

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTRE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU



ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵎⴰⵎⵔⴰⵏⵜ ⵏ ⵜⴰⵣⵣⵓⵔⴰ

FACULTÉ DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

DOMAINE : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

Etude de l'activité antibactérienne de l'extrait
aqueux d'*Eucalyptus globulus*

Réaliser par :

M^{elle} YACINE Safia

M^{elle} SAIDI Loubna

M^{elle} YERMECHE Zehor

Soutenu le 12/06/2025 devant les jurys composé de :

Mme BERROUANE N.

Maître Assistante A

Présidente

UMMTO

Mme YAKOUBI S.

Maître Assistante A

Examinatrice

UMMTO

Mr MOUALEK I.

Maître de Conférences A

Encadrant

UMMTO

Année universitaire : 2024/2025

Remerciements

Nous exprimons avant toute chose notre profonde gratitude envers Dieu Tout-Puissant, qui nous a accordé la force et la patience nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Nos sincères remerciements vont en premier lieu à notre promoteur, **M. MOUALEK I**, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, pour sa confiance, ses précieux conseils, son encadrement rigoureux, sa bienveillance et son soutien constant tout au long de ce projet.*

Nous tenons également à remercier chaleureusement les ingénieurs de laboratoire du Département de Biochimie et de Microbiologie de l'UMMTO pour leur accueil, leur disponibilité et les moyens techniques mis à notre disposition durant la réalisation de ce travail.

*Nos pensées reconnaissantes s'adressent également à **Mme S.YAKOUBI** pour avoir accepté d'examiner ce travail et **Mme N.BERROUANE** pour avoir accepté de présider le jury de soutenance de ce mémoire*

Enfin, nous adressons notre gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont participé à l'élaboration de ce mémoire.

Dédicaces

Grâce à Allah, le Tout-Puissant, qui m'a accordé les moyens, la force et la patience, j'ai pu surmonter chaque épreuve et parvenir à ce jour. Alhamdulillah, pour toujours, Je dédie ce travail :

À moi-même, à la jeune fille que j'étais, celle qui doutait de ses capacités et qui ne croyait pas pouvoir y arriver. Aujourd'hui, je suis fière de toi.

À mes chers parents, qui ont toujours cru en moi, qui se sont sacrifiés sans compter malgré les difficultés de la vie. Merci pour votre amour inconditionnel, votre confiance, vos précieux conseils, vos prières et votre soutien tout au long de mon parcours. Vous êtes la lumière qui guide mes pas sur le chemin de la réussite. Je vous aime infiniment. J'espère vous avoir rendus fiers et continuerai à le faire.

À mes chères grands-mères maternelles et paternelles, pour votre générosité, vos prières, votre bonté et votre tendresse. Puisse Dieu vous préserver en bonne santé et vous accorder une longue vie.

À mes petites sœurs, Hanane et Imane, ainsi qu'à mes frères, Saïd et Ismaïl : merci d'être toujours à mes côtés et de partager chaque instant de ma vie. Que Dieu vous protège et vous guide vers la réussite. Je vous aime.

À mon fiancé, Nouredine, pour m'avoir encouragée tout au long de mes études, pour sa confiance en moi et son soutien indéfectible.

À mes chères amies, Lydia et Narimane, Kenza et Liza, avec qui j'ai vécu des moments inoubliables.

À mon trinômes Safia et Zhor, avec qui j'ai surmonté toutes les difficultés rencontrées durant ce parcours pour arriver à ce jour.

À tous mes collègues, Imane, Baya, Dahbia

Loubna

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*À ma mère, qui m'a donné la vie et m'a soutenu tout au long de mon parcours.
Votre amour, votre patience et vos sacrifices m'ont permis de réaliser mes rêves.
Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*À la mémoire de mon père, qui m'a appris à persévérer et à poursuivre mes rêves.
Je vous porte dans mon cœur et je suis reconnaissant pour les moments
que nous avons partagés ensemble.*

*À mon mari, qui a été mon roc et mon soutien indéfectible. Merci pour ton
amour, ta compréhension et ton encouragement.*

*À mes enfants, Wissam et Mohamed, qui sont la lumière de ma vie. Vous êtes la
raison pour laquelle je me bats pour un avenir meilleur.*

*À mes frères et sœurs, qui ont toujours été là pour moi. Merci pour votre amour
et votre soutien.*

*Je dédie ce mémoire à vous tous, avec tout mon amour et ma gratitude. Je l'ai
fait pour vous, et j'espère qu'il sera un jour un motif de fierté pour notre famille.*

Zehor

Dédicaces

Avec la Grâce de Dieu Tout-Puissant, guide suprême et source de toute sagesse, qui a illuminé mon chemin et m'a permis de mener à bien ce travail, je dédie ce mémoire :

À mes chers parents, lumière de mes yeux, soutiens inébranlables et cœur de ma vie. Votre amour, vos sacrifices et votre présence constante ont été mon refuge et ma force tout au long de ce parcours. Merci pour votre confiance, vos prières et cet amour sans faille qui m'ont donné le courage de persévérer. Vos conseils avisés, vos encouragements et votre foi en moi ont forgé ma résilience et m'ont appris à croire en mes rêves.

À mes précieuses sœurs et frères, Ouardia, Amar et Chabane, ainsi qu'à toute ma famille, pour votre affection et votre soutien

À la mémoire de ma grand-mère paternelle, qui m'a appris la persévérance et à poursuivre mes rêves. Je vous porte dans mon cœur et reste éternellement reconnaissante pour les moments inestimables que nous avons partagés.

À ma belle-famille mon fiancé Anis, compagnon de route précieux, dont la patience, les encouragements et l'amour ont été une source d'inspiration tout au long de ce master.

À mon trinômes Loubna et Zhor, avec qui j'ai surmonté toutes les difficultés rencontrées durant ce parcours pour arriver à ce jour.

À tous mes collègues, Imane, Baya, Dahbia

Cette réalisation est autant la vôtre que la mienne. Que ces mots témoignent de ma profonde gratitude envers chacun d'entre vous.

Safia

Résumé

Cette étude évalue l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, récoltées à Timizart (Tizi-Ouzou) et extraites par macération. Les résultats montrent une inhibition significative de *Staphylococcus aureus* ($19,2 \pm 1,8$ mm) et *Bacillus cereus* ($17,6 \pm 1,7$ mm), une sensibilité modérée de *Pseudomonas aeruginosa* ($9,5 \pm 1,1$ mm), et aucune activité contre *Escherichia coli*. L'extrait, riche en polyphénols (170 ± 8 mg EAG/g ES), confirme son potentiel contre les bactéries Gram positif et suggère une alternative naturelle aux antibiotiques. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour identifier les molécules actives.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, extrait aqueux, activité antibactérienne, polyphénols totaux, feuilles

Summary

This study evaluates the antibacterial activity of the aqueous extract of *Eucalyptus globulus* leaves, harvested in Timizart (Tizi-Ouzou) and extracted by maceration. The results show a significant inhibition of *Staphylococcus aureus* (19.2 ± 1.8 mm) and *Bacillus cereus* (17.6 ± 1.7 mm), a moderate sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* (9.5 ± 1.1 mm), and no activity against *Escherichia coli*. The extract, rich in polyphenols (170 ± 8 mg GAE/g DE), confirms its potential against Gram-positive bacteria and suggests a natural alternative to antibiotics. Further research is needed to identify the active compound.

Keywords: *Eucalyptus globulus*, aqueous extract, antibacterial activity, total polyphenols, leaves

المخلص

تهدف هذه الدراسة الى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص المائي لاوراق الكاليتوس التي تم جمعها من تيميزار *Staphylococcus aureus* (19.2 ± 1.8 mm) (تيزي وزو) و تم استخلاصها بطريقة النقع أظهرت النتائج تثبيطا ملحوظا ل *Pseudomonas aeruginosa* (9.5 ± 1.1 mm) و حساسية متوسطة ل *Bacillus cereus* (17.6 ± 1.7 mm) و *Escherichia coli* و عدم وجود أي نشاط ل (170 ± 8) المستخلص غني بالبوليفينولات الكاليتوس ضد البكتيريا موجبة الغرام و يقترح كبديل طبيعي للمضادات الحيوية و هناك حاجة الى مزيد من الأبحاث لتحديد الجزيئات النشطة.

الكلمات المفتاحية

الكاليتوس البوليفينولات المستخلص المائي المضاد البكتيريا الأوراق

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Introduction	1
1. Synthèse bibliographique	4
1.1. plantes médicinales	4
1.2. <i>Eucalyptus globulus</i>	4
1.3. Classification phylogénétique	4
1.4. Répartition Géographique	5
1.5. Description botanique	6
1.6.1. Usage externe	7
1.6.2. Usage interne	8
1.7. Composition	8
1.8. Métabolites secondaires	9
1.8.1. Classification	9
1.9. Activités biologiques	15
1.9.1. Activité antibactérienne	15
1.9.2. Activité anti-oxydante	17
1.9.3. Activités anti-inflammatoire	18
1.9.4. Activité anti-tumorale	18
2. Matériel et méthodes	21
2.1. Matériel	21
2.1.1. Matériel végétal	21
2.1.2. Souches bactériennes	21
2.2. Méthodes	21
2.2.1. Préparation de l'extrait	21
2.2.2. Dosage des polyphénols totaux	22
2.2.3. Étude de l'activité antibactérienne	24
3. Résultats et discussions	27
3.1. Détermination de la teneur en polyphénols	27
3.2. Activité antibactérienne	28
Références bibliographies	36
Annexes	45

Figure 01	Répartition géographique d'Eucalyptus globulus	05
Figure 02	Arbre d'eucalyptus globulus	07
Figure 03	Structure des flavonoïdes	12
Figure 04	Structure d'acide gallique	13
Figure 05	Structure de flavone	14
Figure 06	Représentation schématique des différentes applications des acides phénoliques	14
Figure 07	Structure d'acide benzoïque	15
Figure 08	Structure d'acide cinnamique	15
Figure 09	Poudre d'extrait final	22
Figure 10	Schéma récapitulatif du protocole de dosage des polyphénols totaux	24
Figure 11	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	26

Tableau 1	Classification phylogénétique d' <i>E. globulus</i>	05
Tableau 2	Principal classent des flavonoïdes	11
Tableau 3	Résultats des diamètres des zones d'inhibitions	28
Tableau 4	Résultats de la CMI	30

AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens.
AGEs	Produits finaux de glycation avancée.
ATCC	Collection de culture type américaine.
BHIB	Bouillon coeur-cervelle.
CMI	Concentration minimale inhibitrice.
Da	Dalton.
DLE	Extrait de feuilles sèches.
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
ERO	Espèces réactives de l'oxygène.
ES	extrait sec.
HPLC-DAD	chromatographie Liquide Haute Performance avec détection par réseau de diode
mg EGA/g	Milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme.
QS	Quorum Sensing.

