anti-insecte.

Pour y répondre, l'invention a pour objet une composition sous forme solide, stable et dispersible dans l'eau, comprenant :

- au moins un alcool aromatique ou au moins un mélange en contenant comme une huile essentielle,
- au moins un agent émulsifiant,
- au moins un agent texturant, et
- au moins un couple acide-base effervescent.

Avantageusement, une telle composition :

- est stable alors qu'elle comprend des molécules, à l'origine volatiles,
- se présente sous forme solide, ce qui facilite son stockage, et
- est dispersible dans l'eau, ce qui permet son utilisation mélangée avec de l'eau avant utilisation.

Les alcools aromatiques ont de nombreuses propriétés en fonction de leur formule chimique, et la composition selon l'invention peut être avantageusement utilisée en particulier comme produit phytosanitaire ou engrais, mais la composition selon l'invention peut également être utilisée pour d'autres applications comme par exemple anti-insecte ou comme antimicrobien pour aseptiser l'air ambiant, les mains, les bâtiments, les dispositifs médicaux réutilisables, etc.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront de la description de l'invention, en détails, qui va suivre et des résultats d'essais réalisés avec l'invention démontrant son efficacité dans de nombreuses applications, résultats en particulier illustrés par les figures annexées qui représentent :

- Figure 1 : une image de la composition selon l'invention de l'exemple 1, avant dispersion,
- Figure 2 : une image de la composition C3 comparée à la composition selon l'invention dans le Tableau 1,
- Figure 3 : une image de la composition C4 comparée à la composition selon l'invention dans le Tableau 1.

Définitions

Par « agent émulsifiant » au sens de l'invention on entend tout composé capable d'améliorer la suspension et la dispersion d'une composition dans l'eau.

Lorsque le terme agent émulsifiant est utilisé au singulier dans la présente demande, il faut entendre un ou plusieurs agents émulsifiants, la composition selon l'invention pouvant comprendre un ou plusieurs agents émulsifiants.

Par « agent texturant » au sens de l'invention on entend tout composé ayant les fonctions de stabilisateur (améliore la stabilité), épaississant (augmente la viscosité) et/ou émulsifiant (améliore la suspension).

Lorsque le terme agent texturant est utilisé au singulier dans la présente demande, il faut entendre un ou plusieurs agents texturants, la composition selon l'invention pouvant comprendre un ou plusieurs agents texturants.

Par « alcool aromatique » au sens de l'invention on entend une molécule aromatique, possédant un groupe hydroxyle OH fixé sur un carbone d'un cycle benzénique. L'alcool aromatique est également appelé phénol.

Le « terme alcool aromatique » peut être utilisé indifféremment au singulier ou au pluriel dans la présente demande. Qu'il soit utilisé au singulier ou au pluriel, il faut toujours entendre au moins un alcool aromatique c'est-à-dire un ou plusieurs alcools aromatiques, la composition selon l'invention pouvant comprendre un ou plusieurs alcools aromatiques.

- 5 Par « anti-insecte » au sens de l'invention on entend toute action inhibitrice et/ou destructrice des insectes et ravageurs.

Par « antimicrobien » au sens de l'invention on entend toute action inhibitrice et/ou destructrice des germes bactériens, fongiques, parasitaires et viraux.

Par « composé » au sens de l'invention on entend une molécule ou un mélange de molécules.

- 10 Par « couple acide-base effervescent » au sens de l'invention on entend l'association, la combinaison d'un acide et d'une base capable de provoquer un phénomène effervescent lorsque ledit couple est mis en solution.

Lorsque le terme couple acide-base effervescent est utilisé au singulier dans la présente demande, il faut entendre un ou plusieurs couples acide-base, la composition selon l'invention

- 15 pouvant comprendre un ou plusieurs couples acide-base.

Par « dispersible dans l'eau » au sens de l'invention on entend capable de se disperser, de se solubiliser dans l'eau sans former de masses non dispersibles, en particulier dans l'eau d'irrigation d'aspersion des plantes ou d'abreuvement des animaux

- 20 Par « huile essentielle » au sens de l'invention on entend tout extrait obtenu à partir d'une ou plusieurs plante(s) aromatique(s), préférentiellement le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odérifiants) volatils d'une plante. Une huile essentielle peut être notamment obtenue par extraction mécanique et un entraînement à la vapeur d'eau ou par distillation à sec. Par « huile essentielle » on entend également des produits identiques à ceux décrits ci-avant mais obtenus par synthèse chimique.

- 25 Par « mélange contenant un alcool aromatique » au sens de l'invention on entend tout mélange de molécules comprenant au moins un alcool aromatique. Il peut s'agir préférentiellement d'une ou plusieurs huile(s) essentielle(s) ou d'un ou plusieurs mélange(s) de molécules contenues dans une ou plusieurs huile(s) essentielle(s) ou d'un mélange d'une ou plusieurs huiles essentielles avec un ou plusieurs mélange(s) de molécules contenues dans
30 une ou plusieurs huiles essentielles.

Lorsque le terme mélange contenant un alcool aromatique est utilisé au singulier dans la présente demande, il faut entendre un ou plusieurs mélanges contenant un alcool

aromatique, la composition selon l'invention pouvant comprendre un ou plusieurs mélanges contenant un alcool aromatique.

Par produit « stable » au sens de l'invention on entend un produit dont la composition moléculaire ainsi que la texture, la couleur et l'efficacité sont constantes dans le temps.

- 5 Par « solide » au sens de l'invention on entend une forme non liquide préférentiellement uniforme : poudre, pellet ou comprimé.

Description détaillée de l'invention

L'invention a donc pour objet une composition sous forme solide, stable et dispersible dans l'eau.

- 10 La composition selon l'invention peut notamment se présenter sous forme de poudre, pellets ou de comprimés.

La composition selon l'invention comprend au moins un alcool aromatique ou au moins un mélange contenant au moins un alcool aromatique.

Ledit au moins un alcool aromatique est un alcool aromatique naturel ou de synthèse.

- 15 Préférentiellement ledit au moins un alcool aromatique est mono, di ou sesquiterpeniques. Il peut en particulier être choisi parmi le thymol, le menthol, l'eugénol, la carvacrol et le cinnamaldéhyde.

Selon un mode de réalisation particulièrement adapté, la composition comprend au moins un alcool aromatique contenu dans une huile essentielle, et préférentiellement la composition

- 20 selon l'invention comprend au moins une huile essentielle, comme par exemple l'huile essentielle de thym, d'origan, de clou de girofle, de menthe.

Ledit au moins un alcool aromatique et/ou le dit au moins un mélange comprenant au moins un alcool aromatique, présents dans la composition selon l'invention jouent un rôle de principe actif. Ils présentent des effets et des efficacités qui varient en fonction de leur nature,

- 25 mais ils présentent préférentiellement une activité antibactérienne et/ou anti-insecte, comme c'est le cas en particulier des alcools aromatiques choisis parmi le thymol, le menthol, l'eugénol, la carvacrol et le cinnamaldéhyde.

De façon préférée, l'alcool aromatique ou le mélange comprenant au moins un alcool aromatique représente entre 0,1 et 25% en poids de la composition.

En plus de l'alcool aromatique (ou du mélange en contenant), la composition selon l'invention comprend également au moins un agent émulsifiant. Il est préférentiellement choisi parmi les huiles végétales, les huiles minérales, la lécithine de soja, la cellulose, la pectine et le glycérol. Ledit au moins un agent émulsifiant permet en particulier de liquéfier et/ou de maintenir en suspension l'alcool aromatique lorsqu'il est mis en solution. En effet ; les émulsifiants interagissent à la fois avec les molécules d'alcool aromatique et avec les molécules d'eau, ce qui empêche les molécules d'alcool aromatique de flotter à la surface de l'eau.

De façon préférée, l'agent émulsifiant représente entre 0,01 et 2% en poids de la composition. La composition selon l'invention, en plus de ces deux premiers constituants, comprend aussi au moins un agent texturant. Il est préférentiellement choisi parmi la gomme de caroube, la gomme de guar et la gomme de casse.

Ledit au moins un agent texturant permet notamment d'améliorer la stabilisation des alcools aromatiques présents dans la composition à la fois lors du stockage et lors de la mise en solution. En effet, l'agent texturant permet, au moment de la fabrication, de fixer les alcools aromatiques et les émulsifiants qui sont liquides et par conséquent d'obtenir une poudre tamisable. Lors du stockage, les alcools aromatiques volatils restent fixés sur les agents texturants et ne s'évaporent pas. Au moment de la mise en solution, les agents texturants créent une viscosité qui favorise la dispersion des alcools aromatiques et les empêchent de flotter.

De façon préférée, ledit au moins un agent texturant représente entre 5 et 12% en poids de la composition. Le ratio de la gomme ne doit pas dépasser 12%, préférentiellement 10%, dans la composition finale, sinon une fois en solution, l'agent texturant risque de former une pâte difficile à disperser.

Enfin, la composition selon l'invention comprend également au moins un couple acide-base effervescent. Il est préférentiellement choisi parmi les couples acide-base suivants : bicarbonate de Sodium-acide citrique, bicarbonate de Calcium-acide citrique, bicarbonate de Potassium-acide citrique, bicarbonate de Sodium-acide tartrique, bicarbonate de Calcium-acide tartrique, bicarbonate de Potassium-acide tartrique, bicarbonate de Sodium-acide maléique, bicarbonate de Sodium-acide maléique, bicarbonate de Potassium-acide maléique, bicarbonate de Sodium-acide ascorbique, bicarbonate de Calcium-acide ascorbique et bicarbonate de Potassium-acide ascorbique. Préférentiellement, l'acide du couple

effervescent représente entre 20 et 25% en poids de la composition et la base du couple effervescent représente entre 60 et 74,89% en poids de la composition.

Ledit au moins un couple acide-base effervescent présent dans la composition notamment permet d'améliorer la dissolution de l'alcool aromatique une fois en solution.

- 5 De façon préférée, ledit au moins un couple acide-base effervescent représente entre 50 et 94,89% en poids de la composition.

Selon une variante, la composition selon l'invention est constituée exclusivement par :

- un ou plusieurs alcool(s) aromatique(s) ou un ou plusieurs mélange(s) contenant un ou plusieurs alcool(s) aromatique(s),
- 10 - un ou plusieurs agent(s) émulsifiant(s),
- un ou plusieurs agent(s) texturant(s), et
- un ou plusieurs couple(s) acide-base effervescent(s).

Une composition selon cette variante, peut notamment être constituée comme suit :

- le (ou les) alcool(s) aromatique(s) ou le (ou les) mélange(s) d'alcool(s) aromatique(s) représente(nt) entre 0,1 et 25% en poids de la composition,
- 15 - le (ou les) agent(s) émulsifiant représente(nt) entre 0,01 et 2% en poids de la composition,
- le (ou les) agent(s) texturant représente(nt) entre 5 et 12% en poids de la composition,
- 20 - le (ou les) couple(s) acide-base effervescent(s) représente(nt) entre 61 et 94,89% en poids de la composition.

- 25 Selon une autre variante, en plus dudit au moins un alcool aromatique (ou au moins un mélange contenant au moins un alcool aromatique), dudit au moins un agent émulsifiant, dudit au moins un agent texturant, et dudit au moins un couple acide-base effervescent, la composition selon l'invention comprend au moins un autre composé, comme par exemple au moins un composé choisi parmi les vitamines, les minéraux, les hormones, les colorants, etc.
- La composition selon l'invention peut être obtenue par tout procédé adapté permettant d'obtenir une composition sous forme solide avec les constituants précités.

Il peut s'agit notamment d'un procédé comprenant les étapes suivantes :

- 30 - au moins un alcool aromatique ou au moins un mélange contenant au moins un alcool aromatique, ledit alcool ou ledit mélange étant sous forme liquide ou

cristallisée, est mélangé avec au moins un agent émulsifiant jusqu'à obtention d'une solution limpide, préférentiellement dans les conditions suivantes :

- sous agitation, en particulier dans une cuve avec agitateur tournant entre 30 et 120 tours par minutes, préférentiellement pendant 5 à 45 minutes,
- à une température comprise entre 40 et 60°C, et/ou
- sans lumière, à l'obscurité.

Cette première étape permet d'obtenir une bonne dissolution des alcools aromatiques, sans aucun problème de recristallisation.

- la solution est ensuite ajoutée à une poudre contenant au moins un agent texturant et un couple acide-base effervescent, préférentiellement dans les conditions suivantes :

- sous agitation, en particulier dans un mixeur/mélangeur, encore plus préférentiellement pendant 10 à 40 minutes, et/ou
- à température ambiante, et/ou
- sans lumière, à l'obscurité.

L'agent texturant permet de stabiliser les molécules volatiles par absorption dans la composition finale. Le couple acide-base effervescent améliore la mise en solution de la composition qui peut être effectuée sans avoir nécessairement recours à une agitation manuelle ou mécanique.

- Pendant l'agitation dans la mélangeuse mécanique, la poudre initiale constituée par l'agent texturant et le couple acide-base absorbe progressivement le liquide constitué par l'alcool aromatique et l'agent émulsifiant jusqu'à obtention d'une poudre contenant parfois des petits grumeaux. Ces petits grumeaux sont convertis en poudre par l'action du calibre ; le calibrage se fait après la sortie de la poudre de la mélangeuse. (La poudre finale obtenue après calibrage est préférentiellement stockée dans des sacs hermétiquement fermés à l'abri de la chaleur et de l'humidité à température ambiante).

