REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Biotechnologie et Microbiologie appliquée

Présenté Par :

YAHIAOUI Fatma **ZEKKOUR Nesrine**

Thème

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et aqueux de *l'Eucalyptus sp*

Soutenu publiquement le : 19 / 06/2018., devant le jury composé de :

Mme **BOUKHALFOUN Leila**	MAA	Promotrice
Mr **BOUBAKRI Kamel**	MAA	President
Mr **RAHAL Mohamed**	MAA	Examinateur

Année Universitaire : 2017/2018

Dédicace

Je dédié le fruit de ce modeste travail et la félicité de cette réussite :

À toi maman, à ton grand amour, à ta tendresse et à tes prières qui m’a accompagné durant toute ma vie, tous les mots et toutes les langues ne pourront exprimer mon respect, ma fierté et mon amour à toi.

À toi mon père, mon héro et mon soutien dans cette vie, ma réussite aujourduit est grâce à toi, à ton encouragement et à ton amour.

A l’âme de ma grand-mère maternelle Meriem qui n’a jamais quitté ma mémoire et mon cœur À ma grand-mère paternelle fatma.

À mon frère Mohamed, le deuxième père de moi et ma force dans ma vie.

À mes sœurs Fouzia, Samira, Houria et soumia qui ont été toujours avec moi par leurs amours et leurs encouragements,

À mes nièces Yassmine et Jomana, et mes neveux Abdelghani, Mohamed amine et Malik.

À mon binôme Nesrine, qui a partagé avec moi la fatigue et le bonheur de cette réussite

À mes copines Zhour, Yassmin, Nora, Ibtissam et Manel.

Et à touts mes collègues.

Fatma

Dédicace

Je dédie ce Modeste travail

A mes parents

Pour leur amour, leur tendresse, tous leurs sacrifices et leur soutien tout au long de ma vie.

Merci d'être tout simplement mes parents

C'est à vous que je dois cette réussite

Et je suis fière de vous l’offrir

Que dieu vous protège et vous offre une vie pleine de joie, bonheur et de réussite

A mes chères sœurs et frères Nabila, Rima, Karim et Aymen

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

A ma tante Fatima Merci pour tout l'amour avec lequel vous m'avez toujours entouré, que ces quelques mots témoignent des sentiments tendres et chaleureux que j’éprouve pour vous

A mon binôme Fatma

Nesrine

Remerciements

*Avant tout chose nous tenons à remercier **Allah** de nous donner le courage la volonté et la patience pour réaliser ce travail*

*Nous exprimons nos profondes gratitudes à notre promotrice Mme **BOUKHALFOUN Leila** Pour son encadrement, ses précieux conseils, et les encouragements qui nous a permis de réaliser ce travail.*

*On tient à remercier les membres de jury : **Mr NACRI**. **R**, **Mr Achek**. **R** et **Mr RAHAL**.**M**qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire*

Un grand remercîment pour :

- *Le personnel de laboratoire pédagogique de la faculté des sciences de l'université YAHYA Fares Médéa.*
- *Le personnel de Laboratoire de recherche de Mme **BEHIDJ**, de l'université Ahmed BOUGARRA Boumerdes.*
- *Mr. HAMIDA Khaled Chef service de « Laboratoire de wilaya » deMédéa qui nous a permet de réaliser notre stage au sein de laboratoire.*
  Aux laborantines du laboratoire pour leur précieuse aide et assistance.
- *Mr. **AINES Mahfoud** pour son aide et ses conseils.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation et à tous les collègues de notre promotion.

Ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce projet.

Résumé

L'*Eucalyptus blakelyi* et l'*Eucalyptus cladocalyx sont* deux espèces végétales appartenant à la famille des *Myrtaceae,* le genre d'*Eucalyptus* est d'origine australien mais il est très répandu en Algérie et très connu par leur effet thérapeutique. Les extraits méthanoliques et aqueux des deux espèces d'*Eucalyptus* ont été préparés par macération en utilisant deux solvants: le méthanol et l'eau distillée dont les rendements de ces extraits sont 10.12% ; 15.82% respectivement pour *E.blakelyi* et 11% ; 19.76% pour *E.cladocalyx*. La mise en évidence des métabolites secondaires a été fait par un screening phytochimique dont les saponines, les flavonoïdes, les tanins et les alcaloïdes ont été présents dans les extraits méthanolique, et les coumarines dans les extraits méthanolique et aqueux des deux espèces, avec une absence totale des protéines et des polytèrpènes dans les deux espèces.

L'activité antimicrobienne de ces extraits a été testée sur 11 souches microbiennes selon la méthode de diffusion de disque sur gélose Müller Hinton pour les bactéries et PDA pour les champignons ; dont les 11 souches microbiennes testées (*S.aureus* ATCC et isolé, *E.coli* ATCC et isolé, *B.subtilis*, *K.oxycota*, *E.feacalis*, *L.innocua*, *P.aurugenosa*, *C.albicans* et *Rhizopus sp* ont été sensible vis-à-vis les deux extraits de l'*Eucalyptus blakelyi* avec une forte sensibilité remarqué chez *B.subtilis* (19,66± 0,94 ; 16±2,44) et *C.albicans* (25,66±3,29 ; 20±5,09) vis-à-vis de l'extrait méthanolique et aqueux respectivement. Pour l'*Eucalyptus cladocalyx* uniquement8 souches microbiennes (*S.aureus* ATCC et isolée, *E. coli* ATCC et isolée, *k .oxycota*, *Bacilus subtilis*, C.albicans et Rhizopus sp) ont été sensibles aux extraits méthanoliques et (*S.aureus* ATCC, *E.coli*ATCC,*B.subtilis*, *C.albicans* et *Rhizppus sp*) aux extraits aqueux.

Mots clés :

Eucalyptus blakelyi, *Eucalyptus cladocalyx*, extrait méthanolique, extrait aqueux, screening phytochimique, activité antimicrobienne.

Abstract

Eucalyptus blakelyi and *Eucalyptus cladocalyx* are two plant species belonging to the family *Myrtaceae*, the genus *Eucalyptus* is of Australian origin but it is widespread in Algeria and very known by their therapeutic effect. The methanolic and aqueous extracts of the two Eucalyptus species were prepared by maceration using two solvents: methanol and distilled water whose yields of these extracts are 10.12%; 15.82% respectively for *E.blakelyi* and 11%; 19.76% for *E. cladocalyx*. The secondary metabolites present in these extracts were evidenced by a phytochemical screening whose saponins, flavonoids, tannins and alkaloids were present in the methanolic extracts, and the coumarins in the methanolic and aqueous extracts of the two species, with a complete absence of proteins and polyterpenes in both species.

The antimicrobial activity of these extracts was tested on 11 microbial strains according to the Müller Hinton agar disk diffusion method for bacteria and PDA for fungi; of which the 11 microbial strains tested (*S.aureus* ATCC, *S.aureus* isolé, *E.coli* ATCC, *E.coli* isolé, *B.subtilis*, *K.oxycota*, *E.feacalis*, *P.aerugenosa*, *C.albicans* and *Rhizopus sp*) were sensitive to the two extracts of *Eucalyptus blakelyi* with a high sensitivity noticed in *B.subtilis* (19.66 ± 0.94, 16±2.44) and *C.albicans* (25.66±3.29, 20±5.09) relative to the methanolic and aqueous extract respectively. For *Eucalyptus cladocalyx* only 8 microbial strains (*S.aureus* ATCC and isolated, *E. coli* ATCC and isolated, *K.oxycota*, *Bacilus subtilis*, *C.albicans* and *Rhizopus sp*) where sentive to the methanolic extractand (*S.aureus* ATCC, *E.coli* ATCC, *B. subtilis*, *C. albicans* and *Rhizppus sp* to the aqueous extract

Key words:

Eucalyptus blakelyi, *Eucalyptus cladocalyx*, methanolic extract, aqueous extract, phytochemical screening, antimicrobial activity.

ملخص

يعتبر *Eucalyptus blakelyi* و *Eucalyptus cladocalyx* نوعان نباتيان ينتميان إلى عائلة *Myrtaceae*، صنف الأوكاليبتوس هو من أصل استرالي لكنه جد منتشر في الجزائر و معروف جدا بمزاياه العلاجية، تم تحضير المستخلصات الميثانولية و المائية بواسطة النقع و ذلك باستعمال محلولين: الميثانول و الماء المقطر حيث أن مردودية هذه المستخلصات هي 10.12 % و 15.82 % على التوالي بالنسبة لل *Eucalyptus blakelyi* و 11 % و 19.76% بالنسبة لل *Eucalyptus cladocalyx*.

تم الكشف عن مواد الأيض الثانوية المجودة في هذه المستخلصات عن طريق الفحص الفيتو كيميائي حيث اثبت وجود الصابونين،الفلافونويدات،العفص،والقلويدات في المستخلصات الميثانولية والكومارينات في المستخلصات الميثانولية والمائية لكلا نوعا الأوكالبتوس مع غياب تام للبروتينات والتربانويد لكلا النوعان.

تم تجريب نشاط هذه المستخلصات المضاد للميكروبات على 11 سلالة ميكروبية بطريقة انتشار الأقراص على وسط صلب (وسط ميلار هينتون بالنسبة للبكتيريا وبوتايتوس ديكستروز اغار بالنسبة للفطريات) حيث أن

مستخلصات *Eucalyptus blakelyi* كانت مؤثرة على جميع السلالات الميكروبية *S.aureus* ATCC) *S.aureus* isolé, *E.coli* ATCC, *E.coli* isolé, *B.subtilis*, *K.oxycota*, *E.feacalis* *P.aerugenosa*, *C.albicans*, و *Rhizopus sp* (وأكبر تأثير قد لوحظ على *B. subtilis* (44،2±16; 66،19±0،94) و(20± 5،09 ;25،66±3،29) *C. albicans* تجاه المستخلصات الميثانولية و المائية على التوالي، أما بالنسبة لل 8 سلالات *Eucalyptus cladocalyx* ميكروبية فقط (*B.subtilis*، *K.oxycota*، *E.coli* ATCC et isolé، *S.aureus* ATCC et isolé، *C.albicans* و *Rhizopus sp*) كانت حساسة تجاه المستخلصات الميثانولية و (*S.aureus* ATCC, *E.coli* ATCC، B.subtilis، C.albicans و *Rhizopus sp*) التي كانت حساسة للمستخلصات المائية.

الكلمات المفتاحية :

Eucalyptus cladocalyx المستخلص الميثانولي، المستخلص المائي، الفحص ، *Eucalyptus blakelyi*،

الفيتوكيميائي ، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

ATCC : American type culture collection

ATF : Antifongique

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

C° : Degré Celsius

catalase + : Catalase positif

catalase - : Catalase négative

C.albicans : *Candida albicans*

C4H : Cinnamate 4-hydroxylase

CH2O : formol

CuSO4 : sulfate de cuivre

Cm : centimètre

D : dose

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

E. balekyi : *Eucalyptus blakelyi*

E. cladocalyx : *Eucalyptus cladocalyx*

EB aq=EBD : Extrait aqueux d'*eucalyptus blakelyi*

EB m : Extrait méthanolique d'*eucalyptus blakelyi*

EC aq=ECD : Extrait aqueux d'*eucalyptus cladocalyx*

EC m : Extrait méthanolique d'*eucalyptus cladocalyx*

***E. coli* :** *Escherichia coli*

E. féacalis : *Entérocoques féacalis*

EPSP : établissement publique de la santé à proximité

FeCl3 : Chlorure ferrique

FPP : Farnésyl diphosphate

g : gramme

Gram+ : Gram positif

Gram- : Gram négatif

H : Heure

H2SO4 : Acide sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

I : l'iode

INRF : Institut National de la Recherche Forestière

k. oxycota : *klebsela oxycota*

KI : l'iode de potassium

L.innocua : *Listeria innocua*

m : métré

MH : Muller-hinton

Min : Minute

ml : millilitre

mm : millimètre

MeOH : méthanol

NaOH : hydroxyde de sodium

NH4OH : ammoniaque

Nm : nanomètre

Oxydase+ : Oxydase positif

P. aeruginos : *Pseudomonas aeruginosa*

PAL : phénylalanine ammonia-lyase

PDA : potatose dextrose agar

RHI : Rhizopus

S : Souche

***S. aureus* :** *Staphylococcus aureus*

XIXe :19 eme siècle

XX : 20 eme siècle

% : pourcentage

µm : micro mètre

Liste des tableaux

Tableau 01 : la sensibilité et la résistance des souches microbiennes selon les diamètres d'inhibition …….…... 39

Tableau 02 : Aspects, couleurs et rendements des extraits d'*Eucalyptus blakelyi* et *eucalyptuscladocalyx (résultat)* ……..…... 41

Tableau03 : les résultats des screening des résidus ...……..……. 42

Tableau04 : les résultats de screening de la poudre …… 43

Tableau 05 : l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E.blakelyi*….. 45

Tableau 06 : l'activité antibactérienne des extraits aqueux de l'*E.blakelyi*…….……. 45

Tableau 07 : l'acticité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E.cladocalyx*……. 46

Tableau 08 :l'acticité antibactérienne des extraits aqueux de l'*E.cladocalyx*……. 46

Tableau 09 : l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*E.blakelyi*……..…... 49

Tableau 10 : l'acticité antifongique des extraits aqueux de l'*E.blakelyi*……50

Tableau 11: l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*E.cladocalyx*…... 50

Tableau 12: l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*E.cladocalyx*.....50

Liste des figures

Figure 1 : fruits, graines, feuilles, fleurs et étamines d'*Eucalyptus*……..…..… 14

Figure 2 : l'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus blakelyi*..... 16

Figure 3 : les fleurs et les bourgeons de l'*Eucalyptus blakelyi*..... 17

Figure 4 :l'arbre adulte et les feuilles de l'*Eucalyptus cladocalyx*……... 19

Figure 5 :les fleurs et les fruits de l'*Eucalyptus cladocalyx*…….…….…….20

Figure 6 : la macération ……..……...…31

Figure 7 : la filtration…….....31

Figure 8 : Rotavapeur pour l'évaporation du solvant ……...…..31

Figure 9 : préparation des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx*

et *Eucalyptus blakelyi*……. 32

Figure 10 : l'ensemencement des suspensions microbiennes dans les milieux gélosés ……..... 36

Figure 11: la préparation des suspensions bactériennes dans de l'eau physiologique.. 37

Figure 12 :schéma récapitulatif de la préparation des dilutions des extraits. ……..... 37

Figure 13 : l'ensemencement des suspensions microbiennes dans des boites gélosées ……...…. 39

Figure 14 : le dépôt des disques dans les boites de pétries ……...……...……. 39

Figure 15 :l'aspect des extraits méthanoliques et aqueux respectivement de l'*E. blakelyi* et l'*Eucalyptus cladocalyx* 40

Figure 16: Un histogramme qui représente les rendements des différents extraits méthanolique et aqueux des deux espèces d'*Eucalyptus*……...…. 41

Figure 17 : les résultats positifs du screening des extraits méthanoliques d'*E.blakelyi* et *E.cladocalyx*……...……. 43

Figure 18 : les résultats positifs du screening des extraits aqueux d'*E.blakelyi* et *E.cladocalyx*……..... 44

Figure 19 : les résultats positifs du screening de la poudre d'*E.blakelyi* et *E.cladocalyx* ….…….. 44

Figure 20 : les souches les plus et les moins sensibles aux extraits méthanolique et aqueux d'*E.blakelyi* ……..…..47

Figure 21 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*Eucalyptus blakelyi*……...……. ..47

Figure 22 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi*……...……..48

Figure 23 : Les espèces sensibles aux extraits méthanolique et aqueux de l'*E.cladocalyx ... 48*

Figure 24 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*Eucalyptus cladocalyx*……... 49

Figure 25 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*E.cladocalyx*…. …….49

Figure 26 :les souches fongiques sensibles aux extraits méthanoliques et aqueux d'*E.blakelyi*……..…… 51

Figure 27 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi*……...…. 51

Figure 28 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*Eucalyptus blakelyi*…… 51

Figure 29 : Les souches fongiques sensibles aux extraits méthanoliques et aqueux d'*E.cladocalyx*……...…. 52

Figure 30 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx*…….…. 52

Figure 31 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*Eucalyptus cladocalyx*……...…52

Figure 32 : Histogramme des analyses statistiques des extraits aqueux d'*E.blakelyi*…… 56

Figure 33 : Histogramme des analyses statistiques des extraits méthanolique d'*E.blakelyi*……..……..…. 56

Figure 34 : Histogramme des analyses statistiques des extraits aqueux d'*E.cladocalyx*……..... 57

Figure 35 : Histogramme des analyses statistiques des extraits méthanolique d'*E.cladocalyx*……..….. 57

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Première partie : Etude bibliographique

Introduction……...……1

Chapitre I : les plantes médicinales et la phytothérapie

I-1 les plantes médicinales……...…...2

I-1-1- historique……....…...…….2

I-1-2- Définition…….....3

I-1-3- les caractéristiques des plantes médicinales ……...…3

I-1-4- domaines d'application des plantes médicinales……..……..…3

I-1-5- utiliser les plantes médicinales en toute sécurité…….……..…4

I-1-6- L'Intérêt de l'étude des plantes médicinales…….……...….. 4

I-2- la phytothérapie

I-2-1- Définition……5

I-2-2- les différents types de la phytothérapie……...…….…..5

I-2-3- Les avantages de la phytothérapie……..6

I-3- les métabolites secondaires des plantes…….6

I-3-1- les polyphénols ou composés phénoliques…….6

I-3-2- les terpenoïdes et les stéroïdes……9

I-3-3- les alcaloïdes…….10

Chapitre II- Etude des plantes sélectionnées

II-1- 1.Présentation du genre d'Eucalyptus

II-1-1- Historique……..…12

II-1-2- Origine de nom……..…12

II-1-3- classification…….....13

II-1-4- La description botanique…….…….....13

II-1-5- la récolte…….…….....14

II-1-6- la composition chimique……...…….....14

II-1-7- Historique de l'usage……...…….15

II-2- Présentation des espèces étudiées………….....15

II-2-1- ***Eucalyptus blakelyi***……..15

II-2-1-1- Origine de nom……..……...15

II-2-1-2- Classification…..……...15

II-2-1-3- Description botanique…….….16

II-2-1-4- Floraison et graines…….….17

II-2-1-5- Répartition géographique…….….17

II-2-1-6- L'sage de l'espèce…….…17

II-2-2- ***Eucalyptus cladocalyx***…….....18

II-2-2-1- Origine de nom……..……18

II-2-2-2- Classification…….……18

II-2-2-3- Description botanique…….……...…18

II-2-2-4- Floraison et graines……..…….19

II-2-2-5- Répartition géographique……..20

II-2-2-6- L'sage de l'espèce…….……20

Chapitre III- l'activité antimicrobienne

III-1- Généralité sur les microorganismes……...…….21

III-1-1- les bactéries …….21

III-1-2- les champignons……...……22

III-2- les agents antimicrobiens……..22

III-2-1-les agents chimiques……..22

III-2-2-les agents physiques…….…….22

III-2-3- les antibiotiques…….……..23

III-2-4- Classification des antibiotiques……..23
III-3-le mode d'action des agents antimicrobiens……..23
III-3-1-action germicide……...……...….23
II-3-2-Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)…….23
III-4- la résistance bactérienne et fongique vis-à-vis des antibiotiques…….…..24
III-4-1- Les différents types des résistances microbiennes …….…..24
III-5- Activité antimicrobienne des extraits des plantes……...……25
III-6- les souches étudiées…….….25
Deuxième partie : étude expérimentale

I-Matériels et méthodes

I-1- matériel biologique
I-1-1- matériel végétale……..…….29
I-1-2- matériel microbiologique……..29
I-1-2-1- la conservation des souches……...30
I-1-2-2- les milieux de culture utilisés……....30
I-2- matériel non biologique……..30
I-3- préparation des extraits…….……30
I-3-1- mode opératoire……..……..30
I- 3-2- calcul du rendement……..……..32
I-4- screening phytochimique…….…….32
I-4-1- screening du résidu……..33
I-4-2- screening de la poudre…….34
I-5- l'activité antimicrobienne……....36
I-5-1- préparation des précultures……..……36
I-5-2- la préparation des dilutions des extraits……..37

I-5-3- tests antimicrobiens……..38

I-6- Analyse statistique……...39

II- résultats et discussion

II-1- résultats…….40

II-1-1- Extraction……40

II-1-2- l'Analyse phytochimique qualitative……..……41

II-1-3- l'activité antimicrobienne……...……44

II-2- discussion…….53

Conclusion……..60

Référence

Annexe1

Annexe 2

Annexe 3

Annexe 4

Introduction

Introduction

Depuis l'apparition de la vie sur la terre, les plantes étaient un moyen pour se nourrir, mais avec l'apparition des maladies, l'homme a découvrit les vertus thérapeutiques des plantes médicinales qui ont été utilisées pour soulager et guérir toutes sorte de maladies sans savoir les molécules responsables de la guérison.

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles et leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires. **(yahiyaoui, 2005)**

La science moderne a pu préciser le secret thérapeutique des plantes ; ce sont les métabolites secondaires ; dont Environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes : digitaline, quinine, morphine, colchicine, artémisinine… Pourtant, moins de la moitié des plantes aujourd'hui ont été étudiées pour leurs propriétés thérapeutiques (**chaabi, 2008).** Actuellement le développent de la résistance microbienne aux antibiotiques et les troubles sanitaires des agents antimicrobiens ont puisé les chercheurs à retourner vers la médecine traditionnelle en utilisant des agents antimicrobienne d'origine naturelle tels que les huiles et les extraits.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre '*Eucalyptus*, ce dernier est d'origine Australien mais il a été introduit en Algérie en 1850 par les français **(Mehani M, 2006)** ; il est très connu par leur richesse en métabolites secondaires et leur pouvoir thérapeutique surtout pour les bronchites chroniques, toux, catarrhes bronchiques, rhume, grippe, asthme, catarrhe vésical, affections purulentes de l'urètre et du vagin **(EL MANSOURI, 2013)** ; plusieurs études ont été faite sur plusieurs espèces d'eucalyptus en ce qui concerne l'étude phytochimique ou biologique (**Vasantharaj *et al*, 2013)** , et durant notre travail nous avons choisi deux autre espèces qui sont l'*Eucalyptus blakeily* et l'*Eucalyptus cladocalyx* .

Le présent travail a pour objectif d'extraire les molécules bioactif avec la mise en évidence de leurs présences ou leurs absences chez ces deux espèces, et d'évaluer leurs activités antimicrobiennes sur des microorganismes pathogènes.

Chapitre I

Les plantes médicinales et la phytothérapie

I-1- les plantes médicinales

Si l'on ne sait pas précisément ce que nos ancêtres mangeaient aux débuts de l'humanité il y a 5 à 7 millions d'années, il est certain que les plantes faisaient partie de leur alimentation quotidienne. Les végétaux leur étaient en effet indispensable pour la simple raison que le corps humain a impérativement besoin de vitamines, mais que contrairement aux plantes, il ne peut pas synthétiser lui-même ces substances et doit donc les intégrer dans sa nourriture. S'il en manque, il connaitra tout d'abord des symptômes de carence pouvant entrainer par la suite de graves problèmes de santé. Cependant les plantes ne représentaient pas uniquement une source importante de vitamines mais aussi elles peuvent soulager voire guérir un grand nombre des maladies **(HANS, 2007)**.

I-1-1- Historique

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile, rédigé par les Sumériens en caractères cunéiformes 3000 ans av. J.-C. Dans ce dernier sont mentionnées des drogues comme le saule, l'opium ou encore la jusquiame **(JULIEN, 1958).**

Il ya aussi un témoignage de l'utilisation des plantes médicinales figure sur un papyrus égyptien, daté d'environ 2000 ans avant J.C. Ainsi, en Inde et en Chine, la médecine faisait amplement appel aux herbes. Plus tard, la Grèce antique se distingue avec les 1ers thérapeutes, comme HIPPOCRATE. Ce médecin dispensa son enseignement sur l'ile de cos, il fut le 1er à mentionner des observations cliniques avec plus de 230 plantes. Puis les plantes furent classées par degré de toxicité, et THEOPHRASTE devint le botaniste le plus marquant de l'antiquité. Il nomma plus de 500 plantes et se livra à des expérimentations **(Callery, 1998 ; Wichtl et Anton, 1999 ;Sofowora, 2010).** Par la suite, DIOSCORIDE (herboriste grec) écrivit un recueil de plus de 500 plantes en 5 volumes. Cet ouvrage connu sous le nom de << Materia medica>> , fut publié pour la première fois en 1478 par l'imprimeur de Venise aldo Manuce. Il constitua la référence principale en Europe jusqu'au XVIII^{e} siècle, en rassemblant environ 600 plantes (genévrier, orme, pivoine, bardane, etc.). Une illustration est fournie avec le << Juliania Anicia codex >> qui présente des descriptions brèves de plantes, mais surtout des données concernant l'utilisation pratique de végétaux, le type d'indications et les médicaments. Au moyen âge, les écrits de GALIEN devinrent populaires. Beaucoup de ces 500 livres et manuscrits furent

détruits par un incendie, mais quelque 80 œuvres furent sauvées des flammes. Aujourd'hui, GALIEN est considéré comme l'un des médecins les plus renommés de l'Antiquité après HIPPOCRATE. Il traitait les maladies essentiellement par les plantes médicinales **(Callery, 1998 ; Wichtl et Anton, 1999 ;Sofowora, 2010).**

I-1-2-Définition

La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Farnsworth, 1986).**

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne **(ELQAJ M AHAMI et BELGHYTI. 2007).**

I-1-3-Caractéristiques des plantes médicinales

D'après **(Sofowora, 2010)**, une plante médicinale est :

- Plantes ou parties de plantes à usage médicinale dans des préparations galéniques (décoctions, infusions, etc..), comme l'écorce de bourdaine.
- Plantes utilisées pour l'extraction des substances pures soit pour usage médicinale direct ou pour l'hémi-synthèse de composés médicinaux (par exemple hémi-synthèse d'hormones sexuelles à partir de la diosgénine obtenue de tubercules de dioscorea).
- Aliments, épices et plantes de parfumerie à usage médicinale, comme le gingembre.
- Plantes microscopiques (actinomycètes) employées pour l'isolement de produits pharmaceutiques, en particulier d'antibiotiques. On peut citer l'ergot de seigle (*Claviceps purpurea*) ou *Streptomyces griseus*.
- Plantes à fibres (comme le coton, le lin, le jute) utilisées pour la préparation de pansements chirurgicaux.

I-1-4- Domaines d'application des plantes médicinales

I-1-4-1-Utilisation en médecine

En tant que médicament pour l'homme exemple : en urologie, dermatologie, gastrites aigues, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux **(SVOBODA et HAMPSON, 1999)**, en systèmes cardiovasculaires, ex : (Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine, est utile dans le traitement de l'athérosclérose) **(NARAYANA *et al.*, 2001),** drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires **(SVOBODA et HAMPSON, 1999 ; PEDNEAULT *et al.*, 2001 ; AMJAD HOSSAIN, 2005**), contre le diabète **(AMJAD HOSSAIN, 2005)** et les maladies du stress par leurs activités antioxydantes; tels le thé noir, le thé vert et le cacao et en plus de leur activité antimicrobienne, antivirale et antiparasitaire **(LEE *et al*., 2003)**.

I-1-4-2- En agriculture

L'arbre *Azadirachta indica*,qui se développe dans tout le subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh, de 12 à 18 mètres de hauteur avec un périmètre atteignant jusqu'à 1,8 à 2,4 mètres. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers, parasites) **(Amjad Hossain, 2005).**

I-1-4-3- En cosmétique :

Les plantes médicinales sont utilisées comme Produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène et des suppléments diététiques **(SMALLFIELD, 2001).**

I-1-5- utiliser les plantes médicinales en toute sécurité

Il serait faux et risqué de penser que l'utilisation des plantes médicinales est, contrairement à celle des médicaments pharmaceutiques, totalement sans danger. Au contraire, il convient d'utiliser les remèdes à base de plantes de manière très ciblée et de respecter précisément le dosage prescrit à fin d'éviter tout effet indésirable potentiellement dangereux pour la santé. En effet la capacité d'un remède à base de plantes dépend autant de la nature de chacune des substances actives des végétaux que de la quantité ingérée **(Hans, 2007).**

I-1-6- L'Intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi en médecines classiques qu'en phytothérapie ; elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus **(Iserin, 2001).**

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments ; non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs tous ça a rendu les facultés de pharmacie très intéressantes par les propriétés médicinales des plantes **(Decaux I, 2002).**

I-2- la phytothérapie

I-2-1- définition

Le mot "phytothérapie" se compose étymologiquement de deux racines grecques: *phuton* et *therapeia* qui signifient respectivement "plante" et "traitement".

La Phytothérapie avant tout se définit comme étant une discipline allopathique, fondée sur l'utilisation thérapeutique de la plante médicinale, qui est basée sur des connaissances issues de la tradition. Elle est destinée à prévenir ou à traiter certains troubles fonctionnels mineurs ou certains états pathologiques au moyen de plantes, de parties de plantes ou de préparations à base de plantes, qu'elles soient consommées ou utilisées par voie externe **(BELLAMINE, 2017).**

I-2-2- les différents types de la phytothérapie

D'après **(Strang, 2006**) La phytothérapie se divise en 5 types essentiels qui sont

I-2-2- 1- Aromathérapie : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

I-2-2- 2-Gemmothérapie : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicelles**.**

I-2-2-3-Herboristerie : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraiche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion,

macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule et de poudre de plante sèche que le sujet avale**.**

I-2-2-4-Homéopathie : a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale**.**

I-2-2-5- Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules et de lyophilisats.