Introduction

Introduction

La résistance aux antibiotiques constitue l'une des menaces les plus graves pour la santé publique mondiale. Selon les dernières estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), ce phénomène est responsable d'environ 13 millions de décès annuels à l'échelle mondiale (ZOUINE et *al.*, 2024).

Face à cette problématique croissante, il devient indispensable de rechercher de nouvelles substances antimicrobiennes efficaces à large spectre d'action et présentant une innocuité tant pour l'homme que pour l'environnement. Une des approches prospectives consiste à explorer les plantes utilisées en médecine traditionnelle (El-HACI et *al.*, 2012).

Les plantes médicinales représentent une source prometteuse de molécules bioactives, comme en témoigne leur utilisation ancestrale en médecine traditionnelle. Les populations locales possèdent une longue histoire d'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques. L'usage médicinal des végétaux remonte à la préhistoire, comme en témoignent des vestiges anciens. Des preuves fossiles suggèrent, en effet, que l'homme utilisait déjà des plantes médicinales dès le Paléolithique moyen (HOSSEINZADEH et *al.*, 2015).

Les propriétés thérapeutiques de ces plantes dites médicinales, sont dues à des molécules bioactives synthétisées par celles-ci et connues sous l'appellation de métabolites secondaires (polyphénols, alcaloïdes, terpènes etc...) (MOUALEK, 2018). Ces derniers, constitue un système de défense contre un stress chez la plante, la protégeant ainsi contre les différentes agressions biotiques et abiotiques (DATTA et *al.*, 2017). De plus, possèdent un large spectre d'activités biologiques incluant notamment des propriétés anti-inflammatoires, immunostimulants, anticancéreux, antioxydants, antimicrobiens, etc.... (STEPHANE et *al.*, 2022).

L'Algérie se distingue par la diversité de la flore végétale, qui, en raison de sa grande superficie et de la variabilité de son climat offre une gigantesque variété de plantes médicinales. Parmi cette flore, *Eucalyptus globulus*, se distingue particulièrement par ses propriétés pharmacologiques documentées (GHAFAR et *al.*, 2015). Cette espèce y est l'une des plus répandues (AIT YOUSSEF, 2006).

E. globulus figure parmi les végétaux les plus couramment employés en thérapeutique alternative à l'échelle mondiale, en raison de leur forte teneur en composants chimiques importants et leurs effets thérapeutiques potentiels (BOUKHATEM et *al.*, 2017). Parmi ces bienfaits pour la santé, on peut citer l'amélioration des fonctions respiratoires, le renforcement

du système immunitaire, la protection cutanée, la réduction du stress et de l'anxiété, la diminution du taux de sucre sanguin, la suppression de l'inflammation et la résistance aux infections bactériennes (SALEHI *et al.*, 2019).

Dans le cadre de notre étude, nous avons choisi de nous intéresser à *Eucalyptus globulus*, en raison de son importance économique et de ses propriétés biologique prometteuses. Cette plante, largement utilisée dans les industries pharmaceutiques et alimentaire, présente des effets bénéfiques avérés sur la santé, ce qui en fait un modèle pertinent pour explorer ses potentialités thérapeutiques et nutritionnelles.

De ce fait, notre travail porte sur une étude réalisée au sein de laboratoire de microbiologie, sur l'extrait aqueux de feuilles d'*Eucalyptus globulus* afin de démontrer leur richesse en polyphénols totaux et mettre en évidence leurs propriétés antibactériennes contre les souches pathogènes sélectionnées. Pour cela notre mémoire s'articulera autour de trois parties :

- ✓ La première partie présente une vue d'ensemble sur la plante étudiée.
- ✓ La deuxième partie est consacrée à l'aspect pratique
- ✓ La troisième partie expose les principaux résultats obtenus accompagnés d'une analyse critique

Synthèse Bibliographique

1. Synthèse bibliographique

1.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales complètent la médecine moderne grâce à leurs principes bioactifs, utilisés non seulement, thérapeutique, mais aussi en prévention. Leur réhabilitation récente valorise un patrimoine pharmacologique traditionnel (COVIS, 2023).

L'utilisation des plantes médicinales en Algérie est en nette diminution, en raison d'un secteur sanitaire en continuel développement. Elle reste néanmoins fortement implantée dans les zones reculées comme le Hoggar où les touaregs transmettent le secret de cette médication traditionnelle de père en fils (REGUIEG, 2011).

En Kabylie, l'utilisation des plantes médicinales reste très restreinte et est exclusivement du ressort des matriarches, gardiennes de cette tradition (MOUALEK, 2018).

L'*Eucalyptus*, figure parmi les plantes médicinales largement répandue en Algérie comme dans le reste du monde, possède de multiples propriétés thérapeutiques. Son action expectorante en fait un traitement efficace contre les affections bronchiques (bronchites, pneumonies) et les symptômes de la toux. Il agit également comme un puissant antiseptique, soulageant les états fébriles et grippaux. Par ses propriétés astringentes et antispasmodiques, il exerce une action bénéfique sur les inflammations des muqueuses digestives et intestinales. Confirmant ainsi son importance en phytothérapie traditionnelle (KESHARWANI et al., 2018).

1.2. *Eucalyptus globulus*

Eucalyptus globulus appartenant à la famille des Myrtacées, est une espèce arbustive ou arborée à croissance rapide, largement reconnue, parmi les angiospermes dicotylédones. La famille des Myrtacées comprend plus de 3100 espèces réparties en 142 genres (ERAU, 2019).

Originaire du sud-est de l'Australie, *Eucalyptus globulus*, communément appelé gommier bleu ou Eucalyptus commun, est particulièrement apprécié pour sa capacité à s'adapter aux sols pauvres et pour son développement végétatif rapide, ce qui en fait une espèce d'intérêt écologique et économique (NILE et KEUM, 2018).

1.3. Classification phylogénétique

Afin de mieux situer l'*Eucalyptus globulus* dans le règne végétal, il est essentiel de présenter sa classification phylogénétique selon les principaux niveaux taxonomiques.

Tableau 1 : Classification phylogénétique d'*E.globulus*: (KESHARWANI *et al.*, 2018).

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>

1.4. Répartition Géographique

Originnaire des forêts tempérées de Tasmanie et d'Australie méridionale, l'espèce s'est naturalisée dans le bassin méditerranéen (Espagne, Portugal), en Afrique du Nord, en Amérique latine (Brésil, Chili) et en Asie (Inde, Chine) grâce à son potentiel d'adaptation aux climats chauds ainsi qu'à ses usages industriels (KESHARRWANI *et al.*, 2018).

L'introduction d'*Eucalyptus globulus* en Algérie remonte à 1856 par Prosper Ramel. Son implantation visait principalement à assécher les zones marécageuses, notamment pour limiter la sécheresse et la stérilité des sols. Le baron Ferdinand von Mueller avait remarqué leur résistance et leur insensibilité à la chaleur des vents chauds australiens. Cette caractéristique leur permet d'absorber une quantité considérable d'eau et de prospérer dans des environnements humides (ERAU, 2019).

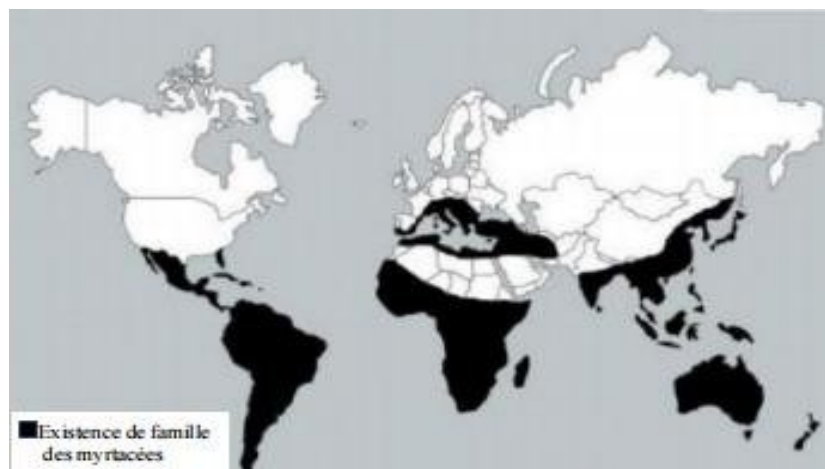


Figure 01 : Répartition géographique d'*Eucalyptus globulus* (IGLESIAS-CARRASCO *et al.*, 2025).

1.5. Description botanique

Eucalyptus globulus est une espèce aromatique et médicinale à croissance rapide. Cet arbre au port élancé peut atteindre 30 mètres de hauteur à maturité. Son écorce, lisse et caractéristique, se desquame en lambeaux fibreux (RAHO, 2021).

Eucalyptus globulus présente un dimorphisme foliaire marqué entre ses feuilles jeunes et adultes. Les feuilles jeunes, de disposition opposée et sessiles ou sub-sessiles, se caractérisent par leur forme ovale-cordiforme, avec une base en cœur et un apex obtus. Leur surface cireuse, de couleur bleu-vert, est due à la présence de trichomes cireux. En revanche, les feuilles, alternes et pétiolées (pétiole de 1-3 cm), sont lancéolées-falciformes, avec une marge entière et une nervure pennée saillante (Elles sont particulièrement riches en 1,8-cinéole, composé responsable de leur arôme balsamique caractéristique et leur propriété bioactive) (RAHO, 2021).

Les structures reproductives de *E. globulus* comprennent des fleurs actinomorphes et bisexuées, regroupées en ombelles axillaires de 4 à 7 fleurs. Chaque fleur est protégée par un opercule conique qui se détache à l'anthèse, révélant de nombreuses étamines (50-100) blanc crème à déhiscence longitudinale. La floraison, principalement printanière, repose sur une pollinisation entomophile ou anémophile. Les fruits, des capsules ligneuses hémisphériques présentent une déhiscence valvaire libérant des graines anguleuses à tégument durci (RAHO, 2021).



Figure 02 : Arbre d'*Eucalyptus globulus* (photo originale)

1.6. Usage et propriétés thérapeutiques

1.6.1. Usage externe

- **Infusion et fumigation**

Une infusion de feuilles d'*Eucalyptus globulus* (10g pour 1 litre d'eau) est traditionnellement utilisée en inhalation pour le traitement des affections respiratoires (rhume, bronchites, sinusites). La vapeur, riche en eucalyptol, possède des propriétés expectorantes et mucolytiques, favorisant la décongestion des voies respiratoires (JUERGENS et *al.*, 2020). Les fumigations contribuent également à l'assainissement de l'air en réduisant la charge microbienne (SADDI et *al.*, 2017).