En fonction des alcools aromatiques et/ou des mélanges en contenant, présents dans la composition, la composition selon l'invention peut être utilisée pour différentes applications.

- Avant utilisation, la composition solide selon l'invention est préférentiellement mise en solution. De façon préférée le ratio composition/eau est compris entre de 100g par 1000 litres d'eau jusqu'à 25 kg pour 1000 litres d'eau.

En particulier, les alcools aromatiques présentent des propriétés antibactériennes et/ou antifongiques et/ou antivirales et/ou anti-insectes.

L'invention vise donc notamment l'utilisation d'une composition selon l'invention comme produit phytosanitaire, en particulier pour prévenir et/ou lutter contre les maladies des plantes (tout ou partie des plantes) causées par des champignons, des bactéries, des virus, des nématodes et/ou des ravageurs.

Pour son utilisation en application sur les plantes (tout ou partie des plantes) y compris sur les fruits, légumes et/ou fleurs en post-récolte, la composition selon l'invention peut être utilisée en eau d'irrigation ou en aspersion foliaire.

Les maladies des plantes causées par des bactéries pour lesquelles la composition selon l'invention est particulièrement utile en prévention et/ou en traitement sont préférentiellement choisies parmi la pourriture molle causée par les espèces *Erwinia*, le chancre bactérien causé par les espèces *Pseudomonas* ou la galle du collet causée par les espèces *Agrobacterium*.

Les maladies des plantes causées par des champignons pour lesquelles la composition selon l'invention est particulièrement utile en prévention et/ou en traitement sont préférentiellement choisies parmi la fusariose causée par les espèces *Fusarium*, le mildiou causé par les espèces *Phytophthora*, l'oïdium causé par les espèces *Podosphaera* et *Oidium*, l'alternariose causée par les espèces *Alternaria*, la fumagine causée par les espèces *Alternaria* et *Cladosporium* ou la pourriture grise causée par les espèces *Botrytis*.

Les ravageurs causant des maladies aux plantes contre lesquels la composition selon l'invention est particulièrement utile en prévention et/ou en traitement sont choisis parmi les pucerons, les moucheron, les acariens du sol ou les noctuelles.

La composition selon l'invention peut être utilisée spécifiquement pour prévenir et/ou lutter contre les maladies des fruits, des légumes et/ou des fleurs en post récolte causées par des champignons, des bactéries, des virus, des nématodes et/ou des ravageurs. En particulier, la composition selon l'invention peut être utilisée pour prévenir et/ou lutter contre la pourriture des agrumes causée par les espèces *Penicillium* et *Geotrichum*, ou pour prévenir et/ou lutter contre la détérioration fongique des dattes causée par les espèces *Aspergillus*.

La composition selon l'invention peut aussi être utilisée pour un traitement antifongique lors de l'enrobage des semences, notamment des semences choisies parmi le blé, l'orge, les lentilles, les pois chiches et les fèves.

Selon un autre aspect, la composition selon l'invention peut être utilisée comme produit phytosanitaire pour :

- augmenter la tenue en vase des fleurs coupées, ou
- nettoyer et éliminer les traces de pesticides et les microbes contenues dans les fruits et légumes, en particulier pour décontaminer les raisins, les abricots et les poivrons avant le séchage.

La composition selon l'invention peut aussi avantageusement être utilisée pour stimuler la croissance des plantes, notamment pour stimuler la rhizogenèse chez les plantes.

Indépendamment de son utilisation en application sur les végétaux, soit comme produit phytosanitaire, soit pour stimuler leur croissance, la composition selon l'invention peut être utilisée directement sur les objets, des sols, des murs, etc., en particulier pour :

- décontaminer les supports de culture en agriculture hors sol et en sol (par exemple sable, terre végétale et perlite) et/ou aseptiser l'air ambiant, notamment de bâtiments industriels,

- nettoyer et prévenir la formation de calcaire, notamment dans les goutteurs,
- dans les bâtiments d'élevage animal, par exemple dans les bâtiments d'élevage avicole, notamment :

- * Aseptiser l'air ambiant des bâtiments, et/ou

- * Décontaminer l'eau d'abreuvement, et/ou

- * Nettoyer les surfaces des bâtiments,

- pour éliminer les biofilms et prévenir leur formation, notamment dans les tuyaux d'alimentation d'eau dans les bâtiments d'élevage animal, par exemple dans les bâtiments d'élevage avicole,

- dans les bâtiments d'élevage avicole, pour prévenir et/ou traiter la grippe aviaire, en application sur le bâtiment, en éliminant les virus présents sur les murs et les sols des bâtiments.

La composition selon l'invention peut également être utilisée comme bain de décontamination des carcasses d'animaux dans les abattoirs ou pour décontaminer des œufs de volaille avant de les placer dans des couveuses.

Selon un autre aspect, la composition selon l'invention est particulièrement efficace et peut être utilisée pour désinfecter des dispositifs médicaux réutilisables, en particulier des fibroscopes, des coloscopes, des bronchoscopes et des sinuscopes.

La composition peut aussi être utilisée :

- comme bain de douche désinfectant pour les dents et les gencives, ou
- comme produit désinfectant pour les mains, en particulier pour le personnel hospitalier et médical.

- 5 La composition selon l'invention peut donc être utilisée pour de nombreuses applications. Elle présente l'avantage de se présenter sous forme solide et stable ce qui permet un stockage longue durée d'au moins deux ans et un transport facile et économique. En outre, la composition est très facilement dispersible dans l'eau, ce qui permet une utilisation aisée et économique en solution.
- 10 L'invention est à présent illustrée par des exemples non limitatifs de compositions selon l'invention, d'utilisations et de résultats d'essais démontrant leur efficacité.

Exemple 1

La composition de l'exemple 1 est constituée de :

- 15% de Thymol
- 15 - 0,2% de lécithine de soja
- 10% de gomme de caroube
- 50,54% de bicarbonate de sodium
- 24,26% d'acide citrique.

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- 20 15g de thymol sont préchauffés à 50°C et mélangés à 0,2 ml de lécithine de soja ensuite le mélange est ajouté à la combinaison 10g de gomme de caroube, 50,54g de bicarbonate de sodium et 24,26g d'acide citrique. Le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

Exemple 2

La composition de l'exemple 2 est constituée de :

- 25 - 15% de Menthol
- 0,2% d'huile minérale
- 10% de gomme de guar
- 50,54% de bicarbonate de potassium
- 24,26% d'acide tartrique.

- 30 Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

12

15g de menthol sont préchauffés à 50°C et mélangés à 0,2 ml d'huile minérale ensuite le mélange est ajouté à la combinaison 10g de gomme de guar, 50,54g de bicarbonate de potassium et 24,26g d'acide tartrique. Le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

Exemple 3

5 La composition de l'exemple 3 est constituée de :

- 15% de carvacrol
- 0,2% de glycérol
- 10% de gomme de xanthane
- 50,54% de bicarbonate de potassium
- 10 - 24,26% d'acide maléique.

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

15ml de carvacrol sont préchauffés à 50°C et mélangés à 0,2 ml de glycérol ensuite le mélange est ajouté à la combinaison 10g de gomme de xanthane, 50,54g de bicarbonate de potassium et 24,26g d'acide maléique. Le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

15 Exemple 4

La composition de l'exemple 4 est constituée de :

- 15% d'eugénol
- 0,2% de lécithine de soja
- 10% de gomme de caroube
- 20 - 50,54% de bicarbonate de sodium
- 24,26% d'acide tartrique

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

15ml de menthol sont préchauffés à 50 °C et mélangés à 0,2 ml de lécithine de soja ensuite le mélange est ajouté à la combinaison 10g de gomme de caroube, 50,54g de bicarbonate de sodium et 24,26g d'acide tartrique. Le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

25

Essais comparatifs démontrant la nécessité de la combinaison des différents constituants de la composition pour rendre la composition stable, homogène et dispersible dans l'eau

Les alcools aromatiques ne se dispersent pas aisément dans l'eau en raison de leur nature hydrophobe. L'art antérieur propose une méthode de dispersion de ces composés par l'adjonction d'un tensioactif et d'un solvant (WO2009124392A1), mais cette méthode n'est pas adaptée car il est connu que les tensioactifs et les solvants diminuent l'activité des composés phénoliques (*Remmal A., Bouchikhi T., Tantaoui-Elaraki A., Ettayebi M. (1993). Inhibition of antibacterial activity of essential oils by Tween 80 and ethanol in liquid medium. J. Pharm. Belg. 48:352-356*). De plus, certains alcools aromatiques, comme le thymol ou le menthol, sont sous forme cristallisée à température ambiante et une fois en contact avec l'eau, si on essaie de les rendre liquides en les chauffant, ils recristallisent.

La composition selon l'invention associant les alcools aromatiques à un agent texturant, un agent émulsifiant et un couple acide-base effervescent permet à la fois d'empêcher la recristallisation des alcools aromatiques sous forme cristallisée, d'assurer la stabilité des alcools aromatiques et de la composition, son homogénéité et de faciliter sa dispersion lors de sa mise en solution.

La forme et la dispersion dans l'eau de la composition de l'exemple 1 a été évaluée en comparaison à d'autres compositions comprenant un alcool aromatique seul ou avec seulement un ou des autres constituants de la composition selon l'invention.

Composition C1

La composition C1 est constituée par 15% de Thymol uniquement.

Cette composition est obtenue par la mise en suspension de 15g de Thymol dans 10 l d'eau.

Composition C2

La composition C2 constituée par :

- 15% de Thymol
- 0,2 % de lécithine de soja

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- 15g de thymol sont préchauffés à 50°C et mélangés à 0,2 ml de lécithine de soja,
- le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

Composition C3

La composition C3 constituée par :

- 15% de Thymol
- 0,2% de lécithine de soja
- 5 - 56,54% de bicarbonate de sodium
- 28,26% d'acide citrique

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- 15g de thymol sont préchauffés à 50 °C et mélangés à 0,2 ml de lécithine de soja,
- 10 - ensuite le mélange est ajouté à la combinaison bicarbonate de sodium et acide citrique,
- le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

Composition C4

La composition C4 constituée par :

- 15 - 15% de Thymol
- 0,2% de lécithine de soja
- 84,8% de gomme de caroube

Cette composition est obtenue par la mise en œuvre des étapes suivantes :

- 15g de thymol sont préchauffés à 50°C et mélangés à 0,2 ml de lécithine de soja,
- 20 - ensuite le mélange est ajouté à 84,8 g de gomme de caroube,
- le tout est mis en suspension dans 10 l d'eau.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 1 et sur les figures.

Tableau 1 : Résultats des différentes tentatives de formulation

Composition	Forme	Dispersion dans l'eau	Résultats
C1	Cristallisée	Non dispersible	Présence de cristaux de thymol à la surface
C2	Liquide	Non dispersible	Présence d'une couche huileuse à la surface
C3	Poudre humide de couleur blanchâtre (Poudre non tamisable) inutilisable Figure 2	NA	NA
C4	Poudre humide de couleur beige Figure 3	Peu dispersible (nécessite une agitation manuelle) formation d'une patte. Inutilisable	NA
Exemple 1 (invention)	Poudre homogène de couleur beige claire. Tamsable Figure 1	Facilement dispersible	Dispersion facile et totale dans l'eau sans besoin d'agiter

NA : Non applicable

Ces résultats montrent que seule la combinaison des constituants de la composition selon l'invention permet d'obtenir une poudre contenant un alcool aromatique, stable, homogène et facilement dispersible.

5 Test *in vitro* de l'activité antimicrobienne de la composition selon l'invention

En vue d'évaluer l'efficacité de la composition selon l'invention (Exemple 1). Elle a été testée *in vitro* sur plusieurs souches de bactéries, levures et moisissures causant des maladies et des dégâts chez les plantes.

Les 15 souches testées dans cette étude ont été isolées, purifiées et identifiées. 11 souches d'origine fongiques dont 5 du genre *Fusarium*, une du genre *Penicillium*, une du genre *Geotrichum*, une du genre *Alternaria*, une du genre *Sclerotonia* et la dernière du genre *Helminthosporium*. Deux souches d'origine levuriennes, une du genre *Candida* et l'autre du genre *Saccharomyces*. Les deux souches qui restent sont d'origine bactérienne.

Les milieux de culture utilisés sont :

- Sabouraud dextrose agar et bouillon (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antifongique des souches fongiques.
- Mueller Hinton agar et bouillon (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des souches bactériennes.