I-2-3- Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroit, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. **(Iserin, 2001).**

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connait de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite **(Iserin, 2001).**

I-3- les métabolites secondaires des plantes

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléiques, lipides, protéines, acides aminée et glucides). Les plantes produisent en plus un grand nombre de composés qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures. Ces composés sont appelés métabolites secondaires **(Mohammedi, 2013).**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes, les alcaloïdes **(Lutge et *al.*, 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007).**

I-3-1- les polyphénols ou composés phénoliques:

I-3-1-1- Définition

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux,

Caractérisés par la présence d'au moins d'un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupement hydroxyle libre, ou engagé dans une autre fonction tels que : éther, ester, hétéroside…etc **(BRUNETON, 1999).**

En effet les composés phénoliques, constituent le groupe le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connus **(LUGASI *et al.*2003).**

I-3-1-2- classes des polyphénols

Les principales classes de composants phénoliques sont: les acides phénoliques (acide caféique, acide hydroxycinnamique, acide chlorogénique), les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, et les coumarines **(King, 1999), (Tapiero, 2002).** Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs: racine, tiges, feuilles, fleurs et fruits **(Boizot, 2006).**

I-3-1-2-1- les acides phénoliques

Les acides phénoliques, ou acides phénols sont des petites molécules qui ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols**,** Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature **(HASLAM, 1994).**

Ils possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique **(ISERIN *et al*. 2001)** et se divisent en deux classes: les dérivés de l'acide benzoïque (les acides hydroxy benzoïques) et les dérivés de l'acide cinnamique (les acides hydroxycinnamiques) **(PANDEY et RIZVI, 2009).**

-Acide phénols dérivés d'acide benzoïque :

Sont des hydroxybenzoiques qui ont une structure générale de base de type (C6-C1), ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les plus répandus sont: l'acide salicylique et l'acide gallique **(BRUNETON, 1999).**

-Acide phénols dérivés d'acide cinnamique :

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide synaptique. **(HASLAM, 1994)**

I-3-1-2-2- les flavonoïdes

Terme en latin ; flavus= jaune. Ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes **(WICHTL, 2009).**

Ils sont formés d'un squelette à 15 atomes de carbone (C6-C3-C6) correspondant à la structure du diphénylpropane **(santos-buelga et scalbert.2000)**. Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaine de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C)**.**

Ils sont généralement des antibactériens **(WICHTL, 2009).** Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales **(ISERIN *et al*. 2001).**

I-3-1-2-2-1- localisation et distribution

Les flavonoïdes possèdent une large répartition dans le monde végétal, ils sont distribués dans les feuilles, les graines, l'écorce et les fleurs des plantes **(Medic *et al*. 2005).**

Les formes hétérosidiques des flavonoïdes s'accumulent dans les vacuoles et selon les espèces, elles se concentrent dans l'épiderme des feuilles ou se répartissent entre l'épiderme et le mésophylle. Dans le cas des fleurs, elles sont concentrées dans les cellules épidermiques **(Bruneton, 1999).**

I-3-1-2-3- les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est lié à leur propriété de se combiner aux protéines. Leur poids moléculaire est compris entre 500 et3000 Da **(PARIS et HURABIELLE. 1981).**

Elles sont Caractérisées par leur astringence, ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse (**KANSOLE, 2009).**

I-3-1-2-3-1- localisation et distribution

Les tanins sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les conifères, les Fabacée et les rosacées **(GHESTEM *et al*. 2001).**

Ils peuvent exister dans divers organes: l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines **(KHANBABAE K and REE, 2001).**

I-3-1-2-4- Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de fève tonka (*Dipterix ordorota* Wild., Fabaceae), dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine, d'où fut isolée en 1982 **(Bruneton, 1993)**. Le squelette de base des coumarines est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone **(Ford, 2001).**

Les coumarines constituent une classe importante de produits naturels, elles donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraichement fauché. A l'exception des algues, ces composés sont les constituants caractéristiques du règne végétal chlorophyllien. Les familles les plus riches en coumarines sont : Légumineuse, Rutacées, Apiécées et Thymeleacées. Elles se trouvent dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines **(Guignard, 1998 ; Deina, 2003 ; Booth, 2004).**

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration et aussi selon l'espèce. Dans la cellule végétale elles sont principalement présentes sous forme glycosylée, cette glycosylation est une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques de ces molécules. Elles sont considérées comme des phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries **(Hoffman, 2003)**.

I-3-2- les terpenoïdes et les stéroïdes

I-3-2-1- Définition

Le terme terpène inventé par **Kekulé**, vient de leur origine historique de l'arbre de terebinth « *Pistacia Terebinthus* » **(Ayad, 2008).**

Le terme de terpénoïde est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale **(Malecky, 2005)**, synthétisés par les plantes, organismes marins, les champignons et même les animaux **(Benaissa, 2011).**

I-3-2-3- Classification

Selon le nombre d'unités isoprépniques qui les constituent, on distingue : les terpènes ou monoterpènes en C10, les sesquiterpènes en C15, les diterpènes en C20, les triterpènes C30, et les tétraterpènes C40 **(GUIGNARD, 1996).**

I-3-3- les alcaloïdes

I-3-3-1- définition

Le terme «alcaloïde» a été introduit par W. Meisner au début du XIXème siècle pour désigner des substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe al kaly : la soude et du grec eidos : l'aspect) (**Bruneton, 2009**) .Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui séparent les alcaloïdes des autres métabolites azotés naturels. **(Beddou, 2015).** La définition admise des alcaloïdes est celle donnée par Winterstein et Trier en 1910. Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose. Ils constituent un des plus grands groupes des métabolites secondaires avec prés de 10000 à 12000 différentes structures **(Roberts et Wink, 1998 ; Stockigt *et al*. 2002).**

I-3-3-2- classification

I-3-3-2-1- Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N- Oxyde **(Badiaga, 2011)**.

I-3-3-2-2- Les pseudo-alcaloïdes

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés **(Badiaga, 2011).**

I-3-3-2-3- Les proto-alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont solubles dans l'eau **(Badiaga, 2011).**

I-3-3-3- propriétés

Bien que beaucoup d'alcaloïdes soient toxiques (comme la strychnine ou l'aconitine), certains sont employés dans la médecine pour leur propriétés analgésiques (comme la morphine, la codéine), dans le cadre de protocole de sédation (anesthésie, atropine) souvent accompagnés des hypnotiques, ou comme agents antipaludéens (quinine, chloroquinine) ou agents anticancéreux (taxol, vinblastine, vincristine) **(Beddou, 2015).**

Chapitre II

Etude des plantes sélectionnées

II-1-Présentation du genre d'*Eucalyptus*

II-1-1- Historique

Le genre *Eucalyptus* est originaire de Tasmanie en Australie. Il fait partie de la famille des Myrtacées, son nom a pour origine les mots grecs: eu «bien» et kaluptos «couvert». Il fut décrit et baptisé en 1788 par le botaniste français l'HERITIER, après qu'il eut examiné des échantillons d'*Eucalyptus obliqua*, parmi les plantes australiennes récoltées par NELSON,

Dix-neuf espèces d'*Eucalyptus* avaient été nommées en 1800 et 28 en 1820 **(Bigendako, 2004).**

En 1840, 71 espèces d'*Eucalyptus* avaient reçu des noms et 149 en 1890. Depuis lors, des savants botanistes se sont succédés dans la description des espèces d'*Eucalyptus* et W. F. BLAKELY, assistant de MAIDEN, décrivait 500 espèces dont 138 variétés en 1938 **(Bigendako, 2004).**

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

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*E.camaldulensis,* mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donné des hybrides dont l'*Eucalyptus algériensis*. Dans les années 40 et 50, les Eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étages bioclimatiques humides et semi-arides. Dans ce cadre pas moins de 130 espèces ont été plantées sur le territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'*Eucalyptus* ont concerné notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers**(INF,1996).**

II-1-2- Origine du nom

D'après **(Serventy, 1968)** le mot « Eucalyptus » vient du grec ; **Eu** : « bien » et **kaluptos** :« couvert »

Noms communs: Gommier, gommier bleu, arbre au koala, arbre à la fièvre.

Noms vernaculaires:

Arabe : شجرةالكينا,كاليتوس

Français : Eucalyptus

Anglais: Eucalyptus, oïl of respiration

Allemagne :Eukalyptus

Espagne :Eucalipto

Italie : Eucalypto

Algerie :kalytous

II-1-3- Classification

Les *Eucalyptus* sont des angiospermes dicotylédones de la famille des Myrtacées.

La classification scientifique réalisée par l'AGP (Angiosperms Phylogeny Group) sur le genre *Eucalyptus* a permis de déterminer la systématique suivante **(Guignard, 2001)** :

Règne: Plantae

Sous règne: Angiosperme

Classe: Eudicots

Ordre : Myrtales

Famille: *Myrtaceae*

Genre: *Eucalyptus*

II-1-4-La description botanique

Les *Eucalyptus* sont des arbres qui peuvent pousser plus haut que 20 mètres à un tronc lisse et cendré.

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

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

Les feuilles bleutées ont une curieuse caractéristique: sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauques, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant. Les deux types de feuillage cohabitent dans les mêmes forêts, donnant l'impression qu'elles sont constituées d'arbres différents **(Serventyv, 1968).**

Les fleurs : sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge.

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

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

Les fruits : les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol **(Serventyv, 1968).**

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



Fig.01 : Fruits, graines, feuilles, Fleurs et étamines d'*Eucalyptus* **(Serventyv. 1968).**

II-1-5- La récolte :

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

II-1-6- Composition chimique

Le genre *Eucalyptus* renferme les principes suivants **(Iserin, 2001)** :

- Les huiles essentielles (cinéol, jusqu'à 80%).
- Flavonoïdes.
- Tanins.
- Résines

II-1-7-Histoire de l'usage

L'*Eucalyptus* est utilisé pour son exceptionnelle capacité à absorber l'eau du sol sur lequel il pousse, permettant d'assécher rapidement les marais qu'il colonise. Ils plaçaient une des extrémités d'une racine d'eucalyptus dans une mare d'eau et l'autre dans un récipient afin de remplir celui-ci grâce à l'action de pompe qu'il exerce. Ils utilisaient également les feuilles pour aider à soulager la fièvre et divers autres maux. Les pharmacopées chinoises, indienne et gréco-européennes ont rapidement intégré les usages médicinaux des feuilles d'*Eucalyptus* **(Kesbi Amrane, 2011).**

Au XIXe siècle, on utilisait l'huile essentielle pour désinfecter les cathéters urinaux dans les hôpitaux anglais. De nos jours, il entre dans la fabrication de rince-bouche et de dentifrices, de nombreuses préparations destinées à apaiser les voies respiratoires et dans des produits d'entretien, notamment comme dégraissant industriel **(Kesbi Amrane, 2011).**

II-2-Présentation des espèces étudiées

II-2-1- *Eucalyptus blakelyi*

II-2-1-1- Origine du nom (S.1) :

A-Noms communs :

En français : La gomme rouge de Blakely, la gomme rouge de forêt, la gomme rouge bourgeonnante blanche, la gomme rouge à bourgeons blancs.

En anglais :Blakely's Red Gum

B-Noms scientifiques : *Eucalyptus blakelyi.*

II-2-1-2- Classification

D'après **(S.1)** on classe l'espèce *Eucalyptus blakelyi* comme suit

Règne : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Classe : Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous –classe : *Rosidae*
Ordre : *Myrtales*
Famille: *Myrtaceae*
Genre : *Eucalyptus*
Espèce: *Eucalyptus blakeyli*

II-2-1-3-Description botanique

*Eucalyptus blakelyi*est un arbre de 25 m de haut qui Forme un lignotube.

Son écorce est lisse ou rugueuse à la base du tronc,de couleur gris pâle, crème et blanche avec des taches jaunes, roses, brunes ou orangées (**Maiden, 1917).**

Les feuilles juvéniles sont pétiolées, opposées pour quelques paires puis alternes, généralement ovales, de 4-10 cm de long et de 3,3-7 cm de large, généralement bleu-vert (**Maiden, 1917).**

Les Feuilles adultes sont en alternance, pétiolées avec un limbe lancéolé ou falciforme, de 6-20 cm de long et de 0,7-4,5 cm de large, à base effilée vers le pétiole, concolore, glacé ou terne, vert à bleu-vert (**Maiden, 1917).**

Son inflorescence est axillaire non ramifiée avec des pédoncules de 0,5-1,9 cm de long. Les bourgeons matures sont étroitement ovoïdes à fusiformes (0,8-1,4 cm de long, 0,3-0,6 cm de large), vert à crémeux ou glauque, les étamines sont dressées à anthères cuboïdes ou oblongues, la déhiscence se fait par fentes longitudinales (non confluentes), le stigmate est contondant avec un style long, le placenta contient6 rangées verticales d'ovules. Les fleurs sont de couleur blanche (**Maiden, 1917).**

Les fruits Pédicellés (pédicelles de 0,1-0,6 cm de long)s ont hémisphériques ou tronqué-globuleux, de 0,2-0,5 cm de long et 0,4-0,8 cm de large renfermant des disques surélevés, convexes ou obliques (**Maiden,1917).**

Les Graines sont de couleur noire, brune ou grise, de 0,5-1,5 mm de long, pyramidales ou cuboïdes, à surface dorsale dénoyautée (**Maiden, 1917).**

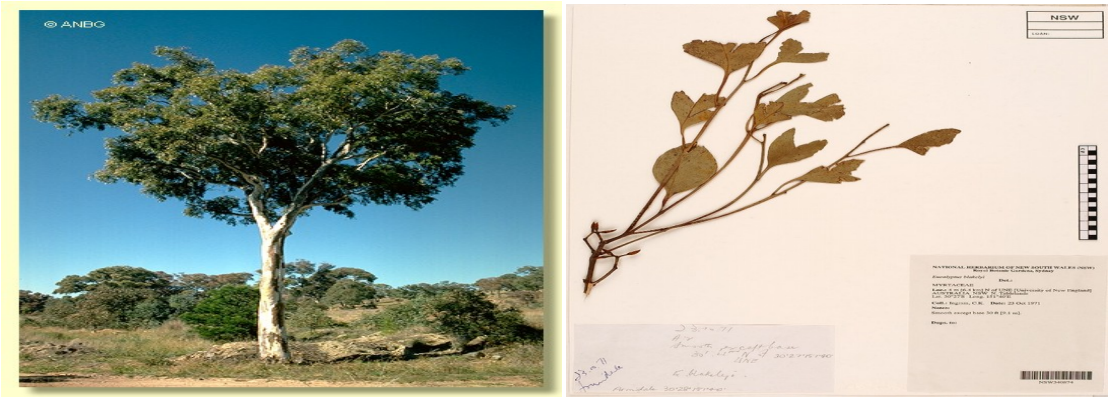


Fig.02 : L'arbre adulte et les feuilles de *l'Eucalyptus blakelyi* (**Maiden, 1917)**

II-2-1-4- Floraison et graines

Eucalyptus blakelyi fleurit principalement de novembre à décembre **(Boland et al, 2006 ; Clemson ,198 ; Gunn, 2001).** La floraison abondante chez cette espèce se produit sur un cycle de 2-3 ans, selon les conditions saisonnières. Les capsules de graines persistent sur les arbres jusqu'au mois d'été suivant. Il y a environ 600 graines viables par gramme ; les graines commencent à germer en environ 7 jours si elles sont cultivées à 25 ° C sans prétraitement requis **(Gunn, 2001).**



Fig. 03 : les fleurs et les bourgeons de l'*Eucalyptus blakelyi* (**Maiden, 1917).**

II-2-1-5- Répartition géographique

Eucalyptus blakelyi est une espèce d'arbre commune dans les zones boisées herbeuses des versants ouest des plateaux de Nouvelle-Galles du Sud de Victoria **(Boland et al, 2006 ; Slee et al, 2006)**. Dans le Queensland, il se trouve dans la région de Stanthorpe. Cette espèce peut atteindre jusqu'à 25 m de hauteur et préfère les terrains alluvionnaires, les terrains de moyenne montagne ou les dépressions avec des débits d'eau saisonniers **(Boland et al, 2006).**

II-2-1-6- L'usage de l'espèce :

-Utilisation potentielle dans la ferme : excellent brise-vent, bon pour les poteaux de clôture, brise-vent ou ombrage pour le bétail.

-Produits de spécialité : les fleurs produisent du nectar pour la production de miel, le pollen a une valeur pour l'apiculture.

-Valeur pour la faune : les fleurs sont particulièrement attrayantes pour les oiseaux.

-Produits en bois : bois artisanal (pour le tournage, etc.), revêtements de sol, bois de chauffage de haute qualité, poteaux (y compris les clôtures), bois de spécialité pour meubles de qualité. **(Pryor, 1955)**

II-2-2- *Eucalyptus cladocalyx*

II-2-2-1- Origine du nom (Brooker, 1990) :

A-Nom commun :

En français : Gomme à sucre

En anglais : Sugar gum

B-Nom scientifique : *Eucalyptus cladocalyx*

II-2-2-2- Classification

Selon **(Muell, 1853)** on classe l'espèce *Eucalyptus cladocalyx* comme suit :

Règne: *Plantae*
Division: *Magnoliophyta*
Classe: Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous –classe: *Rosidae*
Ordre: *Myrtales*
Famille: *Myrtaceae*
Genre: *Eucalyptus*
Espèce: *Eucalyptus cladocalyx*

II-2-2-3- Description botanique

*E cladocaly*est un arbre de taille moyenne de 20 m, mais il peut atteindrejusqu'à 10 à 35 m. Les tiges peuvent être claires aux deux tiers de la hauteur des arbres sur les sites les plus favorables, tandis que sur les sites les plus pauvres, les tiges ne sont claires que pour un tiers à la moitié de la hauteur totale et sont souvent tordues **(Brooker, 1990).**

L'écorce est lisse, formant de larges taches irrégulières produisant une surface marbrée de couleur jaune à orange, grise et bleu-gris **(Brooker, 1990).**

Il a un système racinaire étendu et compétitif.

Les feuilles juvéniles sont opposées pour quelques paires puis alternées, elliptiques puis orbiculaires de 5-6 x 7-9 cm, décolorées ou vert foncées **(Brooker, 1990; Nicolle, 1997).**

Les feuilles adultes sont largement lancéolées, fortement décolorées, avec une surface supérieure vert foncée et brillante et une surface inférieure terne et plus pâle, 11-15 x 2-2,4 cm **(Brooker, 1990; Nicolle, 1997).**

Les inflorescences sont axillaires, non ramifiées, sur les rameaux dépourvus de feuilles à l'intérieur de la couronne **(Brooker, 1990).**

Les fleurs sont blanches, à 7 fleurs ou plus dans chaque inflorescence.

Les bourgeons sont pédicellés, cylindriques ou contractés au-dessus du milieu, souvent nervurés, vert pâle ou crème, de 8-10 x 3-6 mm; l'opercule est court, hémisphérique, umboné, souvent légèrement plus large que l'hypanthium **(Brooker,1990).**

Les fruits sont sur des tiges, en forme de tonneau ou urcéolées, nervurées, de 9-15 x 6-10 mm avec 3-4 valves qui sont profondément enfermée **(Brooker,1990).**

La graine est gris-brun clair, ovoïde compressée, souvent pointue à une extrémité, légèrement bridée et presque lisse **(Brooker, 1990).**





Fig .04 :l'arbre adulte et les feuilles de *l'Eucalyptus cladocalyx* **(Muell,1853).**

II-2-2-4- Floraison et graines

Eucalyptus cladocalyx fleurit de janvier à avril **(Boland et al, 2006; Slee et al 2006)**. Les capsules de graines persistent sur les arbres jusqu'au moins l'été suivant. Il y a environ 150 graines viables par gramme ; les graines commencent à germer dans environ 5 jours si elles sont cultivées à 20 ° C sans prétraitement requis**. (Gunn, 2001).**



Fig. 05 : les fleurs et les fruites de *l'eucalyptus cladocalyx* **(Muell, 1853).**

II-2-2-5- La répartition géographique

E. cladocalyx est endémique de l'Australie-Méridionale où il se rencontre naturellement dans quatre régions isolées **(Boland et al, 1984)**. Régions d'occurrence naturelle, le sud de la chaîne des Flinders, péninsule d'Eyre et Kangaroo Island en Australie du Sud.On le rencontre comme essence dominante dansla foret sclérophylle sèche dans les parties les plus humides de son aire et comme élément de la savane boisée dans la partie la plus sèche. **(Pryor, 1955).**

II-2-2-6- L'usage de l'espèce

Utilisation potentielle à la ferme: brise-vent excellent, bon pour les poteaux de clôture, bons attributs ornementaux, brise-vent ou ombre pour le bétail.

Produits de spécialité: les fleurs produisent du nectar pour la production de miel où le pollen a de la valeur pour l'apiculture.

Usage urbain: bon comme plante ornementale ou d'agrément. **(Boland et al, 1984).**

Chapitre III

L'Activité antimicrobienne

III-1- généralité sur les microorganismes

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéo-muqueux**. (Kaufmann, 1997)**

<< Le microbe est un être vivant, infiniment petit, qui n'est visible qu'au microscope**>>**. C'est la définition du mot microbe donnée le 29 janvier 1894 par M.Roux, dans la première leçon < des microbes en général>, de son cour de microbiologie à l'Institut Pasteur à Paris. **(Camille, 2014)**

Les microbes sont très répandus dans la nature ; on les rencontre non seulement dans l'organisme, mais dans le milieu qui nous environne, dans l'air, l'eau, le sol…et ils se développent quand ils trouvent certaines conditions favorables d'humidité et de température**. (Camille, 2014)** .Ces micro-organismes furent tout d'abord classés dans le règne végétal. Mais dès 1866, un Allemand, Haeckel (zoologiste) va proposer la création du règne des protistes, à côté du règne végétal et du règne animal. Ce règne des protistes regroupe des organismes unicellulaires ou pluricellulaires qui sont dépourvus de différenciation cellulaire : algues, champignons, protozoaires et bactéries. Le terme de microbe, synonyme de protistes, ne sera prononcé en public pour la première fois qu'en 1878, par Sédillot, lors d'une séance de travail à l'Académie des sciences. Mais ce n'est qu'en 1937 que Chatton (protozoologiste) subdivisera ce règne en protiste supérieurs à cellules eucaryotes algues sauf algues bleu-vert, protozoaires et champignons) et en protistes inférieurs à cellules procaryotes (bactéries et algues bleu-vert). **(Camille, 2014)**

Au XXe siècle, la classification des êtres vivants évoluera : **(Camille, 2014)**

-Classification en 5 règnes selon Whittaker et Margulis en 1978 (*prokaryotae, protoctista, fungi*, *plantae* et *animalia).* Et classification en 3 domaines de Woese en 1990 fondée sur la biologie moléculaire (*archaea* ou archées, *bacteria* ou bactéries et *eucarya* ou eucaryotes*).*

III-1-1- les bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car ils ne possèdent pas de membrane nucléaire. Ce caractère les distingue des autres organismes unicellulaires classés parmi les eucaryotes (champignons, algues, protozoaires). Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1µm. On peut les

voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique (**Nauciel and Vildé , 2005)**

III-1-2- les champignons

Les champignons (font partie du règne des *fungi*) **(Camille, 2014)** sont des microorganismes filamenteux, dont l'élément structural est l'hyphe, plusieurs hyphes formant le mycélium ou thalle. **(Camille, 2014)**. Les champignons microscopiques ou mycètes se divisent en levures et moisissures **(Camille, 2014)**

-les levures : champignons unicellulaires, à reproduction asexuée par bourgeonnement. **(Camille, 2014)**

-Les moisissures : Les moisissures peuvent être définies comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles, dont la structure cellulaire est celle d'une cellule eucaryote classique. **(Nicklin *et al,* 2000)**

III-2- les agents antimicrobiens

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes. Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus forts que les dommages qu'elles causent à l'organisme; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme. **(Perry et *al,* 2002)**

Il existe différentes classes d'agents antimicrobiens : chimiques (oxydants, alcools, aldéhydes et gaz), physiques (température et rayonnement) et chimiothérapeutiques (antibiotiques). **(SAFFIDINE, 2015)**

III-2-1-les agents chimiques

Ils correspondent aux substances utilisées comme désinfectants et antiseptiques**.** **(Bousseboua, 2001)**

III-2-2-les agents physiques

De nombreux agents physiques exercent un effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes. Comme la chaleur, les radiations et d'autres agents moins agressifs, comme la dessiccation. **(Bousseboua, 2001)**

III-2-3- les antibiotiques

Les antibiotiques sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des microbes (bactéries, champignons, protozoaires) à très faibles doses, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieures. Cette propriété les distingue des antiseptiques. Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des microorganismes (moisissures : *Penicillium* et *Aspergillus* ou bactéries : des genres *Streptomyces* et *Bacillus*), mais sont inclus généralement parmi eux les dérives semisynthétiques et entièrement synthétiques. **(Nauciel, 2009**)

III-2-4- Classification des antibiotiques

Il existe plusieurs classifications des antibiotiques, elles sont basées sur le spectre d'action, la cible, ou la famille chimique. Cette dernière celle-ci est la plus fréquemment rencontrée. Les principales familles chimiques des antibiotiques sont: Bêtalactamines: pénicilline et céphalosporines; Aminosides: streptomycine, gentamycine; Chloramphénicol et thiamphénicol; Cyclines: tétracyclines, doxycycline. Macrolides et apparentés : érythromycine, oléandomycine. **(Cohen et Jacquot, 2001).**

III-3-le mode d'action des agents antimicrobiens

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique. **(LAHLAH, 2008)**

III-3-1-action germicide

Cette action caractérise les agents ayant une action létale sur les microorganismes. En fonction de la catégorie de microorganismes ciblés, les agents antimicrobiens exercent une action bactéricide (agent antibactérien), algicide (agent anti-algues), fongicide (agent anti-champignons), virucide (agent anti-virus) ou antiparasitaire (agent anti-protozoaires). **(Bousseboua, 2006)**

II-3-2-Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)

Dans ce cas, les agents inhibent la croissance du microorganisme sans le tuer (bactérie ou champignon). **(Bousseboua, 2006),** Les substances bactériostatiques inhibent temporairement le développement microbien, les microorganismes recommenceront à se développer dès que la concentration de la substance aura diminué ou dès que l'application du procédé physique sera interrompue. **(Guiraud, 1998)**

III-4- la résistance bactérienne et fongique vis-à-vis des antibiotiques

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens est un problème d'importance croissante en pratique médicale. Si l'apparition des premiers antibiotiques (sulfamide en 1953 puis pénicilline au lendemain de la seconde guerre mondiale) avait suscité un espoir de voir les maladies infectieuses à jamais jugulées, ce dernier fut déçu très rapidement par l'apparition de bactéries devenues résistantes. L'utilisation ultérieure d'autres antibiotiques (streptomycine, chloramphénicol, tétracycline et érythromycine par ordre chronologique d'utilisation) connut une évolution comparable. **(vaubourdolle, 2007)**

III-4-1- Les différents types des résistances microbiennes

On distingue deux types de résistance selon leur origine :

III-4-1- 1- La résistance naturelle

On parle de la résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique, c'est ainsi que, les bacilles à gram négatif sont naturellement résistant aux antibiotiques hydrophobes car ces molécules ont des difficultés à passer la membrane externe de leur paroi. **(Normak et Normak, 2002)**

III-4-1- 2-La résistance acquise

La résistance acquise survient lorsque, seules quelques souches d'une même espèce, normalement sensible à un antibiotique, deviennent résistantes. Cette résistance acquise par mutation ou par transfert de gènes. La résistance acquise par mutation est aussi qualifiée de résistance chromosomique. Le phénomène de mutation est conditionné par l'utilisation des antibiotiques. Ces derniers ne sont pas des agents mutagènes mais ils contribuent à sélectionner, de manière spontanée, des mutants résistants au sein d'une population bactérienne. En éliminant les bactéries sensibles, les antibiotiques permettent aux mutants résistants de se multiplier plus facilement. La cause principale de l'évolution et de l'extension des résistances aux antibiotiques et leur prescription à grand échelle en thérapeutique humaine. **(Goossens *et al*, 2006).**

III-5- Activité antimicrobienne des extraits des plantes

En raison de l'effet secondaire des produits chimiques antimicrobiens et de la résistance que les micro-organismes pathogènes établissent contre les antibiotiques, beaucoup d'attention a été prêtée aux extraits bruts des plantes qui commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives**. (G. Yakhlef et al, 2011).**

Des groupes de recherches ont étudié l'activité antimicrobienne des extraits de plantes médicinales telles que fennel (*Foeniculum vulgare*), peppermint (*Mentha piperita*), thyme (*Thymus vulgaris*), ils ont trouvé que ces extraits sont actifs non seulement contre les bactéries mai aussi contre les champignons, les levures et les virus, **(Jürgen et *al,* 2009)** d'autres groupes de chercheurs ont franchi une étape plus loin, ils ont isolé et identifié les métabolites responsables de l'activité antimicrobienne des extraits de plantes, cette étape constitue une plateforme pour plusieurs implications incluant l'industries pharmaceutique, la médecine alternative, et la thérapie naturelle. **(Huang et *al,* 2008).**

C'est le cas des polyphénols, notamment les flavonoïdes et les tannins qui sont reconnus par leur toxicité vis- à -vis des microorganismes. Le mécanisme de cette toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiens, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire. **(Cowan, 1999)**

III-6- les souches étudiées

III-6-1- *Staphylococcus aureus*

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif qui tendent à se grouper en amas. Une espèce, *Staphylococcus aureus* (staphylocoque doré), tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales **(Chambers, 1997),** elle appartient à la famille des *Staphylococcaceae*, il s'agit de cocci sphérique de 0.5 à 1 µm de diamètre, immobile, anaérobie facultatif en général, oxydase+ et catalase +. Les staphylocoques sont des germes ubiquistes qui peuvent vivre : en bactéries saprophytes dans la nature (sol, air, eaux, aliments…), en bactéries commensales sur la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux (mammifères). **(Camille. 2007)**.