- **Aromathérapie**

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, diluée dans un dispersant (ex : lait en poudre), est employée en bain (10 gouttes pour une immersion de 15-20 min) pour ses effets

anti-inflammatoires et antiseptiques sur la dermatose, plaies et douleurs rhumatismales (CERASOLI et *al.*, 2016).

1.6.2. Usage interne

- **Activités pharmacologiques**

Eucalyptus globulus est principalement indiqué pour les infections ORL et respiratoires, en raison de son action antibactérienne (notamment contre *Staphylococcus* et *Escherichia coli*) et antivirale (BACHIR et BANALI, 2012). Il présente également des effets :

-Antidiabétique (inhibition de l'alpha-glucosidase) (ELDAHSHAN et SINGAB, 2013).

-Antipaludique (activité modérée contre *plasmodium falciparum*) (MULYANINGSIH et *al.*, 2011).

- **Formulation thérapeutique**

Pour les affections respiratoires, une infusion peut être préparée avec 3 feuilles par tasse, tandis que l'huile essentielle peut être prise à raison de 2 gouttes trois fois par jour, mélangée dans du miel. La posologie des gélules à base d'extrait sec varie en fonction de la standardisation (DHIFI et *al.*, 2016).

1.7. Composition

L'extrait aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* présente une composition chimique riche en composés phénoliques et acides organiques, comme le révèle une analyse HPLC-DAD. Parmi les principaux polyphénols identifiés, l'hyperoside (flavonoïde) est le composé majeur, avec 25,4 % des composés extraits. Viennent ensuite la rutine (14,5 %) et l'acide chlorogénique (15,3 %), connus pour leurs propriétés antioxydantes. D'autres dérivés comme les dérivés de l'acide ρ -coumarique et la quercitrine proportions (1,5 à 5,5 %).

Du côté des acides organiques, l'acide citrique est le plus abondant (24,4 %), suivi de l'acide malique (15,1 %) et de l'acide fumarique (5,1 %). Des composés comme l'acide shikimique et succinique sont également détectés, mais non quantifiés individuellement.

Cette composition confère à l'extrait aqueux des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes, avec une dominance des flavonoïdes (hyperoside, rutine) et des acides phénoliques (PUIG et *al.*, 2018).

1.8. Métabolites secondaires

En 1891, Albrecht Kossel a introduit le terme métabolite secondaire pour désigner les composés produits par les plantes sans rôle direct dans leur croissance, reproduction ou acquisition de ressource. À l'inverse, les métabolites primaires (glucides, lipides, acides aminés, acides nucléiques) sont essentiels à la survie et présents dans toutes les cellules végétales (MOUALEK, 2018).

Les métabolites secondaires, eux, ont une distribution limitée et ne sont pas indispensables à la survie de la plante. Ils présentent une grande diversité structurale, avec une estimation allant de 100 000 à 200 000 molécules, produites en faibles quantités (MOUALEK, 2018).

Les métabolites secondaires proviennent des métabolites primaires (glucides, acides aminés et lipides), principalement pour la protection contre les radiations UV, la lutte compétitive contre les virus, bactéries, insectes et autres plantes. Ils sont également responsables de l'odeur, de la couleur et de la saveur des produits végétaux (KUMAR et GOEL, 2019).

1.8.1. Classification

Les métabolites secondaires sont généralement des molécules de bas poids moléculaire qui peuvent être hydrophiles ou lipophiles. La majorité sont regroupés en trois classes sur la base de leur origine biosynthétique : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (CROTEAU et *al.*, 2000). Chacune de ces classes est elle-même subdivisée en plusieurs sous classes renfermant une très grande variété de composés possédant une très large gamme d'activité biologique (LI et *al.*, 2007).

1.8.1.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires azotés, majoritaires d'origine végétale, caractérisés par une structure hétérocyclique complexe. Leur importance pharmacologique réside dans leurs activités biologiques puissantes, souvent observées à faible concentration. Ces composés présentent une grande diversité structurale et pharmacologique, avec des applications thérapeutiques variées : antimicrobiens, anti-tumorales, analgésiques et neuro actives (MOUALEK, 2018).

Plus de 12000 alcaloïdes ont été identifiés à ce jour, principalement chez les angiospermes (plantes à fleurs), tandis que qu'ils sont plus rares chez les gymnospermes

(conifères) et les cryptogames (fougères). Leur biosynthèse et leur accumulation dans les tissus végétaux dépendent de facteurs génétiques, écologiques et physiologiques. Ils sont souvent localisés dans l'endoderme des racines, les feuilles, les tiges, l'écorce, les grains et les fruits (COVIS, 2023).

On identifie trois catégories d'alcaloïdes :

- ✓ **Alcaloïdes véritables** : ils sont exclusivement produits par les plantes et dérivent biosynthétiquement des acides aminés.
- ✓ **Proto-alcaloïde** : ils sont issus de simples acides aminés dont l'azote n'est pas engagé dans un cycle.
- ✓ **Pseudo-alcaloïde** : Ils affichent généralement toutes les propriétés des alcaloïdes authentiques, cependant, ils ne sont pas issus des acides aminés (MOUALEK, 2018).

1.8.1.2. Les terpènes

Avec plus de 40 000 molécules différentes, les terpènes représentent le groupe prédominant de métabolites secondaires présents dans les plantes. Sur le plan chimique, ils sont considérés comme des lipides insaponifiables car leur constitution n'est pas liée aux acides gras. Un grand nombre de plantes, telles que le citron, la menthe et l'eucalyptus, renferment des terpènes dans leurs fleurs et fruits qui se manifestent sous forme de composés volatils ayant des senteurs distinctes (GONZALEZ MERA *et al.*, 2019).

Ils sont désignés par le terme isoprénoïdes en raison de leur unité structurale dérivée de l'isoprène. Selon le nombre d'entités isoprène les terpènes sont subdivisés en : monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), diterpènes ($C_{20}H_{32}$), triterpène ($C_{30}H_{48}$), tétraterpènes ($C_{40}H_{64}$) et polyterpènes ($(C_5H_8)_n$) (GONZALEZ MERA *et al.*, 2019).

Les terpènes possèdent de multiples et différentes activités biologiques, ont en commun un large spectre d'action vis-à-vis des bactéries et des champignons. Parmi leur effet, on peut citer l'activité anti-tumorale qui inhibe la croissance des cellules cancéreuses, ainsi que l'effet anti-inflammatoire qui réduit des cytokines pro-inflammatoires, montrent également une activité antibactérienne contre les pathogènes tels que *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* (YANG *et al.*, 2020).

1.8.1.3. Les composés phénoliques

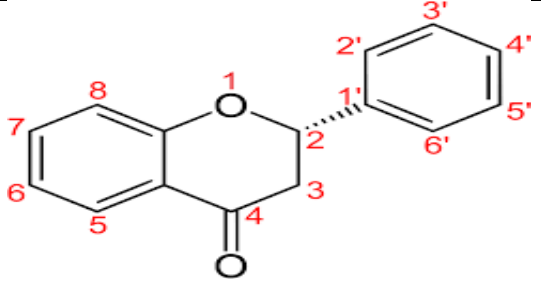
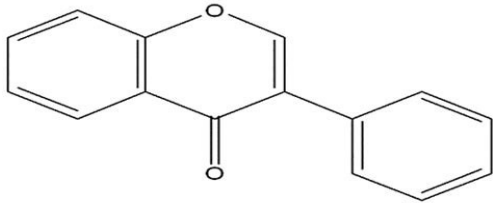
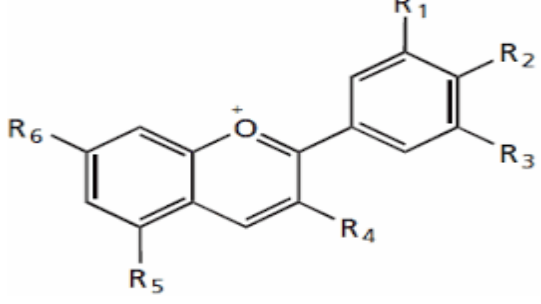
➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe majeure de composés phénoliques, ubiquitaire dans le règne végétal, où ils jouent des rôles physiologiques et écologiques essentiels présents dans les fruits, légumes, grains et boissons d'origine végétale (THILAKARATHNA et RUPASINGHE, 2013), ces métabolites secondaires sont reconnus pour leurs propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériennes (PANCHE et *al.*, 2016). Leur implication dans la défense des plantes contre les stress biotiques (pathogènes, herbivores) et abiotiques (UV, sécheresse) en fait des molécules d'intérêts tant en écologie qu'en pharmacologie (AGATI et *al.*, 2020).

La structure de base des flavonoïdes comprend deux noyaux benzéniques (A et C) reliés par un hétérocycle oxygéné (pyrane, cycle B), formant un squelette C6-C3-C6 (KUMAR et PANDEY, 2013). Leur classification repose sur le degré d'oxydation, la position des substituants et la nature des glycosylations (ANDERSON et MARKHAM, 2006). On distingue cinq sous classes principales :

Tableau 2 : principales classe des flavonoïdes (TIM et ANDREW, 2005).

Structure	Classe	exemples
	Flavones	Apigénine, Lutéoline
	Flavonols	Quercétine, Kaempférol

	Flavanones	Hespéridine, Naringénine
 <p style="text-align: center;">Isoflavone</p>	Isoflavones	Génistéine, Daidzéine
	Anthocyanidines	Cyanidine, Delphinidine

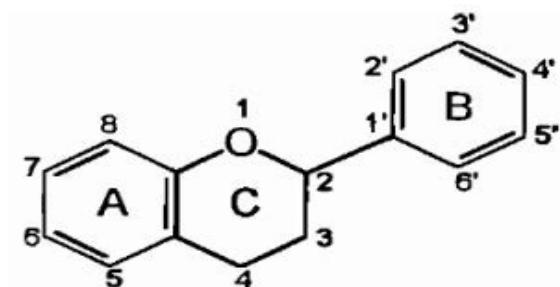


Figure 03 : structure des flavonoïdes (CUSHNI et LAMB, 2005).

Les flavonoïdes sont impliqués dans la pigmentation (couleurs jaune à bleues des fleurs et fruits), attirent les pollinisateurs et dissuadent les herbivores (POLLASTRI et TATTINI, 2011). Leur présence dans les feuilles d'Eucalyptus contribuerait à la résistance aux pathogènes (EYLES et *al.*, 2010).