5 Le test de l'activité antifongique de la composition selon l'invention a été effectué comme suit :

- Les milieux de culture ont été préparés selon les instructions du fournisseur, différentes concentrations de la composition ont été utilisées en vue de déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice) en milieu gélosé et en milieu liquide, la CMF (concentration minimale fongicide) en milieu liquide en utilisant la technique de macrodilution.
- En milieu gélosé : Dans des flacons contenant 60 ml du milieu approprié, stérilisé à l'autoclave pendant 20 mn à 121°C et refroidi à 45°C, différentes quantités de la composition de l'exemple 1 sont ajoutées, permettant d'obtenir les concentrations finales suivantes : (0,41 ; 0,82 ; 1,65 ; 3,33 ; 6,67 ; 13,34 ; 26,68 et 53,36 g/l). Des témoins négatifs contenant le milieu seul sont également préparés, les flacons sont ensuite coulés dans des boîtes de Pétri (90 × 16 mm) et laissés refroidir à 4°C pendant 24h, puis inoculées d'un volume de 10µl d'une suspension mère de 10⁶ spores/ml de la moisissure appropriée. Après diffusion de la goutte déposée, les boîtes sont incubées à 27°C pendant 5 jours, L'essai est réalisé en triplicate et répété trois fois.
- En milieu liquide : Le bouillon de culture Sabouraud stérilisé à l'autoclave pendant 20min à 121°C et refroidi à température ambiante a été distribué dans des tubes à essais stériles. Ensuite, des concentrations croissantes de la composition selon l'invention de : (0,41 ; 0,82 ; 1,65 ; 3,33 ; 6,67 ; 13,34 ; 26,68 et 53,36 g/l) ont été testées. Tous les tubes ont été inoculés avec 20µl de la suspension mère de spores (10⁶ spores/ml). La concentration finale dans chaque tube est calculée pour un volume final de 5ml. Les tubes sont ainsi incubés à 27°C avec une agitation de 130 tours/min pendant 5 jours.
- Détermination de la CMF (Comparative Mortalité Figure) : A partir des puits où il n'y a pas eu de croissance positive visible, une fraction de 20 µl est aseptiquement prélevée et transférée dans des tubes Eppendorf contenant 1 ml du bouillon Sabouraud. Ainsi, le risque de transporter l'effet inhibiteur de la composition est

éliminé par une dilution de 50 fois. La CMF de chaque composition est définie comme étant la plus faible concentration de la composition pour laquelle il y a absence totale de toute croissance fongique en comparaison avec le témoin.

Le test de l'activité antibactérienne de la composition selon l'invention a été effectué en suivant la même démarche que celle réalisée dans le test de l'activité antifongique sauf que le milieu de culture utilisé pour ce test est Mueller Hinton (agar et bouillon), l'inoculum de bactéries inoculé est de l'ordre de 10^7 bactéries/ml et la température d'incubation est de l'ordre de 37°C.

Les valeurs de CMI et de CMF obtenues avec la composition selon l'invention sont résumées dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Valeurs de CMI et CMF de la composition selon l'invention pour les espèces fongiques

	Composition Exemple 1	
	CMI (g/l)	CMF (g/l)
<i>Fusarium oxysporum sp dianthi</i>	1,65	3,33
<i>Fusarium oxysporum sp albedinis</i>	0,82	1,65
<i>Fusarium oxysporum sp gladioli</i>	1,65	3,33
<i>Fusarium oxysporum sp cubense</i>	1,65	3,33
<i>Fusarium nival</i>	0,82	1,65
<i>Penicillium digitatum</i>	1,65	3,33
<i>Geotrichum candidum</i>	0,82	1,65
<i>Alternaria alternata</i>	1,65	—
<i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	1,65	3,33
<i>Helminthosporium</i>	1,65	3,33
<i>Cladosporium</i>	3,33	—
<i>Candida albicans</i>	1,65	3,33
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1,65	3,33

Selon ces résultats, la composition s'est avérée très efficace contre les espèces fongiques utilisées dans ce test.

En outre, les valeurs de CMI et CMB obtenues avec la composition de l'exemple 1 dans le test de l'activité antifongique sur les espèces bactériennes sont présentées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Valeurs de CMI et CMB de la composition selon l'invention pour les espèces bactériennes

	Composition selon l'invention	
	CMI (g/l)	CMB (g/l)
<i>Escherichia coli</i>	1,65	3,33
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,65	3,33

- 5 Ces résultats montrent une activité antibactérienne très importante de la composition selon l'invention.

Test de l'activité anti-insecte de la composition selon l'invention

En vue d'évaluer l'efficacité de la composition selon l'invention de l'exemple 1, elle a été testée *in vitro* ou *in vivo* sur plusieurs insectes, parasites et nématodes.

- 10 Les adultes de l'espèce *Macrosiphum rosae* (puceron du rosier) ont été prélevés à l'aide d'un pinceau fin et mis en contact avec différentes doses de la composition selon l'invention. Dans des boîtes de pétri, nous déposons un disque de papier absorbant imbibé avec des solutions contenant des doses croissantes de la composition selon l'invention (1,67 ; 3,33 ; 6,67 et 13,34 g/l). Des boîtes de pétri ont servi de témoins contenant de l'eau normale. 20 adultes ont été
- 15 mis dans chaque boîte, l'expérience a été établie en triplicate.

- De même, l'efficacité *in vivo* de la composition selon l'invention (exemple 1) a été testée sur l'espèce *Rhizoglyphus callae* (acarier du sol) dans leur milieu habituel qui est le sol. Pour ce faire, des pots de fleurs (freesia) contenant du sol naturellement infesté par ces animalcules (ramené d'une ferme de production de fleurs coupées) ont été irrigués avec des solutions
- 20 contenant des doses croissantes de la composition selon l'invention (1,67 ; 3,33 ; 6,67 et 13,34 g/l). Des pots servant de témoins ont reçu uniquement de l'eau comme solution d'irrigation, l'expérience a été répétée trois fois.

Après quelques heures de contact avec la solution d'irrigation, quelques grammes de sol de chaque pot ont été prélevés et mis en suspension dans de l'eau, une observation et un comptage sous la loupe binoculaire ont été effectués en vue de déterminer le pourcentage de mortalité pour chaque dose utilisée dans ce test.

- 5 De plus, la composition selon l'invention a été également testée *in vitro* sur les nématodes et plus précisément l'espèce *Heterodera spp* à partir d'un sol infecté (préalablement traité avec différentes concentrations de la composition de l'exemple 1). La méthode utilisée est celle de Baerrman. C'est une méthode qui consiste à séparer les nématodes des particules du sol en fonction de leurs tailles et de leurs poids selon les étapes suivantes :

- 10 - Prendre une aliquote de sol de 100 g, puis, la faire passer à travers un tamis, dont les mailles sont de 2 mm de diamètre, sous un courant d'eau, afin d'éliminer toutes les particules de grande taille (gravier).

- Récupérer la suspension dans un bocal, ensuite, remuer pour homogénéiser le contenu (solution boueuse), décantier pendant quelques minutes, puis verser la suspension
15 contenant les nématodes sur un tamis.

- Récupérer dans un bécher de 50 ml la suspension contenant les nématodes et faire passer le contenu dans un entonnoir, sur lequel est déposé un papier filtre. Après 24 h, collecter les nématodes dans un volume de 10 ml de suspension puis compter sous la loupe binoculaire.

- 20 - Les nématodes ainsi comptés sont mis en contact avec différentes doses de la composition selon l'invention.

Les dilutions utilisées sont :

1,67 g de la composition dans 1 l d'eau

3,33 g de la composition dans 1 l d'eau

- 25 6,67 g de la composition dans 1 l d'eau

13,34 g de la composition dans 1 l d'eau

Le mode d'application par aspersion

Le pourcentage de mortalité des insectes utilisés dans ce test a été calculé selon la formule suivante :

30
$$M(\%) = \frac{Nt - Nm}{Dt} \times 100$$

Où Nt et Nm représentent respectivement, le nombre d'insectes total et le nombre d'insectes morts.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Pourcentage de mortalité de quelques insectes en contact avec la composition selon l'invention

	Pourcentage de mortalité en %				
	0 g/l	1,67 g/l	3,33 g/l	6,67 g/l	13,34 g/l
<i>Macrosiphum rosae</i> (puceron du rosier)	0 ± 0,0	35 ± 3,3	70 ± 3,3	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<i>Rhizoglyphus callae</i> (acarien du sol)	0 ± 0,0	56,6 ± 5,5	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
<i>Heterodera spp</i> (nématode)	0 ± 0,0	43,3 ± 4,4	73,3 ± 4,4	100 ± 0,0	100 ± 0,0

Ces résultats montrent clairement que la composition selon l'invention génère un effet insecticide très puissant. La dose de 6,67 g/l s'est avérée mortelle pour les pucerons et les nématodes tandis que la dose 3,33 g/l est efficace contre les acariens du sol et ce après quelques heures de contact seulement.

Test *in vivo* de l'activité antifongique de la composition selon l'invention

La composition selon l'invention (exemple 1) a été testée *in vivo* sur la fusariose vasculaire des œillets causée par *Fusarium oxysporum sp dianthi*. Huit plantules par lot de la variété Martina ont été utilisées dans ce test.

Les spores de fusarium (10^6 spores/ml) ont été inoculés dans le sable siliceux près des racines de chaque plante.

Cinq lots ont été établis :

15 PNINT : Plantes non infectées non traitées.

PINT : Plantes infectées non traitées.

PIT 3,33 g/l : Plantes infectées traitées avec 3,3 g/l de la composition selon l'invention.

PIT 6,67 g/l : Plantes infectées traitées avec 6,67 g/l de la composition selon l'invention.

PIT 13,34 g/l : Plantes infectées traitées avec 13,34 g/l de la composition selon l'invention.

20 Pour évaluer l'efficacité de la composition, les mesures de plusieurs caractères agromorphologiques ont été comparées, notamment le nombre de pousses, la distance entre

nœuds, le nombre de nœuds, la longueur de la tige, le diamètre de la tige et le nombre de boutons floraux.

Les dilutions utilisées sont :

3,33 g de la composition dans 1 l d'eau.

5 6,67 g de la composition dans 1 l d'eau.

13,34 g de la composition dans 1 l d'eau

Le mode d'application est une application par irrigation.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Effet de la composition selon l'invention sur la croissance des œillets infectés par la fusariose.

Martina	P I N T	P I T 3,33 g/l	P I T 6,67 g/l	P I T 13,34 g/l	P N I N T
Nombre de pousses	3,12 ± 0,43	3,62 ± 0,46	3,4 ± 0,48	—	3,87 ± 0,46
Distance entre les nœuds	4,12 ± 0,40	5,18 ± 0,40	5,1 ± 0,16	—	3,75 ± 0,43
Nombre de nœuds	10,12 ± 1,12	14 ± 1	14,4 ± 0,48	—	13,87 ± 1,15
Longueur de la tige	58,5 ± 5	80 ± 5	74,6 ± 2,88	—	66,3 ± 3,9
Diamètre de la tige	5,42 ± 0,25	8,22 ± 0,5	7,34 ± 0,64	—	6,09 ± 0,57
Nombre de boutons floraux	0 ± 0,00	9,75 ± 1,3	8,6 ± 1,76	—	4,12 ± 2,84

Ces résultats montrent clairement que les plantes infectées et traitées par la composition selon l'invention se portent mieux que les plantes non infectées, la dose qui a donné les meilleurs résultats en termes de caractères agromorphologiques est 3,3 g/l.

Par ailleurs la dose 13, 34 g/l s'est avérée trop élevée pour les œillets, puisqu'elle a généré un effet phytotoxique sur la partie aérienne et même sur le système racinaire de la plante.

L'importance de ces résultats vient du fait que la charge fongique du sol est un facteur déterminant pour la santé de la plante, en effet plus cette charge est élevée plus la plante est

stressée par les bactéries et les champignons qui entrent en compétition avec la plante sur les nutriments essentiels pour sa croissance.

L'utilisation de la composition dans l'eau d'irrigation permet donc de diminuer la charge fongique du sol. Ceci se répercutera positivement sur la santé et le bien-être de la jeune plante

5 qui se développera.

Effet stimulateur de la croissance de la composition selon l'invention

L'effet stimulateur de la croissance de la composition selon l'invention (exemple 1) a également été testé sur des plantules d'œillets de la variété West diamond.

Pour ce faire cinq lots ont été établis :

10 PNT : Plantes non traitées.

PT 1 g/l : Plantes traitées avec 1 g/l de la composition selon l'invention.

PT 1,65 g/l : Plantes traitées avec 1,65 g/l de la composition selon l'invention.

PT 3,33 g/l : Plantes traitées avec 3,33 g/l de la composition selon l'invention.

PT 6,67 g/l : traitées avec 6,67 g/l de la composition selon l'invention.

15 L'effet stimulateur de la composition selon l'invention (exemple 1) a été quantifié par une prise de mesures des caractères agromorphologiques (le nombre de pousses, la distance entre nœuds, le nombre de nœuds, la longueur de la tige, le diamètre de la tige et le nombre de boutons floraux) après trois mois de traitement à raison de trois applications par semaine en eau d'irrigation.

20 Les dilutions utilisées sont :

1 g de la composition dans 1 l d'eau.

1,67 g de la composition dans 1 l d'eau.

3,3 g de la composition dans 1 l d'eau.

6,67 g de la composition dans 1 l d'eau.