III-6-2- *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie naturellement présente dans la flore intestinale. Si la plupart des souches de cette bactérie sont sans danger pour la santé, certaines sont à l'origine d'infections intestinales plus ou moins graves **(S.2).** C'est un bacille Gram négatif à extrémité arrondie appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* qui ont comme caractères commun une oxydase négatif, catalase positif **(Camille.2014),** il est chimio-organotrophe, parfois capsulé, possède une ciliature péritriche pour les espèces mobiles. Ce bacille fermente le glucose (avec ou sans production de gaz), il est aéro-anaérobies facultatifs et possède à la fois un métabolisme respiratoire et fermentatif **(LOUKIADIS, 2007)**

III-6-3- *Pseudomonas aeruginosa*

Les *Pseudomonas* (appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*) **(camille, 2014)** sont des bacilles à Gram négatif de l'environnement se comportent comme des bactéries opportunistes et sont souvent à l'origine d infections nosocomiales. Il s'agit souvent de bactéries résistantes à de nombreux antibiotiques. Une des plus redoutables est *Pseudomonas aeruginosa.* **(Philippon, 1995)** Il s'agit d'une bactérie mobile, à ciliature polaire monotriche, avec un type respiratoire aérobie stricte, oxydase positive en générale et catalase positive, **(camille, 2014)**, sa forme est Bâtonnet non sporulé, elle est ubiquiste et vit normalement à l'état de saprophyte dans l'eau et le sol humide ou sur les végétaux et résiste mal à la dessiccation. **(AOURAGHE, 2016)**.

III-6-4- *Bacillus subtilus*

C'est une bactérie qui appartient à la famille des *bacillaceae* et au genre *bacillus*, ce sont des bacilles à Gram positif en forme de bâtonnets, aérobie stricte, catalase positif et mobile par ciliature péritriche. Ces microbes forment des spores en période d'épuisement des nutriments. Et peuvent produire des antibiotiques pendant la sporulation. Elles se trouvent naturellement dans le sol et la végétation. **(S .3)**

Ces bactéries ne sont pas pathogènes. Elles peuvent contaminer la nourriture, cependant, elles entrainent rarement une intoxication alimentaire, et certains souches provoquent des pourritures dans les pommes de terre. **(S.3)**

III-6-5- *Enterococcus feacalis*

Enterococcus a longtemps été apparenté au genre *streptococcus* faisant partie de la famille *streptococcaceae*. Depuis 1984, une nouvelle famille a été créée : *enterococcacea*. Ce sont des coques ovoïdes gram + regroupés en diplocoques ou en petites chainettes d'environ quatre coques. Elles sont immobiles et non capsulés aéro-anaérobie facultatif avec un catalase négatif. **(S.4)**

Elle colonise l'appareil digestif et peut provoquer des infections potentiellement mortelles. Elle est particulièrement présente dans les hôpitaux, entrainant des maladies nosocomiales. Elle est par exemple responsable d'infections de la vessie, de la prostate et d'endocardites. Les infections ne sont pas simples à traiter car la bactérie présente une grande résistance aux antibiotiques. **(S.5)**

III-6-6-*Kleibsella oxycota*

Kleibsella oxycota est une bactérie qui appartient à la famille des *enterobacteriaceae* et au genre kleibsella. Il s'agit d'un bacille gram négatif assez grande (de 0.6 à 6 µm de longueur) se présente de manière isolée, ou groupée par deux ou en courte chaines. Elle est indole positif, immobile, caractérisée par des colonies muqueuses, capsulée, oxydase négatif. **(BEAUDOUX, 2009)**.

C'est une bactérie de l'environnement, isolé également chez l'homme et les mammifères. Elle n'est pas systématiquement pathogène pour l'homme. Elle colonise 1 à 2 % de la population sans engendrer des signes cliniques. Toutefois, pour les raisons encore mal élucidés, certains souches peuvent être à l'origine d'infections potentiellement graves, souvent à point de départ urinaire ou digestif. **(BEAUDOUX, 2009)**

III-6-7-*Listeria innocua*

Listeria innocua est l'une des six espèces appartenant au genre *Listeria*. Il est largement trouvé dans l'environnement (tel que le sol) et les sources de nourriture. Il peut survivre dans un pH et une température extrême, et une forte concentration de sel **(Buchrieser *et al*, 2003)**. C'est une bactérie Gram positive en forme de bâtonnet, ne forme pas de spore, et peut vivre individuellement ou s'organise en chaine avec d'autres bactéries. Il s'agit d'un mésophile, fonctionnant à une température optimale de 30-37C°.

Listeria innocua ressemble beaucoup à ces autres membres de la famille, les *Listeria monocytogene* pathogène. **(Buchrieser *et al,* 2003).** Mais comme son nom indique, elle est inoffensive pour les autres organismes. Il manque le locus de virulence de 10 Kb qui est nécessaire pour la pathogénicité. **(Jemmi et Stephan, 2006)**

III-6-8- *Candida albicans*

Candida albicans est une levure de forme variable ronde à allongées non pigmentée qui se reproduis par bourgeonnement multilatéral. Le pseudomycélium peut être absent, rudimentaire ou abondant. Parfois présence de vrai mycélium. **(S.6)**

Il s'agit d'un champignon microscopique, habituellement inoffensif et que nous retrouvons sans effet pathologique, au niveau des voies génitales, du tube digestif, de la bouche et sur la peau. Dans certains cas il peut devenir pathogène et provoquer une candidose, une infection fongique lorsque ce champignon atteint des organismes fragilisés dont les défenses immunitaires sont diminués, comme chez les personnes porteuses du virus de sida. **(S.7)**

III-6-9-*Rhizopus sp*

Rhizopus est un genre de champignons de la classe des *Zygomycetes*, un grand groupe de champignons qui se distinguent par leur mode de reproduction sexuée. Les champignons du genre *Rhizopus* sont souvent responsables de zygomycose (ou mucormycose), une infection causée par une colonisation par des champignons Zygomycetes. Ces champignons ont aussi quelques fonctions pratiques. Ils peuvent apparaître sous la forme d'agents pathogènes des plantes dans certaines régions du monde. Cela fait d'eux un groupe assez diversifié. **(S.8)**

Classiquement, les champignons *Rhizopus* ressemblent au coton, avec une couleur jaune à verte qui s'assombrie lorsque le champignon commence à produire des spores. **(S.8)** Une des formes les plus courantes de *Rhizopus* est la moisissure du pain. Ces champignons apparaissent également dans les fruits, en particulier les fruits à noyau, et dans les légumes, le sol et les matières fécales. **(S.8)**

Matériel et méthodes

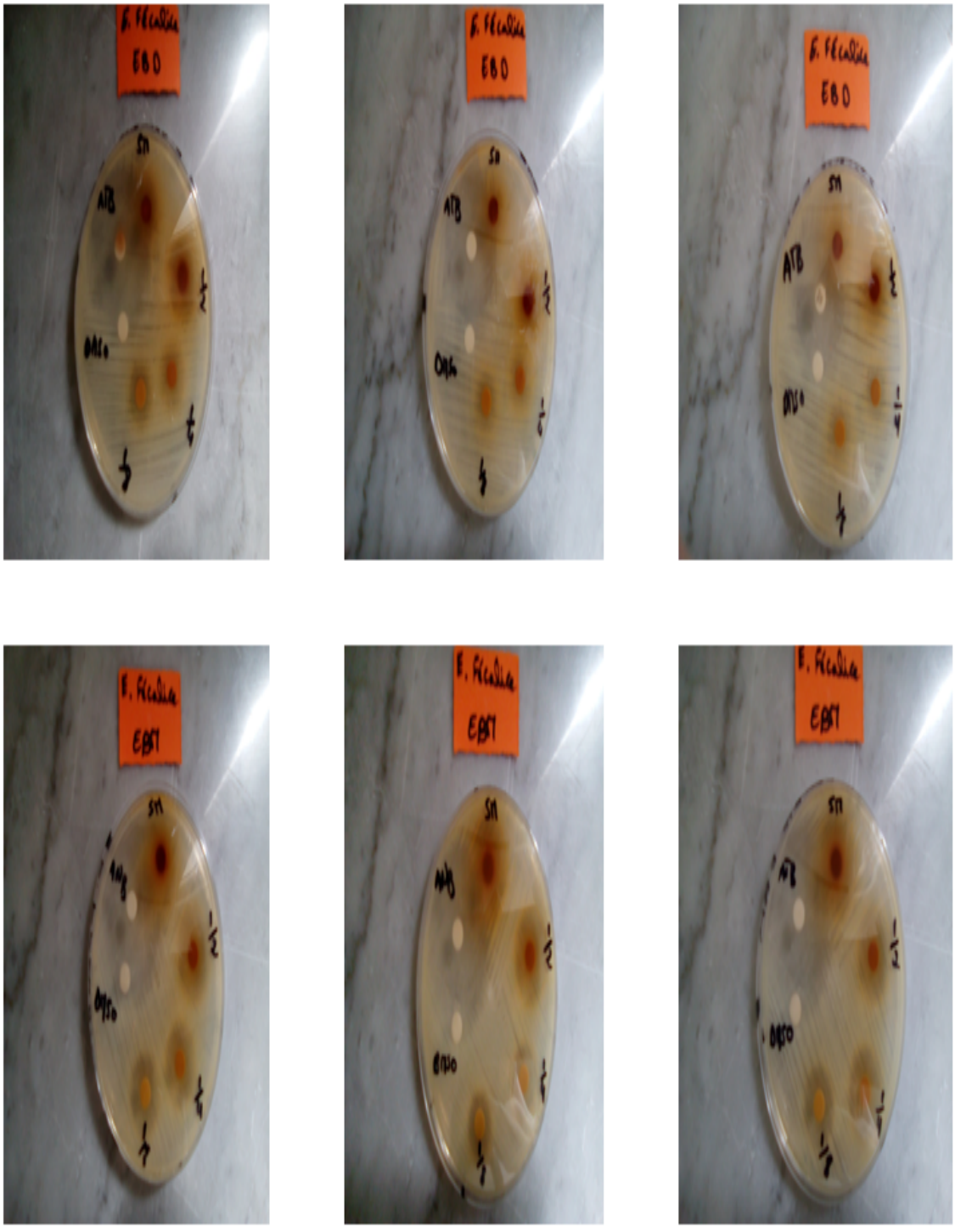


Fig. 15 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Enterococcus faecalis*

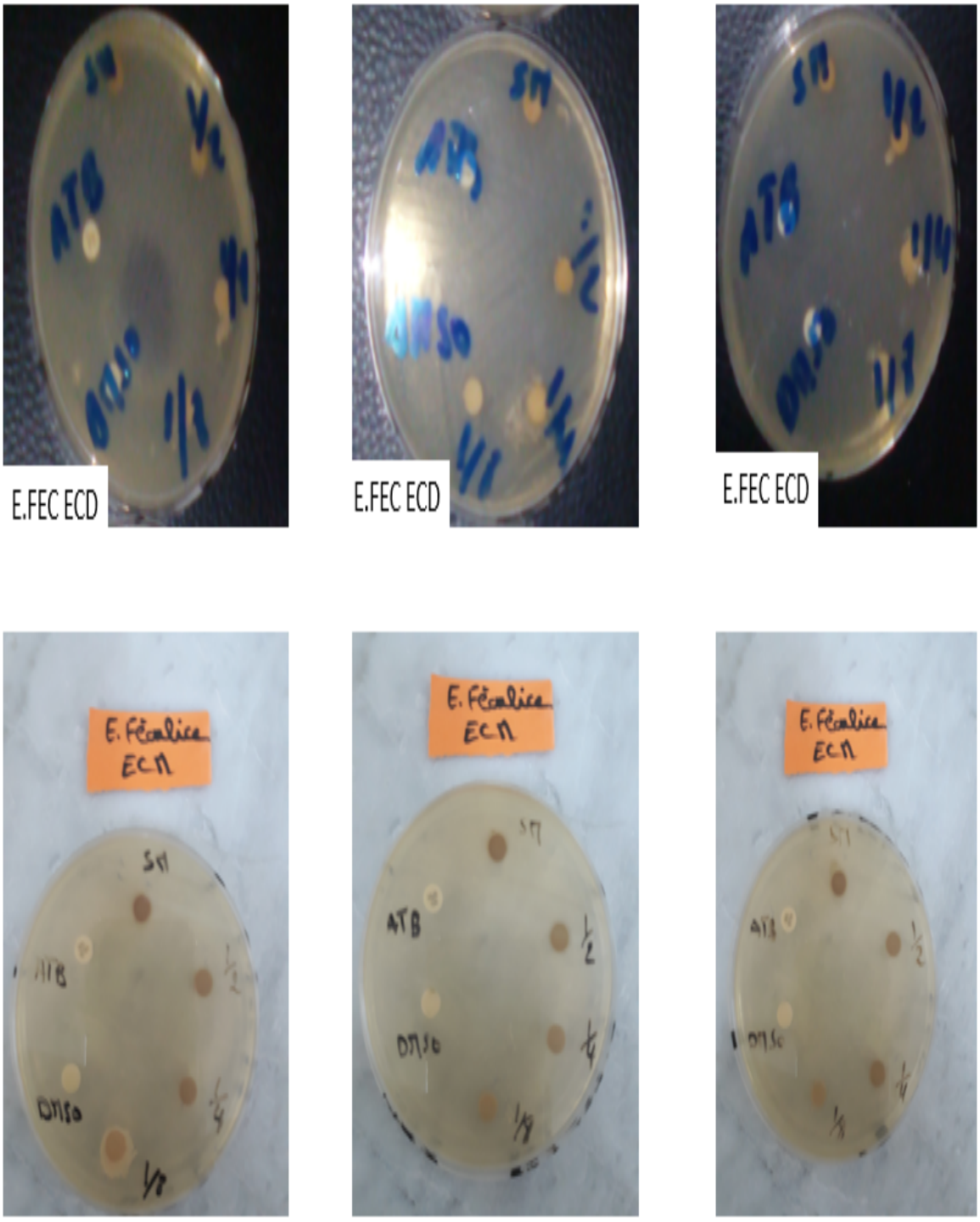


Fig. 16 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Enterococcus faecalis*