➤ Les tannins

Les tanins sont un groupe hétérogène de biomolécules polyphénoliques astringentes qui peuvent interagir avec des macromolécules telles que les protéines, les gélatines, les polysaccharides et les alcaloïdes, entraînant leur précipitation. Ces composés sont produits par les plantes dans des mélanges couvrant une large gamme de poids moléculaires avec des concentrations pouvant atteindre 20 000 Da. On trouve une multitude de composés tanniques dans des échantillons de fleurs, de feuilles, de graines, de fruits, de racines et d'écorce d'arbres (GIRARD et BEE, 2019).

Selon la structure on a deux groupes de tanins : les tanins condensés (non hydrolysables) et les tanins hydrolysables qui diffère par leur structure chimique (SCHOFIELD et *al.*, 2001).

• Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyphénols simples. Ce sont des esters d'acide gallique et de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) et de monosaccharides, le plus souvent le glucose. Ils sont souvent répartis en 3 classes : tanins galliques ou gallotanins, tanins ellagiques ou ellagitanins, tanins complexes (RIRA, 2019).

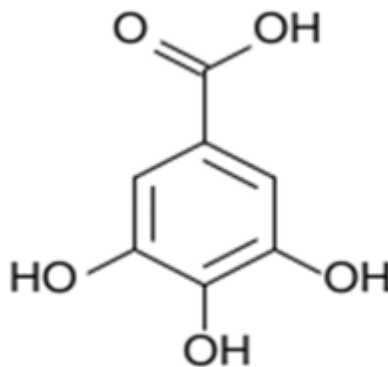


Figure 04 : Structure d'acide gallique (ASHOK et UPADHYAYA, 2012).

• Tanins condensés

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, résultent de la polymérisation d'unités flavaniques (catéchines, épicatechines) formant des structures de plus en plus complexes, depuis les dimères, oligomères (2-10

monomères) jusqu'aux polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3. Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes (RIRA, 2019).

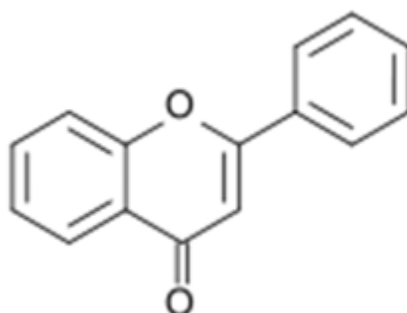


Figure 05: Structure de flavone (ASHOK et UPADHYAYA, 2012).

➤ **Acides phénoliques**

Ce sont la forme la plus simple des composés phénoliques. Sont des composés organiques qui possèdent au moins une fonction carboxylique (acide) et un groupe phénolique, ils sont rares dans la nature, on peut les classés en deux groupes (PANDY et RIZVI, 2009).

• **Acides phénols dérivés l'acide benzoïque**

Connus sous le nom d'acides hydroxy benzoïque, leurs structure générale est de type (C₆-C₁) sont présent d'une manière abondante dans le règne végétal sous forme libre ou sous forme d'ester ou hétéroside. L'acide salicylique et l'acide gallique sont les dérivés les plus courants (MACHEIX et *al.*, 2005).

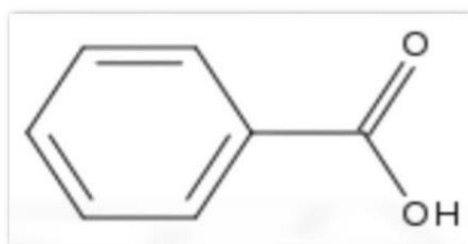


Figure 06 : Structure d'acide benzoïque (PAWLOWSKA et *al.*, 2006).

• **Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique**

Egalement appelés hydroxy cinnamique, leurs structure générale est de type (C₆-C₃), ils sont largement distribués dans le règne végétal fréquemment estérifiés. Les plus courants sont

: l'acide cinnamique, acide caféique, acide férulique, acide ρ -coumarique et l'acide synaptique (BRUNETON, 2009).

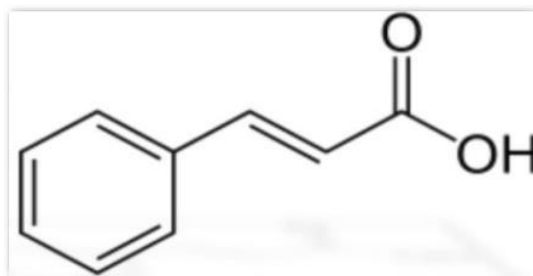


Figure 07 : Structure d'acide cinnamique (GORHAM, 1977).

Les acides phénoliques, aux multiples propriétés biologiques, constituent la principale classe de polyphénols végétaux. Ils agissent comme précurseurs de molécules bioactives largement exploitées en pharmacie, cosmétique et agroalimentaire (KUMAR et GOEL, 2019).

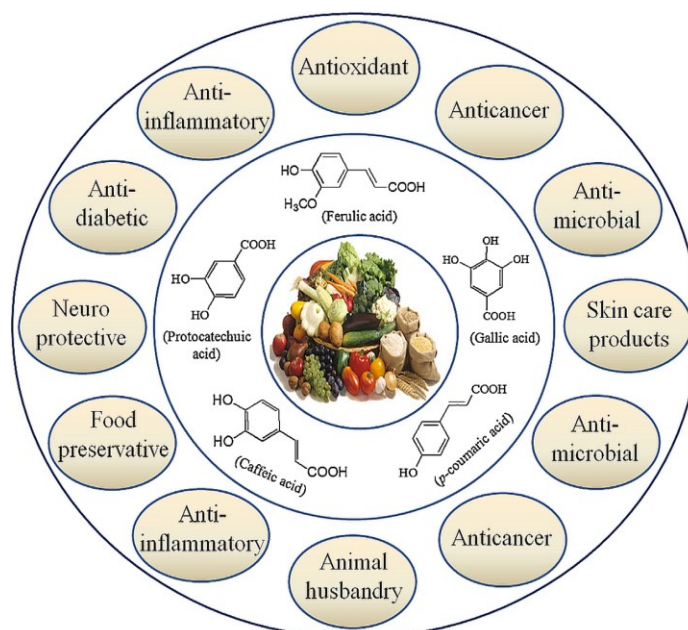


Figure 08 : Représentation schématique des différentes applications des acides phénoliques (KUMAR et GOEL, 2019).

1.9. Activités biologiques

1.9.1. Activité antibactérienne

Outre les moisissures, actinomycètes et bactéries, les plantes constituent une source importante de métabolites secondaires à activité antimicrobienne. De nombreuses études

visent à évaluer ces composés naturels pour identifier de nouvelles molécules actives contre les microorganismes ou inspirer le développement d'antibiotiques innovants (LUIS et *al.*, 2014).

Les composés phytochimiques des plantes agissent comme adjuvants, potentialisant l'efficacité des antibiotiques tout en permettant de réduire leurs doses, limitant ainsi les effets indésirables et l'impact écologique. Par ailleurs, ils renforcent le système immunitaire, améliorant la réponse de l'organisme contre les infections. Leur effet synergique, dû à la diversité de leurs principes actifs, confère aux extraits végétaux une efficacité supérieure à celle des molécules isolées (GUEDES et *al.*, 2024).

De plus, pour échapper à la résistance bactérienne, les composés végétaux exercent plusieurs actions : inhibition des pompes d'efflux ; de nombreuses plantes contiennent des inhibiteurs de pompes d'efflux tels que les catéchols et la quercétine, ainsi que, les polyphénols peuvent également se lier aux protéines structurales des canaux d'efflux, induisant des changements conformationnels qui perturbent leur fonctionnement. Perturbation des biofilms : cette action s'exerce par différents moyens, notamment ; l'altération de la communication intercellulaire, Inhibition de la mobilité bactérienne, interférence avec les mécanismes d'adhésion cellulaire. Blocage de la communication intrabactérienne via deux mécanismes clés : régulation négative des gènes du quorum sensing (QS), entraînant une diminution de l'expression des molécules de signalisation, une interaction entre les métabolites secondaires végétaux et les molécules de signalisation du QS, conduisant à l'inactivation des médiateurs du quorum et à l'affaiblissement des interactions intercellulaires (GORLENKO et *al.*, 2020).

Parmi les plantes médicinales, *Eucalyptus globulus*, se distingue pour lutter contre de nombreuses maladies résultant d'infections microbiennes (JAMIL et *al.*, 2017). Son efficacité est expliquée par sa richesse en terpènes, flavonoïdes et acides phénoliques, dont les activités antibactériennes ont déjà été décrites (PINTO et *al.*, 2023).

Une étude en microscopie électronique à balayage (MEB) a révélé qu'une nano émulsion d'*E. globulus* altère l'intégrité cellulaire de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* et *Candida albicans*, entraînant une perte de leur morphologie sphérique caractéristique (JAFARI et *al.*, 2020).

Les extraits aqueux de feuilles séchées d'*Eucalyptus globulus* présentent un potentiel intéressant comme agent de protection des cultures, notamment contre certains pathogènes de la tomate. L'extrait obtenu à partir de feuilles séchées de jeunes arbres (DLE) se distinguait par sa teneur élevée en composés phénoliques, particulièrement en acide gallique, digalloylglucose et galloylglucose. Ces métabolites spécialisés, reconnus pour leurs propriétés antibactériennes, agissent en perturbant l'intégrité des membranes bactériennes grâce à leur affinité pour les lipides, provoquant une acidification du cytoplasme et conduisant à la lyse cellulaire (PINTO et al., 2023).

De plus, L'extrait aqueux de feuilles d'*E. globulus* a montré le même mode d'action que l'ampicilline contre *S. aureus*. Par ailleurs, il exerce une inhibition significative sur *S. aureus* et *B. subtilis*, surpassant même l'effet de la gentamicine (SHALA et GURURANI, 2021).

1.9.2. Activité anti-oxydante

Les antioxydants sont des molécules qui protègent les cellules en empêchant les ERO (espèces réactives de l'oxygène) d'endommager l'ADN, les lipides et les protéines (GARDES et al., 2003). On distingue deux types d'antioxydants : les primaires, qui stoppent les réactions en chaîne des radicaux libres en produisant des radicaux stables, et les secondaires, qui captent ou dégradent les molécules responsables de la formation des radicaux libres, comme les ions métalliques (GRAMZA et KORCZAK, 2005).

Les polyphénols exercent une puissante action anti-oxydante en neutralisant directement les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène grâce à leur faible potentiel redox, tout en stimulant indirectement l'expression d'enzymes et de protéines protectrices. De plus, ils inhibent certaines enzymes, comme la xanthine oxydase, limitant ainsi la production de radicaux superoxyde, et chélatent les métaux pro-oxydants (fer et cuivre), empêchant la formation de radicaux hydroxyles particulièrement nocifs (MOUALEK, 2018).