25 Le mode d'application est par irrigation.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Effet stimulateur de la croissance de la composition selon l'invention sur les plantules d'œillets

West diamond	P N T	P T 1 g/l	P T 1,65 g/l	P T 3,3 g/l	P T 6,67 g/l
Nombre de pousses	2,75 ± 0,56	3 ± 0,25	2,85 ± 0,77	3,25 ± 0,56	3,42 ± 0,48
Distance entre les nœuds	2,93 ± 0,34	3,68 ± 0,64	3,5 ± 0,57	3,5 ± 0,77	3,35 ± 0,59
Nombre de nœuds	12,75 ± 1,06	13 ± 1,25	13,28 ± 0,61	13,75 ± 0,81	13 ± 1,14
Longueur de la tige	49,25 ± 6,43	52,25 ± 4,25	51,57 ± 3,34	57 ± 2,75	53,85 ± 3,26
Diamètre de la tige	6,56 ± 0,19	7,00 ± 0,41	7,71 ± 0,33	7,83 ± 0,46	7,54 ± 0,26
Nombre de boutons floraux	1,75 ± 1,31	2,87 ± 1,65	2,42 ± 1,51	4,12 ± 1,40	2,85 ± 1,63

Ces résultats montrent un effet probant de la composition selon l'invention, la dose 3,3 g/l s'est avérée la plus efficace puisque les plantes ayant reçu cette dose en eau d'irrigation présentent des caractères agromorphologiques très performants par rapport aux plantes témoins.

Effet stimulateur de la rhizogenèse de la composition selon l'invention

L'effet stimulateur de la composition selon l'invention (exemple 1) a été testé sur des plantules de palmiers dattiers issues de la germination des noyaux de dattes de la variété Mejhoul. Des plantules au stade une feuille ont reçu différentes doses de la composition de l'exemple 1 selon l'invention (0 ; 1,65 ; 3,33 ; 6,67 g/l). Après 4 mois de traitement (à raison de 2 fois par semaine), les plantules ont été récoltées et le poids frais et sec de la partie racinaire de chaque plantule a été déterminé.

Les dilutions utilisées sont :

1,65 g de la composition dans 1 l d'eau

3,3 g de la composition dans 1 l d'eau

6,67 g de la composition dans 1 l d'eau

Le mode d'application est par irrigation.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Effet stimulateur de la rhizogenèse de la composition selon l'invention chez des plantules de palmier dattier

	Poids frais en g	Poids sec en g
P N T	$3,9 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,1$
P T 1,65 g/l	$5,0 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,2$
P T 3,3 g/l	$4,4 \pm 0,4$	$1,3 \pm 0,2$
P T 6,67 g/l	—	—

Ces résultats montrent l'effet stimulateur de la rhizogenèse de la composition selon l'invention chez des plantules de palmier dattier, les deux doses 1,65 et 3,33 g/l se sont avérées les plus efficaces avec une supériorité de la dose 1,65 g/l en comparant avec les plantules témoins qui n'ont reçu que de l'eau tout au long de l'expérience. Par ailleurs, la dose 6,67 g/l s'est révélée phytotoxique sur les cellules du système racinaire des jeunes plantules.

Effet de la composition selon l'invention sur la conservation post récolte des dattes

Afin de vérifier la faisabilité de l'utilisation de la composition selon l'invention sur la conservation post récolte des dattes, un essai a été effectué. Cet essai a consisté à tremper les dattes pendant 10 minutes dans des solutions contenant différentes concentrations de la composition de l'exemple 1 (0 ; 3,33 et 6,6 g/l). Ensuite les dattes ont été rincées avec de l'eau puis séchées avant d'être stockées dans des boîtes en plastique hermétiquement fermées.

En vue d'évaluer la charge bactérienne (FMAT) et la charge fongique des dattes traitées, un prélèvement par écouvillonnage de huit dattes de chaque boîte a été effectué. La surface de prélèvement est de 1 cm² par datte.

Les dilutions utilisées sont :

3,33 g de la composition dans 1 l d'eau

6,6 g de la composition dans 1 l d'eau

Le mode d'application est par trempage.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 9 et 10.

Tableau 9 : Charge bactérienne contenue dans les dattes traitées avec la composition selon l'invention et celles non traitées (ufc/cm²)

	Dattes non traitées	Dattes traitées 3,3 g/l	Dattes traitées 6,6 g/l
Premier jour	2,1 ± 0,9	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Après un mois	12,6 ± 1,3	1,8 ± 1,1	0,0 ± 0,0
Après trois mois	Tp	17,8 ± 2,6	4,6 ± 1,6
Après six mois	Tp	Tp	11,7 ± 1,2
Après neuf mois	Tp	Tp	Tp

Tp : Tapis non dénombrable

Tableau 10 : Charge fongique contenue dans les dattes traitées avec la composition selon l'invention et celles non traitées (ufc/cm²)

	Dattes non traitées	Dattes traitées 3,3 g/l	Dattes traitées 6,6 g/l
Premier jour	7 ± 1,75	1 ± 0,5	0,0 ± 0,0
Après un mois	18,5 ± 3,0	2,6 ± 0,8	0,0 ± 0,0
Après trois mois	Tp	24 ± 2,7	8,2 ± 1,5
Après six mois	Tp	Tp	20,3 ± 2,1
Après neuf mois	Tp	Tp	Tp

Tp : Tapis non dénombrable

Les tableaux 9 et 10 présentent respectivement les résultats de la charge bactérienne et la charge fongique contenue dans les dattes traitées et celles non traitées. La dose 6,67 g/l s'est révélée la plus efficace puisque les dattes trempées dans cette dose restent indemnes de bactéries et de champignons qui peuvent nuire à leur conservation pendant un mois et ce à température ambiante.

Effet de la composition selon l'invention sur la tenue en vase des fleurs coupées

La composition selon l'invention (exemple 1) a également été testée sur la tenue en vase des fleurs coupées et plus précisément des œillets. Pour ce faire les fleurs d'œillets ont été coupées et égalisées à 55 cm de longueur avant d'être mises à tremper dans des solutions

contenant deux concentrations de la composition selon l'invention (1,6 et 3,3 g/l) immédiatement après la récolte.

Les mesures prises en considération pour évaluer l'effet de la composition selon l'invention sont :

- 5 - Poids de la tige florale tous les 4 jours
- Pourcentage d'ouverture des boutons floraux

Les dilutions utilisées sont :

1,6 g de la composition dans 1 l d'eau

3,3 g de la composition dans 1 l d'eau

- 10 Le mode d'application est le suivant : mise en vase.

Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 11 et 12.

Tableau 11 : Effet de la composition selon l'invention sur le poids des tiges florales en vase

	Premier jour	Quatrième jour	Huitième jour	Douzième jour	Seizième jour
Eau	27,46 ± 1,4 g	31,36 ± 1,2 g	31,65 ± 1,36 g	30,16 ± 1,12 g	28,7 ± 1,42 g
Composition 1,6 g/l	28,26 ± 1,11 g	30,93 ± 0,75 g	31,35 ± 0,98 g	31,93 ± 1,09 g	32,56 ± 0,86 g
Composition 3,3 g/l	29,28 ± 1,02 g	32,45 ± 0,65 g	32,71 ± 0,92 g	34,11 ± 0,76 g	34,52 ± 1,21 g

Tableau 12 : Effet de la composition selon l'invention sur l'ouverture des boutons floraux

	Premier jour			Huitième jour			Seizième jour		
	F	O	% d'ouverture	F	O	% d'ouverture	F	O	% d'ouverture
Eau	24	0	0	19	5	21	18	6	25
Composition 1,6 g/l	21	0	0	13	8	38	12	9	43
Composition 3,3 g/l	25	0	0	18	7	28	15	10	40

Ces résultats montrent que la composition selon l'invention améliore la tenue en vase des fleurs coupées.

Test *in vitro* de l'activité antimicrobienne de la composition selon l'invention

L'efficacité de la composition selon l'invention (exemple 1) a été testée sur la charge microbienne (bactéries, levures et moisissures, parasites) d'une eau utilisée en abreuvement de la volaille. L'échantillon est transporté au laboratoire et conservé au frais pour le test *in vitro*.

Les milieux de culture utilisés sont :

- PCA (Plate Count Agar)(Biokar) pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des bactéries aérobies revivifiables.
- *Désoxycholate lactose agar* (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des coliformes totaux et fécaux.
- *Slanetz agar* pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des staphylocoques.
- TSC (Tryptone Sulfite Cycloserine Agar) (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antibactérienne des bactéries anaérobies.
- *Wilson-blair agar* (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antibactérienne de salmonelle.
- *Sabouraud Chloramphénicol agar* (Biokar) pour la culture et le test de l'activité antifongique des levures et moisissures.

Le test de l'activité antibactérienne de la composition selon l'invention a été effectué comme suit :

- Différentes concentrations de la composition de l'exemple 1 (1g/l ; 2g/l ; 4g/l) ont été additionnées à l'échantillon d'eau. Un témoin négatif contenant l'échantillon d'eau seul est également préparé.
- Les milieux de culture ont été préparés selon les instructions du fournisseur, stérilisés à l'autoclave pendant 15 mn à 121°C et refroidi à 45°C. Ils ont ensuite été coulés dans des boîtes de Pétri (90 × 16 mm) et laissés refroidir à 4°C pendant 24h, puis inoculés d'un volume de 100 µl de l'échantillon d'eau. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries aérobies revivifiables, coliformes totaux, salmonelles, staphylocoques et les bactéries anaérobies. Pour les coliformes fécaux, les boîtes sont incubées à 44°C pendant 24h.

Le test de l'activité antifongique de la composition selon l'invention a été effectué en suivant le même protocole que celui réalisé dans le test de l'activité antibactérienne sauf que la température d'incubation est de l'ordre de 27°C et le temps d'incubation est de 3 à 5 jours.

- Concernant le test de l'activité antiparasitaire, un volume de 10µl d'échantillon d'eau a été placé entre une lamelle de verre et la cellule Malassez. Le nombre de cellules dans 10 rectangles a été ensuite compté.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Effet de la composition selon l'invention sur la réduction de la charge microbienne d'une eau de surface

	Témoin	1g/l	2g/l	4g/l
Aérobies revivifiables (UFC/ml)	$2,67 \pm 0,17 \cdot 10^5$	$1,8 \pm 0,37 \cdot 10^4$	$3,93 \pm 0,51 \cdot 10^3$	3 ± 1
Coliformes totaux (UFC/ml)	$1,15 \pm 0,1 \cdot 10^4$	$1,09 \pm 0,8 \cdot 10^4$	$2,05 \pm 0,43 \cdot 10^3$	0
Coliformes fécaux (UFC/ml)	$1,51 \pm 0,2 \cdot 10^3$	$5,26 \pm 1,92 \cdot 10^2$	$43,33 \pm 15,27$	$1,33 \pm 1,52$
Salmonelles (UFC/ml)	$1,13 \pm 0,35 \cdot 10^8$	$1,81 \pm 0,21 \cdot 10^5$	$1,2 \pm 0,4 \cdot 10^4$	0
Staphylocoques (UFC/ml)	$6,06 \pm 1,22 \cdot 10^2$	$5,86 \pm 0,7 \cdot 10^2$	40 ± 8	$3,66 \pm 1,52$
Bactéries anaérobies (UFC/ml)	$81 \pm 14,93$	$17,66 \pm 8,62$	$2,33 \pm 0,57$	0
Levures et moisissures (UFC/ml)	$3,06 \pm 0,59 \cdot 10^3$	$1,33 \pm 0,28 \cdot 10^2$	$56,66 \pm 11,5$	0
Parasites (cellules/ml)	$1,33 \pm 0,17 \cdot 10^4$	$1,79 \pm 0,18 \cdot 10^3$	$1,16 \pm 0,35 \cdot 10^3$	$5,23 \pm 2,01 \cdot 10^2$

- 10 Ces résultats montrent que le traitement de l'eau de surface par la composition provoque une baisse importante de la charge microbienne. Cette baisse augmente avec la concentration de la composition.

Test *in vivo* de l'activité antimicrobienne de la composition selon l'invention

La composition selon l'invention a également été testée *in vivo* sur des poussins. Douze poussins par lot ont été utilisés dans ce test. Pendant toute la période du test, la température de l'animalerie était ajustée à 28°C et les animaux avaient accès libre à l'eau et à l'aliment qui ont été disponibles en permanence.

L'eau utilisée dans ce test est l'eau de surface prélevée du réservoir de distribution d'eau d'abreuvement qui a été utilisé dans le test *in vitro*.