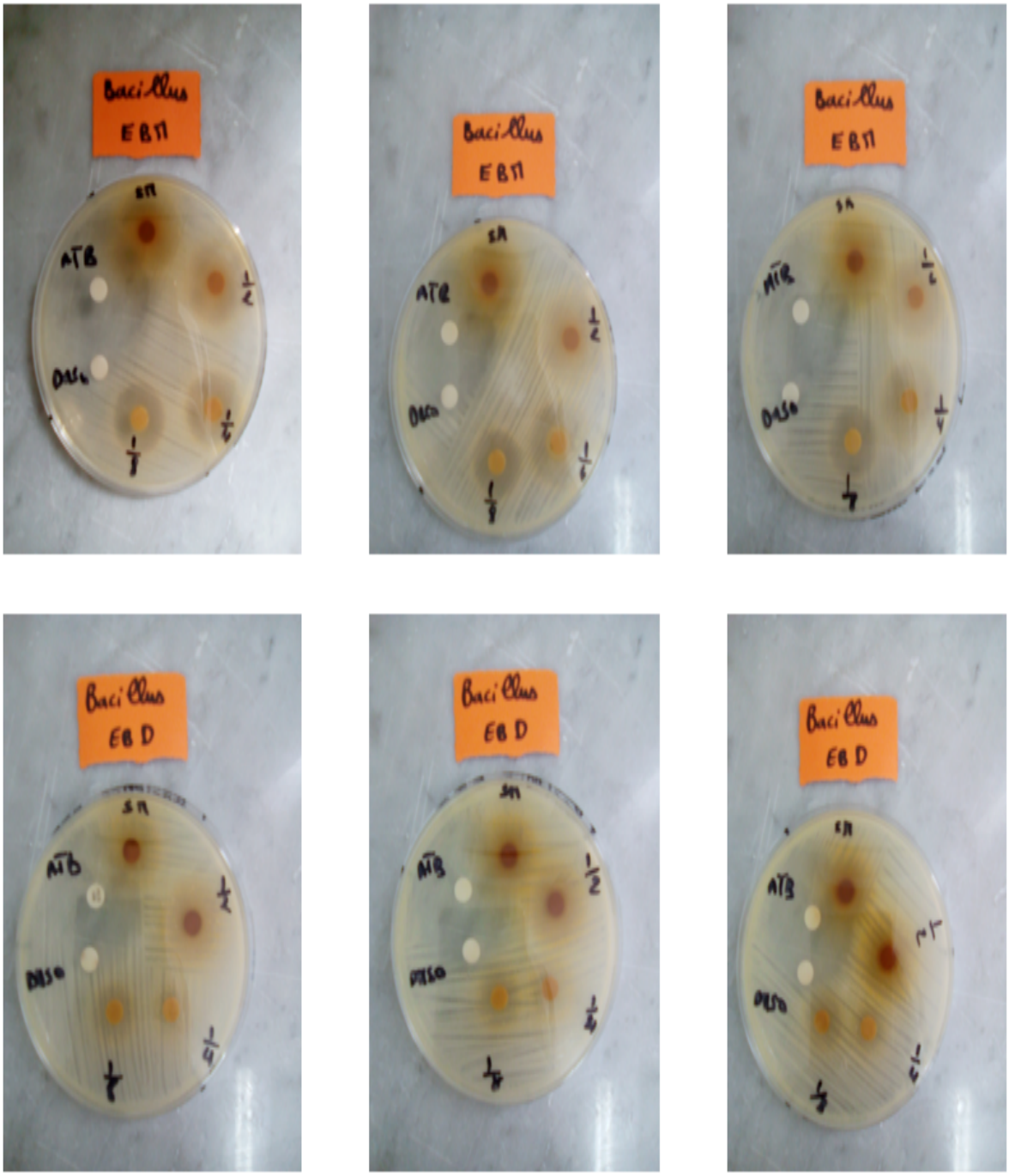


Fig. 17 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Bacillus subtilis*

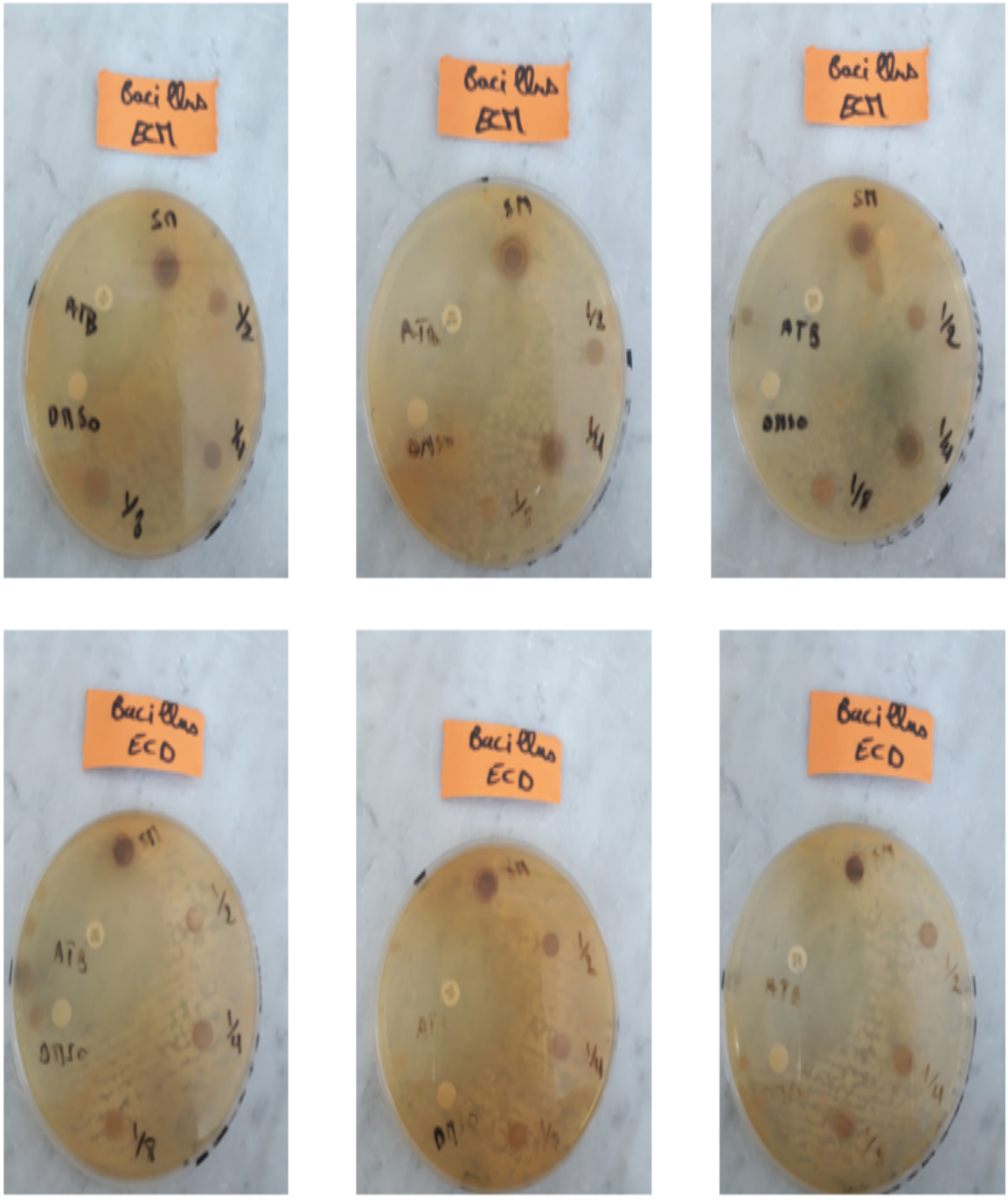


Fig. 18 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Bacillus subtilis*

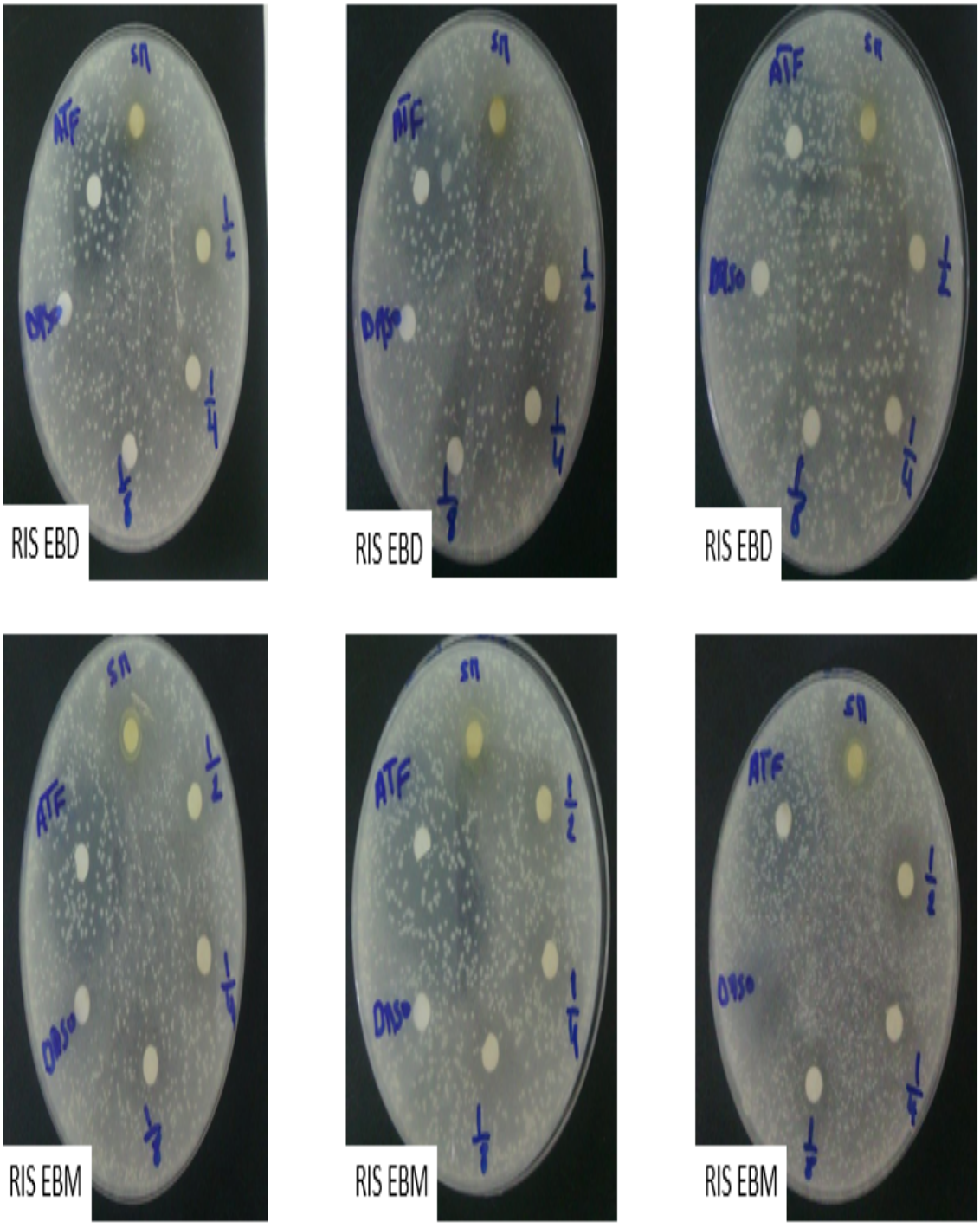


Fig.19: l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Rhizopus sp*

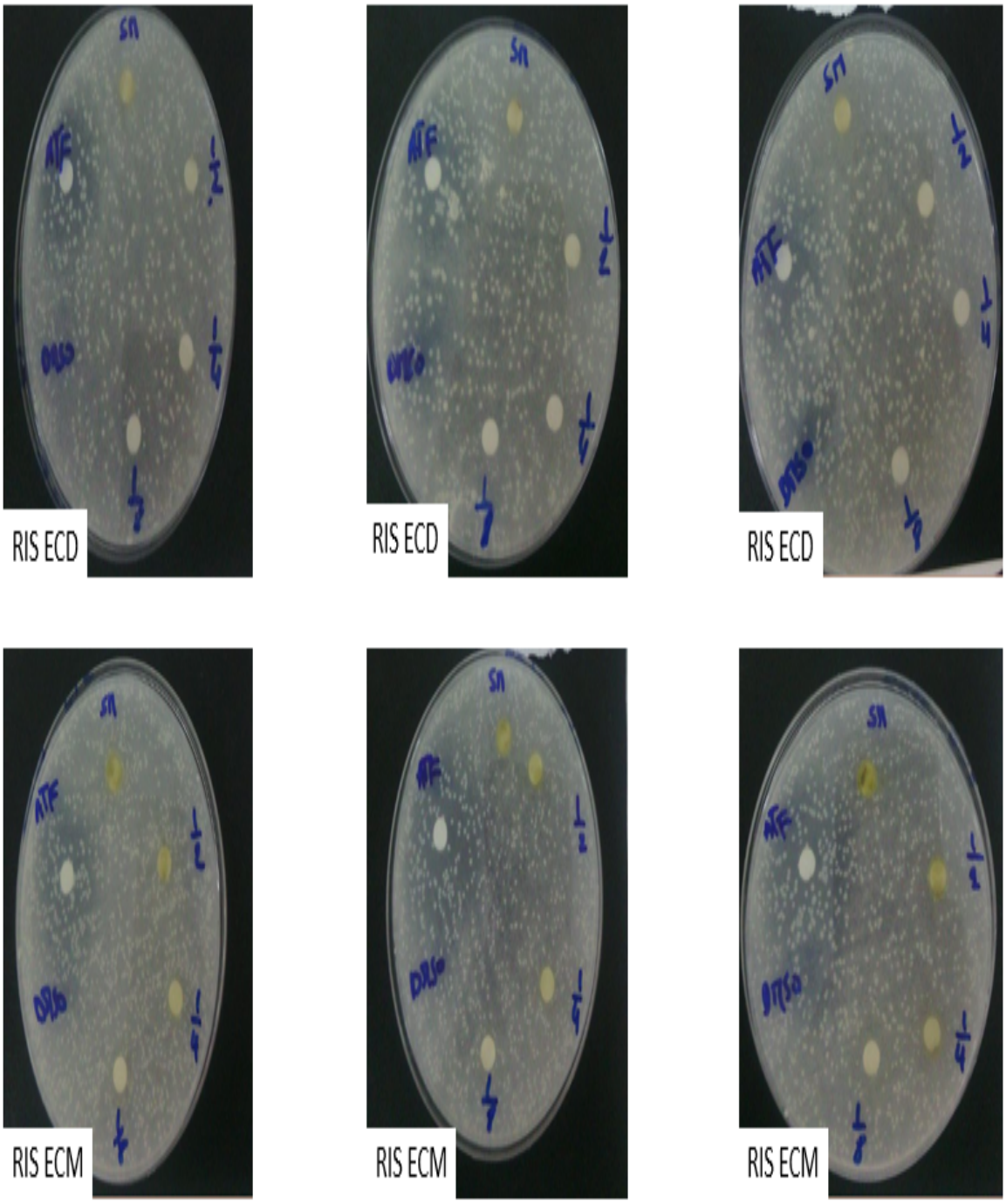


Fig. 20 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Rhizopus sp*

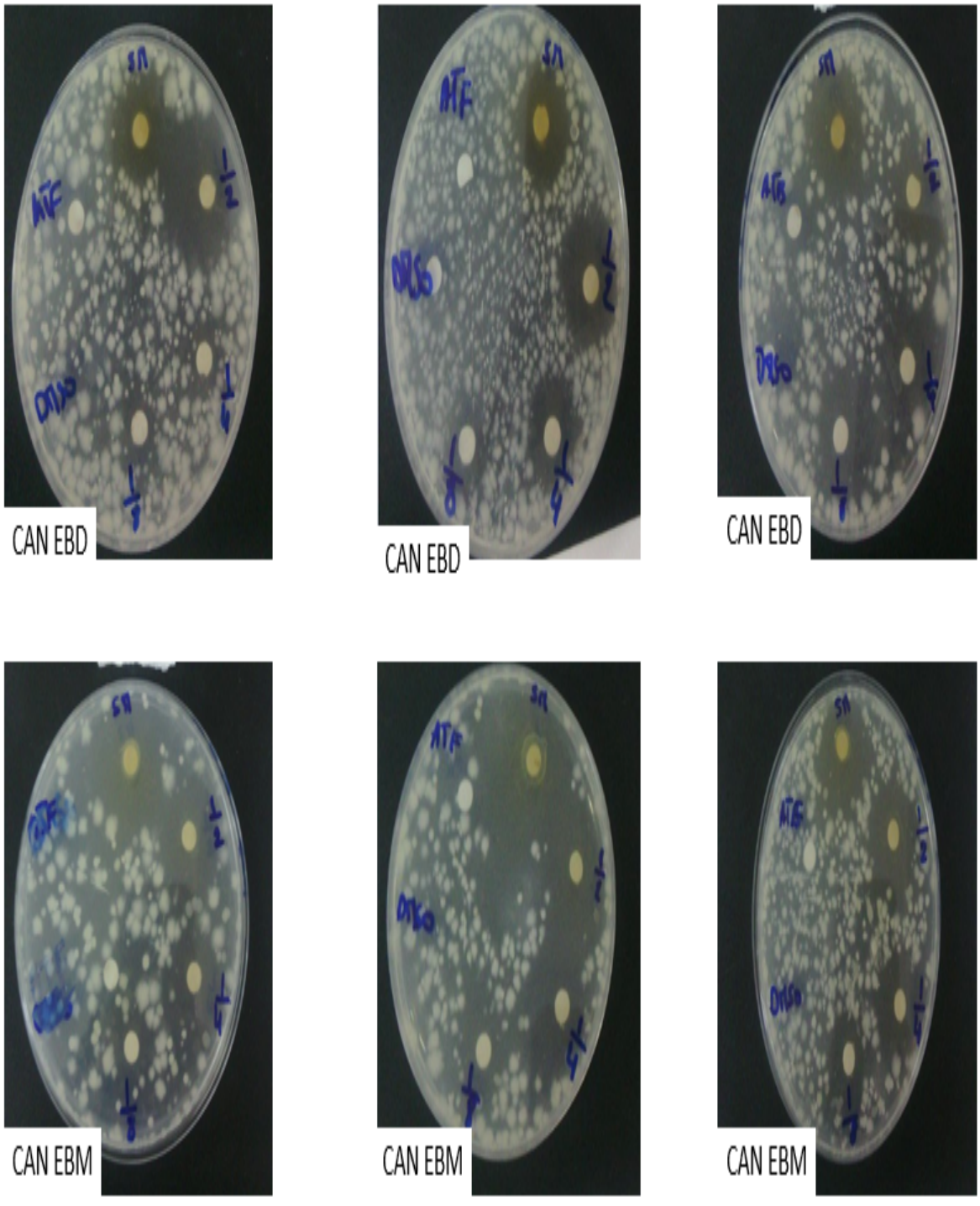


Fig. 21 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Candida albicans*

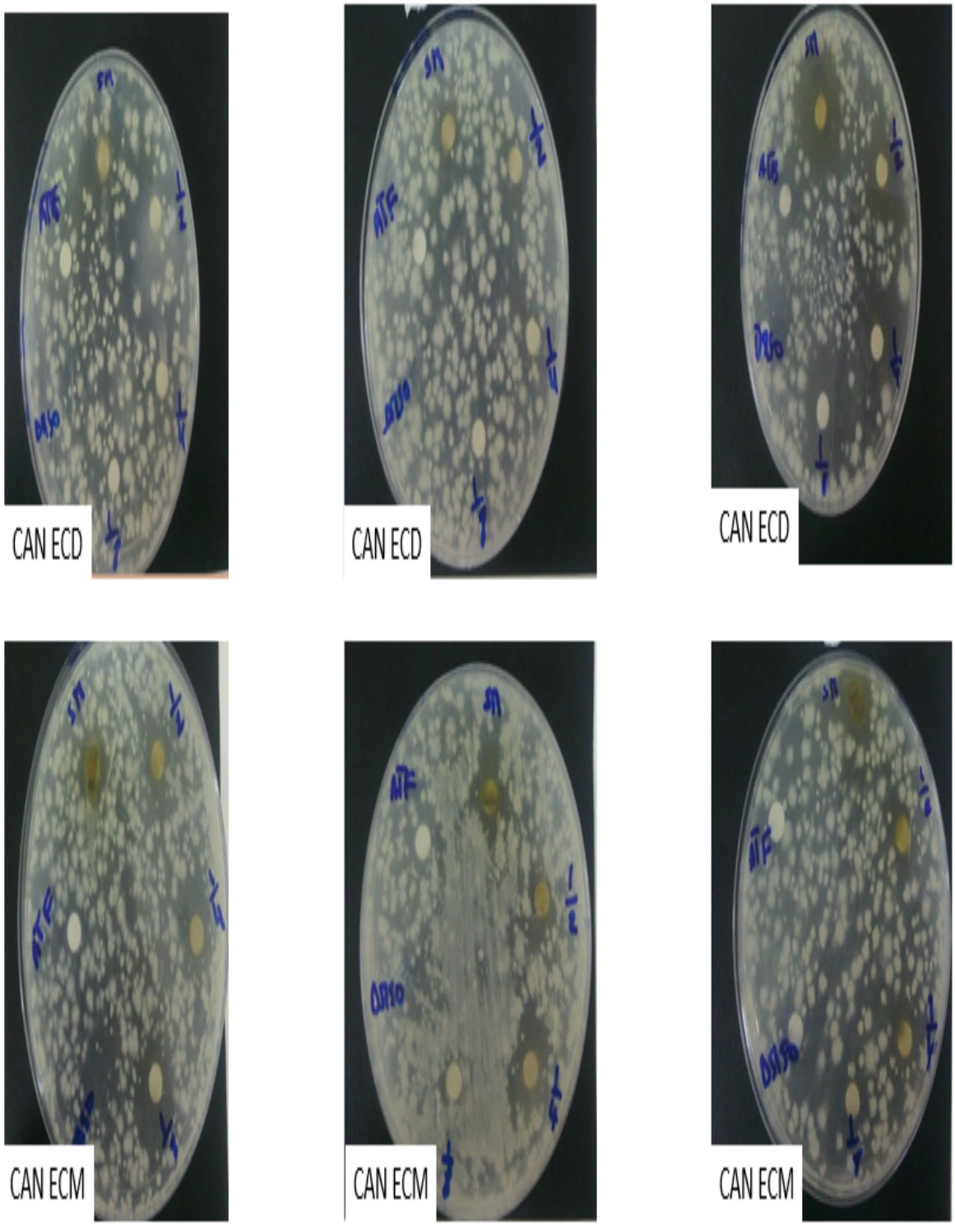


Fig. 22 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Candida albicans*

Annexe 04 : résultats des analyses statistiques

F1*F2	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S6	43,667	A
D1 S2	41	AB
D1 S1	41	AB
D1 S9	38,667	B
D1 S3	35	C
D1 S4	34,667	C
D1 S8	34,333	C
D1 S7	34	C
D1 S5	33	C
D3 S7	19,667	D
D5 S8	18	DE
D5 S7	18	DE
D4 S8	17,667	DE
D4 S7	17,667	DE
D2 S7	16,667	DEF
D5 S2	16,667	DEF
D4 S9	16,667	DEF
D3 S8	16,333	DEF
D3 S9	15,667	DEFG
D2 S8	15,667	DEFG
D4 S2	15,333	DEFG
D2 S1	14,667	DEFG
D2 S2	14,667	DEFG
D3 S6	14,333	EFG
D3	13,667	EFG

S2		
D5 S1	13,667	EFG
D4 S6	13,667	EFG
D3 S1	13,667	EFG
D5 S6	13,667	EFG
D5 S9	13,333	EFG
D4 S1	13	EFG
D5 S4	13	EFG
D4 S5	13	EFG
D5 S5	13	EFG
D4 S4	12,667	EFG
D2 S6	12,333	EFG
D2 S4	12,333	EFG
D3 S5	12,333	EFG
D3 S4	11,667	FG
D2 S9	10,667	G
D2 S5	10,333	G
D5 S3	10,333	G
D2 S3	10	G
D3 S3	9,667	G
D4 S3	9	G

Tableau 2 : Les résultats statistiques des extraits méthanoliques d'*E.blakelyi*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S6	40	A
D1 S2	38	AB
D1 S1	38	AB

D1 S4	37	AB
D1 S5	35	ABC
D1 S9	35	ABC
D1 S3	34	BC
D1 S8	33	BC
D1 S7	31,667	C
D4 S1	16	D
D4 S7	16	D
D4 S9	15,667	DE
D5 S9	15,667	DE
D5 S6	14,333	DE
D4 S2	14	DEF
D5 S7	13,667	DEF
D4 S8	13,333	DEF
D4 S6	13,333	DEF
D5 S2	13	DEF
D5 S1	12,333	DEF
D2 S7	11,667	DEF
D4 S5	11,333	DEF
D5 S5	11	DEF
D3 S2	10,667	DEF
D2 S1	10,667	DEF
D4 S4	10,667	DEF
D5 S8	10,333	DEF
D3 S7	10,333	DEF
D2 S2	10,333	DEF
D5 S3	10	DEF
D3 S1	10	DEF
D3 S8	10	DEF
D2 S8	10	DEF
D5 S4	10	DEF
D3 S9	9,667	DEF
D4 S3	9	EF
D3 S6	9	EF
D3 S4	9	EF
D3 S5	8,667	EF
D2 S9	8,333	F
D2 S4	8	F
D2 S6	7,667	F
D2 S5	7,333	F
D2 S3	7	F
D3 S3	6	F

Tableau 3 : Les résultats statistiques des extraits aqueux d'*E.blakelyi*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S7	37	A
D1 S1	31,333	B
D1 S5	31	B
D1 S2	29,667	BC
D1 S3	28	BCD
D1 S4	26,333	CDE
D1 S6	25	DE
D1 S9	23,667	E
D1 S8	17,667	F
D5 S5	11,333	G
D3 S4	10,667	G
D5 S7	10,333	G
D4 S5	10,333	G
D5 S2	10	G
D3 S3	10	G
D4 S4	9,667	G
D2 S1	9,333	G
D3 S5	9,333	G
D5 S4	9,333	G
D2 S5	9,333	G
D5 S3	9	G
D4 S3	9	G
D2 S3	9	G
D5 S6	8,667	G
D2 S4	8,667	G
D4 S1	8,667	G
D3 S1	8,333	G
D5 S8	8	G
D3 S7	7,667	G
D4 S6	7,667	G
D2 S7	7,333	G
D4 S8	7	G
D3 S6	6,667	G
D5 S1	6,667	G
D4 S2	6,667	G
D5 S9	6,333	G
D4 S7	6,333	G
D3 S2	6,333	G
D3 S9	6,333	G
D4 S9	6	G
D3 S8	6	G
D2 S6	6	G
D2 S8	6	G
D2 S9	6	G

D2 S2	6	G

Tableau 4 : Les résultats statistiques des extraits méthanoliques d'*E.cladocalyx*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S7	41,667	A
D1 S1	29,667	B
D1 S5	29	B C
D1 S2	28	BC
D1 S3	27,667	BC
D1 S6	27	C
D1 S4	24,333	D
D1 S9	24	D
D1 S8	10,667	E
D5 S1	10,667	E
D5 S3	9,333	EF
D5 S7	9,333	EF
D5 S4	8	FG
D5 S2	8	FG
D5 S5	7,333	FG
D4 S4	7,333	FG
D4 S5	6,667	FG
D3 S4	6,667	FG
D2 S4	6,667	FG
D3 S8	6,667	FG
D2 S5	6,333	G
D4 S6	6,333	G
D2 S8	6,333	G
D4 S8	6	G
D3 S7	6	G
D5 S9	6	G
D4 S7	6	G
D3 S6	6	G
D3 S2	6	G
D2 S1	6	G
D2 S7	6	G
D2 S9	6	G
D5 S8	6	G
D4 S9	6	G
D5 S6	6	G
D3 S1	6	G
D4 S3	6	G
D3 S9	6	G

D3 S5	6	G
D2 S6	6	G
D2 S2	6	G
D4 S1	6	G
D4 S2	6	G
D3 S3	6	G
D2 S3	6	G

Tableau 5 : Les résultats statistiques des extraits aqueux d'*E.cladocalyx*

I-1- matériel biologique

I-1-1- matériel végétale

Le matériel végétal utilisé dans cette étude expérimentale est deux espèces végétales appartenant à la famille des *Myrtacées* et au genre d'*Eucalyptus* et aux espèces d'*Eucalyptus cladocalyx* et *Eucalyptus blakelyi*, sa taxonomie et toutes les informations la concernant ont été cité dans la partie bibliographie et l'organe végétal utilisé pour cette étude est les feuilles à cause de leur richesse en métabolites secondaires.

I-1-1-1-La récolte :

La récolte des feuilles a été effectuée au cours de la floraison à l'INRF (Institut National de la Recherche Forestière) à Bainem situé à 12km à l'ouest de la wilaya d'Alger en Algérie. Les feuilles adultes de deux plantes ont été récoltées dans la période allant de juin à juillet 2016.

Les deux plantes sont séchées à l'ombre et à l'abri de l'humidité dans un endroit sec et aérée Pendant deux semaines. Elles sont ensuite broyées et les poudres sont conservées à+4°C dans des flacons hermétiques à l'abri de la lumière.

I-1-2- matériel microbiologique

L'activité antimicrobienne des extraits d'eucalyptus a été évaluée sur 9 espèces bactériennes et deux souches fongiques qui ont été disponible chez nous.
Elles sont choisies à cause de leur haute pathogénicité et leur multi résistance. Ce sont des espèces Gram négatif /ou Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont activées à 37 °C par repiquage sur milieu gélosé Muller-Hinton (MH). **(DJAHRA, 2014)**
Les germes qui ont été testés pour déceler l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques et aqueux de *l'Eucalyptus blakelyi* et *Eucalyptus cladocalyx* sont les suivants :
-5 souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) :
Staphylococcus aureus ATCC 29213, *Listeria innocua* Clip 74915, *Enterococcus feacalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilus* ATCC 26231,et *Escherichia coli* ATCC 25922 qui ont été fournées par le laboratoire de recherche de l'université de Boumerdasse ,

4souches cliniques isolées de patients (au niveau de l'EPSP du pôle urbain à Médéa) pour les infections urinaires : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Kleibsilla oxycota*,et deux souche fongique ; *Candida albicans* ATCC 10231fournit parle laboratoire de recherche de l'université Hassiba ben bouali à Chlef et *Rhizopus sp* isolé du pain.

I-1-2-1- la conservation des souches

Les souches microbiennes ont été conservées à 5C° dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive pour les bactéries et saboreaud pour les champignons) **(YAKHLEF, 2010)**

I-1-2-2- les milieux de culture utilisés

Pour réaliser ce travail, nous avons utilisé plusieurs milieux de cultures tels que le Chapman pour faire isoler les *Staphylococcus aureus*, Héktoène pour les entérobactéries, le bouillon nutritif pour l'activation des souches, la gélose nutritive pour les précultures, le MüllerHinton pour l'étude de la sensibilité dessouches bactériennes ou l'aromatogramme et la gélose PDA pour *Candida albicans*.

I-2- matériel non biologique

Durant notre travail nous avons utilisé des matériaux et des produits, les informations les concerne sont motionnées dans l'annexe 1.

I-3- préparation des extraits

Dans notre étude, l'extraction est effectuée par une méthode qui s'appelle la macération en utilisant un solvant organique à polarité Méthanol (MeOH) et un autre solvant qui est l'eau distillée.

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles **(LEYBROS et FREMEAUX. 1990)**. Cette extraction a été effectuée au niveau de laboratoire de l'université YAHIA Fares de MEDED

I-3-1- mode opératoire

Un volume de 50g de chaque espèce d'eucalyptus a été mis dans un volume de 166.66ml de méthanol pour l'extrait méthanolique et le même volume d'eau distillé pour l'extrait aqueux. Les mélanges ont été agités pendant 4 jours dans un agitateur puis filtré à l'aide d'un papier filtre jusqu'à l'obtention du filtrat. (**Fig. 6 et 7)**





Fig. 06 : la macération **Fig. 07 :** la filtration

Les filtrats obtenus ont subit à une réaction de concertation qui a comme rôle la séparation du solvant de l'extrait à l'aide d'un appareil appelé Rotavapeur (**Tsopmbeng et al, 2014) (Fig.8) .**Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon de récupération de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés extraits. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide**. (EL MANSOURI, 2013)**



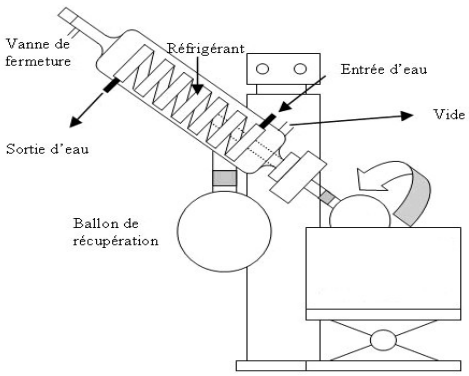


Fig.08 : Rotavapeur pour l'évaporation du solvant

Dès la condensation des filtrats, les extraits formés au fond du ballon du rotavapeur seront récupérés à l'aide d'une spatule et mis dans des flacons et conservés à 4°C.

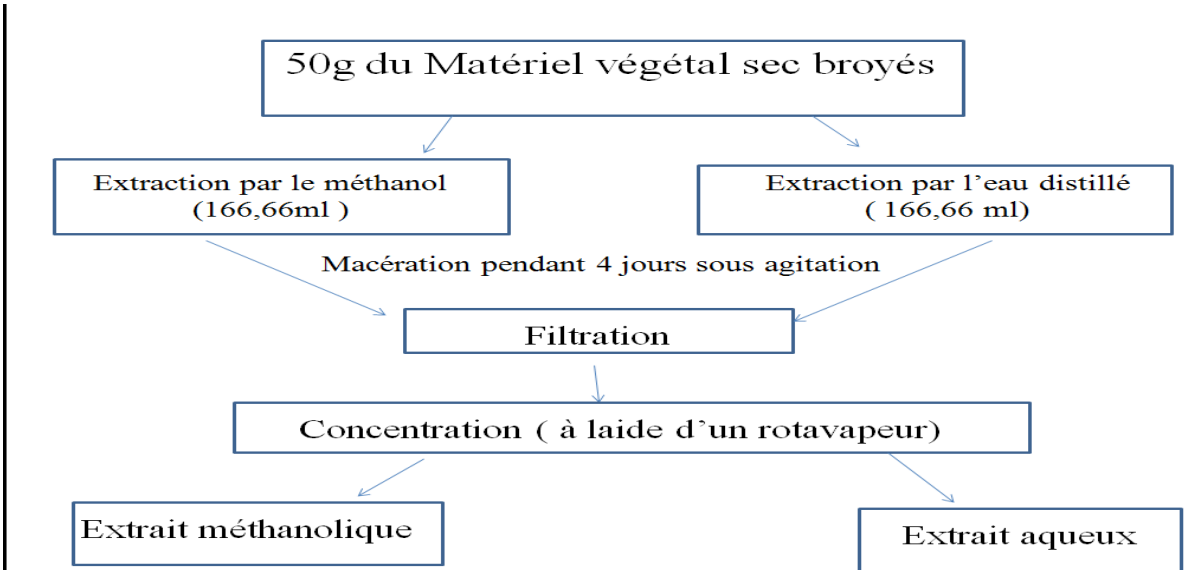


Fig.09 : préparation des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* Et l'*Eucalyptus blakelyi.*

I- 3-2- calcul du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction**. (Boudjouref, 2011)**

R = m résidu / MM sèche. 1000 dont : (DJAHRA. 2014)

M résidu = la masse du résidu (la masse du (ballon+résidu) – la masse du ballon vide)

MM sèche= la masse initiale du matériel végétale

I-4- screening phytochimique

Les extraits méthanoliques et aqueux et la poudre elle-même des deux espèces d'eucalyptus ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les métabolites secondaires responsables de la plupart des activités biologiques. Ces tests ont été réalisés au niveau de laboratoire de l'université de YAHIA Fares à MEDEA

I-4-1- screening du résidu

I-4-1-1-les stérols et polyterpènes

Les stérols et les polyterpènes ont été mis en évidence dans les résidus par la réaction de Liebermann. Un aliquote de résidu est dissoute à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulés 0,5 ml de H2SO4concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive**. (Yves-Alain *et al,* 2007)**

I-4-1-2- les tannins

Les tannins vrais ont été mis en évidence dans les résidus par le réactif de Stiasny. Un aliquote de résidu repris au MeOH puis évaporé, sont additionnés 15 ml du réactif de Stiasny (30% CH2O dans HCl concentré 2/1). La formation de précipité sous forme de flocons après refroidissement, indique une réaction positive**. (Yves-Alain *et al,* 2007)**

I-4-1-3- les flavonoïdes

La présence des flavonoïdes dans un extrait peut être mise en évidence par un test simple et rapide appelé " réaction de Shinoda"**(Locket al, 2006).** Le test consiste à ajouter à 2ml de l'extrait, quelques gouttes d'HCl concentré (2N) et environ 0,5g de magnésium métallique. Laisser agir 3 min et regarder le changement de couleur. **(Malecet Pamilio, 2003)**

I-4-1-4- les saponines

Les saponines ont été mises en évidence dans les résidus par le test de mousse. Les résidus sont repris dans 5 ml d'eau distillée, puis introduits dans un tube à essai. Le tube à essai est agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1 cm) stable, persistant pendant 1 h indique la présence abondante de saponines**. (Yves-Alain et al, 2007)**

I-4-1-5- les coumarines

Les coumarines ont été mises en évidence dans les résidus par la réaction sur le cycle lactonique. Dans 2 tubes à essai, sont introduits 2 ml de solution éthanolique obtenue à partir de chaque résidu. Dans un des tubes à essai, sont additionnés 0,5 ml de NaOH à 10%, puis les tubes à essai sont chauffés au bain-marie jusqu'à ébullition. Après refroidissement, sont rajoutés dans chaque tube à essai 4 ml d'eau distillée. Si le liquide

du tube à essai dans lequel l'on a ajouté la solution alcaline est transparente ou plus transparente par rapport au liquide du tube à essai témoin (sans solution alcaline), alors la réaction est positive. En acidifiant la solution transparente avec quelques gouttes de HCl concentré, elle perd sa coloration jaune, se trouble ou il se forme un précipité. **(Yves-Alain et al, 2007)**

I-4-1-6- les protéines

Les protéines ont été mises en évidence dans les résidus par la réaction du biuret. Un aliquote de résidu dissout dans 2 ml de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, sont ajoutées 2 à 3gouttes d'une solution aqueuse de CuSO4 à 2%. L'apparition d'une coloration violette, quelquefois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive. **(Yves-Alain et al, 2007)**

I-4-1-7- les alcaloïdes

2 ml de résidu est mis dans un tube à essaie dans lequel sont coulés 2 ml de réactif de wagner. L'apparition d'un précipité blanc- jeune indique une réaction positive **(Trease et Evans, 1989 ; Harbone, 1998).**

I-4-2- screening de la poudre

I-4-2-1- les saponines

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Deux grammes de matériel végétal sec et broyé sont utilisés pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à ébullition pendant 30 mn. Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. Dans une série de 10 tubes à essai, répartir 1 ml de l'extrait dans le tube n° 1, 2 ml dans le tube n° 2, …, 10 ml dans le tube n° 10. Le volume final dans chaque tube étant de nouveau réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Les tubes sont agités fortement en position horizontale pendant 15 secondes. Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de
1 cm dans le Xe tube, alors l'indice de mousse est calculé selon la formule suivante :

I =Hauteur de mousse (en cm) dans le Xe tube x 5/0.0x

I : Indice de mousse

La présence des saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100. **(DJAHRA, 2014)**

I-4-2-2-les tanins

On prend 5 ml de l'infusé, aux quelle on ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution de Chlorure ferrique (FeCl3) à 1%. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques, bleu noirâtre, tanins galliques.

A 30 ml de l'infusé, on ajoute 15ml de réactif de Stiasny (Formol à 30% + HCl concentré3-1 v/v). Après chauffage de 30 mn au bain marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tanins catéchiques. **(DJAHRA Ali, 2014)**

I-4-2-3- les anthocyanes

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé à 10 % avec le changement de pH : On ajoute quelques gouttes d'HCl, puis quelques gouttes d'Ammoniac (NH_4OH)**.** Le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes. **(DJAHRA Ali, 2014)**

I-4-2-4-les leuco anthocyanes

Un volume de 5 ml de l'infusé est mélangé à 4 ml d'alcool chlorhydrique (Ethanol/ HCl pur 3/1 v/v). Après chauffage au bain marie à 50°C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leuco anthocyanes. **(Solfo, 1973)**

I-4-2-5-les flavonoïdes

La recherche des flavonoïdes débute par une macération de 10g de drogue pulvérisée dans 150 ml d'acide chlorhydrique (HCl 1 %) pendant 24h. Après filtration, on récupère 10 ml du filtrat auquel on ajoute une solution basique de (NH_4OH), si après 3h, il y a apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube, ceci indique la présence de flavonoïdes. **(DJAHRA Ali, 2014)**

I-4-2-6-la recherche des alcaloïdes

Dans un bicher macéré 5 g de poudre végétal dans 25 ml de H_2SO_4 (10%) 24h .Après la filtration on ajoute à 1 ml de macéré quelque gouttes de réactif de Wagner; L'apparition de précipité brun traduit la présence des alcaloïdes. **(KANOUN, 2011)**

I-5- l'activité antimicrobienne

I-5-1- préparation des précultures

I-5-1-1- pour les souches bactériennes

Les souches bactériennes préalablement conservées à 4C° dans des tubes stériles contenant 10 ml de gélose inclinée ont été réactivé dans le bouillon nutritif, après incubation à 37C° pendant 24h, les cultures ont été repiquées par stries serrés dans des boites de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubées à 37C° pendant 18 à 24h. **(Fig.10)**



Fig. 10 : l'ensemencement des suspensions microbiennes dans les milieux gélosés

I-5-1-2- pour les souches fongiques

Les souches fongiques ont été réactivées dans des tubes stériles contenant du bouillon nutritive et incubées à 25C° pendant 48h, puis un repiquage par strie de ces souches dans des boites de pétri coulées par le milieu PDA a été fait pour obtenir des cultures jeunes après une incubation à 25C° pendant 48h.

Des suspensions microbiennes (bactériennes et fongiques) d'une densité optique compris entre 0.08 et 0.10 mesurées à 625 nm ont été préparées par 3 à 5 colonies dans 9 ml de l'eau physiologique stérile. **(Boudjelal ,2013). (Fig.11)**



Fig. 11 : la préparation des suspensions bactériennes dans de l'eau physiologique

I-5-3- la préparation des dilutions des extraits

200 mg de chaque extrait a été mis dans des tubes stériles dans les quels sont coulés 1 ml du DMSO, puis une agitation à l'aide du vortex a été fait pour obtenir un mélange homogène et pour faire fondre le résidu dans le DMSO.

Une série de dilution en demi a été fait dans 4 tubes contenant 1ml de DMSO à l'aide d'une micropipette à partir de la solution mère jusqu'à 1/8, un 5eme tube coulé par le DMSO uniquement est considéré comme témoin négatif .En effet, ces extraits ne sont pas solubles dans l'eau, ce qu'il était nécessaire de les d'abord solubiliser dans le DMSO.