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont particulièrement riches en composés phénoliques (acides galliques, flavonoïdes) et en huiles essentielles (eucalyptol). Ces molécules bioactives présentent une forte capacité anti-oxydante, neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et protégeant ainsi contre le stress oxydatif (BOULEKBACHE et al., 2013).

Une étude a évalué l'activité anti-oxydante de l'extrait aqueux d'*E. globulus*, par le test DPPH. Les résultats suggèrent que l'extrait végétal contient des piègeurs de radicaux libres, agissent comme antioxydants primaires. Cette propriété est principalement attribuée à leur

capacité à donner des atomes d'hydrogène ou des électrons, notamment via les groupements hydroxyle du cycle A des flavonoïdes (BENCHEIKH *et al.*, 2020).

1.9.3. Activités anti-inflammatoire

L'inflammation est une réponse physiologique complexe de l'organisme face à des agressions externes (traumatismes, agents pathogènes) ou internes (cytokines, stress oxydatif), se manifestant sous forme aiguë (transitoire) ou chronique (prolongée) (CHEN *et al.*, 2017 ; FURMAN *et al.*, 2019). Pour moduler ces réponses, deux classes thérapeutiques principales sont utilisées : les anti-inflammatoires stéroïdiens (corticoïdes) et non stéroïdiens (AINS) (MCGETTIGAN et HENRY, 2013).

Dans ce contexte, *Eucalyptus globulus* émerge comme une alternative naturelle prometteuse. En effet, l'étude de NILE et KEUM (2018), a démontré que ses extraits, particulièrement l'extrait méthanolique, exercent une activité anti-inflammatoire significative en inhibant des enzymes clés comme la β -glucuronidase (61,2 %), la hyaluronidase (50,2 %) et la lipoxigénase (78,9 %). Ces effets sont attribués à ses composés bioactifs, notamment les polyphénols (acide gallique, acide ellagique), les flavonoïdes (quercétine, rutine) et l'eucalyptol. Ainsi, *E. globulus* présente un double intérêt, combinant une action anti-inflammatoire à son activité antibactérienne, ce qui en fait un candidat de choix pour des applications thérapeutiques intégrées (NILE et KEUM, 2018).

Par ailleurs, *E. globulus* présente aussi des propriétés anti-inflammatoires, en réduisant les cytokines pro-inflammatoires et en inhibant plusieurs médiateurs de l'inflammation comme le monoxyde d'azote (NO) et l'Inos (AMIRI *et al.*, 2020).

1.9.4. Activité anti-tumorale

Les polyphénols alimentaires, reconnus pour leurs propriétés anticancéreuses, agissent via plusieurs mécanismes : élimination des cancérigènes, modulation de la signalisation cellulaire, activation d'enzymes anti-oxydantes, induction de l'apoptose et blocage du cycle cellulaire. De plus, ils inhibent la formation des AGEs (Produits finaux de glycation avancée), des molécules impliquées dans la carcinogenèse (MOUALEK, 2018).

L'étude de Nile et Keum (2018) a démontré que les extraits de feuilles d'*Eucalyptus globulus* possèdent une activité antitumorale significative, évaluée par la méthode du disque de pomme de terre utilisant *Agrobacterium tumefaciens* comme modèle biologique. Parmi les trois extraits testés (méthanolique, chloroformique et hexanique), l'extrait méthanolique s'est

révélé le plus efficace, avec un taux de mortalité de 82,6% contre *A. tumefaciens*. Cette activité anti-tumorale est attribuée à la richesse de l'extrait méthanolique en composés phénoliques (acides gallique et ellagique) et flavonoïdes (quercétine, rutine), ainsi qu'à la présence d'eucalyptol (1,8-cinéole), identifié comme le composant majoritaire.

Ces résultats suggèrent que les extraits de feuilles d'*E. globulus*, particulièrement l'extrait méthanolique, pourraient constituer une source prometteuse de composés antitumoraux, ouvrant des perspectives intéressantes pour la recherche en oncologie.

Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes

La partie expérimentale de notre travail a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques commun de Microbiologie et Physico-chimique du département de Biochimie-Microbiologie, de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou, durant la période comprise entre le 1^{er} février et le 30 avril 2025.

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont été collectées au mois de janvier 2025, dans la région de TIMIZART dans la wilaya de Tizi-Ouzou (Algérie). Le choix de la zone d'échantillonnage est motivé par son éloignement de la route et de toute exploitation agricole. Les feuilles sont prélevées sur des rameaux sains. Par la suite ces feuilles sont triées, soigneusement lavées à l'eau distillée puis séchées à température ambiante et broyer à l'aide d'un broyeur électrique.

2.1.2. Souches bactériennes

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* est évaluée vis-à-vis de différentes souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives à savoir : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14579 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. Ces souches proviennent du laboratoire de recherche de Microbiologie du département Biochimie- Microbiologie de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation de l'extrait

20 g de poudre de feuilles d'E. globulus sont macérés dans 200 ml d'eau distillée sous agitation, à température ambiante pendant 24 heures. Le mélange a été filtré à travers du papier Whatman N°1 afin d'obtenir un liquide limpide homogène. Le filtrat obtenu a ensuite été versé en fines couches dans des plateaux en verre afin de faciliter l'évaporation du solvant. Le séchage s'est effectué à température ambiante, à l'abri de la lumière, jusqu'à obtention d'un extrait sec. L'extrait obtenu a été récupéré et conservé dans un flacon, protégé de la lumière et de l'humidité.



Figure 09 : extrait final (photo originale)

2.2.2. Dosage des polyphénols totaux

La détermination de la teneur en polyphénols totaux est effectuée selon la méthode au réactif Folin-Ciocalteu (LI *et al.*, 2008).

Ce réactif, constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), se réduit en présence de composés phénoliques pour former un complexe coloré d'oxydes de tungstène et de molybdène, dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en polyphénols (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006).

Pour l'analyse, 200 μ l d'extrait aqueux à 40 μ g/ml sont mélangés à 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu (dilué au dixième), et incubé pendant 5 min à l'abri de la lumière. Après 5 minutes 800 μ l d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 75 mg/ml sont ajoutées afin de stabiliser la réaction. Après agitation, une incubation de 45 minutes à l'obscurité et à température ambiante est effectuée. Conformément à la littérature l'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (MEDLINE MD 2000). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g) en se référant à une courbe d'étalonnage établie avec des solutions d'acide gallique à des concentrations comprises entre 10 et 100 μ g/ml, préparées le même jour et dans les mêmes conditions que les échantillons.

Un blanc est réalisé en remplaçant l'extrait par 200 μ l par de l'eau distillée, tout en conservant les mêmes volumes de réactif Folin-Ciocalteu dilué et de solution de carbonate de sodium (MOUALEK *et al.*, 2016).

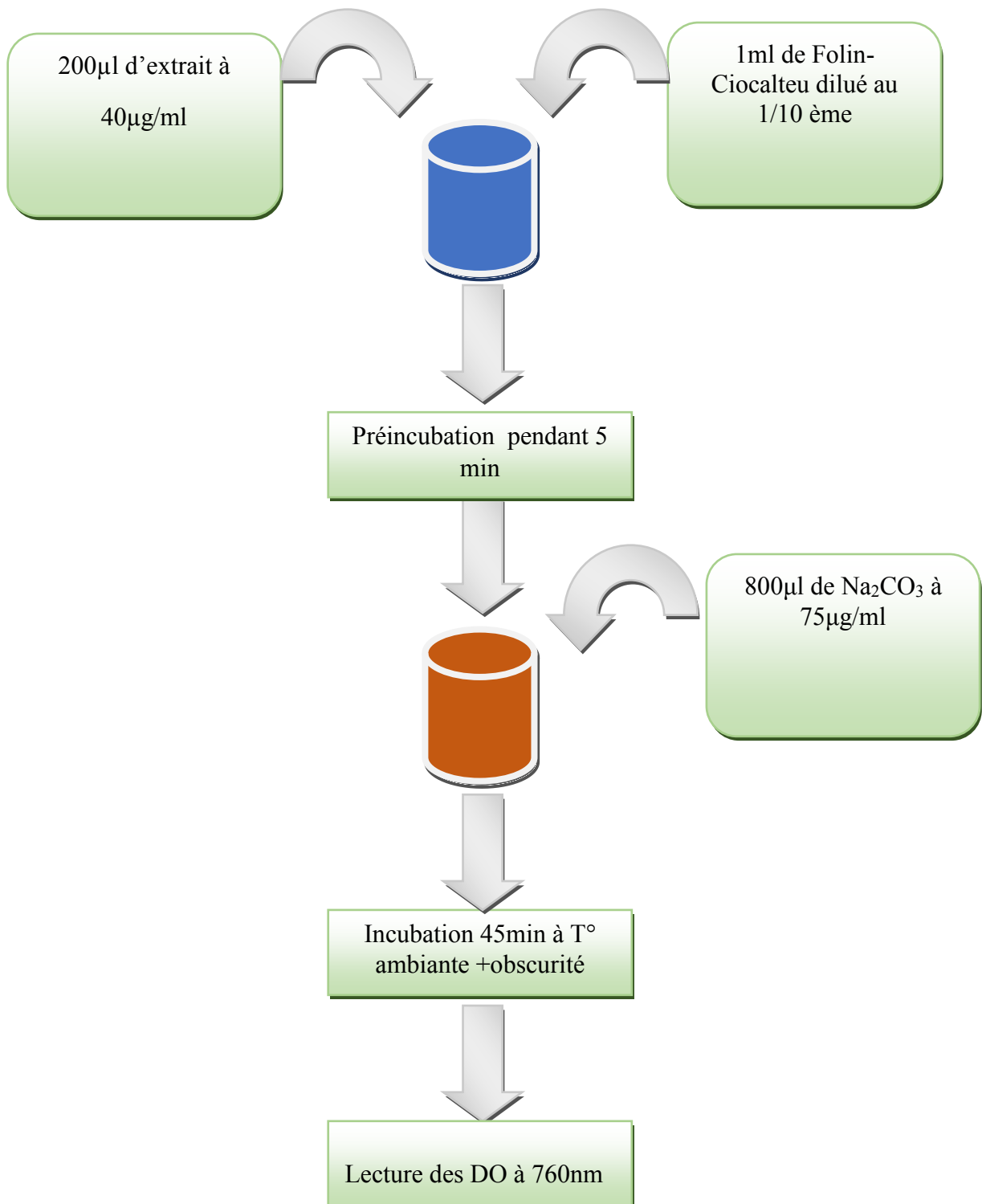


Figure 10 : Schéma récapitulatif du protocole de dosage des polyphénols totaux

2.2.3. Étude de l'activité antibactérienne

La sensibilité des bactéries à l'extrait d'*Eucalyptus globulus* est déterminée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (FALLEH *et al.*, 2008), permettant de déterminer l'activité antibactérienne de l'extrait vis-à-vis des souches testées.