Les objectifs de ce test sont :

- Tester *in vivo* l'effet du traitement d'eau d'abreuvement par la composition de l'exemple 1 sur le comportement des animaux
- Comparer *in vivo* l'effet de la composition de l'exemple 1 sur une eau fraîche non stagnante et une eau stagnante

La répartition des lots est comme suit :

	Alimentation	Abreuvement	Nombre initial de poussins
ENS témoin	Aliment blanc	Eau non stagnante non traitée	12
ENS 1g/l	Aliment blanc	Eau non stagnante traitée 1g/l	12
ENS 2g/l	Aliment blanc	Eau non stagnante traitée 2g/l	12
ES témoin	Aliment blanc	Eau stagnante non traitée	12
ES 1g/l	Aliment blanc	Eau stagnante traitée 1g/l	12
ES 2g/l	Aliment blanc	Eau stagnante traitée 2g/l	12

ENS : Eau non stagnante

ES : Eau stagnante

Pour évaluer l'efficacité de la composition, les mesures de plusieurs caractères zootechniques durant les trois phases d'élevage suivants ont été comparés :

- Le poids vif moyen : chaque lot de poussins est pesé dès le premier jour. Ensuite, des pesées individuelles sont effectuées à la fin de chaque phase. Le poids vif moyen est déterminé

5 comme suit :

Poids vif moyen (g) = Poids de la totalité des poussins d'un lot / Nombre de poussins de ce lot

- Le gain du poids vif : les poussins de chaque lot ont été pesés à l'arrivée pour le calcul du poids moyen au démarrage. Par la suite, les pesées ont été effectuées à la fin de chaque phase d'élevage jusqu'à la fin de l'expérience. Le gain de poids est déterminé par la formule

10 suivante :

$$\text{Le gain de poids vif (g)} = P2 - P1$$

P2: poids moyen final d'une phase d'élevage

P1: poids moyen initial de cette phase d'élevage

- La consommation alimentaire : les différents aliments sont pesés et distribués
15 quotidiennement jusqu'au 35^{ème} jour. Le reste de d'aliment contenu dans les mangeoires est pesé quotidiennement pour chaque lot. Ainsi, les quantités d'aliment consommées par lot, ont été enregistrées à la fin de chaque phase d'élevage. La quantité moyenne d'aliment consommé a été déterminée par la formule suivante :

$$20 \quad \text{Consommation alimentaire (g)} = \frac{\text{Quantité d'aliment distribuée} - \text{Quantité d'aliment restante}}{\text{Nombre de poussins}}$$

- L'indice de consommation (IC) : correspond à la quantité d'aliment nécessaire pour produire 1 kilogramme de poids vif. L'IC est déterminé pour chaque phase par la formule suivante :

$$25 \quad \text{IC} = \frac{\text{Quantité d'aliment consommée pendant une phase}}{\text{Gain de poids moyen de cette phase}}$$

- Le taux de mortalité : la mortalité est notée quotidiennement. Le taux de mortalité est déterminé pour chaque lot durant une phase donnée par la formule suivante :

$$30 \quad \text{Taux de mortalité (\%)} = \frac{\text{Effectif des poussins morts au cours d'une phase} \times 100}{\text{Effectif total des poussins durant cette phase}}$$

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Effet de la composition selon l'invention sur Le poids vif moyen et le gain de poids moyen

	Poids vif moyen (g)				Gain de poids moyen (g)		
	J0	Démarrage (J1 -J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (j22-35)	Démarrage (J1 -J7)	Croissance (J7-J21)	Finition (j22-35)
ENS Témoin	37,16 ± 2,08	70,83 ± 8,83	214 ± 8,43	444 ± 23,66	33,67	143,17	230
ENS 1g/l	36,58 ± 3,84	80,41 ± 7,86	246,36 ± 32,33	680 ± 41,47	43,83	165,95	433,64
ENS 2g/l	36,83 ± 3,78	86,63 ± 16,6	317 ± 9,48	725 ± 27,98	49,8	230,37	408
ES Témoin	36,41 ± 2,67	65,2 ± 10,4	168 ± 40,24	366 ± 60,66	28,79	102,8	198
ES 1g/l	36,66 ± 2,8	84,75 ± 12,33	214,28 ± 7,86	560 ± 90,11	48,09	129,53	345,72
ES 2g/l	37,75 ± 2,95	75,09 ± 13	242 ± 24,85	631 ± 18,52	37,34	166,91	389

ENS : Eau non stagnante

ES : Eau stagnante

Tableau 15 : Effet de la composition selon l'invention sur la consommation alimentaire, l'indice de consommation et du taux de mortalité

	Consommation alimentaire (g)			Indice de consommation			Taux de mortalité (%)		
	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J8-J21)	Finition (J22-J40)	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J8-J21)	Finition (J22-J40)	Démarrage (J0-J7)	Croissance (J8-J21)	Finition (J22-J40)
ENS témoin	75	270	914	2,23	1,89	3,97	0/12 (0%)	2/12 (16,6%)	1/12(8,3%)
ENS 1g/l	61,66	245,45	931,8	1,41	1,48	2,14	0/12 (0%)	1/12 (8,3%)	0/12 (0%)
ENS 2g/l	69,09	270	990	1,39	1,17	2,42	1/12 (8,3%)	0/12(0%)	0/12(0%)
ES témoin	208	260	950	7,22	2,53	4,79	7/12 (58,33%)	0/12(0%)	0/12(0%)
ES 1g/l	81,25	375,71	1275	1,69	2,90	3,68	4/12 (33,33%)	5/12 (41,6%)	0/12(0%)
ES 2g/l	79,09	270	1030	2,12	1,62	2,64	1/12 (8,3%)	1/12 (8,3%)	0/12(0%)

ENS : Eau non stagnante

ES : Eau stagnante

Ces résultats montrent que les animaux traités par la composition selon l'invention se portent mieux que les animaux non traités, la dose qui a donné les meilleurs résultats en termes de caractères zootechniques est 2 g/l.

Effet de la composition selon l'invention sur la réduction de la charge intestinale des animaux (poussins poulet de chair)

L'effet de la composition selon l'invention (exemple 1) a été testé sur la réduction de la charge intestinale (bactéries aérobies revivifiables et la charge parasitaire) des poussins poulet de chair pendant 35jours. Tous les 7 jours, des échantillons de fientes des différents lots ont été prélevés et solubilisés dans l'eau physiologique (1g de fiente dans 9ml d'eau physiologique).

Des dilutions sont ensuite préparées à partir de la solution mère.

Le milieu de culture utilisé est :

- PCA (Plate Count Agar)(Biokar) pour la culture des bactéries aérobies revivifiables.
- Le milieu de culture a été préparé selon les instructions du fournisseur, stérilisé à l'autoclave pendant 15 mn à 121°C et refroidi à 45°C, puis coulé dans des boîtes de Pétri (90 × 16 mm) et laissé refroidir à 4°C pendant 24h, puis inoculé d'un volume de

100 µl de l'échantillon. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. L'essai est réalisé en triplicate.

Concernant la charge parasitaire, un volume de 10µl d'échantillon est placé entre une lamelle de verre et la cellule Malassez. On compte ensuite le nombre de cellules dans 10 rectangles.

5 Les résultats sont présentés dans les Tableaux 16 et 17.

Tableau 16 : Effet de la composition selon l'invention sur la réduction de la charge intestinale en bactéries aérobies revivifiables

	ENS Témoin	ENS 1g/l	ENS 2g/l	ES Témoin	ES 1g/l	ES 2g/l
J1	$23 \pm 2,8 \cdot 10^9$					
J7	$11 \pm 0,5 \cdot 10^{10}$	$25 \pm 5 \cdot 10^9$	$13 \pm 2,8 \cdot 10^9$	$15,6 \pm 1,04 \cdot 10^{10}$	$44,5 \pm 35,8 \cdot 10^9$	$38,3 \pm 18,9 \cdot 10^9$
J14	$13,5 \pm 2,7 \cdot 10^{10}$	$23,3 \pm 12,5 \cdot 10^9$	$8,3 \pm 10,4 \cdot 10^9$	$11,6 \pm 2,8 \cdot 10^{11}$	$6,1 \pm 0,2 \cdot 10^{10}$	$26,6 \pm 15,2 \cdot 10^9$
J21	$7 \pm 1,5 \cdot 10^{10}$	$6,6 \pm 5,7 \cdot 10^9$	$5 \pm 5 \cdot 10^9$	$11 \pm 1 \cdot 10^{10}$	$13,3 \pm 12,5 \cdot 10^9$	$11,6 \pm 2,8 \cdot 10^9$
J28	$8,5 \pm 2,6 \cdot 10^{10}$	$2 \pm 1,3 \cdot 10^{10}$	$8,3 \pm 5,7 \cdot 10^9$	$16,1 \pm 3,6 \cdot 10^{10}$	$9 \pm 2,5 \cdot 10^{10}$	$15 \pm 10 \cdot 10^9$
J35	$11,6 \pm 3 \cdot 10^{10}$	$25 \pm 5 \cdot 10^9$	$11,6 \pm 2,8 \cdot 10^9$	$14,1 \pm 2,8 \cdot 10^{10}$	$6,8 \pm 1,8 \cdot 10^{10}$	$25 \pm 10 \cdot 10^9$

Tableau 17 : Effet de la composition selon l'invention sur la réduction de la charge intestinale parasitaire

	ENS Témoin	ENS 1g/l	ENS 2g/l	ES Témoin	ES 1g/l	ES 2g/l
J1	$41,5 \pm 9,1 \cdot 10^{11}$					
J7	$2,2 \pm 2,2 \cdot 10^{13}$	$1,4 \pm 0,81 \cdot 10^{12}$	$1,7 \pm 0,6 \cdot 10^{11}$	$1,6 \pm 1,9 \cdot 10^{13}$	$2,1 \pm 0,8 \cdot 10^{13}$	$1,7 \pm 0,1 \cdot 10^{11}$
J14	$9,5 \pm 4,9 \cdot 10^{12}$	$7,9 \pm 4,1 \cdot 10^{12}$	$2,1 \pm 0,2 \cdot 10^{10}$	$1 \pm 0,4 \cdot 10^{13}$	$6,1 \pm 0,5 \cdot 10^{12}$	$7,5 \pm 0,4 \cdot 10^{11}$
J21	$1,3 \pm 0,5 \cdot 10^{13}$	$5,5 \pm 0,9 \cdot 10^{12}$	$3 \pm 1,5 \cdot 10^{10}$	$2,3 \pm 0,3 \cdot 10^{13}$	$1,7 \pm 0,2 \cdot 10^{13}$	$4,3 \pm 4,6 \cdot 10^{11}$
J28	$1,23 \pm 0,2 \cdot 10^{13}$	$6,05 \pm 3,3 \cdot 10^{12}$	$1,5 \pm 0,5 \cdot 10^9$	$1,6 \pm 0,2 \cdot 10^{13}$	$9,5 \pm 1,6 \cdot 10^{12}$	$7,2 \pm 3,6 \cdot 10^{10}$
J35	$10,2 \pm 0,4 \cdot 10^{12}$	$6,7 \pm 1,1 \cdot 10^{12}$	$1,3 \pm 0,7 \cdot 10^{10}$	$1,9 \pm 0,2 \cdot 10^{13}$	$15 \pm 0,5 \cdot 10^{12}$	$69 \pm 0,7 \cdot 10^{11}$

10 Les résultats obtenus montrent clairement que les animaux traités par la composition selon l'invention ont une charge intestinale moins élevée par rapport aux animaux non traités, la dose qui a donné les meilleurs résultats en termes de réduction de la charge intestinale est 2 g/l.

Etude comparative entre l'action antibactérienne de la composition selon l'invention et du glutaraldéhyde contre *E.coli* in vitro.

Dans des microplaques à 96 puits contenant chacun 130 µl du bouillon Mueller Hinton stérile (autoclavage 15 min à 110 °C), un volume variable de la solution mère de glutaraldéhyde [1/10 (100 mg/ml), 1/100 (10 mg/ml), 1/250 (4 mg/ml), 1/500 (2 mg/ml), 1/1000 (1 mg/ml), 1/2000 (0,5 mg/ml), 1/4000 (0,25 mg/ml), 1/8000 (0,125 mg/ml) et 1/16000 (0,062 mg/ml)] et de la composition selon l'invention de l'exemple 1 [1/10 (133,4 mg/ml), 1/100 (66,7 mg/ml), 1/250 (26,68 mg/ml), 1/500 (13,34 mg/ml), 1/1000 (6,67 mg/ml), 1/2000 (3,33 mg/ml), 1/4000 (1,66 mg/ml), 1/8000 (0,83 mg/ml) et 1/16000 (0,42 mg/ml)] a été ajouté afin d'obtenir les concentrations finales pour chaque désinfectant. Après on ajoute 20 µl de l'inoculum dans chaque puits. Des témoins positifs et négatifs ont été également préparés. Les plaques sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h. La croissance bactérienne a été suivie par la densité optique à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600 nm.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : comparaison entre l'action du glutaraldéhyde et de la composition selon l'invention contre *E.coli*.

Les concentrations	Glutaraldéhyde	Composition selon l'invention
1	0	0
1/10	0,13 ± 0,002	0
1/100	0,15 ± 0,002	0
1/250	0,17 ± 0,003	0,02 ± 0,0007
1/500	0,20 ± 0,002	0,09 ± 0,007
1/750	0,20 ± 0,002	0,11 ± 0,010
1/1000	0,22 ± 0,012	0,11 ± 0,006
1/2000	0,28 ± 0,035	0,25 ± 0,016
1/4000	0,34 ± 0,007	0,31 ± 0,008
1/8000	0,47 ± 0,034	0,45 ± 0,017
1/16000	0,50 ± 0,005	0,49 ± 0,008
Témoin positif	0,52 ± 0,017	0,52 ± 0,008
Témoin négatif	0	0

Ces résultats présentent l'effet du glutaraldéhyde et de la préparation des HE à différentes concentrations sur une suspension d'*E.coli* d'ordre 10⁸ UFC/ml. Ils montrent que la composition selon l'invention est plus efficace que le désinfectant (glutaraldéhyde). La concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 1/100 pour la composition selon l'invention,

alors que pour le glutaraldéhyde la CMI n'est obtenu qu'avec le désinfectant pur. On remarque une inhibition partielle plus importante pour les concentrations 1/250 à 1/1000 de la composition selon l'invention par rapport au glutaraldéhyde.