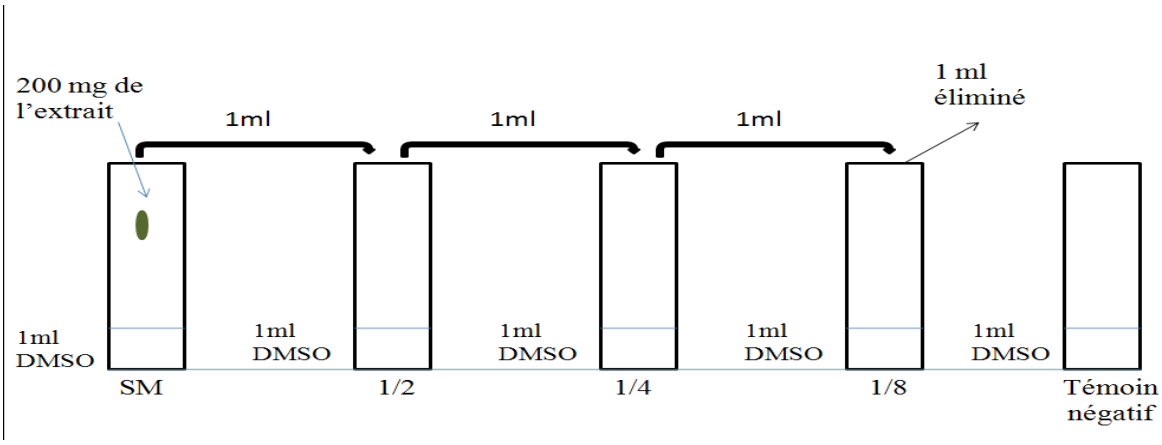


Fig. 12 : schéma récapitulatif de la préparation des dilutions des extraits.

I-5-4- tests antimicrobiens

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits d'eucalyptus nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé (l'aromatogramme).

I-5-4-1- pour les bactéries :

Les suspensions bactériennes ajustées et qui ont une densité optique de 0.5 Mc Farland ont été ensemencé dans des boites de pétrie coulée préalablement par la gélose Müller Hinton par des stries sérié à l'aide d'un écouvillon. **(Fig.13)**

A l'aide d'une pince stérile des disques stériles de 6mm de diamètre ont été imbibé dans les dilutions des extrais et dans le DMSO et un sixième disque d'antibiotique (Gentamycine) qui s'agit d'un témoin positif ont été déposé à la surface de la gélose dans la boite (**Fig.14).** Après la diffusion les boites sont incubées à 37C° pendant 24h.

I-5-4-2- pour les souches fongiques

Les suspensions fongiques ont été ensemencées à l'aide d'un écouvillon dans des boites de pétrie coulées par le milieu PDA, puis les disques stériles sont imbibés dans les différentes concertations des extraits préparés avec un cinquième disque imbibé dans le DMSO qu'il s'agit d'un témoin négatif et le sixième disque d'antifongique (Lamidaz 250 mg) qu'il s'agit d'un témoin positif. Ensuite les boites ont été laissées 30 min jusqu' la diffusion des extrais et puis sont incubées à 25C° pendant 48h.

Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible. **(Choi et al. 2006)**

Les tests ont été répétés 3 fois, et la lecture des diamètres d'inhibition est réalisée à l'aide d'une règle ou un pied à coulisse.

Les souches sont considérées sensibles, très sensible ou résistantes selon le tableau 1. **(PONCE G, 2003**)

Tableau 01 : la sensibilité et la résistance des souches microbiennes selon les diamètres d'inhibition

Sensibilité/ résistance	Diamètre d'inhibition
Non sensible (-)	D< 5mm
Sensible (+)	6mm ≤ D≤ 11mm
très sensibles (++)	12mm ≤ D≤ 16mm
Extrêmement sensible (+++)	D˃17 mm

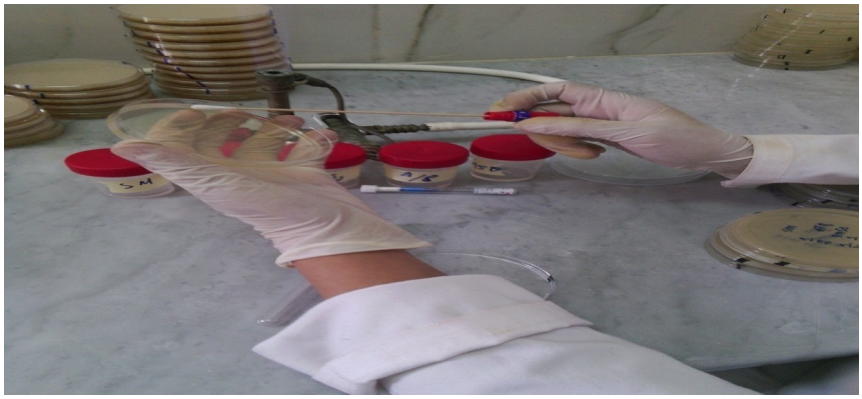


Fig.13:l'ensemencement des suspensions microbiennes dans des boites gélosées

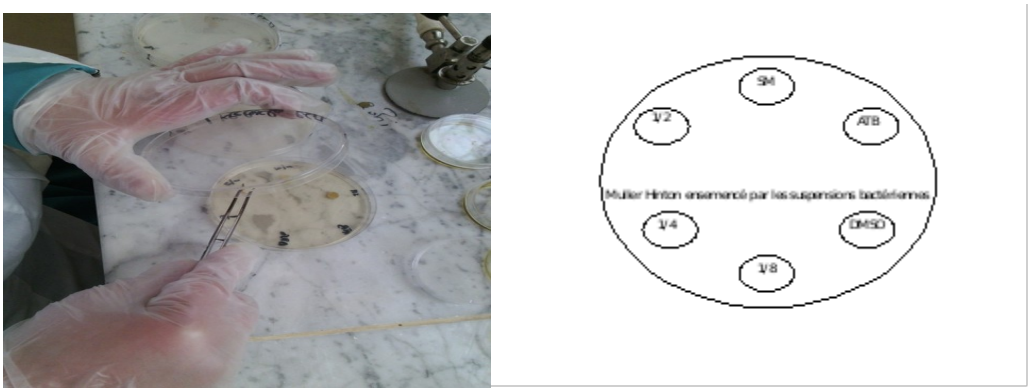


Fig.14 : le dépôt des disques dans les boites de pétries

I-6- Analyse statistique

L'aromatogramme de chaque souche microbienne est répété 3 fois, donc les valeurs sont représentées par la moyenne ±l'écart type. Les résultats ont été analysés par le test le logiciel statbox.

Résultats et discussion

II- Résultat

II-1- Extraction

La préparation des extraits à partir de la partie aérienne de l'*Eucalyptus* a été effectuée Par deux solvants qui sont le méthanol et l'eau distillée.

Cette extraction a permis d'obtenir deux extraits : l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique.

L'aspect de ces extraits(**Fig.15)** et leurs rendements sont cités dans le **tableau 01** dont le rendement des extraits aqueux d'*Eucalyptus cladocalyx* (19.76%) est élevé par rapport à celui de l'*Eucalyptus blakelyi*(15.82%) et les rendements des extraits aqueux des deux espèces sont élevés par rapport à ceux des extraits méthanoliques, avec une simulation entre les rendements des extraits méthanoliques des deux espèces (11% et 10.12%)**(Fig.16).**



Fig.15 : l'aspect des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi*

Et l'*Eucalyptus cladocalyx* respectivement

Tableau 02 : Aspects, couleurs et rendements des extraits de l'*Eucalyptus blakelyi* et l'*Eucalyptus cladocalyx*

Espèce	Extrait	Aspect	Couleur	Rendement (%)
Eucalyptus blakelyi	-Méthanolique -Aqueux	-Pâte collante - Pâteux	Marron foncé Marron	10.12 15.82
Eucalyptus cladocalyx	-Méthanolique -Aqueux	-Pâte collante - Pâteux	Vert Marron	11 19.76

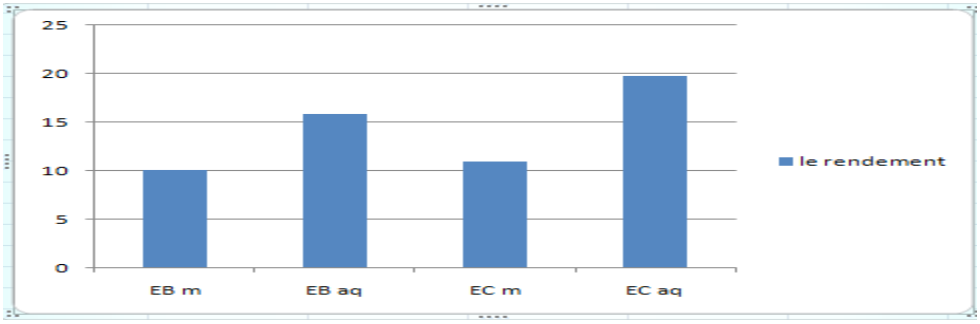


Fig.16 : Un histogramme qui représente les rendements des différents extraits méthanolique et aqueux des deux espèces d'*Eucalyptus*

I-2-l'Analyse phytochimique qualitative

La phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou de précipitation Par des réactifs chimiques spécifiques réalisée à partir des extraits bruts et de la Poudre lyophilisée de chaque espèce d'*Eucalyptus*.

Le résultat de ce criblage phytochimique est résumé dans le **Tableau 04 et 05**. Le signe (+) indique la présence du groupe de composé chimique, et le signe (-) indique une réaction négative.

Effectivement 05 groupes de composés bioactifs sont identifié dans les extraits méthanoliques (les saponines, les flavonoïdes, les coumarines, les tanins et les alcaloïdes) **(Fig.17)**,et un seul composé bioactif identifié pour les extraits aqueux (les coumarines); des deux espèces (l'*Eucalyptus blakelyi* et *Eucalyptus cladocalyx*) **(Fig.1)** à. Alors que les stérols et les polyterpènes et les protéines sont absents dans les deux extraits des deux espèces.

Pour les saponines, les coumarines et les alcaloïdes la quantité présente dans les deux espèces est pareille, par contre la quantité des flavonoïdes chez *l'Eucalyptus blakelyi* est

élevée par rapport à celle de l'*Eucalyptus cladocalyx*, avec une quantité élevée de tanin chez ce dernier par rapport à celle d'*Eucalyptus blakelyi*. Et la même quantité a été trouvée dans les extraits aqueux des deux espèces.

Les résultats ont monté aussi que les deux espèces sont dépourvus de stérols et polyterpènes et de protéines.

Pour la poudre 05 composés bioactifs sont identifié dont 4 (les anthocyanes, les saponines dont l'indice de saponification d'*Eucalyptus blakelyi*= 350%, et celui de l'*Eucalyptus cladocalyx*= 150%, les tanins galliques et tanins cathéchique) pour les deux espèces**,** et un seul composé (flavonoïdes) pour l'*Eucalyptus cladocalyx* **(Fig.19)**. Alors que les stérols et les polytérpénes et leuco anthocyanes sont absents.

Pour les saponines et les tanins catéchiques, la quantité présente chez *l'Eucalyptus blakelyi* est élevée par rapport à celle de l'*Eucalyptus cladocalyx*, avec une quantité pareille d'anthocyane chez les deux espèces et une quantité supérieur des tanins galliques chez l'*Eucalyptus cladocalyx*.

Les résultats ont montré aussi l'absence des flavonoïdes chez l'*Eucalyptus blakelyi* et une absence collective des leucoanthocyanes et d'alcaloïdes chez les deux espèces.

Tableau 03 : les résultats des screening des résidus

Les constituants / les extraits	EB m	EB aq	EC m	EC aq
Les stérols et les polyterpènes	-	-	-	-
Les saponines	+++	-	+++	-
Les flavonoïdes	++	-	+	-
Les coumarines	++	+	++	+
Les tanins	++	-	+++	-
Les protéines	-	-	-	-
Les alcaloïdes	+	-	+	-

(+) positif, (++) fortement positif, (+++) extrêmement positif, (-) négatif

Tableau 04 : les résultats de screening de la poudre

Les constituants \ les extraits	EB	EC
Les anthocyanes	+	+
les leuco anthocyanes	-	-
Les flavonoïdes	-	+
Les saponines	+++	+
Les tanins galliques	+	+++
les tanins catéchiques	++	+
Les alcaloïdes	-	-

(+) positif, (++) fortement positif, (+++) extrêmement positif, (-) négatif

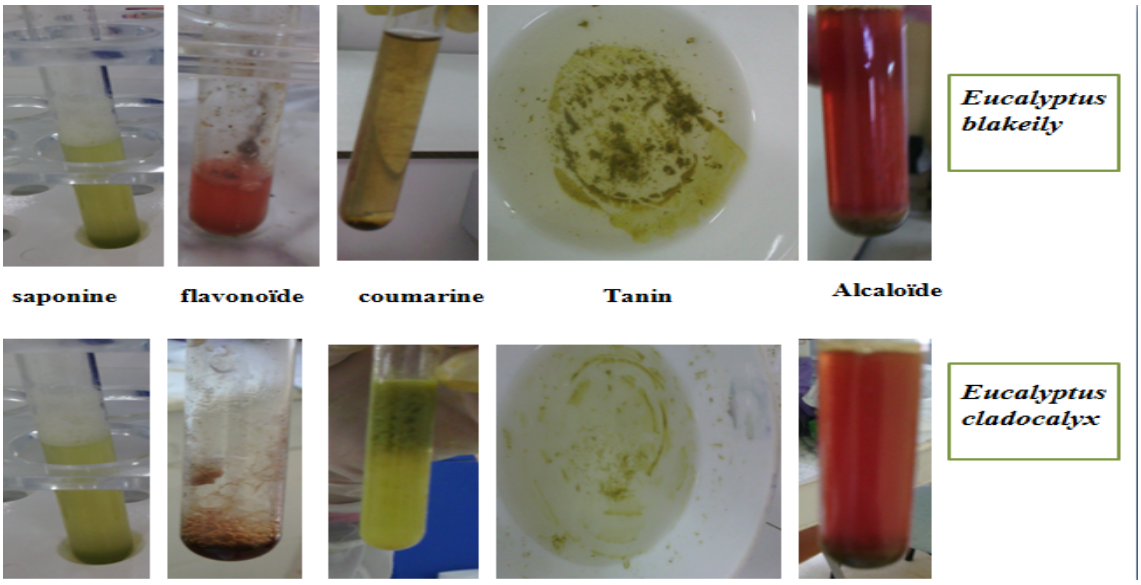


Fig.17 : les résultats positifs du screening des extraits méthanoliques de l'*E.blakelyi* et l'*E.cladocalyx*

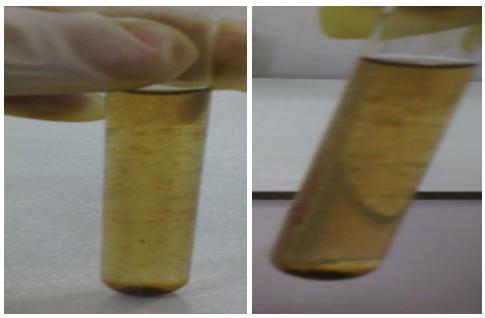


Fig.18 : les résultats positifs du screening des extraits aqueux de l'*E.blakelyi* et l'*E.cladocalyx*

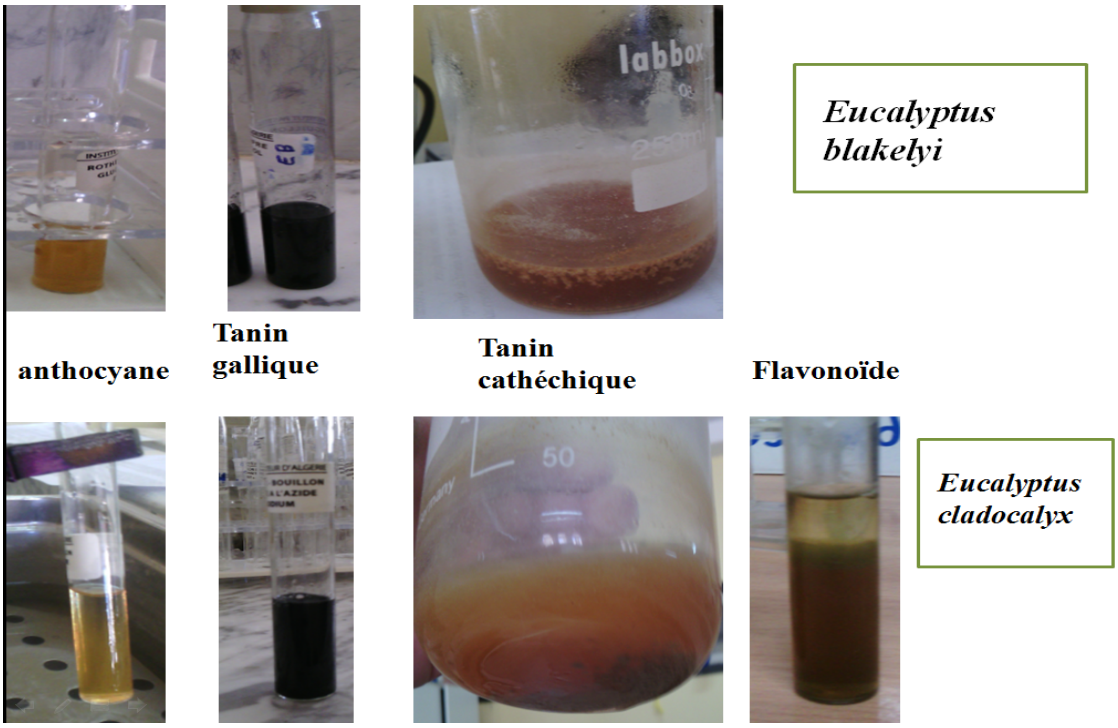


Fig.19 : les résultats positifs du screening de la poudre de l'*E.blakelyi* et l'*E.cladocalyx*

I-4- l'activité antimicrobienne

L'étude *in vitro* de l'effet antimicrobien des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* et l'*Eucalyptus blakelyi* par la méthode de diffusion des disques sur des milieux gélosé (Müller Hinton pour les bactéries et PDA pour les champignons) et après une incubation à 37C° pendant 24h pour les bactéries et à 25C° pendant 48h pour les champignons nous a montrée que les extraits des deux espèces ont donné un effet mais pas sur toutes les souches microbienne et les diamètres des zones d'inhibition diffère d'un microorganisme à un autre et d'un extraits à un autre.
Les résultats des différents tests de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* et l'*Eucalyptus cladocalyx* sont présentés dans le **tableau 05, 06,07 et 08.**

Tableau 05 : l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E.blakelyi*

	Les moyennes ±l'écart type				
	EB m				
	SM	1/2	1/4	1/8	ATB
S.aureus ATCC	13,66±0,47	13±1,63	13,66±1,24	14,66±0,94	41±1,41
S.aureus isolé	16,66±0,47	15 ,33±1,69	13,66±1,24	14,66±0,94	41±1,41
E.coli ATCC	10, 33±1,24	9±0	9,66±0,94	10±2,82	35±4,08
E.coli isolé	13±1,41	12,66±1,69	11,66±1,88	12,33±3,68	34,66±1,69
K .oxycota	13±0	13±1,41	12,33±0,94	10,33±0,94	33±0,81
P.aeruginosa	13,66±0,94	13,66±0,94	14,33±0,47	12,33±0,47	43,66±0,94
B.subtilis	18±1,41	17,66±1,69	19,66±0,94	16,66±0,94	34±0,81
E.feacalis	18±0,81	17,66±1,24	16,33±1,69	15,66±1,24	34,33±0,47
L.innocua	13,33±1,69	16,66±1,24	15,66±0,47	10,66±2,49	38,66±1,88

Les valeurs sont exprimées par la moyenne ± l'écart type

Tableau 06 : l'activité antibactérienne des extraits aqueux de l'*E. blakelyi*

	Les moyennes±l'écart type				
	EB aq				
Dilution souches	SM	1/2	1/4	1/8	ATB
S.aureus ATCC	12,33±2,86	16±2,16	10±1,41	10,66±3,09	38±1,63
S.aureus isolé	13±1,63	14±1,41	10,66±0,47	10,33±0,94	27,33±1,88
E.coli ATCC	10±0,81	9±0 ,81	6±0	7±0	34±3,26
E.coli isolé	10±0	10,66±1,24	9±0,81	8±1,63	37±2,16
K .oxycota	11±0 ,81	11,33±1,24	8,66±1,69	7,33±0,47	35±4,08
P.aeruginosa	14,33±1,69	13,33±1,24	9±0,81	7,66±0,94	40±4,32
B. subtilis	13,66±0,47	16±2,44	10,33±0,94	11,66±0,94	31,66±1,24
E.feacalis	10,33±0,47	13,33±1,88	10±1,63	10±0,81	33±2,16
L.innocua	15,66±0,47	15,66±0,47	9,66±0,47	8,33±0,47	35±3,55

Tableau 07 : l'acticité antibactérienne des extraits méthanoliques de l'*E. cladocalyx*

	Les moyennes ± l'écart types				
	EC m				
Dilution Souches	**SM**	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**ATB**
S.aureus ATCC	6,66±0,94	8,66±2,49	8,33±2,62	9,33±2,35	31,33±1,24
S.aureus isolé	10±1,41	6,66±0,94	6,33±0,47	6±0	29,66±5,24
E.coli ATCC	9±0	9±0	10±0	9±0	28±2,16

E.coli isolé	9,33±0,47	9,66±1,24	10,66±0,94	8,66±1,24	26,33±0,94
K. oxycota	11,33±1,24	10,33±0,47	9,33±1,24	9,33±1,88	31±3,26
P.aerugenosa	8,66±1,24	7,66±1,24	6,66±0,94	6±0	25±3,55
Bacillus. subtilis	10,33±1,24	6,33±0,47	7,66±1,24	7,66±1,24	37±2,16
E.feacalis	8±0	7±0	6±0	6±0	17,66±2,05
L.innocua	6,33±0,47	6±0	6,33±0,47	6±0	23,66±0,47

Tableau 08:l'acticité antibactérienne des extraits aqueux de l'*E. cladocalyx*

	Les moyennes ± l'écart types				
	EC aq				
Dilution / Souches	SM	1/2	1/4	1/8	ATB
S.aureus ATCC	10,66±0,47	6±0	6±0	6±0	29,66±0,47
S.aureus isolé	8±0	6±0	6±0	6±0	28±0,81
E.coli ATCC	9,33±1,69	6±0	6±0	6±0	27,66±2,05
E.coli isolé	8±0,81	7,33±0,47	6,66±0,94	6,66±0,47	24,33±3,05
K.oxycota	7,33±1,24	6,66±0,94	6±0	6,33±0,47	29±0,81
P. aerugenosa	6±0	6,33±0,47	6±0	6±0	27±0
Bacillus. subtilis	9,33±0	6±0	6±0	6±0	41,66±2,35
E.feacalis	6±0	6±0	6,66±0	6,33±0	10,66±0,94
L.innocua	6±0	6±0	6±0	6±0	24±0,81

Pour l'*Eucalyptus blakelyi*, toutes les souches bactériennes ont été sensibles vis-à-vis les deux extraits à des valeurs différentes compris entre sensible est très sensible dont *Bacillus subtilis* est la souche la plus sensible; avec une valeur maximale de 19,66 mm dans l'extrait méthanolique pour la dilution 1/4 et 16 mm(souche très sensible) dans l'extrait aqueux pour la dilution 1/2 ; et *E. coli* ATCC est la souche la moins sensible avec une valeur maximale de 10.33mm et 10 mm (souche sensible) pour la solution mère dans l'extrait méthanolique et aqueux respectivement avec une absence des zones d'inhibition dans les dilution 1/4 et 1/8 de l'extrait aqueux **(fig.20).**

Pour l'effet de l'antibiotique Gentamicine, toutes les souches ont été sensibles avec une valeur maximale de 43,66 mm chez *P. aeruginosa* pour l'*Eucalyptus blakelyi.*

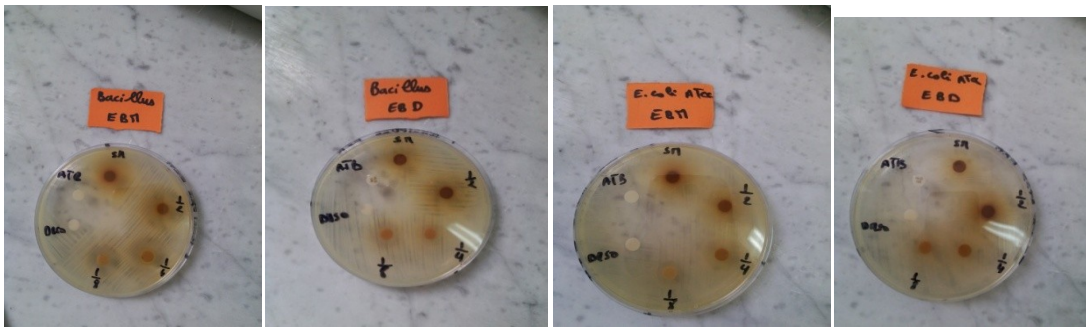


Fig.20 : les souches les plus et les moins sensibles aux extraits méthanolique et aqueux de l'*E.blakelyi*

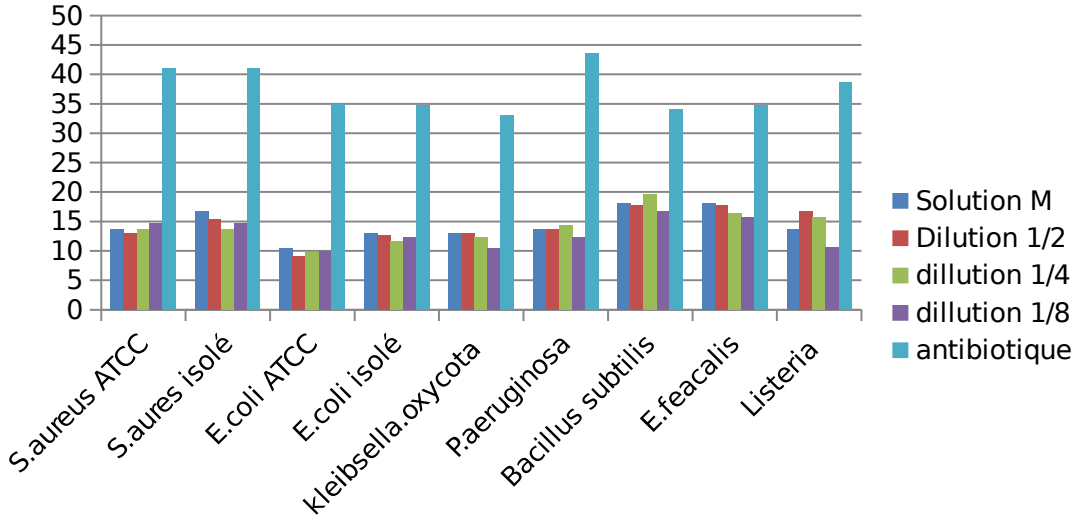


Fig.21 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*E. blakelyi*

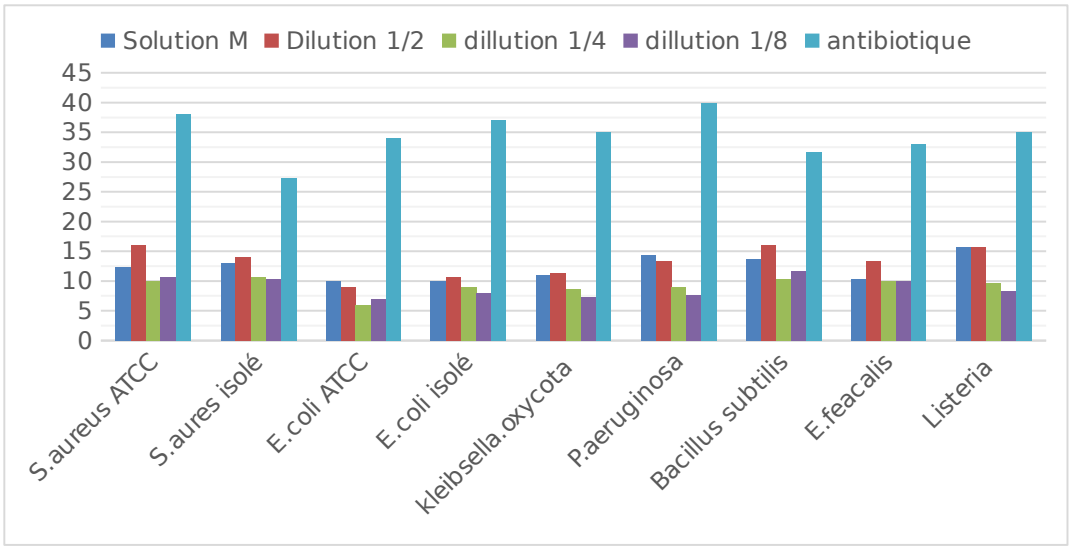


Fig.22 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*E.blakelyi*

Pour l'*Eucalyptus cladocalyx*, 06 souches bactériennes ont été sensibles (*S.aureus*, *E. coli*, *k .oxycota* et *Bacilus subtilis*) et 03 souches résistantes (*P.aeruginosa, E.feacalis* et *Listeria innocua*) vis-à-vis aux extrait méthanolique, dont *K.oxycota* est la souche la plus sensible avec une valeur maximale de 11.33mm dans la solution mère; et la souche la moins sensible est S. aureus ATCC avec une valeur de 9.33mm dans la dilution 1/8**(fig.23).**

03 souches ont été sensibles vis-à-vis de l'extrait aqueux (*S.aureus* ATCC, *E.coli* ATCC et *B.subtilis*) et 06 souches ont résistées (*S.aureus* isolée, *E.coli* isolée, *k.oxycota*, *P.aeruginosa*, *L. innocua* et *E. feacalis*) dont la souche la plus sensible est *S.aureus* ATCC avec une valeur de 10.33 mm dans la solution mère.