Les différentes souches bactériennes testées sont préalablement revivifiées sur milieu BHIB (24 h à 37 °C). Isolées en colonies par la méthode des stries sur milieu Mueller Hinton (MH), puis réincubées à 37°C/24h sur le même milieu afin d'obtenir des colonies jeunes et isolées.

Une ou plusieurs colonies bien isolées sont prélevée pour réaliser une suspension bactérienne standardisé dans 9 ml d'eau physiologique (0,9 % NaCl) puis homogénéisé. L'absorbance est déterminée à une longueur d'onde de 620 nm, (DO=0,08 à 0,1 ; $10^6 - 10^8$ UFC/ml).

Des boîtes de Pétri préalablement préparées ont été coulées avec de la gélose Mueller-Hinton (MH). Ces dernières sontensemencées à partir de cet inoculum par écouvillonnage.

Des disques en papier Whatman N°1, de 6 mm de diamètre, stérile, sont déposés à la surface du milieu Mueller Hinton puis chargés avec 10 µl de l'extrait aqueux à la concentration de 250mg/ml.

Le disque de contrôle négatif (imprégner d'eau distillée) et de contrôle positif (antibiotique de référence gentamicine d'une concentration de 10 ug) sont placées à la surface de ces boites.

Les boîtes sont pré-incubées pendant 30 minutes sur la paillasse à température ambiante, ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures, afin de permettre le développement des bactéries et d'observer les effets de l'extrait sur la croissance bactérienne.

Les résultats correspondent aux diamètres des zones d'inhibitions autour des disques, sont donnés en millimètres (MOUALEK, 2018).

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La détermination des concentrations minimales inhibitrices est réalisée sur milieu solide MH (DZOMBA et MUCHANYEREYI, 2012), pour les souches bactériennes sensible à l'extrait.

Une série de dilutions de l'extrait est réalisée dans de l'eau distillée stérile, avec des facteurs de dilution successifs (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256). Parallèlement, une suspension bactérienne est réalisée dans de l'eau physiologique stérile, à une concentration de 10^6 à 10^8 UFC/ml, avec une densité optique de 0,08 à 0,1 mesurée à 620 nm.

Des disques imbibés par différentes concentrations d'extrait (10 μ l par disque) sont ensuite placés sur la surface des boîtes de Pétri préalablementensemencées avec l'inoculum bactérien.

Après un temps de pré-diffusion de 30 minutes sur la paillasse à température ambiante, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C (MOUALEK, 2018).

Résultats et discussions

3. Résultats et discussions

3.1. Détermination de la teneur en polyphénols

L'extrait brut obtenu par macération dans l'eau distillée a subi une analyse quantitative par dosage spectrophotométrique de la teneur en polyphénols.

La quantité en polyphénols est calculé en se référant au courbe d'étalonnage réalisé grâce à l'acide gallique à différents concentration dans les mêmes conditions que l'échantillon, et les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EGA/g).

La courbe ci-dessous montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations.

La quantité des polyphénols totaux d'extrait d'E. globulus est calculé à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage ($y=0,013x + 358$, $R^2=0,986$).

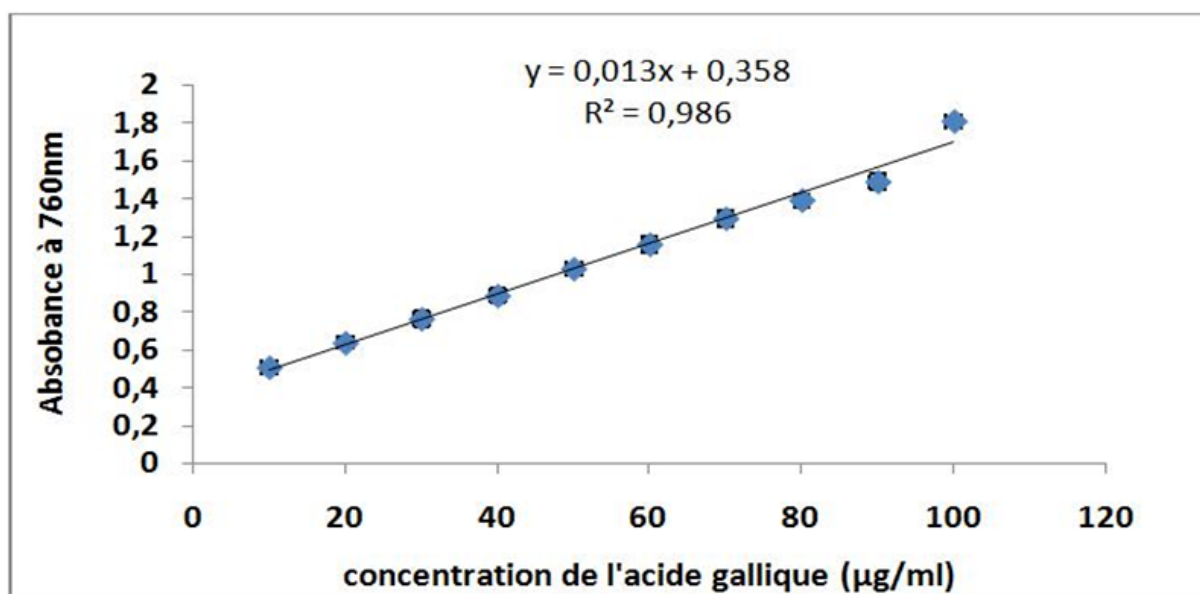


Figure 11 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats obtenus indiquent un taux de polyphénols totaux de l'ordre de 170 ± 8 mg EAG/g ES pour l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus*. Comparés aux résultats d'études similaires rapportées par BENCHEIKH *et al.* (2020), qui donne une teneur en polyphénols totaux de $280,63 \pm 0,11$ mg EAG/g ES, et celle de HAJJI-HEDFI *et al.* (2024), avec une teneur de 348.17 mg EAG/g ES. Ces valeurs sont supérieures à celle que nous avons enregistrée.

La diversité des paramètres liés aux conditions d'extraction ainsi qu'aux proportions de solvant et de soluté utilisées rend difficile la comparaison de ces résultats à la littérature. Néanmoins, notre résultat dépasse ceux obtenues avec d'autres solvants apolaires comme l'hexane ($98,7 \pm 1,23$ mg EAG/g ES) et le chloroforme ($156,3 \pm 2,65$ mg EAG/g ES) (NILE et KEUM, 2018).

En comparaison avec d'autres solvants polaires, notre résultat obtenu reste inférieur aux valeurs rapportées pour l'extrait éthanolique $235,8 \pm 4,38$ mg EAG/g ES par DEZSI et *al.* (2015) et l'extrait méthanolique $242,5 \pm 4,32$ mg EAG/g ES (NILE et KEUM, 2018).

L'addition d'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols, comme le confirme une étude réalisée par TSAKNI et *al.* (2025) sur un extrait d'*Eucalyptus globulus*, en utilisant un solvant composé de 90% d'éthanol et de 10% d'eau, ils ont obtenu une teneur en polyphénol totaux de $826,05 \pm 0,84$ mg EAG/g ES.

Bien que ces solvants démontrent une efficacité extractive notable, leur potentiel toxique limite l'utilisation des extraits obtenus dans les applications alimentaires et pharmaceutiques. À l'inverse, l'extrait aqueux présente un profil de sécurité favorable, permettant son incorporation directe dans des formulations destinées à la consommation humaine (MOUALEK, 2018).

La teneur en polyphénols d'une plante dépend de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (SOUILAH, 2018), tels que l'espèce végétale, les caractéristiques génétiques, la localisation géographique, la nature du sol, la période de récolte, les méthodes de préparation, de séchage et de stockage des plantes (DEZSI et *al.*, 2015). Ainsi que, la solubilité des composés phénoliques en fonction de leur degré de polymérisation, de leur interactions avec les autres constituants et le type de solvant utilisé (FALLEH et *al.*, 2008).

Par exemple, des analyses chimiques menées sur les racines et les rhizomes de *Rhodiolarosea* L, récoltés à différentes saisons et dans diverses zones géographiques, ont mis en évidence une grande variabilité dans la composition chimique ainsi que dans les concentrations des composés à activité pharmacologique (PANOSSIAN, 2023).

3.2. Activité antibactérienne

Les plantes constituent des sources importantes de molécules bioactives potentiellement utiles ouvrant des perspectives pour le développement de nouveaux agents antibactériens.

Des études in vitro ont démontrés que des composés phénoliques, en particulier, possèdent une activité antibactérienne significative contre un grand nombre de microorganismes pathogènes avec des spectres d'activités variables (MOUALEK, 2018).

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles d'E globulus a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque, vis-à-vis de 4 souches bactériennes de référence qui sont : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14579.

La gentamicine (10 µg/disque) a été utilisée comme antibiotique de référence.

Les résultats obtenus font état de zones d'inhibition comprises entre $9,5 \pm 1,1$ et $19,2 \pm 1,8$ sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 3: Résultats des diamètres des zones d'inhibitions

Souche bactérienne	Gram	Antibiotique Gentamicine (mm)	Extrait (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Gram positif	$26 \pm 1,5$	$19,2 \pm 1,8$
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579.		22 ± 1	$17,6 \pm 1,7$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gram négatif	18 ± 05	$9,5 \pm 1,1$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922		$20 \pm 0,5$	0

Au regard des résultats présentés dans le tableau, l'extrait aqueux des feuilles d'E. globulus à la concentration de 250mg/ml, présente une activité antibactérienne vis-à-vis de la majorité des souches bactériennes testées.

Une sensibilité accrue des bactéries à Gram positif a été observée ; avec des diamètres d'inhibition moyens de $19,2 \pm 1,8$ mm pour *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et $17,6 \pm 1,7$ mm pour *Bacillus cereus* ATCC 14579. En revanche, un effet limité a été observé pour *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 de $9,5 \pm 1,1$ mm. Tandis qu'aucune activité n'est observée pour *Escherichia coli* ATCC 25922. Nos données ont révélé que les souches

standards ATCC de bactéries à Gram positif étaient plus sensibles que celles à Gram négatif à l'extrait de plante étudié.

Les différences morphologiques entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif pourraient justifier cette sensibilité différente. En effet, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe phospholipidique composée de lipopolysaccharides (LPS), absente chez les bactéries à Gram positif. Cette membrane confère une imperméabilité aux solutés lipophiles, tandis que les porines forment une barrière sélective aux molécules hydrophiles. Une autre explication pourrait être l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane chez les bactéries à Gram positif par les composés présents dans l'extrait (LUIS *et al.*, 2014). Ainsi, d'une façon plus générale, plusieurs études soulignent une activité accrue des composés phénoliques sur les bactéries Gram positif (MOUALEK, 2018).