Activité antibactérienne du glutaraldéhyde et de la composition selon l'invention dans la désinfection du fibroscope.

Afin de comparer l'action antibactérienne de la composition selon l'invention et du glutaraldéhyde, les étapes suivantes ont été réalisées :

- Contamination artificielle : 6 ml de la suspension d'*E.coli* préalablement préparée sont introduits à l'aide d'une seringue dans l'orifice proximal du canal opérateur, et dans l'orifice proximal du canal d'aspiration (Dusseau et coll., 2001). Emballage du fibroscope et incubation pendant 20 minutes à 37°C.
- Rinçage intermédiaire avec l'eau distillé.
- Premier prélèvement (avant désinfection).
- Premier nettoyage.
- Rinçage par l'eau de robinet pendant 2 minutes.
- Deuxième nettoyage.
- Désinfection soit par glutaraldéhyde soit par la composition selon l'invention.
- Rinçage terminal.
- Deuxième prélèvement (après désinfection) effectué dans les mêmes conditions et en respectant les mêmes étapes que lors du premier prélèvement.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Action antibactérienne entre les deux produits testés.

Prélèvements Désinfectants	Glutaraldéhyde(1/10)	Composition selon l'invention (1/1000)	Composition selon l'invention (1/500)
Avant désinfection	Tapis	Tapis	Tapis
Après désinfection	Tapis	50 colonies	0 colonies

Les résultats obtenus ont décelé la présence d'un tapis bactérien avant la désinfection ; le même résultat a été obtenu après la désinfection par le glutaraldéhyde, alors qu'après la

désinfection par la composition selon l'invention, la charge bactérienne était seulement de 50 UFC/ml avec la concentration 1/1000 et nulle avec la concentration 1/500.

Par ailleurs, ces résultats montrent une diminution importante de la charge microbienne du fibroscope après la désinfection par la composition selon l'invention. Ceci démontre l'intérêt

5 d'utiliser la composition selon l'invention comme traitement alternatif au glutaraldéhyde.

Effet de la composition selon l'invention sur les fruits post-récolte

- traitement des clémentines (variété « Afourar ») Drencher et Cirage. Fruits infectés expérimentalement par injection de spores

Six lots de 10 fruits de la variété « Afourar » ont été traités avec différentes préparations :

10 Lot 1 : contient 10 fruits, lavés par une bouillie constituée par les fongicides chimiques (Imazalil à une dose de 500cc/hl et Orthophenylphénol à une dose de 750 ppm).

Lot 2 : contient 10 fruits, lavés par une bouillie constituée par la composition selon l'invention à une dose de 3kg par tonne d'eau.

15 Lot 3 : contient 10 fruits, cirés par un mélange de la cire et l'imazalil à une dose de 3000ppm, puis séchés à l'air chaud (50°C).

Lot 4 : contient 10 fruits, cirés par un mélange de cire et de la composition selon l'invention à une dose de 10kg par tonne, puis séchés (50°C).

20 Lot 5 : contient 10 fruits lavés par une bouillie constituée par les fongicides chimiques (Imazalil à une dose de 500cc/hl et Orthophenylphénol à une dose de 750 ppm), après leur séchage ces derniers ont été cirés par un mélange de cire et l'imazalil à une dose de 3000ppm, puis séchés (50°C).

Lot 6 : contient 10 fruits lavés par une bouillie constitué par la composition selon l'invention à une dose de 3kg par tonne d'eau, après leur séchage ces derniers ont été cirés par un mélange de la cire et la composition selon l'invention à une dose de 10kg par tonne, puis séchés (50°C).

25 ➤ Le lavage a été réalisé à l'aide d'une douchette qui permet de laver les fruits d'une façon comparable à celle du Drencher dans la station d'emballage.

➤ Le cirage a été appliqué par nébulisation d'une façon comparable à celle de système de cirage dans la station d'emballage.

24 heures après le traitement, chaque fruit des six lots, a été infecté par injection d'un volume
30 de 100 µl d'une suspension de spores de la souche *Penicillium digitatum* (10⁶ spores /ml), à l'aide d'une seringue équipée d'une aiguille très fine (30 gauges), inclinée de façon

tangentielle à la surface de l'albedo. Le point d'injection est marqué par un rond tracé au marqueur indélébile. Les fruits ont été ensuite incubés à une température de 20°C.

Un suivi quotidien des six lots a été effectué, et l'apparition ainsi que le développement de la pourriture au niveau des points d'injection a été noté pour les fruits de chaque lot.

- 5 Les résultats obtenus montrent que la pourriture commence à partir du troisième jour après l'infection chez le lot lavé avec les fongicides chimiques, alors que chez le lot lavé avec la composition selon l'invention la pourriture ne commence qu'après quatre jours. Les résultats montrent également que la pourriture chez le lot lavé avec les fongicides chimiques se développe d'une façon plus rapide avec un diamètre de $3.2 \text{ cm} \pm 0.7$ après 7 jours, par rapport
- 10 au lot lavé avec la composition selon l'invention où le diamètre de la pourriture atteint seulement $2 \text{ cm} \pm 0.6$ après 7 jours. Les résultats montrent aussi un retard de l'apparition des spores chez le lot traité avec la composition selon l'invention en comparaison avec le lot traité avec les fongicides chimiques.

- Pour les lots 3 et 4, la pourriture commence à partir du quatrième jour après l'infection chez
- 15 le lot traité avec le mélange de la cire plus la composition de l'invention et le lot traité avec le mélange de la cire plus l'imazalil. Cependant, un développement plus rapide de la pourriture a été noté chez le lot traité avec le mélange de la cire et l'imazalil ($2.55 \text{ cm} \pm 0.3$ de diamètre après 7j), par rapport au développement de la pourriture chez le lot traité avec le mélange de la cire et la composition selon l'invention ($1.66 \text{ cm} \pm 0.3$ de diamètre après 7j).

- 20 Pour les lots 5 et 6 : La pourriture chez le lot lavé et ciré avec la préparation de l'invention ($1.2 \text{ cm} \pm 0.4$ de diamètre après 7j) se développe d'une façon faible par rapport le lot lavé et ciré avec les fongicides chimiques ($2.07 \text{ cm} \pm 0.5$ de diamètre après 7j). Des résultats similaires ont été obtenus pour la variété « Maroc-late ».

- Donc la préparation de l'invention permet une protection meilleure que les fongicides
- 25 chimiques lorsqu'elle est utilisée pour le lavage et le cirage des fruits infectés expérimentalement avec un nombre extrême de spores localisés dans le point d'injection.

- ***Traitement des clémentines (variété « Afourar ») Drencher et Cirage. Fruits blessés expérimentalement non infectés***

Trois lots de 10 fruits de la variété « Afourar » ont été préparés :

- Lot 1 : 10 fruits lavés avec une bouillie constituée par les fongicides chimiques (Imazalil à une dose de 500cc/hl et Orthophénylphénol à une dose de 750 cc/hl), ensuite cirés avec un mélange de cire plus l'imazalil à une dose de 3000ppm, puis séchés à 50°C.
- Lot 2 : 10 fruits lavés avec une bouillie constituée par la composition selon l'invention à une dose de 3kg par tonne d'eau, ensuite cirés avec un mélange de cire plus la préparation de l'invention à une dose de 10kg par tonne, puis séchés à 50°C
- Lot 3 : 10 fruits lavés avec l'eau seule, ensuite cirés avec la cire seule, puis séchés à 50°C.

Deux trous (diamètre 1mm + profondeur 2mm) équidistants traversant le flavedo et l'albédo, et arrivant jusqu'à la pulpe, ont été effectués sur chaque fruit. Ensuite ces fruits ont été conservés dans des boîtes fermées hermétiquement et saturée en humidité. Les boîtes ont été incubées à une température de 27 C°.

Le pourcentage de la surface de fruits pourris au niveau des trous, a été noté pour les fruits de chaque lot.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Pourcentage de la surface pourrit sur les fruits traités par la composition de l'invention par rapport aux fruits traités avec l'imazalil et les fruits non traité :

Lots \ Jours	4 J	6 J	8 J	10 J	12 J	14 J	16 J
Lot 1 : Fruits lavé avec l'eau de robinet puis cirés avec la cire seul	12%	36%	50%	61.13%	73%	90%	100%
Lot 2 : Fruits lavés avec l'eau et l'imazalil puis cirés avec le mélange de la cire plus l'imazalil	0%	7%	11%	17%	29%	38%	44%
Lot 3 : Fruits lavé avec l'eau et la composition selon l'invention puis cirés avec le mélange de la cire et de la composition selon l'invention	0%	0%	0%	0%	2%	2%	6%

Les résultats montrent une réduction très significative dans le pourcentage de surface pourrie chez les fruits traités avec la préparation de l'invention par rapport aux fruits témoin traités

avec l'eau et la cire seule. Cette réduction est remarquable également par rapport aux fruits traités avec les fongicides chimiques.

Ces résultats montrent que la composition selon l'invention permet une conservation des fruits pendant 12 jours sans pourriture alors que pour le lot traité avec les fongicides chimiques, la pourriture est apparue au 6^{ème} jour. Pour le lot sans traitement, la pourriture est apparue au 4^{ème} jour.

- *Traitement par trempage de clémentines, directement sur le terrain dans une ferme d'agrumes*

Des essais terrains ont été effectués dans une ferme d'agrumes. Dans ces essais, un lot de quatre caisses de fruits de la variété « Afourar » trempés directement après leur cueillette dans l'eau contenant la préparation de l'invention à la dose de 1 kg par tonne, un autre lot de 4 caisses de fruits trempés directement après leur cueillette dans de l'eau seule. 30 fruits ont été prélevés à partir de chaque lot, et la charge fongique de chaque fruit a été évaluée en nombre de spores (Unités formant colonie) par centimètre carré de surface du fruit.

Les résultats obtenus montrent que la charge fongique des fruits trempés dans une solution avec la composition selon l'invention est de l'ordre de 10^5 spores par cm^2 , plus faible que la charge fongique des fruits trempés dans l'eau seule qui atteint 10^8 spores par cm^2 . Ces résultats montrent que les fruits trempés dans la préparation de l'invention arriveront à la station d'emballage avec une charge initiale plus réduite (1000 fois plus faible) par rapport à celle des fruits trempés dans l'eau seule.

- *Drencher et cirage sur des clémentines infectées, tests dans une station d'emballage*

Des essais terrain ont été effectués dans une station d'emballage d'agrumes. Dans ces essais, un lot de 6 tonnes de fruits de la variété « Afourar » a été lavé au niveau du drencher par une bouillie qui contient l'eau et la préparation de l'invention à une dose de 3 kg par tonne, ensuite à l'étape de cirage, ce même lot a été ciré avec un mélange de la cire et la préparation de l'invention à une dose de 5 kg par tonne. Un autre lot de 6 tonnes de fruit de la variété « Afourar » a été lavé au niveau de l'étape du drencher par une bouillie constituée par les fongicides chimiques (Imazalil à une dose de 500cc/hl et Orthophenylphénol à une dose de 750 cc/hl), ensuite ciré avec le mélange de la cire et l'imazalil à une dose de 3000ppm. 30 fruits

de chaque lot ont été prélevés après l'étape de drencher, et 30 fruits après l'étape de cirage afin d'évaluer leur charge fongique.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 21.

5 Tableau 21 : Charge fongique des fruits traité avec la composition selon l'invention ou avec les fongicides chimiques à l'étape de drencher et à l'étape de cirage. Charge exprimée en nombre de spores (UFC/cm²) par cm²

	Drencher	Cirage
Fruit traité avec la composition selon l'invention	$5 \cdot 10^3 \pm 1,2$	30 ± 4
Fruit traité avec l'imazalil	$7 \cdot 10^6 \pm 2,5$	$6 \cdot 10^3 \pm 0,96$

10 Les résultats obtenus montrent qu'il y a une différence significative dans la charge fongique des fruits traités avec la composition selon l'invention qui est mille fois plus faible que celle des fruits traités avec les fongicides chimiques après l'étape de drencher et après l'étape de cirage.

- **Suivi du taux de pourriture de clémentines dans une station d'emballage**

Des essais terrain ont été effectués dans une station d'emballage des agrumes. Dans ces essais, un premier lot de 6 tonnes (lot Imazalil) de fruits de la variété « Afourar » a été lavé avec une bouillie constituée par les fongicides chimiques (Imazalil à une dose de 500cc/hl et Orthophenylphénol à une dose de 750 cc/hl) à l'étape de drencher, et cirés avec un mélange de la cire et l'imazalil à une dose de 300ppm à l'étape de cirage. Un deuxième lot de 6 tonnes de fruits de la variété « Afourar » (lot composition) a été lavé avec une bouillie contenant l'eau et la composition selon l'invention à la dose de 3 kg par tonne, et ciré avec un mélange de la cire et de la composition selon l'invention à la dose de 5 kg par tonne. Après la mise en caisses, deux sous lots de 15 caisses ont été prélevés à partir de chaque lot et répartis comme suit :

- Sous lot a : 15 caisses du lot Imazalil, stockées à 8 °C .
- Sous lot b : 15 caisses du lot composition stockées à 8 °C.
- sous lot c : 15 caisses du lot Imazalil stockées à 25 °C.
- Sous lot d : 15 caisses du lot composition stockées à 25°C.