Une sensibilité a été remarquée vis-à-vis de l'antibiotique Gentamicine par toutes les souches avec une valeur maximale de 41,66 chez *B. subtilis*.

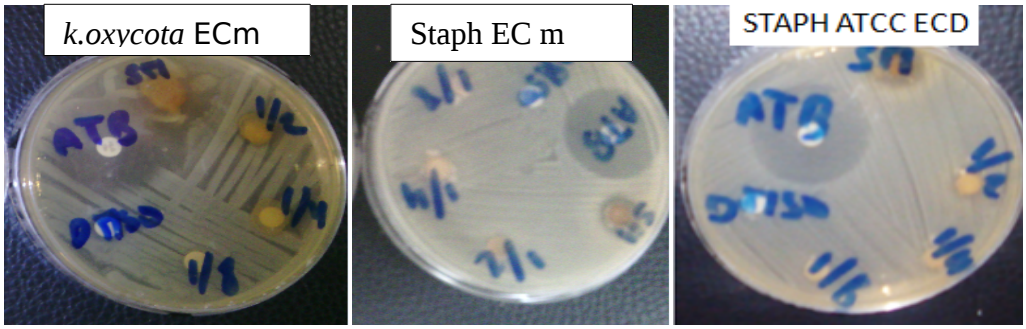


Fig.23 : les espèces sensibles aux extraits méthanolique et aqueux de l'*E.cladocalyx*

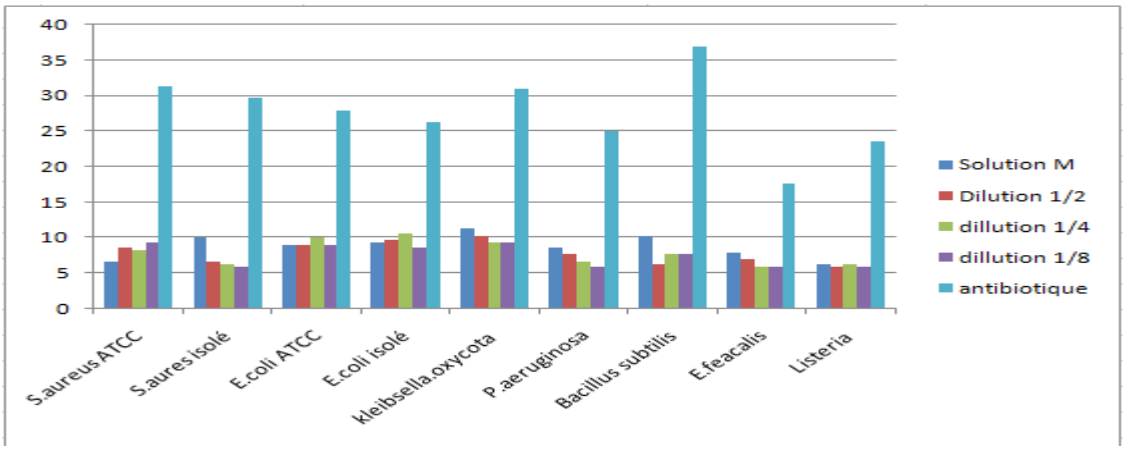


Fig.24 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*E. cladocalyx*

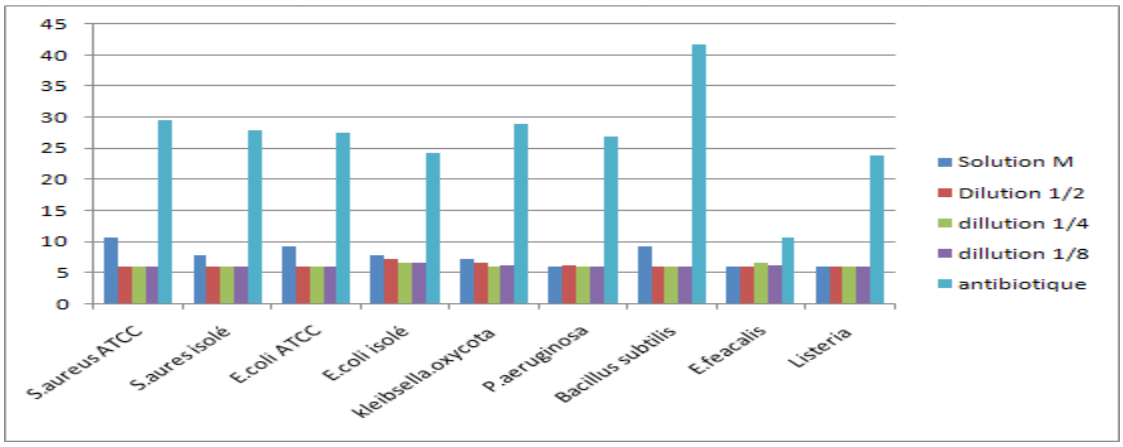


Fig.25 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*E. cladocalyx*

Les résultats des différents tests de l'activité antifongique des extraits méthanoliques et aqu1ux de l'*Eucalyptus blakelyi* et l'*Eucalyptus cladocalyx* sont présentés dans le tableau **09, 10,11 et 12.**

Tableau 09 : l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*Eucalyptus blakelyi*

	Les moyennes ±l'écart type				
	EB m				
Dilution souches	SM	1/2	1/4	1/8	ATF
C.albicans	25.66±3.29	22±0	21±2.94	15.66±1.69	7±0
Rhizopus sp	9.33±0.47	10.66±0.47	10±0.81	9.66±0.94	17.66±11.08

Les valeurs sont exprimées par la moyenne ± l'écart type

Tableau 10 : l'acticité antifongique des extraits aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi*

	Les moyennes ± l'écart type				
	EB aq				
Dilution souches	SM	1/2	1/4	1/8	ATF
C.albicans	19±0.81	20±5.09	15.66±2.06	14±2.94	9.66±1.69
Rhizopussp	10.33±0.47	12±0	11±1.41	9.66±0.47	16.33±10.11

Tableau 11: l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*E.cladocalyx*

	EC m				
Dilution	**SM**	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**ATF**

souches					
C.albicans	12±0,81	9,66±2,49	11,33±2,05	11±2,94	8,66±2,35
Rhizopus sp	6,33±0,47	6,66±0,94	6,66±0,47	10,66±0 ,94	22,66±1,88

Tableau 12: l'acticité antifongique des extraits méthanolique de l'*E. cladocalyx*

	Les moyennes ±l'écart type				
	EC aq				
	SM	**1/2**	**1/4**	**1/8**	**ATF**
C.albicans	9,33±0,47	11,33±0,94	13,33±3,39	10,66±1,88	6±0
Rhizopus sp	10±2,82	11,66±2,05	11,33±2,35	7,66±0,94	20±0

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent que *C.albicans* apparait extrêmement sensible vis-à-vis les extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* avec une valeur maximale de 25,66 mm et 19 mm respectivement dans la solution mère. Ces mêmes extraits développent des zones d'inhibition moyennement important vis-à-vis de *Rhizopus sp* dont les diamètres des zones d'inhibition varient entre 10,66 mm et 12 mm dans les dilutions 1/2 des extraits méthanoliques et aqueux respectivement **(fig.26).**

Pour l'effet de l'antifongique (Lamidaz), *C.albicans* a présenté une faible sensibilité (9,66 mm) alors que *Rhizopus sp* a été très sensible (17,66 mm).

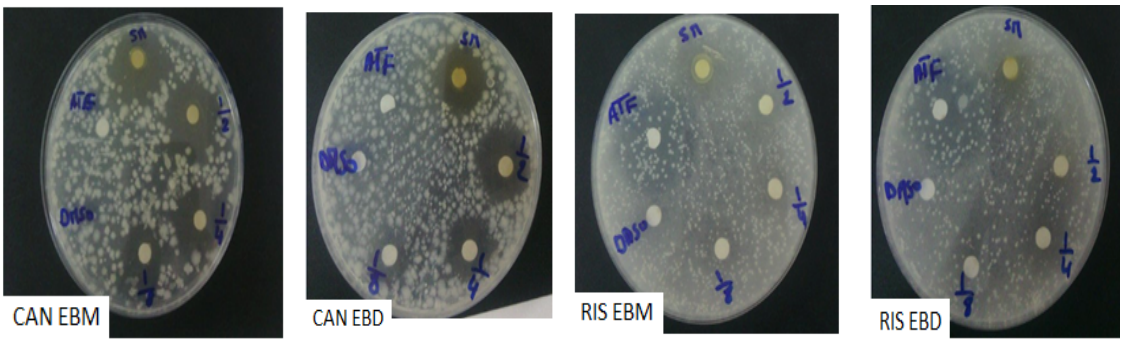


Fig.26 : les souches fongiques sensibles aux extraits méthanoliques et aqueux d'*E.blakelyi*

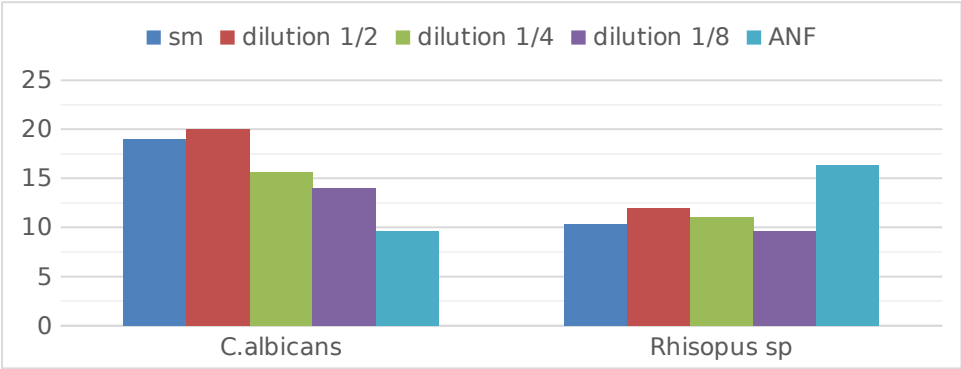


Fig.27 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*E. blakelyi*

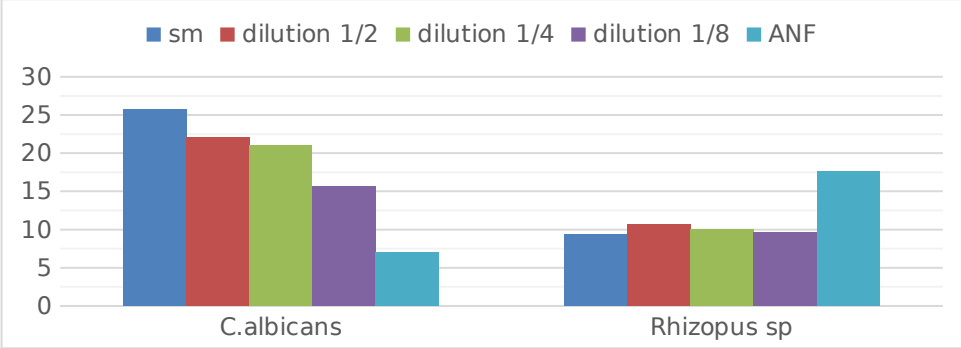


Fig.28 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*E. blakelyi*

Pour l'*Eucalyptus cladocalyx*, la souche la plus sensible est *C.albicans* pour les deux extraits avec une valeur maximale de 13,33 mm dans la solution mère pour l'extrait aqueux. Alors que *Rhizopus sp* révèle moins sensible pour les deux extraits avec une valeur maximale de 11,66 mm dans la dilution 1/2 pour l'extrait aqueux **(fig.29)**

Pour l'effet de l'antifongique *C.albicans* a résisté alors que *Rhizopus sp* a été très sensible (22,66 mm).

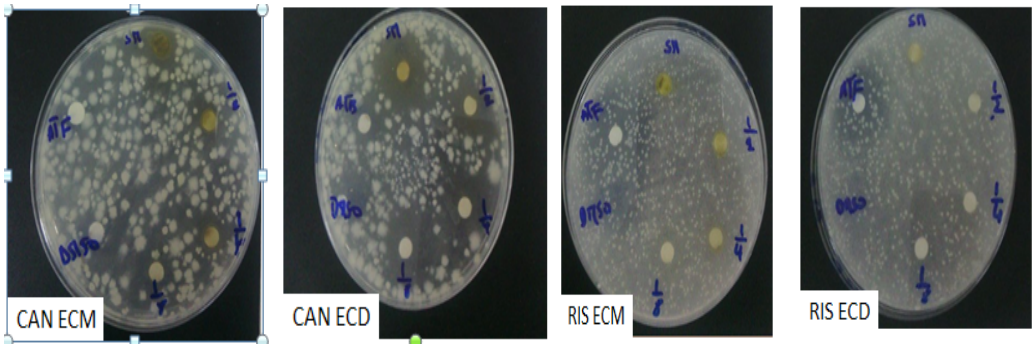


Fig.29 : les souches fongiques sensibles aux extraits méthanoliques et aqueux de l'*E.cladocalyx*

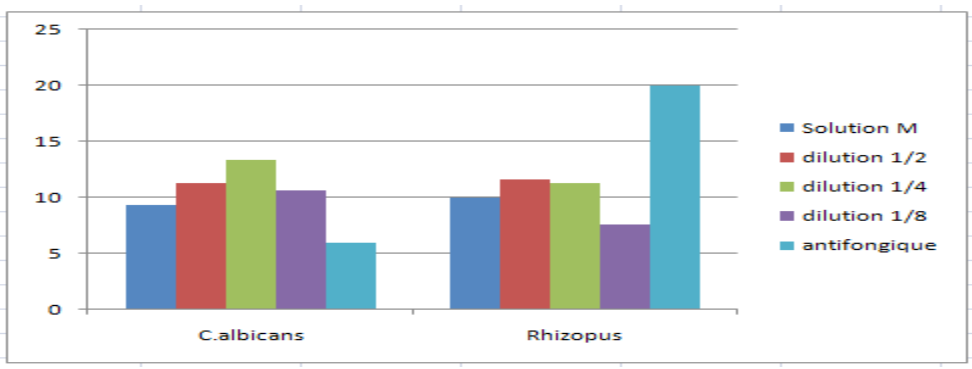


Fig.30 : Un histogramme représente l'effet des extraits aqueux de l'*E.cladocalyx*

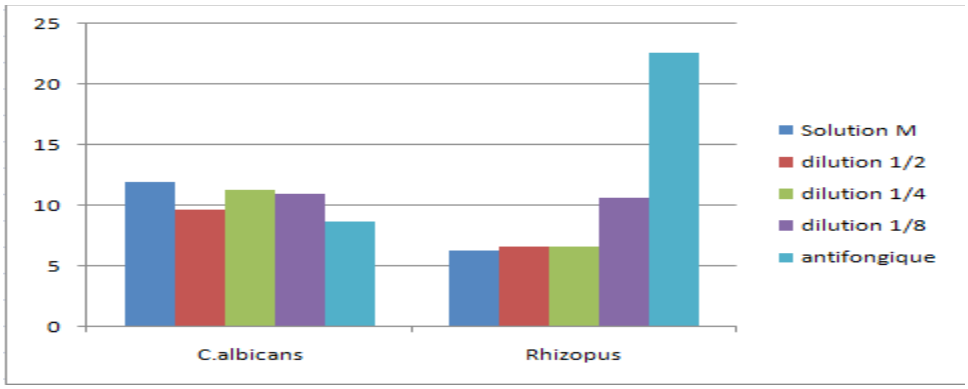


Fig.31 : Un histogramme représente l'effet des extraits méthanolique de l'*E.cladocalyx*

I-5- les résultats de l'analyse statistiques

D'après les analyses statistiques montrées dans les figures 32, 33,34 et 35, les meilleurs résultats ont été enregistrés pour l'ATB avec toutes les souches bactériennes testées pour l'extrait aqueux d'*E.blakelyi*, dont le traitement a été très efficace lorsqu'on applique la dose D4 (dilution 1/2) pour les souches S1(*S.aureus* ATCC) et S7 (*B.subtilis)*, suivi par la dose D4 (dilution 1/2) pour la souche S9 (*L.innocua*) et D5 (Solution mère) pour les souches S6 (*P.aeruginosa)* et S9 (*L.innocua)* ; contrairement, la doses D2 (dilution 1/8) pour les souchesS9 (*L.innocua)*,S4 (*E.coli* isolé), S6 (*P.aeruginosa)*, S5 (*k.oxycota)* et S4 (*E.coli* isolé) le traitement a été inefficace.

Pour le reste des doses le traitement a révélé une efficacité moyenne pour la plupart des souches.

Pour l'extrait aqueux d'*E.cladocalx* la dose la plus efficace est la dose D1(ATB) avec toutes les souches bactériennes, pour le traitement les meilleurs résultats ont été obtenus avec la dose D5 (solution mère) pour la souche S1 (*S.aureus* ATCC), suivi par les souches S3 (*E.coli* ATCC) et S7 (*B.subtilis*), par contre une inefficacité a été remarquée

pour les doses : D2(1/8) avec toutes les souches sauf la souche S4 (*E.coli* isolé), D4 (1/2) avec toutes les souches sauf les souches S4 (*E.coli* isolé) et S5 (*k.oxycota*), D3 (1/4) avec toutes les souches sauf S4 (*E.coli* isolé) et S8 (*E.feacalis*) et la dose D5 (solution mère) avec les souches S9 (*L.innocua*) S8 (*E.feacalis*) et S6 (*P.aeruginosa*). Le reste des doses avec le reste des souches une inefficacité moyenne de traitement a été remarquée.

Concernant l'extrait méthanolique d'*E.blakelyi*, la dose D1 (ATB) a donnée la plut fort efficacité avec toutes les souches bactériennes. Le traitement le plus efficace a été enregistré dans la dose D3 (1/4) avec la souche S7 (*B.subtilis*), l'efficacité suivante a été remarqué dans les dose : D5 (solution mère) et D4 (1/2) avec les souches S8 (*E.feacalis*) et S7 (*B.subtilis*). Tandis que les doses les moins efficaces sont les suivantes : D2 avec les souches S9, S5 et S3 et la dose D5, D3 et D4 avec la souche S3, le reste des doses et des souches le traitement a été moyennement efficace.

Pour l'*E.cladocalyx* les meilleurs résultats ont été remarqués dans la dose D1 avec toutes les souches bactériennes. En ce qu'il concerne le traitement, les résultats ont révélé une faible efficacité avec toutes les doses et toutes les souches.

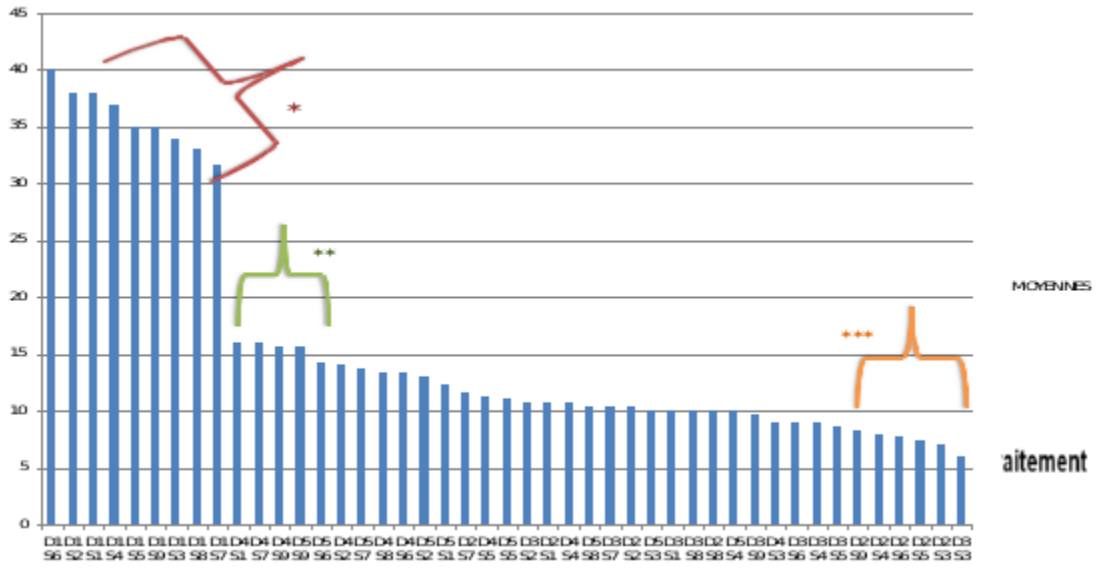


Fig.32 : Histogramme des analyses statistiques des extraits aqueux d'*E.blakelyi*

∗ = l'efficacité de l'ATB, ∗∗ = traitement efficace, ∗∗∗ = traitement inefficace

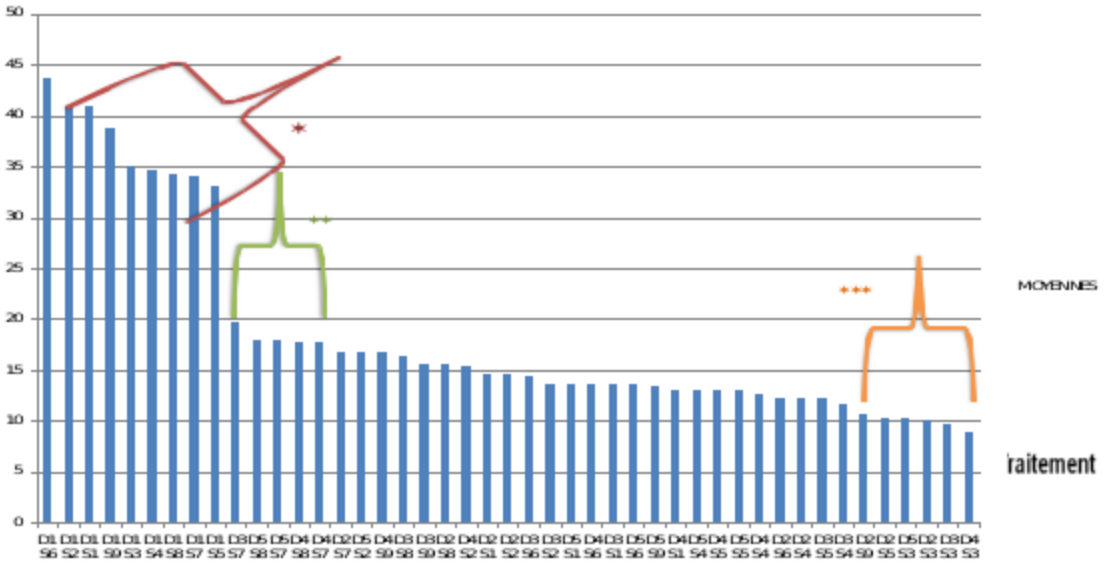


Fig.33 : Histogramme des analyses statistiques des extraits méthanolique d'*E.blakelyi*

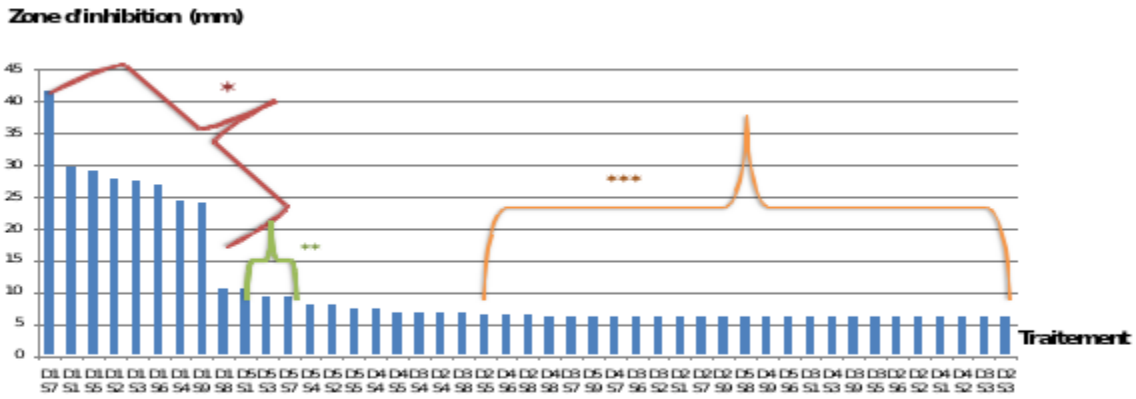


Fig.34 : Histogramme des analyses statistiques des extraits aqueux d'*E.cladocalyx*

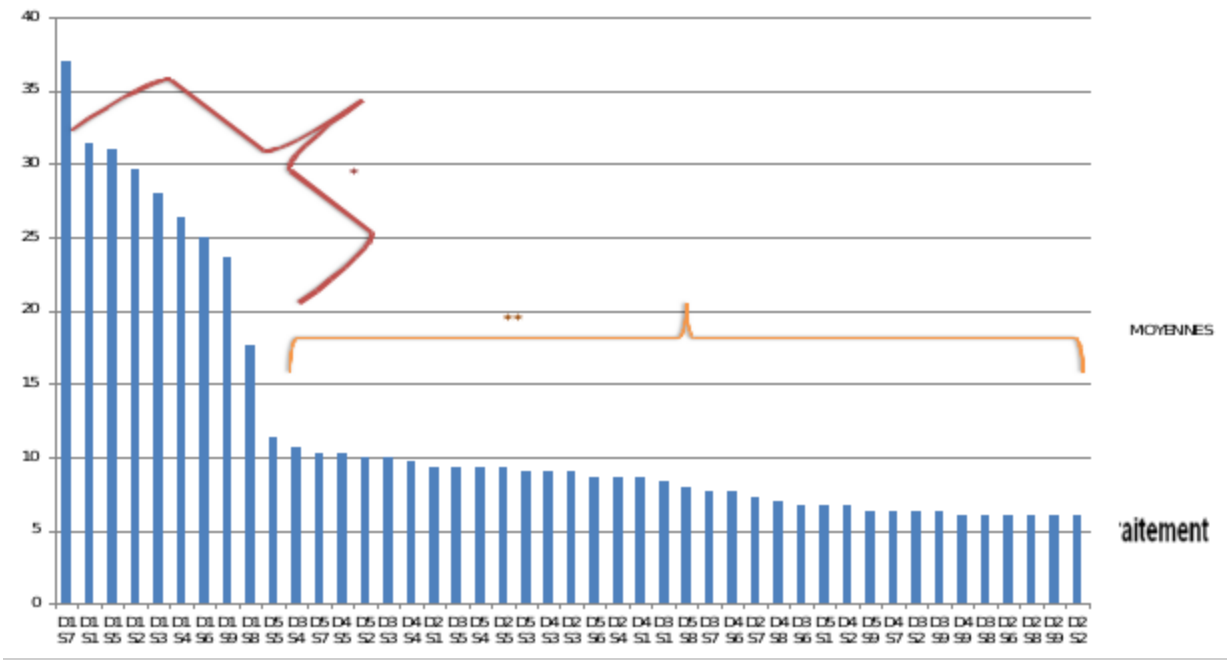


Fig.35 : Histogramme des analyses statistiques des extraits méthanolique de l'*E.cladocalyx*

II-2- discussion

Les rendements des différents extraits d'*Eucalyptus cladocalyx* et de l'*Eucalyptus blakelyi* sont différents selon les solvants utilisés (méthanol et l'eau distillée), et cette différence dépend de l'espèce végétale, du type du solvant et des métabolites secondaire qui se trouve au niveau de chaque espèce. **(Mohammedi, 2013)**

D'après l'étude réalisée par (**HAYATE *et al,* 2014)** sur l'*Eucalyptus gomphocephala* les rendements des extraits aqueux trouvés sont supérieurs par rapport aux rendements des extraits éthanoliques, ce qui est le cas dans notre étude où les rendements des extraits aqueux sont supérieurs à ceux des extraits méthanoliques.

Les analyses phytochimiques des extraits méthanoliques et aqueux des deux espèces ont montrés que les deux espèces d'*Eucalyptus* étudiés sont très riche en métabolite secondaire et que l'abondance de ces métabolites a été remarqué surtout dans les extraits méthanoliques.

Les coumarines durant notre étude ont été présent dans les deux extraits des deux espèces, une étude a été fait par **(Shayoub *et al,* 2015)** sur l'*Eucalyptus camaldulensis Dehnh*a montré l'absence des coumarines dans les extraits aqueux de ce dernier, ce n'est pas le cas dans notre étude où les coumarines ont été présent dans les extraits aqueux des deux espèces. Alor que les études de **(Dama *et al,* 2015)** sur l'*Eucalyptus globulu s*ont montré leur présences dans les extraits méthanoliques**,** c'est le cas de notre étude.

Nos résultats ont montrées aussi la présence des tanins et les saponines dans les extraits méthanoliques ; les mêmes résultats ont été trouvées dans les études de **(Dama *et al,* 2015)** sur l'*Eucalyptus globulus* et **(Adeniyi et Ayepola, 2008)** sur l'*Eucalyptus camaldulensis* et *Eucalyptus torelliana.* Une absence de saponine a été remarquée aussi dans l'extrait aqueux des deux espèces d'*Eucalyptus* avec un résultat pareil dans l'étude de **(IBRAHIM *et al,* 2016)** sur l'*Eucalyptus camaldulensis,* par contre il a trouvé les tanins dans l'extrait aqueux dont ils étaient absents dans notre extrait.