Ces résultats concordent avec ceux de SALEH *et al.* (2024), qui rapportent des diamètres d'inhibition de (20 à 27 mm) pour *Staphylococcus aureus* avec un extrait aqueux d'E. globulus, ainsi qu'une zone de (9 à 12 mm) observée contre *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie Gram négatif. Par ailleurs, BENCHEIKH *et al.* (2020) ont observé une résistance d'*Escherichia coli* à ce même extrait. Enfin, bien que l'étude de YOUSSEF *et al.* (2015), ait été réalisée sur l'extrait aqueux d'Eucalyptus, avec un résultat de (17mm) pour *Bacillus cereus*, qui est similaire à la valeur obtenus dans notre travail pour l'espèce d'*Eucalyptus globulus*.

Cependant, certaines études, rapportent des résultats contradictoires concernant l'effet d'E. globulus sur certaines bactéries. DEZSI *et al.* (2015) observent une faible sensibilité d'*Escherichia coli* avec un diamètre de ($2,3 \pm 0,1$ mm). Ainsi, RAHMAN *et al.* (2017) ont confirmé une activité significative de l'extrait aqueux vis-à-vis *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, avec une relation effet-dose clairement observée. Cela signifie que l'inhibition bactérienne augmentait proportionnellement avec la concentration de l'extrait testé, suggérant une action cumulative des composés bioactifs.

Par ailleurs, la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux extraits d'E. globulus est en accord avec plusieurs travaux. BENCHEIKH *et al.* (2020), enregistré un diamètre de (19 à 23 mm) pour l'extrait aqueux. De plus, KHAN *et al.* (2009) et MAHMOOD *et al.* (2024) confirment l'activité de l'extrait éthanolique sur cette bactérie, confirment la sensibilité des bactéries Gram positif à l'extrait étudié.

De nombreuses études attribuent à *Eucalyptus globulus* une activité supérieure à des antibiotiques courants comme l'amoxicilline, la gentamicine. Cependant, d'autres travaux indiquent une efficacité similaire à celle de la tétracycline ou du chloramphénicol, suggèrent que son action peut varier selon les souches bactériennes et les conditions d'extraction (JAFARI et al., 2021).

L'utilisation de solvants de polarités différentes pour extraire la biomasse végétale permet d'obtenir des métabolites spécialisés aux propriétés et bioactivités distinctes. De plus, l'espèce végétale et son stade de développement influencent fortement l'activité antimicrobienne, car ils déterminent la composition du pool phytochimique extrait, dont les composés agissent via des mécanismes variés (PINTO et al, 2023).

Les diamètres des zones d'inhibition varient en fonction de plusieurs facteurs : la sensibilité du microorganisme cible, les caractéristiques de la plantes (genre botanique, partie utilisée, variations génétique), le potentiel antibactérien des composés bioactifs de l'extrait ainsi que leur capacité de diffusion dans le milieu gélosé (MOUALEK, 2018).

De plus, d'autres facteurs peuvent également influencer les résultats de ces études, comme la taille de l'inoculum, la taille du disque de papier ou la durée d'incubation (ULANOWSKA et al., 2007). Ainsi que, les conditions d'extraction (eau bouillie, rapport échantillon/solvant, temps, etc.), la provenance et les conditions de stockage de la matière première (ROCHA et al., 2024).

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la dernière ou la plus faible concentration d'un agent antimicrobien qui peut inhiber in vitro la croissance d'un microorganisme. Elle renseigne sur le potentielle bactériostatique de l'agent antibactérien utilisé.

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la littérature à cause des différences dans les méthodes utilisées, la quantité et la concentration des extraits testés. De plus, contrairement aux antibiotiques, il n'existe pas de norme claire pour définir si une souche est sensible ou résistante à ces extraits

Tableau 4 : résultats de la CMI

Souche	CMI (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	0,75
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579.	1,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	4,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ND

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de la recherche de nouvelles substances bioactives à potentiel thérapeutique, cette étude s'est intéressée à la valorisation des propriétés médicinales d'*Eucalyptus globulus*, une espèce couramment utilisée en médecine traditionnelle dans la région de Tizi-Ouzou. Nos travaux ont porté sur la caractérisation phytochimique et l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles de cette plante.

L'objectif principal était d'explorer son efficacité contre les souches bactériennes, contribuant ainsi à la valorisation des plantes médicinales par l'étude de leurs activités biologiques.

Afin d'évaluer le potentiel antibactérien de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus*, une étude préliminaire a été réalisée sur quatre souches bactériennes (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14579 et *Escherichia coli* ATCC 25922) par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats ont révélé une activité inhibitrice significative contre trois des quatre souches testées, à l'exception d'*Escherichia coli*. Les diamètres des zones d'inhibition variaient entre $9,5 \pm 1,1$ mm et $19,2 \pm 1,8$ mm, reflétant une sensibilité différentielle des bactéries à l'extrait.

Par ailleurs, le dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a mis en évidence une teneur élevée en composés phénoliques, avec une concentration de 170 ± 8 mg EAG/g ES. Cette richesse en polyphénols pourrait expliquer, en partie, l'activité antibactérienne observée, confirmant ainsi le potentiel thérapeutique de cet extrait végétal.

Cette étude confirme que l'*Eucalyptus globulus* est une plante médicinale d'intérêt majeur, dont l'extrait aqueux présente une activité antibactérienne remarquable contre plusieurs pathogènes, validant scientifiquement son utilisation ancestrale. Sa richesse en polyphénols et ses effets inhibiteurs observés en font un candidat prometteur pour le développement d'agents antimicrobiens naturels. Ces résultats renforcent le statut de cette espèce comme ressource phyto-thérapeutique de premier plan, justifiant des recherches approfondies pour exploiter pleinement son potentiel dans la lutte contre les infections bactériennes.

Références Bibliographiques

Références bibliographies

- **Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M.** (2020). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Trends in Plant Science*, 25(10), 1032–1049.
- **Aït Youssef, M.** (2006). *Eucalyptus globulus* L. In *Plante Médicinale de Kabylie* (pp. 126–130). Paris.
- **Amiri, M. S., Ramezani, M., Moghadam, A. T., Emami, S. A., Asili, J., Sadeghian, F., Rahnama, M., & Tayarani-Najaran, Z.** (2020). Therapeutic effect, chemical composition, ethnobotanical profile of *Eucalyptus globulus*: A review. *Letters in Organic Chemistry*, 17(10), 725–735.
- **Andersen, Ø. M., & Markham, K. R.** (2006). Flavonoids: *Chemistry, biochemistry, and applications*. CRC Press.
- **Ashok, P. K., & Upadhyaya, K.** (2012). Tannins are astringent. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(3), 45.
- **Bachir, R. G., & Benali, M.** (2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(9), 739–742.
- **Bencheikh, D., Gueddah, A., Soualat, K., Ben-aissi, H., Benslama, A., Harrar, A., & Khennouf, S.** (2021). Polyphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* L. and *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Applied Biological Sciences*, 15(1), 53–63.
- **Boizot, N., & Charpentier, J.-P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de INRA, Numéro spécial*, 79–82.
- **Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., & Madani, K.** (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products*, 41, 85–89.
- **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., & Mekarnia, M.** (2018). *Eucalyptus globulus* (Labill.): A perfume tree with several medicinal purposes. *Phytothérapie*, 16(Suppl. 1), 203–214.
- **Bruneton, J.** (2009). *Phytochemistry, medicinal plants* (4th ed.). Lavoisier.

- **Chen, L., Deng, H., Cui, H., Fang, J., Zuo, Z., Deng, J., Li, Y., Wang, X., & Zhao, L.** (2017). Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 8(5), 7204–7218.
- **Covis, R.** (2023). Les alcaloïdes, un moyen de défense chez les plantes et des vertus thérapeutiques chez l'homme. *Lemag' – La revue numérique de la Fondation de l'Université de Guyane*, 11, 41–44.
- **Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G.** (2000). Natural products (secondary metabolites). In *Biochemistry and molecular biology of plants* (Vol. 24, pp. 1250–1319). American Society of Plant Biologists.
- **Cerasoli, S., Caldeira, M. C., Pereira, J. S., Caudullo, G., & de Rigo, D.** (2016). *Eucalyptus globulus* and other eucalypts in Europe: Distribution, habitat, usage and threats. In J. San-Miguel-Ayanz, D. de Rigo, G. Caudullo, T. Houston Durrant, & A. Mauri (Eds.), *European Atlas of Forest Tree Species* (pp. e012b6+). Publications Office of the EU.
- **Cushnie, T. T., & Lamb, A. J.** (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343–356.
- **Dezsi, Ș., Bădărău, A. S., Bischin, C., Vodnar, D. C., Silaghi-Dumitrescu, R., Gheldiu, A.-M., Mocan, A., & Vlase, L.** (2015). Antimicrobial and antioxidant activities and phenolic profile of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Corymbia ficifolia* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson leaves. *Molecules*, 20(3), 4720–4734.
- **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W.** (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25.
- **Dzomba, P., & Muchanyereyi, N.** (2012). Potential antimicrobial plant extract-based therapeutic from *Temnocalyx obovatus* roots. *European Journal of Medicinal Plants*, 2(3), 209–215.
- **Eldahshan, O. A., & Singab, A. N. B.** (2013). Carotenoids. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(1), 225–234.
- **El Haci, I. A., Atik-Bekkara, F., Didi, A., Gherib, M., & Didi, M. A.** (2012). Teneurs en polyphénols et pouvoir antioxydant d'une plante médicinale endémique du Sahara algérien. *Phytothérapie*, 10(5), 280–285.