Les sous lots ont été contrôlés une fois par semaine pendant un mois. Un comptage des fruits pourris dans chaque lot permet de révéler l'évolution du taux de pourriture en fonction de la température de stockage et du traitement utilisé.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 22.

5 Tableau 22 : Pourcentage des fruits pourris en fonction du traitement utilisé dans deux conditions de stockage différent

	Semaine 1	Semaine 2	Semaine 3	Semaine 4
Sous Lot a Stokage à 8°C	2,63%	1 ,35%	2,16%	4,67%
Sous Lot b Stokage à 8°C	0,56%	0 ,50%	1 ,01%	2,82%
Sous Lot c Stokage à 25°C	7,78%	6,91%	9 ,68%	8 ,43%
Sous Lot d Stokage à 25°C	4,50%	4,65%	5,63%	5,63%

Les résultats obtenus montrent que le taux de pourriture chez les sous lots conservés à une température de 25°C est plus élevé en comparaison avec les sous lots conservés à une température de 4°C. Les résultats montrent aussi que les fruits traités avec la composition selon l'invention présentent un taux de pourriture entre 0,5% et 2,82% à une température de 4°C et entre 4,5% et 6,91% à 25°C, ce taux est plus faible par rapport au taux de pourriture chez les fruits traités avec les fongicides chimiques, qui varie entre 1,35% et 4,67% à une température de stockage de 4°C, et entre 4,62% et 9,68% à une température de 25°C.

- **Traitement de l'air ambiant dans une station d'emballage de clémentines**

15 Des essais ont été réalisés dans une station d'emballage des agrumes. Dans ces essais, l'air ambiant de différentes zones de la station a été traité par pulvérisation de la préparation de l'invention à une dose de 10 kg par tonne d'eau deux fois par jour ; entre 12 h et 13 h, et à 18h. Des prélèvements d'air (boîte de pétri avec milieu PDA ouverte pendant 5 minutes) ont été réalisés afin d'évaluer la charge fongique de l'air ambiant de chaque zone de la station avant et après traitement et ceci quatre fois par jour :

- à 07h30, avant le début de l'activité des ouvriers ; 13h après le traitement de la veille

- à 12h00, avant le premier traitement de l'air (12h30min) pendant la pause des ouvriers,
- à 13h30, une heure après le premier traitement
- à 18h00, avant le 2^{ème} traitement (18h30).

5 Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : nombre de colonies par boîte de pétri

	07h00	12h00	13h00	18h00
Air de la zone de conditionnement	06	32	04	08
Air de la zone de triage	10	20	09	16
Air du magasin	0	07	05	17

Les résultats montrent que la charge fongique de l'air des différentes zones était très basse, en début de la journée grâce au traitement de l'air avec la préparation de l'invention effectué à la fin de la journée précédente. Pendant la journée, cette charge augmente progressivement jusqu'à midi ou une pulvérisation de la préparation de l'invention provoque une diminution significative de cette charge. De l'après-midi jusqu'à la fin de la journée, une légère augmentation de la charge fongique de l'air ambiant de différentes zones a été notée, qui sera diminuée par une deuxième pulvérisation de la préparation de l'invention. Cette solution permet d'emballer les fruits sans risque de contamination par la microflore de l'air.

15 - ***Evaluation de l'effet de la composition selon l'invention en laboratoire***

Une souche de *penicillium digitatum*, une souche de *penicillium italicum*, et une souche de *géotrichum candidum*, ont été isolées à partir des oranges pourries, puis purifiées et identifiées, afin d'étudier la

20 Une goutte de 10 µl d'une suspension mère de 10⁶ spores /ml de chacune de 3 souches, à été cultivée à la surface des boîtes de pétri du milieu sabouraud au chloramphénicol contenant différentes concentrations de la composition selon l'invention. La vitesse de croissance des trois souches, est suivie quotidiennement en mesurant le diamètre des colonies.

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 24.

Tableau 24 : Evolution du diamètre des thalles des trois souches cultivées en présence de différentes concentrations de la composition selon l'invention

Concentration								
Souche		0g/l	0,75 g/l	1,25g/l	3g/l	6g/l	12g	24g
							/l	/l
	P_i	<u>3,33 cm ± 0,03</u>	<u>0,8 cm ± 0,1</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
	P_d	<u>3,5 cm ± 0,17</u>	<u>1 cm ± 0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
	G_c	<u>3,93 cm ± 0,03</u>	<u>0,66 cm ± 0,03</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>

Ces résultats montrent que la composition selon l'invention exerce une très forte inhibition partielle sur les trois souches étudiées à la concentration 0,75 g/l qui correspond à un traitement avec 0,75 kg par tonne de la composition. A partir de la concentration 1,25 on assiste à une inhibition totale sur les trois souches étudiées.

Ces résultats montrent clairement que la composition selon l'invention possède une très forte efficacité contre les principaux champignons responsables de la pourriture des agrumes en post-récolte.

10 - Evaluation de l'effet de la composition selon l'invention sur des tomates cerise en post-récolte

Deux lots de 120 tomates cerise de la variété *Angel D1A1* ont été traités avec deux préparations différentes:

- Lot 1: contenant 120 tomates lavées avec une bouillie contenant l'eau et la composition selon l'invention à une dose de 0.5g/l.
- Lot 2: contenant 120 tomates lavées avec une bouillie contenant le Chlore.

Après le lavage, chaque lot a été divisé en deux sous lots de 60 tomates cerise :

- Un sous-lot a : 60 tomates du lot 1, stocké à 25°C
- Un sous-lot b : 60 tomates de lot 2, stocké à 25°C
- Un sous-lot c : 60 tomates du lot 1, stocké à 8°C
- Un sous-lot d : 60 tomates du lot 1, stocké à 8°C

Les tomates de chaque sous-lot ont été suivies quotidiennement, et le pourcentage des tomates déshydratées a été noté.

Les résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Pourcentage des tomates cerise pourries dans le lot lavé avec la composition de l'invention, en comparaison avec le lot lavé avec le chlore, en fonction de conditions de stockage

	4j	6j	8j	10j	12j	14 j	16j
Sous-lot a Stocké à 25°C	5,27%	10,53%	21%	22%	33,40%	38,89%	44,44%
Sous-lot b Stocké à 25°C	9.55%	20.58%%	42.9%	47.9%	50%	57.15%	64.28%
Sous-lot c Stocké à 8°C	0%	5%	7,10%	11%	20.42%	26.23%	35.71%
Sous-lot Stocké à 8°C	2%	6.67%	10%	15%	30%	37.68%	50%

Les résultats obtenus montrent que le pourcentage des tomates déshydratées chez les sous-lots conservés à une température de 25°C est plus élevé en comparaison avec les sous lots conservés à une température de 8°C. Les résultats montrent aussi que le lot traité avec la composition selon l'invention présente un pourcentage de tomates déshydratées plus faible par rapport au taux de tomates déshydratées chez le lot traité avec le chlore.

Un autre test a été réalisé. Quatre lots de 20 tomates cerise de la variété *Angel D1A1* ont été traités avec trois préparations différentes :

- Lot 1: contenant 20 tomates cerise lavées la composition selon l'invention à une dose de 0.5g/l.
- Lot 2: contenant 20 tomates cerise lavées avec le Chlore.
- Lot 3: contenant 20 tomates cerise lavées avec l'eau seul (Témoin).

Après traitement, les tomates de chaque lot ont été blessées au niveau du pédoncule par une Seringue fine (22G x1 ¼”), et conservées a une température de 27°C.

Les tomates ont été suivies quotidiennement, et le pourcentage de tomates qui présentent une pourriture de pédoncule a été notée.

5 Les résultats sont présentés dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Pourcentage des tomates cerise qui présente une pourriture de pédoncule en fonction de traitement utilisé

	1j	2j	3j	4j	5j	6J
Tomates lavées avec l'eau seule	15%	20%	50%	60%	100%	100%
Tomates lavées avec le chlore	6%	15%	22%%	35%	47%	60%
Tomates lavées avec la composition selon l'invention	0%	9%	12,50%	12,50%	28,60%	40%

10 Les résultats montrent une réduction très significative dans le pourcentage de tomates pourries chez les fruits lavés avec la composition de l'invention par rapport aux fruits témoin lavés avec l'eau. Cette réduction est remarquable également par rapport aux fruits lavés avec le chlore.

REVENDEICATIONS

1. Composition sous forme solide, stable et dispersible dans l'eau, caractérisée en ce qu'elle comprend :

- au moins un alcool aromatique ou au moins un mélange contenant au moins un alcool aromatique,
- au moins un agent émulsifiant,
- au moins un agent texturant, et
- au moins un couple acide-base effervescent.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle se présente sous forme de poudre, pellets ou comprimés.

3. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que :

- le (ou les) alcool(s) aromatique(s) ou le (ou les) mélange(s) d'alcool(s) aromatique(s) représente(nt) entre 0,1 et 25% en poids de la composition,
- le (ou les) agent(s) émulsifiant représente(nt) entre 0,01 et 2% en poids de la composition,
- le (ou les) agent(s) texturant représente(nt) entre 5 et 12% en poids de la composition,
- le (ou les) couple(s)acide-base effervescent(s) représente(nt) entre 50 et 94,89% en poids de la composition.

4. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce qu'elle est constituée exclusivement par :

- au moins un alcool aromatique ou au moins un mélange contenant au moins un alcool aromatique,
- au moins un agent émulsifiant,
- au moins un agent texturant, et
- au moins un couple acide-base effervescent.

5. Composition selon la précédente revendication, caractérisée en ce que :

- le (ou les) alcool(s) aromatique(s) ou le (ou les) mélange(s) d'alcool(s) aromatique(s) représente(nt) entre 0,1 et 25% en poids de la composition,
- le (ou les) agent(s) émulsifiant représente(nt) entre 0,01 et 2% en poids de la composition,

- le (ou les) agent(s) texturant représente(nt) entre 5 et 12% en poids de la composition,
- le (ou les) couple(s) acide-base effervescent(s) représente(nt) entre 61 et 94,89% en poids de la composition.

5 6. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que dans un couple effervescent, l'acide du couple effervescent représente entre 20 et 25% en poids de la composition et la base du couple effervescent représente entre 60 et 74,89% en poids de la composition.

10 7. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) alcool(s) aromatique(s) est(sont) mono, di ou sesquiterpeniques.

8. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) alcool(s) aromatique(s) est(sont) choisi(s) parmi le thymol, le menthol, l'eugénol, la carvacrol et le cinnamaldéhyde.

15 9. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) alcool(s) aromatique(s) est(sont) un (des) alcool(s) aromatique(s) naturel(s) ou de synthèse.

10. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) agent(s) émulsifiant est (sont) choisi(s) parmi la lécithine de soja, la cellulose, la pectine et le glycérol.

20 11. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) agent(s) texturant est (sont) choisi(s) parmi la gomme de caroube, la gomme de guar et la gomme de casse.

12. Composition selon l'une des précédentes revendications, caractérisée en ce que le (ou les) couple(s) acide-base effervescent(s) est (sont) choisi(s) parmi les couples suivants :
 25 bicarbonate de Sodium-acide citrique, bicarbonate de Calcium-acide citrique, bicarbonate de Potassium-acide citrique, bicarbonate de Sodium-acide tartrique, bicarbonate de Calcium-acide tartrique, bicarbonate de Potassium-acide tartrique, bicarbonate de Sodium-acide maléique, bicarbonate de Sodium-acide maléique, bicarbonate de Potassium-acide maléique, bicarbonate de Sodium-acide ascorbique, bicarbonate de Calcium-acide ascorbique et
 30 bicarbonate de Potassium-acide ascorbique.

13. Utilisation d'une composition selon l'une des précédentes revendications comme produit phytosanitaire pour prévenir et/ou lutter contre les maladies des plantes causées par des champignons, des bactéries, des virus, des nématodes et/ou des ravageurs.

14. Utilisation selon la revendication 13, pour prévenir et/ou lutter contre les maladies des fruits, des légumes et/ou des fleurs en post récolte.

15. Utilisation selon l'une des revendications 13 ou 14, pour l'eau d'irrigation ou en aspersion foliaire.

16. Utilisation selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisée en ce que les maladies des plantes causées par des bactéries sont choisies parmi la pourriture molle causée par les espèces *Erwinia*, le chancre bactérien causé par les espèces *Pseudomonas* ou la galle du collet causée par les espèces *Agrobacterium*.

17. Utilisation selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisée en ce que les maladies des plantes causées par des champignons sont choisies parmi la fusariose causée par les espèces *Fusarium*, le mildiou causé par les espèces *Phytophthora*, l'oïdium causé par les espèces *Podosphaera* et *Oidium*, l'alternariose causée par les espèces *Alternaria*, la fumagine causée par les espèces *Alternaria* et *Cladosporium* ou la pourriture grise causée par les espèces *Botrytis*.