Les extraits méthanoliques de l'*Eucalyptus cladocalyx* et l'*Eucalyptus blakelyi* sont riche en flavonoïdes et en alcaloïdes, leurs présence a été mis en évidence aussi par **(Dama *et al,* 2015)** dans l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus globulus* et une présence de flavonoïdes uniquement dans l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus camaldulensis* a été trouvé par **(ALERUCHI *et al,* 2016).**

D'autres études ont montré l'absence des flavonoïdes **(IBRAHIM *et al,* 2016)** et d'alcaloïdes **(ALERUCHI *et al,* 2016)** dans les extraits méthanoliques de l'*Eucalyptus cameldulensis,* cette différence peut être due à la méthode d'extraction.

Dans notre étude, les flavonoïdes et les alcaloïdes ont été absent dans l'extrait aqueux des deux espèces, nos résultats sont similaires à ceux de **(IBRAHIM *et al,* 2016) et (Sani *et al*. 2014)** dans l'*Eucalyptus camaldulensis.*

Les études faites par **(Sasikala and Kalaimathi, 2014)** et **(Namrata *et al,* 2018)** sur l'*Eucalyptus sp* et l'*Eucalyptus globulus* ont montrées l'absence des protéines dans les extraits méthanoliques et aqueux des deux espèces respectivement, un résultat pareille a été trouvée dans notre étude.

Les derniers composés recherchés durant notre étude sont les stérols et les polyterpènes dont ils ont été absents dans les deux extraits des deux espèces, avec une absence pareille de terpenoides dans l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus camaldulensis***(Sani *et al,* 2014).** Par contre leurs présence a été mis en évidence par **(IBRAHIM *et al,* 2016)** dans les extraits aqueux et méthanolique de l'*Eucalyptus*

camaldulensis et **(Dama *et al,* 2015)** dans l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus globulus.*

La différence remarquée entre notre étude et les autres études est liée à l'espèce d'*Eucalyptus* utilisée vue que la composition chimique se diffère d'une espèce à une autre et d'un solvant à un autre.

Pour le screening de la poudre, les résultats ont été significatifs avec ceux de l'extrait, sauf une seul différence a été remarquée, qui est l'absence des flavonoïdes pour *E.blakeily* et des alcaloïdes pour les deux espèces dans la poudre, cette différenciation peut être liée à l'état de ces deux métabolites qui ont été inactif dans la poudre dont ils nécessitent un solvant organique pour qu'ils puissent devenir actif vue que le rôle de l'extraction est de faire extraire les métabolites secondaires et les rend actif et sachant que ces analyses ont été répété 3 fois.

Les résultats de l'aromatogramme obtenus montrent que les deux extraits de *l'Eucalyptus blakelyi* ont un effet antimicrobien plut fort sur la croissance des 11 souches microbiennes testées par rapport à ceux de l'*Eucalyptus cladocalyx*, cet effet est expliqué par les résultats de l'analyse phytochimique de l'*Eucalyptus* dont *E.blakelyi* est très riche en flavonoïdes et en tanin par rapport à *E.cladocalyx* vue que ces deux métabolite ont des propriétés antimicrobiens.**(BOUZID *et al,* 2011).**

Pour *l'Eucalyptus cladocalyx* l'effet antimicrobien qui a été remarqué dans l'extrait méthanolique est élevé par rapport à celui de l'extrait aqueux à cause de la pauvreté de ce dernier en métabolites secondaires qui ont été montrés dans l'analyse phytochimique fait durant notre étude sauf pour *P.aeruginosa*, *L.innocua* et *E.feacalis* qui ont été strictement résistant vis-à-vis les deux extraits.

Ces résultats, ont montrés aussi que les souches les plus sensibles aux deux extraits des deux espèces sont les Gram positif suivi par les gram négatif, cette différence peut être expliqué par la membrane externe hydrophile qui caractérise les bactéries gram négatif et qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobe dans la membrane cellulaire cible **(Ahmed *et al,* 2010)** et à leur paroi cellulaire qui est riche en lipopolysaccharide et qui rend les extraits incapables à passer à travers la couche lipopolysaccharidique. **(Takahashi *et al*, 2004).**

Les bactéries Gram négative ont été révélé moins sensibles aussi aux extraits méthanoliques de l'*E.maculata* chez l'étude réalisé par **(Takahashi *et al*, 2004)**.

Des études faites par (**Vasantharaj *et al*, 2013), (Namrata *et al*, 2018)** et **(Takahashi *et al*, 2004)** sur les extraits méthanoliques d'*Eucalyptus sp*, *E.globulus* et *E.maculata*

respectivement ont montrées la sensibilité de *S.aureus*, *E.coli* et *P.aeruginosa*, c'est le cas de notre étude sur *E.blakelyi* et *E.cladocalyx* sauf chez *P.aeruginosa* qui a été résistance aux extraits méthanoliques de ce dernier.

(Adeniyi *et al*, 2008) et (**Hameda et Magda, 2014)** ont trouvés durant leurs études sur *E.torreliana* et *E.globulus* respectivement que *kleibsella sp* et *B.subtilis* sont sensibles aux extraits méthanoliques des deux espèces, les mêmes résultats ont été trouvé chez les extraits métrhanoliques d'*E.blakekyi* et *E.cladocalyx* de notre étude. Pour *E.feacalis*une sensibilité a été remarqué vis-à-vis aux extraits méthanoliques d'*E.maculata* dans l'étude de **(Takahashi *et al*, 2004)** avec un résultat pareille chez *E.blakelyi* et résulta différente chez *E.cladocalyx* durant notre étude.

Pour l'extrait aqueux d'*E.blakelyi* et *E.cladocalyx* les souches qui ont été sensibles sont *E.coli* ATCC, *S.aureus* ATCC et *B.subtilis*, pour les deux espèces et toutes les souches pour *E.blakelyi* ; les mêmes résultats ont été trouvés chez les extraits aqueux d'*E.camaldulensis* dans l'étude de (**Shagal et al, 2012)** dont *E.coli*, *S.aureus* et *B.subtilis* ont été sensibles, Alor que *P.aeruginosa* a été sensible vis-à-vis aux extraits aqueux d'*E.gomphocephala* dans l'étude de (**HAYATE *et al*, 2014)**.

Les résultats de l'activité antifongique ont montré la sensibilité de *C.albicans* vis-à-vis aux extraits méthanoliques et aqueux des deux espèces, des résultats pareilles ont été trouvés dans les extraits méthanoliques d *E.camaldulensis* et les extraits méthanoliques et aqueux d'*E. nicholli* étudiés par (**Aleruchi *et al*, 2008) et** (**Ermelinda *et al*, 2016)** respectivement. Alors que l'étude faite par (**Najah, 2014)** sur l'*E. spathulata* a montré sa résistance vis-à-vis aux extrais méthanoliques, cette différence peut être causée par la différenciation entre les espèces de notre études et cette espèces et aux principes actifs présents dans chaque espèce.

Pour la moisissure *Rhizopus sp*, la sensibilité a été enregistré vis-à-vis aux aqueux des deux espèces est élevé par rapport à celle des extraits méthanoliques, a cause de la différence entre les solvants des deux extraits.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques et avec le développement de la résistance microbienne aux agents antimicrobiens, ces principes actifs restent la seule moyenne utilisée pour guérir toute sorte de maladie.

Durant notre étude on a travaillé sur la partie aérienne desdeux espèce d'Eucalyptus qui sont *E. blakelyi* et *E. cladocalyx* récoltés de Bainem situé à 12km à l'ouest de la wilaya d'Alger en Algérie pour la mise en évidence des métabolites secondaire qu'elles contiennent et d'évaluer leurs activités antimicrobiennes sur des espèces bactériennes et fongique connu par leur pathogénicité et leurs antibiorésistance.

A partir de ces deux espèces nous avons préparé des extraits méthanolique et aqueux par la méthode de macération, avec des rendements de 10.12% ; 15.82% pour *les extraits méthnolique et aqueux respectivement d'E. blakelyi et 11% ;19.76% pour E. cladocalyx*

Le screening phytochimique a permet de conclure que : les extraits méthanoliques des deux espèces sont riches on : saponines, flavonoïdes, tanins et en alcaloïdes ; les mêmes métabolites sont absents dans l'extrait aqueux avec les protéines, les stérols et polyterpènesalors que les coumarines ont été présents dans les deux extraits des deux espèces.

Pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne les deux extraits d'*E. blakelyi* ont présentés une forte activité inhibitrice sur toutes les souches microbiennes étudies par contre les deux extraits de l'*E. cladocalyx* ont montré une activité modérée dont *P. aerugenosa*, *E. feacalis* et *L. innocua* ont été résistantes vis-à-vis à l'extrait méthanolique, et *S. aureus* isolée, *E. coliisolée, K. oxycota, P. aerugenosa, E. feacalis* et *L. innocua* ont été résistante vis-à-vis a 'extrait aqueux.

Cette étude n'est qu'un point de départ pour la détermination des vertus thérapeutiques des plantes médicinales qui peuvent sauver la vie de l'humanité que ce soit en Algérie ou à d'autre pays.

Références Bibliographique

1. **Abderrazak M. et Joël R. 2007**. La botanique de A à Z. Ed. Dunod. Paris. 177p.
2. **Adeniyi.B.A, and O.O. Ayepola,** The phytochemical screening and antimicrobial activity of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis*and *Eucalyptus torelliana*(Myrtaceae). Research journal of medicinal plant 2 (1), 2008, 34-38.
3. **Ahmed A., Hajer E J., Sondes A et Mohamed N**. Screening of antiraducal and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris*I.,*ArtemisiaHerba* Alba Asso,&*thymus capitatus* hoff.et link. Growing wild in the southern of Tunisia. *recent research in science and technology*.2(1). 2010, 29-39.
4. **Alekshun, M. N., Levy, S. B.** molecular mechanisms of antibacterial multidrugresistance.*Cell*, 2007, vol. 128, n°6, pp. 1037- 1050.
5. **AleruchiChuku, Abigail I. Ogbonna, Godwin A. Obande, MwanretNamang and Iliyasu R. Ahmad.** Antimicrobial effects of leaves of *Eucalyptus camaldulensis*on some microbial pathogens. European Journal of Medicinal Plants. 14(2), 2016,1-8.
6. **Amjad Hossain M. 2005.** Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the Development of Pharmaceutical Products from Medicinal Plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR). 10, 59-63.
7. **AVRIL JL, BABERNAT H, DENIS F, MONTEIL H**. Bactériologie clinique. 3ème édition. Editions Ellipses 2001 ; 543 pages
8. **Ayad, R. 2008.** Recherche et détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce *zygophyllum cornutum*, Mémoire magister En Chimie Organique. p 35-39, 40, 47.
9. **Badiaga, M. 2011.** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea Latifolia Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat.10p.
10. **BEAUDOUX.O. 2009.** Epidémiologie et caractérisationmoléculaire des souches de *kleibsellaoxycota* isolée en 2006-2007 au CHU de NANTES. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en médecine. Université de NANTES. P10-14-19-20.
11. **BeddouFawzia**. Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *rumex vesicarius* L. et *anvillearadiata*coss.& Dur. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et biochimie. Université Abou BekrBelkaid, Tlemcen, ALGERIE. 2015. P ,22- 23

12. **BELLAMINE Kawtar**. La phytothérapie clinique dans les affections dermatologiques, mémoire de fin d'étude pour l'obtention du doctorat en pharmacie, université mohammed V- rabat. 2017. 10p.
13. **Benaissa, O. 2011.** Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum*et*Rhantherium*, Thèse Doctorat. 63p.
14. **Bigendako M J. 2004.** Identification Et Zonage Des *Eucalyptus Globulus* Au Rwanda, Chemonics International Inc., Projet Adar, Aoûtt, Page 01.
15. **Boizot N., and Charpentier .J.P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre foustier. *Le cahier des techniques de l'Inra*. pp 79-82. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
16. **Boland Dj, Brooker Mih, Chippendale Gm, Hall N, Hyland Bpm, Johnson Rd, Kleinig Da, Mcdonald Mw, Turner Jd. 2006** Forest Trees Of Australia. Csiro Publishing, Collingwood.
17. **Boland DJ; Brooker MIH; Chippendale GM; Hall N; Hyland BPM; Johnston RD; Kleinig DA; Turner JD. 1984.** Forest trees of Australia. 4th ed. Melbourne, Australia:Thomas Nelson and CSIRO. xvi + 687 pp.; 77 ref.
18. **Booth, N.L., Dejan, N., Richard, B., Stoci, E. 2004.** New lanthanide complexes of 4 methyl 7 hydroxy coumarin and their pharmacological activity, *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. p50, 120-123.
19. **BoudjelalA.2013,**Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées de la région de M'sila,Algérie, thése de Doctorat en sciences, université Badji Mokhtar-Annaba p :4-40).
20. **Boudjouref Mourad. 2011.** Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris*L. Mémoire Pour l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif, pp 48.
21. **Bousseboua H. 2001; 2006.** Eléments de microbiologie générale. 32, 160-167
22. **Brooker MIH; Kleinig DA. 1990**. Field Guide to the Eucalypts: Volume 2, South-Western and southern Australia. Melbourne, Australia: Inkata Press.
23. **BOUZID W., YAHIA M ; ABDEDDAIM M ; ABERKANE M. C ET AYACHI A.2011**. Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits de l'*aubepinemonogyne. Lebanesscienecejournal.*vol. (12) : 59-69.
24. **BRUNETON J. 1999**. Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3éme ed, Paris. France. 1120p.

25. **BRUNETON, J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
26. **BRUNETON J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Tec & Doc (Ed). Paris.
27. **Bruneton, J. 1993.** Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2ème Ed. Lavoisier, Paris.
28. **Buchrieser, C., Cossart,P. Glaser, P. and Rusniok, C .** comparison of the genomesequences of *Listeria monocytogene* and *Listeria innocua :* clues for evolution and pathogenicity. FEMS immunology and medicalMicrobiology. 2003. Volume 35. P 207-13. <http://www.fems-microbiology.org/websit/nl/default.asp>
29. **Camille delarras.2014**.Pratiqueen microbiologiede laboratoire recherche de bactéries et de levures-moisissures. Édition célinepoiteaux. Lavoisier. Paris, p1-567
30. **callery,E** . le grand livre des herbes: le guide pratique de la culture, du séchage et des vertus de plus de 50 herbes. Cologne: KonemannVerlag, 1998.
31. **Chambers H. F., (1997)**Methicillin resistance in staphylococci:molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev*. **10** : 781-791.
32. **Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. 2006**. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT. **39:**756-761.
33. **Clemson A .1985.** Honey And Pollen Flora. Inkata Press, Melbourne.
34. **Cohen Y et Jacquot C. (2001).** Pharmacologie. 5ème Ed. Masson. Paris. 350p.
35. **Cowan M. M**. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*., **12** (4) : 564-570.
36. **Dama L.B., Masuldar A. A. and Bangale P.P.** Phytochemical investigation of the *Eucalyptus globulus*leaf extract and *piper nigrum*seed extract and screening the nematicidal activity of their combination against nematode parasites of *gallusgallusdomesticus.* Trends in parasitology research, an international peer-reviewed journal.Volume 4 (3), 2015, 2319 – 3158.
37. **Decaux I**.Phytothérapie : mode d'emploi, Ed : Le bien public, p6-7. 2002.
38. **Deina, M., Rosa, A., Casu, V., Cottiglia, F., Bonsignore, L. 2003.** Natural product:theirchemistry and biologicalsignificance, Journal of the American OilChemistry Society. 80:65-70.

39. **Djemoui, D. 2012.** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique. 53p.
40. **DJAHRA Ali Boutlelis.2014.** Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en science. université BADJI MOKHTAR – Annaba, p 36-104.
41. **Eldridge K., Davidson J., Harwood C., Van Wyck G., 1993.**Eucalypt Domestication And Breeding. Clarendon Press, Oxford, 288 P
42. **EL MANSOURI Khalid. 2013.** Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine. Université CADI AYYAD à Marrakech, Maroc, pp 18, 19.
43. **ELQAJ M AHAMI A., et BELGHYTI, D.2007**. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc.
44. **Ermelinda Silva, Sara Fernandes, Eunice Bacelar , Ana Sampaio.** Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic and methanolic leaf extracts from *acacia* spp. and *Eucalyptus nicholii.* (2016), 130-134.
45. **Eucalyptus Blakelyi Maiden**, Crit. Revis. Eucalyptus 4: 43 (1917).
46. **Eucalyptus cladocalyxF.Muell**., Linnaea 25: 388 (1853)
47. **Farnsworth N. R., Akerele O., Bingel A. S., Soejarto D. D. et Guo Z. 1986.** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*., **64** (2) : 159-164.
48. **Ford R.A., Hawkins D.R., Mayo B.C., Api A.M. 2001.**The*in vitro* dermal absorption and métabolism of coumarin by rats and by human volunte ersunder simulated conditions of use in fragrances, Food and ChemicalToxicology. p39, 153-162.
49. **GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M., and ORECCHIONI A.M., 2001**. Le préparateur en pharmacie dossier 2èmeEd TEC&DOC. Paris. pp275. (Cited in DjemaiZoueglache S, 2008).
50. **Gossens, H., Guillemot, D., Farech, M., Schlemmer, B., Costers, M., Van Breda, M., Baker, L. J., Cars, O., Davey, P. G.** National campaigns to improveantibiotic use. *European journal of clinicalpharmacology*, 2006, vol. 62, n°5, pp. 373-379.
51. **Guignard, J.L. 1998.** Abrégé de botanique, Masson (Ed). Paris. 212p.

52. GUIGNARD JL., **1996**- Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris. France. 274 p.

53. Guiraud J.P. 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. P 71-75.

54. Guignard J L., 2001. Abrégé Botanique Systématique Moléculaire 12 EdsRévisée.Masson.

55. Gunn Bv (2001) Australian Tree Seed Centre Operations Manual. Internal Publication, Csiro Australian Tree Seed Centre, Act. [Online AtHttp://Www.Ensisjv.Com/Portals/0/Atsc-Opmanualcomplete.Pdf Accessed March 2008).

56. G. Yakhlef, S. Laroui, L. Hambaba, M.-C. Aberkane, A. Ayachi. Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris*et de *Laurusnobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle .2011, n° 9, pp. 209.

***57.* Hameda El Sayed Ahmed El Sayed and Magda M. Aly.** Antibacterial Activities of Six Medicinal Plants Used Traditionally by Saudi People to Treat Common Diseases. *British Biotechnology Journal 4(4). 2014, 499-510.*

58. Hans W. Kothe. **2007**. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. Cologne., p6-9.

59. HANSON J. R., 2003- Natural products : the secondarymetabolites. Ed. Royaume-Uni: Royal society of chemistry, Italy. 137 p.

60. HarboneJ.B., : PhytochimicalMethods : A guide to moderne techniques of plant analysis 3e ed. :chapman and hill. 303p. 1998.

61. HART K.J., YÁNEZ-RUIZD R., DUVALS M., MCEWANN R., NEWBOLDC J., 2008- Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal feed science and technology. Vol. (147) : 8–35.

62. HASLAM E., 1994- Natural polyphenols (vegatable tannins):Gallic Acid metabolism. *Nat. Prod*. Vol. (11): 41-66.

***63.* HAYATE BOUHARB1, KHALID EL BADAOUI, TOURIYA ZAIR, HAFSA SHISSEH, SAID CHAKIR, TAJELMOLK ALAOUI.**.Antibacterial evaluation and phytochemical screening of eucalyptus *gomphocephala DC* against *Pseudomonas aeruginosa.* Asianjournal of pharmaceutical and clinical research.ISSN – 0974 2441, 7 (4). 2014, 264-267.

64. Hoffman, L. 2003. Etude du métabolisme des phénylpropanoides, Thèse de doctorat. Strasbourg. 245p.

65. **Huang Guangrong., Jiang Jiaxin.,andDaiDehui. 2008.** Antioxidative and antibacterial activity of the methanol extract of *Artemisia anomala S. Moore. African Journal of Biotechnol.*7 (9):1335-1338.
66. **HUSSON MO, HARF-MONTEIL C, MONTEIL H**. Pseudomonas-burkholderia-rastoniapandoraea. Précis de bactériologie clinique. Editions ESKA 2007 ; 1122-50 ; 1764 pages.
67. **IBRAHIM, I.S., ALI, M., ZAGE, A.U.**phytochemistry of methanolic and aqueous extracts of eucalyptus camaldunensis leaves, seeds and stem back. International Journal of Advanced Academic Research (Sciences, Technology & Engineering). Vol. 2 (12), (December 2016), 75-80.
68. **Institut National De Recherche Forestiere., 1996**. «La Forêt Algérienne» Editer Par–Bainem-Alger Février -Mars Page10.
69. **Iserin Paul**. Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. Larousse-Bordas Paris, 14. 2001.
70. **Iserinpaul.** Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Larousse-bordas pour l'édition originale en langue française. Londres. 2001, p10-99.
71. **ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J. P., YBERT E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA E., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P., DEELESALLE -FEAT T., BIAUJEAUD M., RINGUET J., BLOTH J., BOTREL A., 2001.** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2éme édition de VUEF, Hong Kong: 335.
72. **Jemmi, T., and Stephan, R.** *Listeria monocytogenes* : food-borne pathogen and hygieneinducator. Review science magazine. 2006. Volume 25.p. 571-80.<http://www.oie.int/eng/publicat/rt/2502/review25-2BR/09-jemmi571-580.pdf>
73. **JULIEN Pierre**. L'histoire de la pharmacie commence au IIIe millénaire avant le Christ : Samuel-Norah KRAMER. L'Histoire commence à Sumer. Revue d'histoire de la pharmacie.1958, vol. 46, n° 156, pp. 254-255.
74. **Jürgen R., Paul .S., Ulrike S., and Reinhard S. 2009.** Essential Oils of Aromatic Plants withAntibacterial,Antifungal, Antiviral, and CytotoxicProperties– an Overview: *ForschKomplementmed.***16:** 79–90.

75. KAHLOUCHE-RIACHI Foulla. Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse présentée en vue de l'obtention du doctorat en science. Université de Constantine 1. 2014. p 9.

76. KANOUN K., 2011- Contribution à l"étudephytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtuscommunis*L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université aboubekrbelkaid -Tlemcen. Algérie.110 p.

77. Kaufmann S. H. E. 1997. Host response to intracellularpathogens. *New York*. p345.

***78.* KANSOLE, M.M.R,. 2009.** Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis (Jacquin).*

***79.* KesbiAmrane** Etude Des Propriétés Physicochimique Et Evaluation L'activite Biologique Des Huiles Essentielles D'eucalyptus Globulus Dans La Région De Ouargla, Memoire De Fin D'etudes En Vue De L'obtention Du Diplome De Master En Genie Des Procedes, UniversiteKasdiMarbah Ouargla.2010-2011, P 19.

80. King A., and Young G. 1999. characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.*Jof the American dietetic association.***99**:213-218. (cited in DjemaiZoueglache S, 2008.

81. KRIEF S., 2003- Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l"alimentation de chimpanzes (pan troglodytes schweinfurthii) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommees. Thése de Doctorat. Museum national d"histoirenaturelle, Ouganda. 49p.

82. LAHLAH Fatima Zohra. 2008. EXTRACTION DES FLAVONOIDES PAR LE BUTANOL ET LECHLOROFORME A PARTIR DE *SILYBUM marianum*ET ETUDE DE LEURACTIVITE ANTIMICROBIENNE. MEMOIRE Pour l'obtention du diplôme de MAGISTERMicrobiologie Appliquée. Université Mentouri-Constantine.p18

83. L.D.Pryor.1955. Eucalypts for planting. p 362,p 385.

84. LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J., et LEE C.Y., 2003. Cocoa Has More PhenolicPhytochemicals and a HigherAntioxidantCapacitythanTeas and RedWine. J. Agric. Food Chem. 51, 7292-7295.

85. **Lock O., Cabello I., Doroteo V. H. 2006.** Analysis of flavonoids in plants. *Current Medicinal Chemistry.* 20 :6-11.
86. **LOUKIADIS E. 2007.** Facteur de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirsd'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémoragique (EHEC). Thèse de doctoratUniversité de Toulse, France
87. **LUGASI A., HOVARI J., SAGIK., and BIRO L., 2003**. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases.*J.Acta.biologica. szegediensis.* **47 (1 4):**119-125. (Cited in Mohammedi Z, 2005).
88. **Lutge U., Kluge M., Bauer G. 2002.** Botanique 3ème Ed : Technique et documentation. Lavoisier .Paris. 211p.
89. **LEYBROS J, FREMEAUX P., 1990**- Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, *Génie des procédés*. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.
90. **Malec, L.S. &Pamilio, A.B., 2003.** Herbivory effects on the chemical constituents of *Bromuspictus*. *MolecularMedicinalChemistry*1, 30-38.
91. **Malecky, M. 2005.** Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9, 13-19, 20, 27.
92. **Mauro, N. M. 2006.** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxinea et la -camptothécine, thèse doctorat. p13, 16-28.
93. **Medic–Saric M., Jasprica I., SmolcicBubaloA., and Momar A. 2003.** Optimization of chromatographic conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids.*CroaticaChemicaActa*.77 (1-2):361-366. (cited in Mohammedi Z, 2005).
94. **Mohammedi Zohra**, Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région nord et sud ouest de l'algérie, thèse de doctorat en biologie, université aboubakrbelkaid à tlemcan en algérie, 2013. P 22-89.
95. **NamrataDwivedi, Aakansha Tiwari, Ravindra Singh and I. P.** Tripathi. Evaluation of plant secondary metabolites composition and antimicrobial activities of *eucalyptus globulus*extracts. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences ISSN: 2319-7706. 2018,7.*
96. **Najah Ali Mohammed. Invitro:** Antimicrobial Activity of Leaves Extracts of Eucalyptus Spathulata Against Streptococcus Mutans and Candida Albicans. Journal of Al RafidainUniversityCollege**.** Issue No. 33/2014, 183-194.

97. NARAYANA K. R., REDDY M. S., CHALUVADI M. R. et KRISHNA D. R., 2001. Bioflavonoids Classification, Pharmacological, BiochemicalEffects and TherapeuticPotential. Indian Journal of Pharmacology. 33, 2-16.

98. Nauciel. C., and Vildé J.L. 2005. Bactériologie médicale, 2èmeEd. Masson. Paris. p: 5-10.

99. Nauciel C. and Vildé J.L. 2009. Bactériologie Médicale. 2ème édition MASSON

100. Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R. 2000. L'essentiel en microbiologie. Edition Berti. P : 210-216.

101. Nicolle D, 1997. Eucalypts of South Australia. South Australia: Dean Nicolle.

102. Noble, W.C., Virani, Z., Cree, R. G. Co-transfer of vancomycin and otherresistancegenesfrom*Enterococcusfeacalis*NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. FEMS microbiologyLetters, 1992, vol. 72, n°2, pp. 195-198.

103. Normak, H. B. Normak, S. evolution and spread of antibioticresistance. Journal of internalmedecine, 2002, vol. 252, n°2, p91- 106.

104. PANDEY KB et RIZVI SI. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *OxidativeMedicine and Cellular Longevity*. Vol. 2 (5) : 270 – 278.

105. PEDNEAULT K., LEONHART S., ANGERS P., GOSSELIN A., RAMPUTH A., ARNASON J. T. ET DORAIS M. 2001. Influence de la Culture Hydroponique de Quelques Plantes Médicinales sur la Croissance et la Concentration en Composés Secondaires des Organes Végétaux. Texte de conférence - 5ième Colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval, Qc, Canada. 2p.

106. Perry J., Staley J., Lory S et *al.* 2002. Microbiologie. Cours et question de révision. Dunod: 159-160.

107. Philippon A. 1995 Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. *Lett. Infectiol*. **10** : 619-630.

108. Ponce G.2003 mining the essential oils of anthemideaeafrican journal of biotechnology,3 (12),706-720.

109. Roberts, M.f ; Wink, M. alkaloids : biochemistry, Ecology, and medecinal applications. New York : plenum press. 1998.

110. Sani.I, A. Abdulhamid, F. Bello. *Eucalyptus camaldulensis*: phytochemical composition of ethanolic and aqueous extracts of the leaves, stem-bark, root, fruits and seeds. Journal of Scientific and Innovative Research; 3(5) 2014, 523-526.

111. santos- buelga et c., scalbert, A. proanthocyanidins and tannin -like compounds- nature, occurrence, dietaryintake and effects on nutrition health. Journal of the science of food and agriculture, 2000, Vol, 80, n°7 pp. 1094- 1117.

112. Sasikala S. and Kalaimathi J. Phytochemical analysis and antibacterial activity of *Eucalyptus* sp leaf extract against clinical pathogens, international journal of institutional pharmacy and life sciences.(ISSN): 2249-6807,*4(6): November-December 2014, 47-58*

113. Serventy, V. Wildlife Of Australia. Thomas Nelon Ltd, Canada. 1968.

114. Shagal1. M. H, D. Kubmarawa1, K. Tadzabia and K. I. Dennis. Evaluation of phytochemical and antimicrobial potentials of roots, stem-bark and leaves extracts of *Eucalyptus camaldulensis.*African Journal of Pure and Applied Chemistry Vol. 6(5), March, 2012 pp. 74-77, 10.

115. Shayoub Mohamed El Hasan, AzzaDawoudHussienDawoud, Mona AM Abdelmageed, Ali M Ehassan. Ahmad M Ehassan..Phytochemical analysis of leaves extract of *Eucalyptus camaldulensisDehnh.* Omdurman Journal of Pharmaceutical Science, ISSN: 1858-506X, Volume 2(*1*), 2015, 64-71.