- **Erau, P.** (2019). *L'eucalyptus : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine* [Master's thesis, Université de Nantes]. DUMAS.
- **Eyles, A., Bonello, P., Ganley, R., & Mohammed, C.** (2010). Induced resistance to pests and pathogens in trees. *New Phytologist*, *185*(4), 893–908.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdely, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, *331*(5), 372–379.
- **Gardès, C., Goupy, P., & Dangles, O.** (2003). Les antioxydants : structure et mécanismes d'action. *L'Actualité Chimique*, (263), 30–36.
- **Ghaffar, A., Yameen, M., Kiran, S., Kamal, S., Jalal, F., Munir, B., Saleem, S., Rafiq, N., Ahmad, A., Saba, I., & Jabbar, A.** (2015). Composition chimique et évaluation *in vitro* des activités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles extraites de sept espèces d'eucalyptus. *Molecules*, *20*(11), 20487–20498.
- **Girard, M., & Bee, G.** (2019). Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal*, *13*(11), 2749–2759.
- **González Mera, I. F., González Falconí, D. E., & Morera Córdova, V.** (2019). Secondary metabolites in plants: Main classes, phytochemical analysis and pharmacological activities. *Revista Bionatura*, *4*(4), 11–19.
- **Gorham, J.** (1977). The biosynthesis of cinnamic acids in higher plants. *Phytochemistry*, *16*(2), 145–149.
- **Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V., Zamyatnin Jr, A. A., & Ikryannikova, L. N.** (2020). Les métabolites secondaires des plantes dans la lutte contre les médicaments et les bactéries résistantes : nouveaux héros ou pires clones des antibiotiques ? *Antibiotiques*, *9*(4), 170.
- **Gramza, A., & Korczak, J.** (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Trends in Food Science & Technology*, *16*(8), 351–358.
- **Guedes, B. N., Krambeck, K., Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Silva, A. M., & Santini, A.** (2024). Antibiotiques naturels contre la résistance aux antimicrobiens : sources et systèmes d'administration bioinspirés. *Brazilian Journal of Microbiology*, *55*, 2753–2766.

- **Hajji-Hedfi, L., Rhouma, A., Hlaoua, W., Dmitry, K. E., Jaouadi, R., Zaouali, Y., & Rebouh, N. Y.** (2024). Phytochemical characterization of forest leaves extracts and application to control apple postharvest diseases. *Scientific Reports*, *14*, 2014.
- **Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R.** (2015). The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: A review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, *6*(9), 635–642.
- **Iglesias-Carrasco, M., Torres, J., Cruz-Dubon, A., Candolin, U., Wong, B. B. M., & Velo-Antón, G.** (2025). Global impacts of exotic eucalypt plantations on wildlife. *Biological Reviews*.
- **Jafari, F., Ramezani, M., Nomani, H., Amiri, M. S., Moghadam, A. T., Sahebkar, A., Emami, S. A., & Mohammadpour, A. H.** (2021). Therapeutic effect, chemical composition, ethnobotanical profile of *Eucalyptus globulus*: A review. *Letters in Organic Chemistry*, *18*, 419–452.
- **Jafari, F., Ramezani, M., Nomani, H., Amiri, M. S., Moghadam, A. T., Sahebkar, A., Emami, S. A., & Mohammadpour, A. H.** (2020). Therapeutic effect, chemical composition, ethnobotanical profile of *Eucalyptus globulus*: A review. *Current Organic Chemistry*, *24*(16), 1795–1813.
- **Jamil, K., Asimuddin, M., Ranawat, B., & Rao, C.** (2017). Estimation of antibacterial activity of plant extracts from *Phyllanthus emblica*, *Terminalia chebula*, and *Eucalyptus globulus* against oral pathogens. *International Journal of Dentistry and Oral Health*, *3*(9), 100–104.
- **Juergens, U. R., Engelen, T., Racké, K., Stöber, M., Gillissen, A., & Vetter, H.** (2004). Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, *17*(5), 281–287.
- **Khan, R., Islam, B., Akram, M., Shakil, S., Ahmad, A., Ali, S. M., Siddiqui, M., & Khan, A. U.** (2009). Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi-drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, *14*(2), 586–597.
- **Kesharwani, V., Gupta, S., Kushwaha, N., Kesharwani, R., & Patel, D. K. M.** (2018). A review on therapeutics application of eucalyptus oil. *International Journal of Herbal Medicine*, *6*(6), 110–115.

- **Kumar, N., & Goel, N.** (2019). Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370.
- **Kumar, S., & Pandey, A. K.** (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, Article ID 162750.
- **Li, H. B., Cheng, K. W., Wong, C. C., Fan, K. W., Chen, F., & Jiang, Y.** (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102(3), 771–776.
- **Li, H. B., Wong, C. C., Cheng, K. W., & Chen, F.** (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants. *LWT—Food Science and Technology*, 41(3), 385–390.
- **Luís, Â., Neiva, D., Pereira, H., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P.** (2014). Stumps of *Eucalyptus globulus* as a source of antioxidant and antimicrobial polyphenols. *Molecules*, 19(10), 16428–16446.
- **Macheix, J.-J., Fleuriet, A., & Billot, J.** (2005). *Fruit phenolics*. CRC Press.
- **Mahmood, M. H., Hasan, A. S., & Abdulameer, S. J.** (2024). The activity of eucalyptus leaves extract against some bacteria isolated from cattle minced meat in Diyala Province. *Diyala Journal for Veterinary Sciences*, 2(4).
- **McGettigan, P., & Henry, D.** (2013). Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs that elevate cardiovascular risk: An examination of sales and essential medicines lists in low-, middle-, and high-income countries. *PLOS Medicine*, 10(2), e1001388.
- **Moualek, I., Aiche, G. I., Guechaoui, N. M., Lahcene, S., & Houali, K.** (2016). Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Arbutus unedo* aqueous extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), 937–944.
- **Moualek, I.** (2018). *Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'Arbutus unedo de la région de Tizi-Ouzou* [Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].
- **Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., & Wink, M.** (2011). Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, 17(13), 1061–1066.
- **Nile, S. H., & Keum, Y. S.** (2018). Composition chimique, activités antioxydantes, anti-inflammatoires et antitumorales d'*Eucalyptus globulus* Labill. *Indian Journal of Experimental Biology*, 56, 734–742.

- **Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R.** (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- **Pandey, K. B., & Rizvi, S. I.** (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8149–8160.
- **Panossian, A.** (2023). Challenges in phytotherapy research. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1199516.
- **Pawlowska, A. M., Camangi, F., & Braca, A.** (2006). Qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds in Lamiaceae plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6314–6320.
- **Pinto, M., Soares, C., Andreani, T., Fidalgo, F., & Tavares, F.** (2023). *Eucalyptus globulus* leaf aqueous extract differentially inhibits the growth of three bacterial tomato pathogens. *Plants*, 12(8), 1727.
- **Pollastri, S., & Tattini, M.** (2011). Flavonols: Old compounds for old roles. *Annals of Botany*, 108(7), 1225–1233.
- **Puig, C. G., Reigosa, M. J., Valentão, P., Andrade, P. B., & Pedrol, N.** (2018). Unravelling the bioherbicide potential of *Eucalyptus globulus* Labill: Biochemistry and effects of its aqueous extract. *PLOS ONE*, 13(2), e0192872.
- **Raho, G. B.** (2021). Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oils. In A. Méndez-Vilas (Ed.), *Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs* (pp. 68–73). Formatex Research Center.
- **Rahman, L. Q., Surchi, B. Q. I., & Khudhur, P. K.** (2017). Anti-microbial and antioxidant effect of water extract of *Eucalyptus globulus* and *Quercus persica* plants on gram positive and gram-negative bacteria. *Diyala Journal for Pure Sciences*.
- **Reguieg, L.** (2011). Using medicinal plants in Algeria. *American Journal of Food and Nutrition*, 1(3), 126–127.
- **Rira, M.** (2019). *Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production de méthane entérique par les ruminants en milieu tropical* [Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne]. HAL Archives-Ouvertes.
- **Rocha, V., Ferreira-Santos, P., Aguiar, C., Neves, I. C., & Tavares, T.** (2024). Valorization of plant by-products in the biosynthesis of silver nanoparticles with antimicrobial and catalytic properties. *Environmental Science and Pollution Research*, 31, 14191–14207.

- **Saddi, M., Sanna, A., Cottiglia, F., Chisu, L., Casu, L., Bonsignore, L., & De Logu, A.** (2007). Antiherpesvirus activity of *Artemisia arborescens* essential oil and inhibition of lateral diffusion in Vero cells. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 6(1), Article 10.
- **Saleh, N., Abdu, H. U., & Yusuf, I.** (2024). Disinfectant activity of *Eucalyptus globulus* leaves extracts against MRSA and ESBL-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from hospital environment. *Bima Journal of Science and Technology*, 8(2), 65–73.
- **Schofield, P., Mbugua, D., & Pell, A.** (2001). Analysis of condensed tannins: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1–2), 21–40.
- **Shala, A. Y., & Gururani, M. A.** (2021). Phytochemical properties and diverse beneficial roles of *Eucalyptus globulus* Labill.: A review. *Horticulturae*, 7(11), 450.
- **Souilah, N.** (2018). *Étude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien* [Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri Constantine 1].
- **Stéphane, F. F. Y., Jules, B. K. J., Batiha, G. E.-S., Ali, I., & Bruno, L. N.** (2022). Composés de plantes médicinales. In *Plantes médicinales naturelles* (p. 147). Wiley Online Library.
- **Thilakarathna, S. H., & Rupasinghe, H. P. V.** (2013). Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*, 5(9), 3367–3387.
- **Tim, P., & Andrew, L.** (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 343–356.
- **Tsakni, A., Kyriakopoulou, E., Letsiou, S., Halvatsiotis, P., Rigopoulos, H., Vassilaki, N., & Houhoula, D.** (2025). In vitro determination of antimicrobial, antioxidant, and antiviral properties of Greek plant extracts. *Microorganisms*, 13(1), 177.
- **Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jakóbkiewicz-Banecka, J., & Węgrzyn, G.** (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62(2), 132–135.
- **Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X.** (2020). Advances in pharmacological activities of terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3), 1–13.

- **Youssef, M. S., Saber, S. M., Hassane, A. M. A., & Arafa, R. F.** (2015). Evaluation of antibacterial activities of some Egyptian medicinal plant extracts. *Journal of Ecology of Health & Environment*, 3(3), 49–57.
- **Zouine, N., El Ghachtouli, N., El Abed, S., & Koraichi, S. I.** (2024). A comprehensive review on medicinal plant extracts as antibacterial agents: Factors, mechanism insights and future prospects. *Scientific African*, 26, e02395.

Annexes

Annexes :

Réactifs et solutions	Verreries et autres matériels	Appareillage
<ul style="list-style-type: none"> • Folin-Ciocalteu • Carbonate de Sodium (NaCO₃) • Acide gallique • Eau distillée • Eau physiologique • Antibiotique 	<ul style="list-style-type: none"> • Bécher • Erlenmeyer • Fiole jaugée • Entonnoirs • Burette de graduation • Boîtes pétri • Pipettes pasteur • Micropipette de : 100 μl 1000 μl • Ecouvillons • Papiers Wattman 6mm • Papiers filtre • Seringues • Verre de montre • Spatules • Passoire • Tubes à essai • Eppendorfs 	<ul style="list-style-type: none"> • Etuve • Spectrophotomètre • Bain marie • Autoclave • Dessiccateur • Broyeur • Balance • Balance de Précision (0.0001) • Bec bunsen

Annexe 2 : milieux de cultures· **Milieu Mueller-Hinton (MH)**

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Amidon.....	1,7g
Agar.....	18g
PH=7,4	