18. Utilisation selon l'une des revendications 13 à 15, caractérisée en ce que les ravageurs sont choisis parmi les pucerons, les moucheron, les acariens du sol ou les noctuelles.

19. Utilisation selon l'une des revendications 13 à 15, pour prévenir et/ou lutter contre la pourriture des agrumes causée par les espèces *Penicillium* et *Geotrichum*, ou pour prévenir et/ou lutter contre la détérioration fongique des dattes causée par les espèces *Aspergillus*.

20. Utilisation selon l'une des revendications 13 à 15, pour un traitement antifongique lors de l'enrobage des semences.

21. Utilisation selon la précédente revendication, dans laquelle les semences sont choisies parmi le blé, l'orge, les lentilles, les pois chiches et les fèves.

22. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, comme produit phytosanitaire pour augmenter la tenue en vase des fleurs coupées.

23. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, comme produit phytosanitaire pour nettoyer et éliminer les traces de pesticides et les microbes contenues dans les fruits et légumes.

24. Utilisation d'une composition selon la revendication 23, pour décontaminer les raisins, les abricots, les poivrons et les tomates avant le séchage.

25. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour stimuler la croissance des plantes.

5 26. Utilisation selon la revendication 25, pour stimuler la rhizogenèse chez les plantes.

27. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour décontaminer les supports de culture en agriculture hors sol et en sol et/ou aseptiser l'air ambiant.

10 28. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour nettoyer et prévenir la formation de calcaire.

29. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, dans les bâtiments d'élevage animal pour :

- Aseptiser l'air ambiant des bâtiments, et/ou
- Décontaminer l'eau d'abreuvement, et/ou
- 15 - Nettoyer les surfaces des bâtiments.

30. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour éliminer les biofilms et prévenir leur formation.

31. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, dans les bâtiments d'élevage animal pour prévenir et traiter la grippe aviaire.

20 32. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, comme bain de décontamination des carcasses d'animaux dans les abattoirs ou pour décontaminer des œufs de volaille avant de les placer dans des couveuses.

33. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, pour désinfecter des dispositifs médicaux réutilisables.

25 34. Utilisation d'une composition selon l'une des revendications 1 à 12, comme bain de douche désinfectant pour les dents et la gencive ou comme produit désinfectant pour les mains.



Figure 1



Figure 2

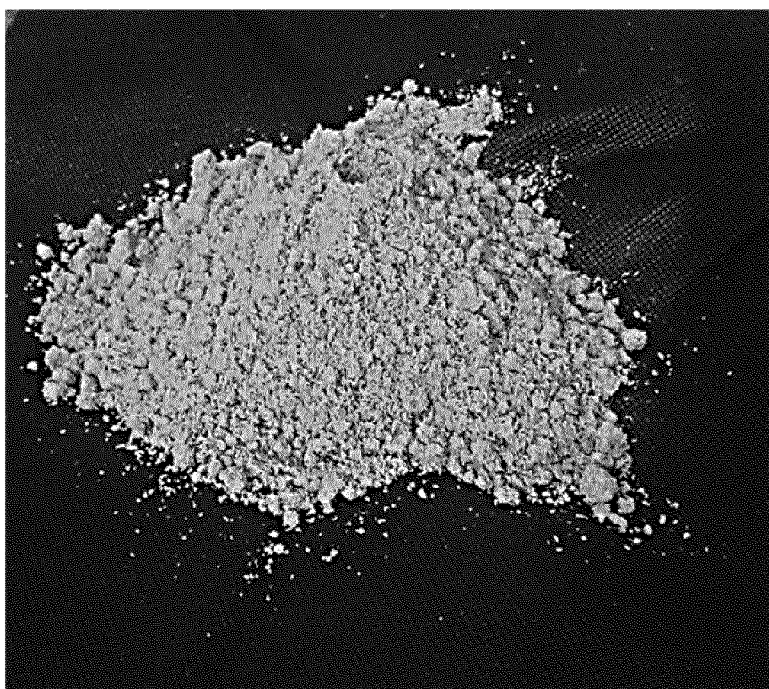


Figure 3



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 833887
FR 1670691

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	US 4 971 785 A (WILSON MARK E [US] ET AL) 20 novembre 1990 (1990-11-20) * colonne 4, ligne 38 - colonne 5, ligne 41 * * exemples 1-12 * -----	1-34	A01N31/00 A01N35/02 A01N37/00 A01N43/16 A01N57/10 A01N59/04
X	US 2003/170322 A1 (KAYANE SHIGETO [JP] ET AL) 11 septembre 2003 (2003-09-11) * exemple 4 * * revendications 1-10 * -----	1-34	A01P1/00 A01P3/00 A01P5/00 A01P7/00 A01P21/00
X	US 2014/213500 A1 (JABRANE ABDELHAMID [BE]) 31 juillet 2014 (2014-07-31) * revendications 1-21 * * alinéas [0050], [0062], [0070] * -----	1-34	A61L2/16 A61L9/01 A61L101/00 A61P31/12
X	CN 101 732 452 A (LIGUO LIU) 16 juin 2010 (2010-06-16) * abrégé * * exemples 1-9 * * revendications 1-7 * -----	1-34	
X	DATABASE WPI Week 201080 Thomson Scientific, London, GB; AN 2010-P34971 XP002772426, -& CN 101 862 344 A (BEIJING SHIJI BOKANG PHARM TECHNOLOGY CO) 20 octobre 2010 (2010-10-20) * abrégé * * page 4, alinéa 7 - page 5, alinéa 8 * ----- -/--	1-34	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) A01N A61K A61L C02F
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
24 juillet 2017		Marie, Gérald	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 833887
FR 1670691

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	DATABASE WPI Week 200458 Thomson Scientific, London, GB; AN 2004-600778 XP002772427, -& KR 2004 0037335 A (SUHEUNG CAPSULE CO LTD) 7 mai 2004 (2004-05-07) * abrégé * * revendications 1-5 * * exemples 1-6 *	1-34	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	WO 2009/052421 A1 (INNOZEN INC [US]; DUSSIA ELYSE [US]; THOMAS BENJAMIN [US]; DAVIDSON RO) 23 avril 2009 (2009-04-23) * revendications 1-17,32 * * exemples 1,2,10 * * alinéa [0104] *	1	
X	WO 2008/039972 A2 (QUAKER OATS COMPANY INC [US]; PARSONS MARCUS [US]; LEWIS KAREN [US]) 3 avril 2008 (2008-04-03) * revendications 1-26 *	1	
X	DATABASE WPI Week 201243 Thomson Scientific, London, GB; AN 2012-D66036 XP002772428, & CN 102 370 875 A (BEIJING ASIA EAST BIO PHARM CO LTD) 14 mars 2012 (2012-03-14) * abrégé *	1	
Date d'achèvement de la recherche 24 juillet 2017		Examineur Marie, Gérald	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 833887
FR 1670691

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	DATABASE WPI Week 201550 Thomson Scientific, London, GB; AN 2015-28969S XP002772429, & CN 104 434 691 A (UNIV ANHUI XINHUA) 25 mars 2015 (2015-03-25) * abrégé * -----	1	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	DATABASE WPI Week 201177 Thomson Scientific, London, GB; AN 2011-G96505 XP002772430, & KR 2011 0048141 A (CHOI K S) 11 mai 2011 (2011-05-11) * abrégé * -----	1	
X	DATABASE WPI Week 201063 Thomson Scientific, London, GB; AN 2010-K71710 XP002772431, & CN 101 780 203 A (LIU R) 21 juillet 2010 (2010-07-21) * abrégé * -----	1	
X	DATABASE WPI Week 201406 Thomson Scientific, London, GB; AN 2013-V63540 XP002772432, & CN 103 284 274 A (SICHUAN SAINTHOOD BIOTECH CO LTD) 11 septembre 2013 (2013-09-11) * abrégé * ----- -/--	1	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
24 juillet 2017		Marie, Géraud	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 833887
FR 1670691

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	WO 2005/053399 A1 (SBM DEV [FR]; AURIAT JEAN-PHILIPPE [FR]; PIGACHE AUDREY [FR]) 16 juin 2005 (2005-06-16) * revendications 1-13 *	1-34	
X	WO 01/74987 A1 (CONTI ANDREA [IT]) 11 octobre 2001 (2001-10-11) * revendications 1-11 *	1-34	
X	WO 2012/001668 A1 (PHARMAQ AS [NO]; MANSILLA MARCO ANTONIO MUNOZ [CL]; VASQUEZ CARLOS ART) 5 janvier 2012 (2012-01-05) * revendications 1-12 * * exemple 15 * * page 23, ligne 22 - page 24, ligne 24 *	1-34	
X	US 2003/104969 A1 (CASWELL DEBRA SUE [CN] ET AL) 5 juin 2003 (2003-06-05) * revendications 1,7,12,17-23,89-122 * * alinéas [0049], [0050], [0086], [0540], [0546], [0551] - [0565], [0604] - [0630], [0641] - [0646] *	1-34	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
X	US 2004/199028 A1 (HARPER D SCOTT [US] ET AL) 7 octobre 2004 (2004-10-07) * revendications 1,14,29,45-49 * * alinéas [0073] - [0076], [0098], [0114], [0115] *	1-34	
A	WO 2010/046238 A1 (UNILEVER NV [NL]; UNILEVER PLC [GB]; UNILEVER HINDUSTAN [IN]; CHAKRABO) 29 avril 2010 (2010-04-29) * pages 1-14 * * page 11, alinéa 2-4 *	1-34	
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
24 juillet 2017		Marie, Gérald	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1670691 FA 833887

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.
 Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **24-07-2017**
 Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4971785	A	20-11-1990	AT 106012 T	15-06-1994
			AU 635826 B2	01-04-1993
			CA 2031572 A1	01-10-1991
			DE 69009175 D1	30-06-1994
			DE 69009175 T2	10-11-1994
			EP 0448895 A1	02-10-1991
			JP H0517345 A	26-01-1993
			US 4971785 A	20-11-1990

US 2003170322	A1	11-09-2003	EP 1293131 A1	19-03-2003
			US 2003170322 A1	11-09-2003
			WO 0197627 A1	27-12-2001

US 2014213500	A1	31-07-2014	AUCUN	

CN 101732452	A	16-06-2010	AUCUN	

CN 101862344	A	20-10-2010	AUCUN	

KR 20040037335	A	07-05-2004	AUCUN	

WO 2009052421	A1	23-04-2009	CA 2702614 A1	23-04-2009
			EP 2214478 A1	11-08-2010
			WO 2009052421 A1	23-04-2009

WO 2008039972	A2	03-04-2008	CA 2664877 A1	03-04-2008
			EP 2068645 A2	17-06-2009
			US 2008081099 A1	03-04-2008
			US 2011111096 A1	12-05-2011
			WO 2008039972 A2	03-04-2008

CN 102370875	A	14-03-2012	AUCUN	

CN 104434691	A	25-03-2015	AUCUN	

KR 20110048141	A	11-05-2011	AUCUN	

CN 101780203	A	21-07-2010	AUCUN	

CN 103284274	A	11-09-2013	CN 103284274 A	11-09-2013
			WO 2014190852 A1	04-12-2014

WO 2005053399	A1	16-06-2005	EP 1684584 A1	02-08-2006
			FR 2862187 A1	20-05-2005
			WO 2005053399 A1	16-06-2005

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1670691 FA 833887**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **24-07-2017**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 0174987	A1	11-10-2001	AU 5253201 A	15-10-2001
			IT PI20000026 A1	04-10-2001
			WO 0174987 A1	11-10-2001

WO 2012001668	A1	05-01-2012	AUCUN	

US 2003104969	A1	05-06-2003	AU 6306301 A	20-11-2001
			CA 2405845 A1	15-11-2001
			CA 2707753 A1	15-11-2001
			EP 1297101 A2	02-04-2003
			JP 2004508426 A	18-03-2004
			US 2003104969 A1	05-06-2003
			US 2005026793 A1	03-02-2005
			US 2005176611 A1	11-08-2005
			US 2005202990 A1	15-09-2005
			US 2006123556 A1	15-06-2006
			US 2006123557 A1	15-06-2006
			US 2007111918 A1	17-05-2007
			US 2008009432 A1	10-01-2008
			US 2009062173 A1	05-03-2009
			US 2010035789 A1	11-02-2010
			US 2010115708 A1	13-05-2010
			WO 0185888 A2	15-11-2001

US 2004199028	A1	07-10-2004	US 2004199028 A1	07-10-2004
			US 2005277700 A1	15-12-2005

WO 2010046238	A1	29-04-2010	AR 073903 A1	09-12-2010
			AU 2009306592 A1	29-04-2010
			BR PI0914031 A2	17-05-2016
			CA 2739843 A1	29-04-2010
			CN 102186341 A	14-09-2011
			EA 201100656 A1	31-10-2011
			EP 2348838 A1	03-08-2011
			ES 2414158 T3	18-07-2013
			JP 5592891 B2	17-09-2014
			JP 2012505851 A	08-03-2012
			KR 20110081198 A	13-07-2011
			US 2011223114 A1	15-09-2011
			WO 2010046238 A1	29-04-2010
			ZA 201102078 B	27-06-2012

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82