116. Slee Av, Connors J, Brooker Mih, Duffy Sm, West Jg .2006. Euclid Eucalypts Of Australia. Third Edition Cd Rom Centre For Plant Biodiversity Research. Csiro Publishing, Melbourne.)

117. SMALLFIELD B. 2001. Introduction to growingherbs for essential oils, medicinal and culinarypurposes. Crop& Food Research. Number 45,4p.

118. Sofowora, A. plantesmédicinales et medicine traditionelled'Afrique. Académie Suisse des sciences naturelles: Karthala, 2010.

119. Solfo R.R., 1973. Etude d'une Plante Médicinale Malgache *Buxus madagascarica Bail* et ses variétés. Ed : O.R.S.T.O.M.

120. Stockigt, J. Sheludk, Y, Unger, M, Gerasimenko, I, Warzecha, H, Stochigt, D. Hight- performance liquidchromatographic, capillaryelectrophoretic and capillaryelectrophoretic- electrospray ionisation mass spectrometicanalysis of selectedalkaloid groups. Journal of chromatography A, 2002, vol. 967, n°1, pp. 85-113

121. Strang C. **2006**. Larousse medical. Ed Larousse

122. SVOBODA K.P., et HAMPSON J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selectedtemperatearomaticplants:antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and

otherrelatedpharmacologicalactivities. Plant BiologyDepartment, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

123. Trease G.E., Evans W.C., 1989: A textbook of Pharmacognosy (13th edition) BacilluereTinal Ltd, London. 1994.

124. Takahashi. T, Kokubo. R and Sakaino. M, Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculate. Letters in AppliedMicrobiology 2004, 39, 60–64.

125. Tapiero H., Tew K.D., Nguyen B.G., and Mathé G. 2002. Polyphenol do they play a role in the prevention, of the human pathologies? *Biomed.pharmacother.* **56**: 200-207.(cited in DjemaiZoueglache S, 2008)

126. Tsopmbeng et al. 2014. Evaluation des activités antifongiques des extraits de plantes contre phytophthora colocasiae, journal of applied biosciences 81: 72221-7232 ISSN 1997-5902).

127. Vasantharaj. S, Sathiyavimal. S, Hemashenpagam. N. Phytochemical and Antibacterial activity of *Eucalyptus.* Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 21(2), Jul – Aug 2013; nº 43, 237-239

128. vaubourdolle, M. infectiologie. 3eme édition.Paris : wolterskluwer, 2007.

129. WALLACE R.J., 2004- Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of nutrition society*. Vol. (63) : 621–629.

130. W –Erdman J., Balentine J. D., Arab L., Beecher G., Dwyer J. T., Folts J., Harnly., Hollman J. P., L –KeenC.,.Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., WilliamsonG. etBurrowes J. 2007. Flavonoids and hearthealth : Proceeding of the ILSI NorthAmericaflavonoids workshop, may 31-june 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*., **137** (3 supp 1) : 718 s-737 s.

131. Wichtl, M., Anton, R. plantesthérapeutiques: tradition, pratiqueofficinale, science et thérapeutique. 3eme ed. Paris: tec& doc Lavoisier, 1999.

132. WICHTL M., ANTON R., 2009. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

133. Wilhelm, N. 1998. Botanique générale. 10eme Ed. De boeck. Paris, bruxcelles. 319p Les références à vérifier car il ya plusieurs manques et s'écrivent comme numéro 68.

134. Yagupsky, P. Selection of antibiotic- resistantpathogens in the community. *The pediatricinfectiousDisease Journal*. 2006, vol. 25, n°10, pp. 974-976.

135. YAKHLEF Ghania. 2010. Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris*L. et *Laurusnobilis*.L. mémoire en vue de l'obtention de diplôme de magister en biochimie appliquée. Université El hadj Lakhdar, Batna. P, 42

136. Haris C. introduction to modern microbiologie black wallscientific publication.1989 179p.

137. Yves-Alain .B et all. 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpiniabenthamiana*(Baill.) Herend. etZarucchi (Caesalpiniaceae).Vol. 4 N°2 : 217 – 225.

Les sites internet

138. [S.1]-Http://Wtlandcare.Org/Details/Eucalyptus-Blakelyi/

139. [S.2]- http://Sante-medecine.Comment ca marche. net/faq /7594-*Escherichia-coli*symptômes- et-traitement définition.

140. [S.3]- https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/bacillus_subtilis

141. [S.4]- http://microbiosynthetique.blogspot.com/2017/05/enterococcus.html

142. [S.5]- http://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/51094-enterococcus-feacalis-definition

143. [S.6]- http://coproweb.free.fr/mycoweb/texte/144.htm

144. [S.7]- https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr/faq/8438-candida-albicans

145. (S.8) – http://www.paroleauxjeunes.fr/le-champignon-rhizopus.html

Annexes

Annexe 1 : le matériel utilisé de laboratoire, les produits chimiques et réactifs

Matériels	**Produits et réactif**
- Bécher - Entonnoir - Erlenmayer - Creuset - Spatules - Papier filtre - Eprouvette - Balance électronique - Barreau magnétique - Agitateur - Rotavapeur - Etuve - Pipette pasteur - Micropipette - Tube à essai - Spectrophotomètre - Autoclave - Boites de pétrie - Ecouvillons - Portoirs - Anse de platine - Bec benzène - Plaque chauffante - Bain marie - Pince en bois - Pince en métal - Microscopie électronique - Lames - Lamelles	- Méthanol - Eau distillée - Violet de gentiane - Lugole - Alcool - Fushine - Disques non imprégnés - Disques d'antibiotique - H2SO4 - HCL - Formol - DMSO - H2O2 - Eau de javel - Acide acétique - NH4OH - Anhydride acétique - Magnésium - Ethanol - NaOH - CuSO4 - Iode de potassium (KI) - Iode - FeCl3

Annexe 02 : préparation des réactifs et milieux

Réactif du wagner :

2 g de KI et 1,27 g de I sont dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis ajusté à 100ml avec l'eau distillé.

PDA (*potato dextrose agar*)

Composition:

200g du Pomme de terre, 20g du glucose, 20g d'Agar et 1L d'eau distillée.

Préparation :

Laver la pomme de terre et la couper en petit cubes

- Mettre dans 500ml d'eau distillée et porter à ébullition pendant 1 heure
- D'autre part faire fonder l'agar dans 500 ml d'eau distillé
- Ecraser et filtrer la pomme de terre pour obtenir l'extrait, puis ajouter à la solution d'agar
- ajouter le Glucose
- Agiter ce milieu jusqu'à homogénéisation
- stériliser par autoclavage à 120°C / 20 min

Annexe 03 : les résultats de l’activité antimicrobienne

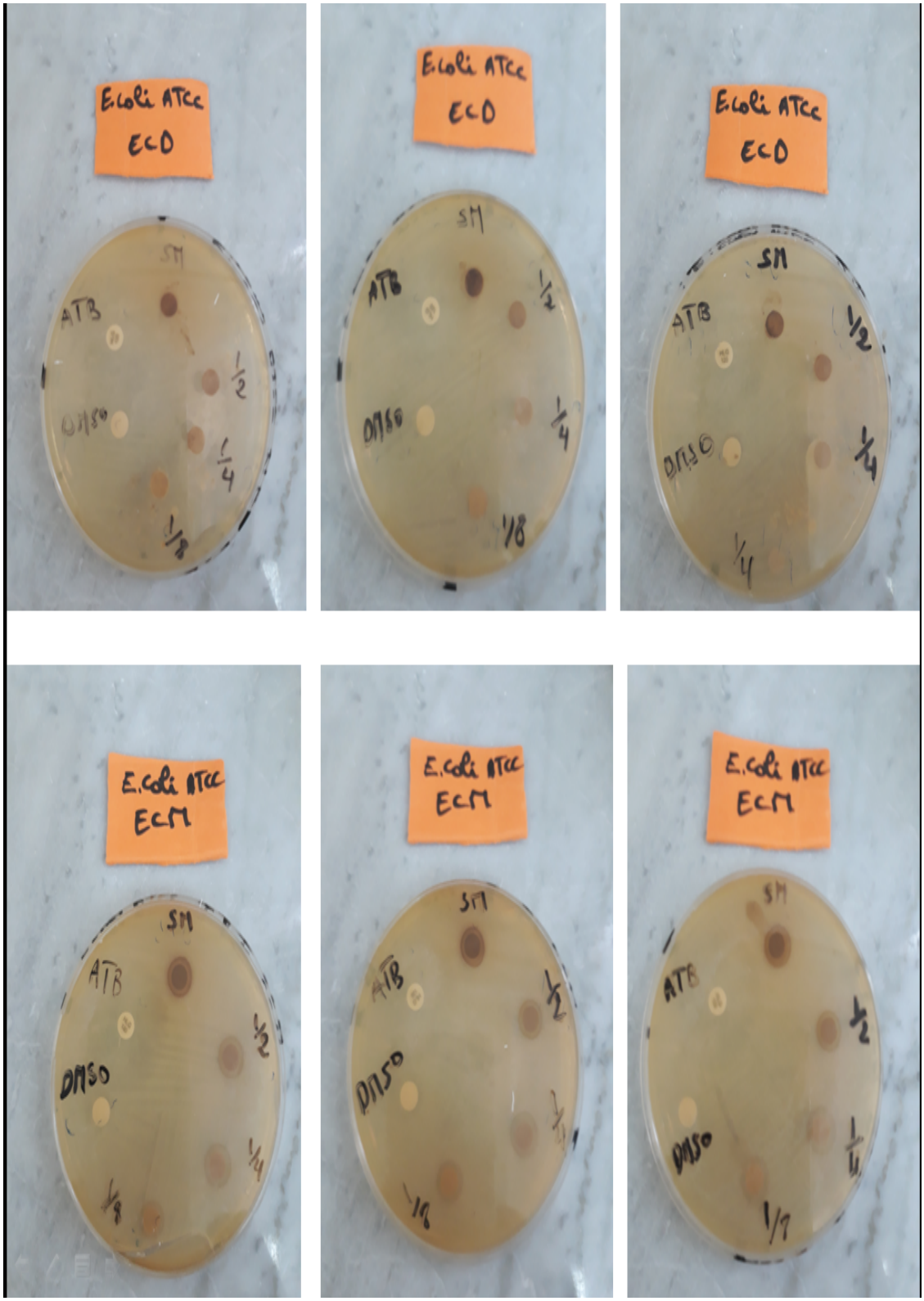


Fig. 01 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *E.coli* ATCC.

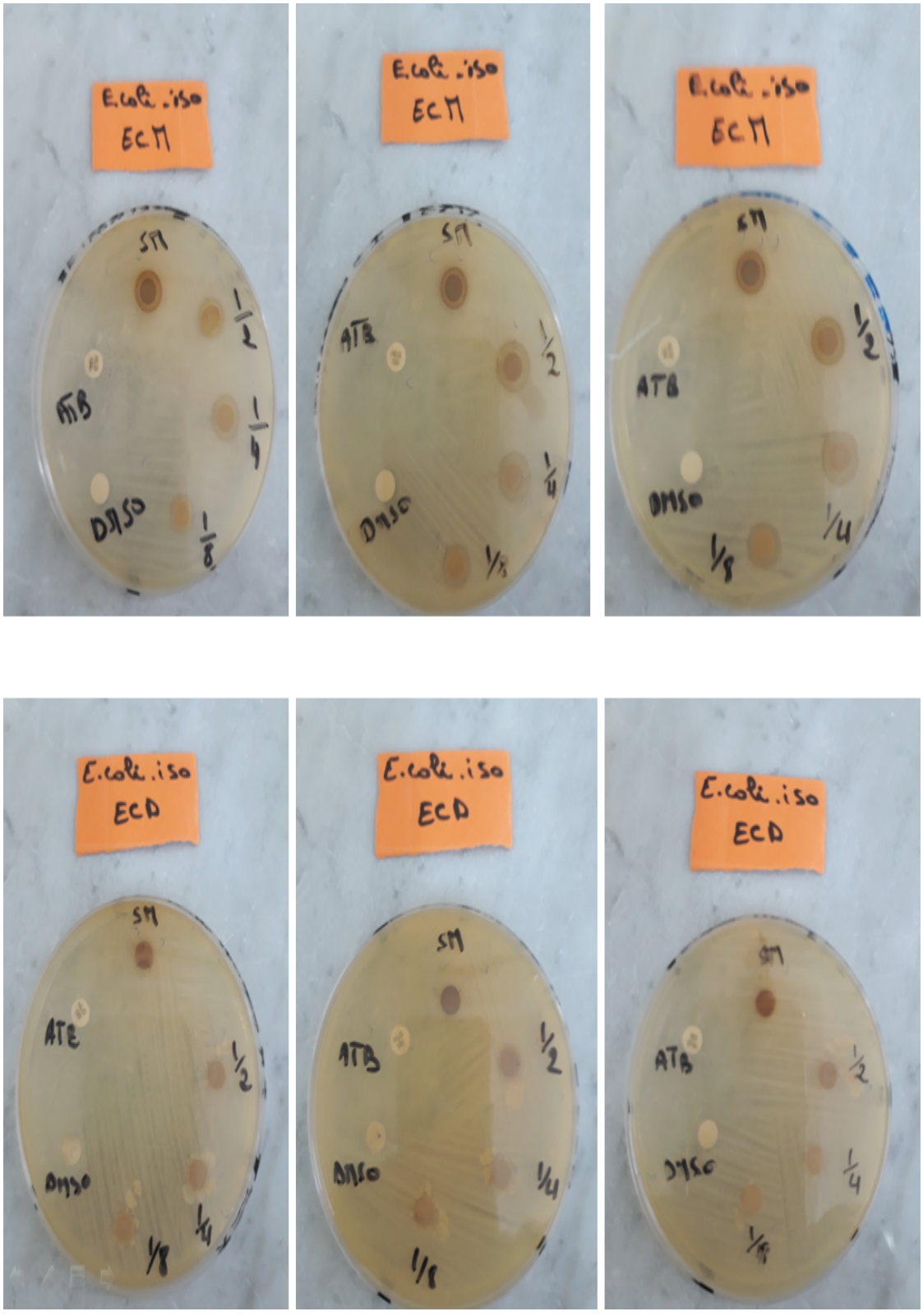


Fig. 02 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *E.coli* isolé.

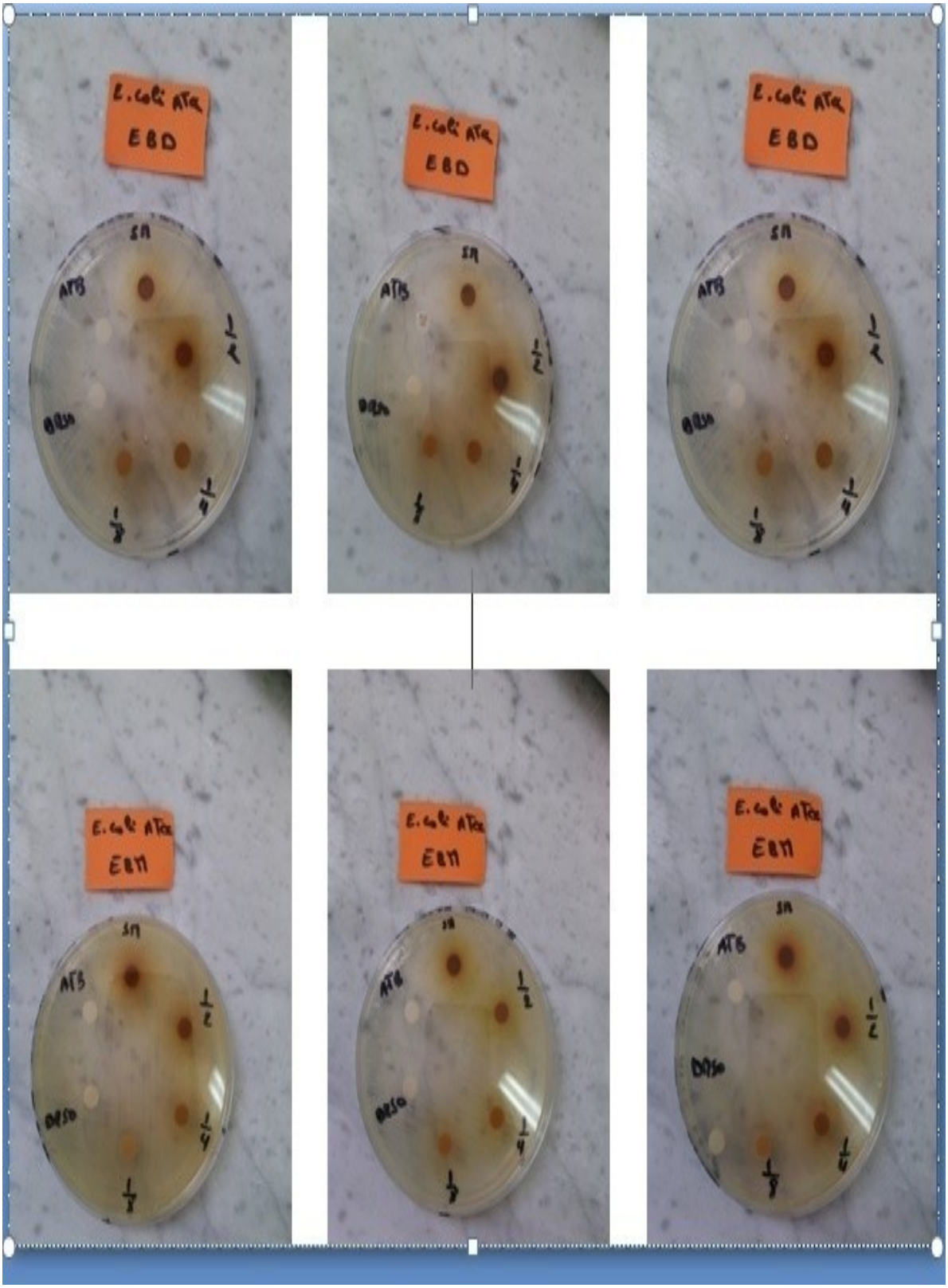


Fig. 03 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *E.coli* ATCC.

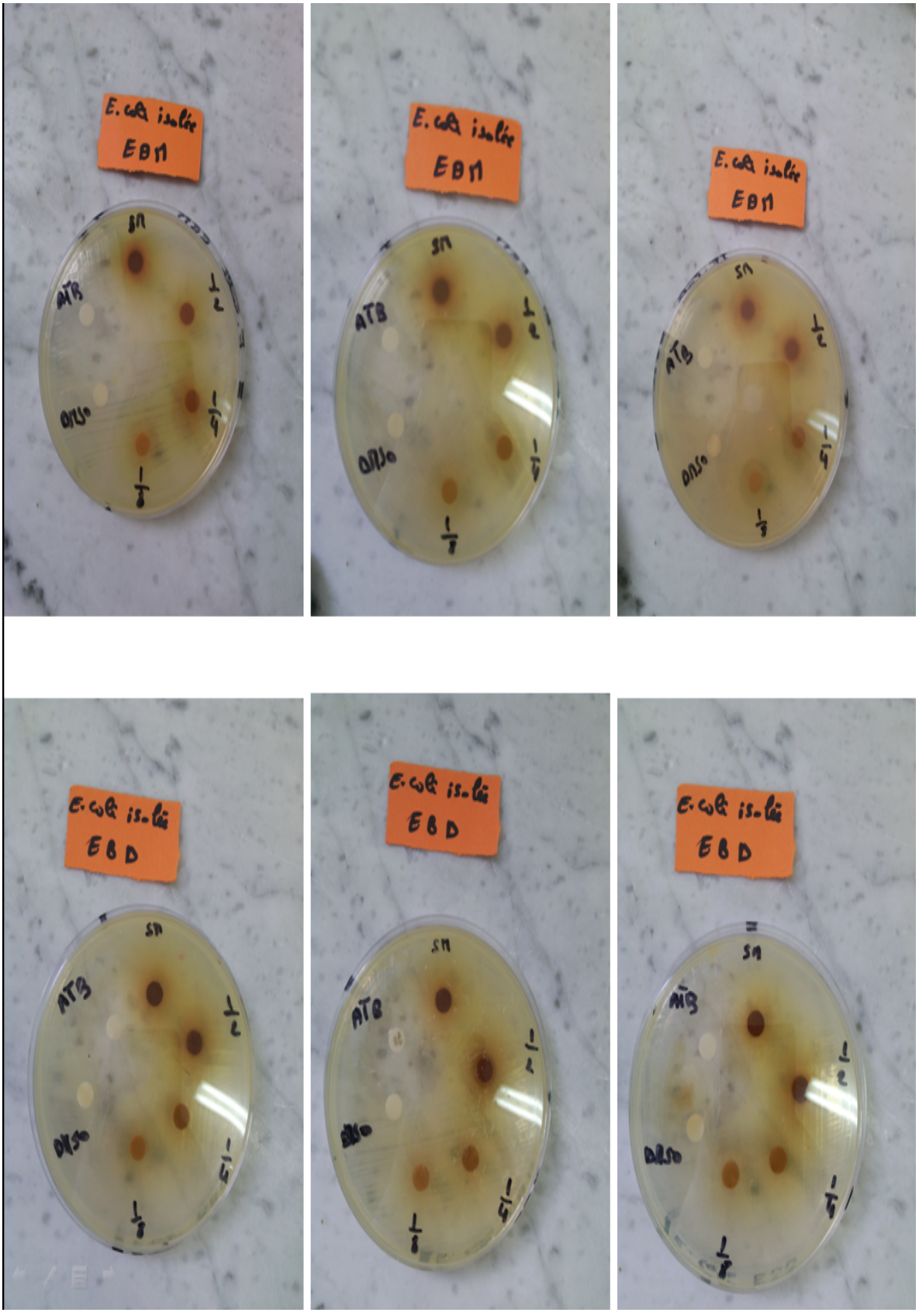

E. coli isolée
EB11
E. coli isolée
EB11
E. coli isolée
EB11
E. coli isolée
EB D
E. coli isolée
EB D
E. coli isolée
EB D

Fig. 04: l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *E. coli* isolé.

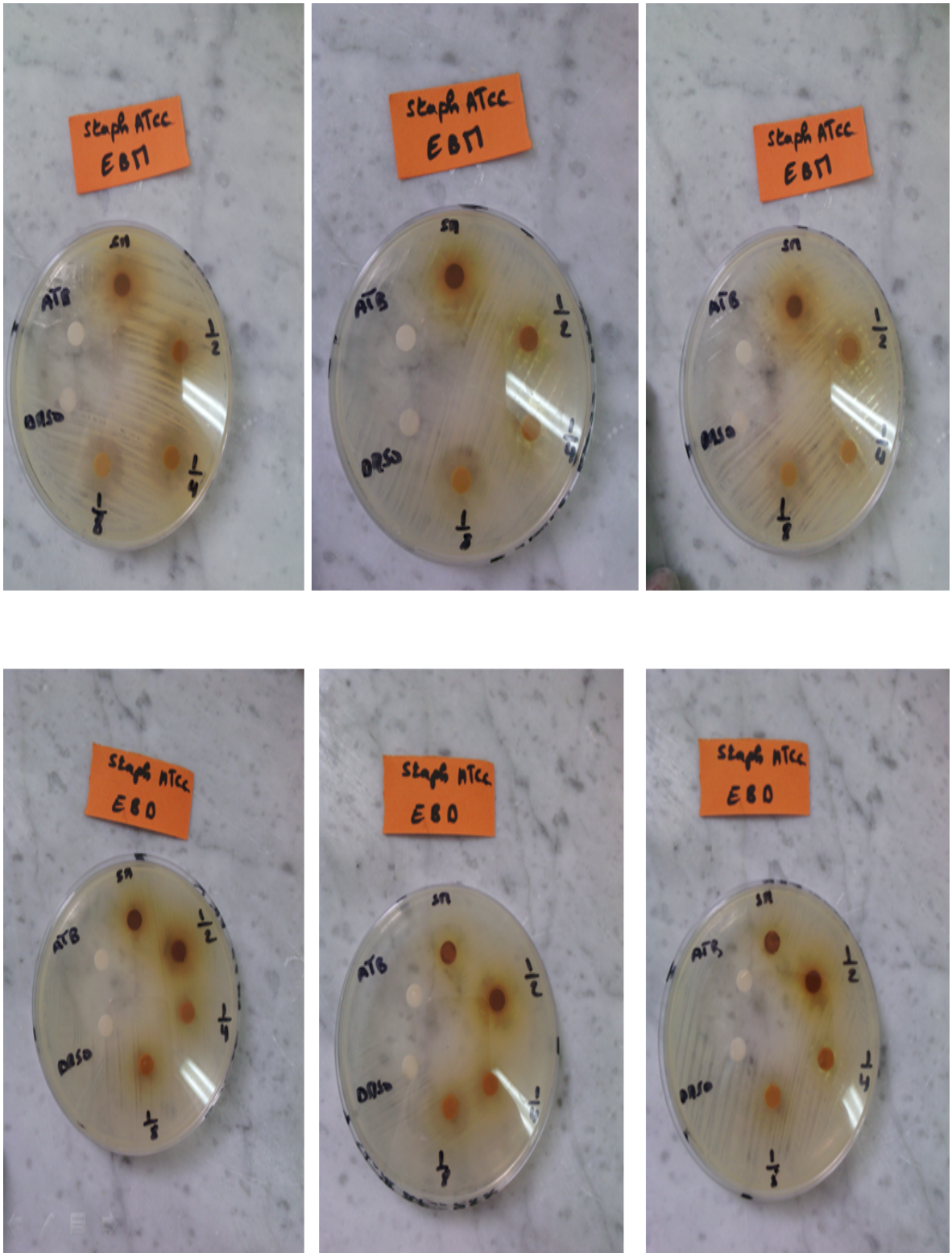


Fig. 05 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *S. aureus* ATCC.

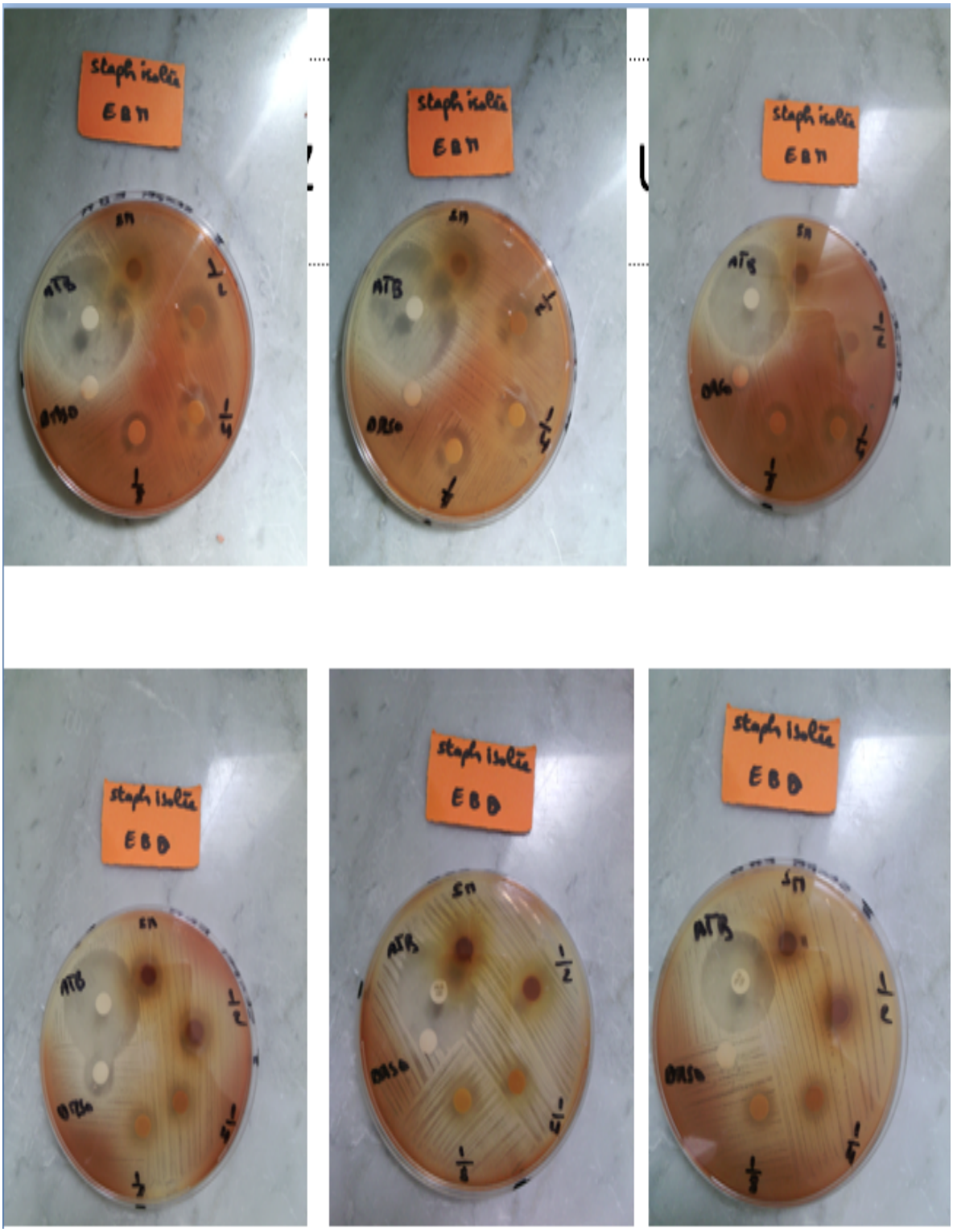


Fig.06 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *S.aureus* isolé.

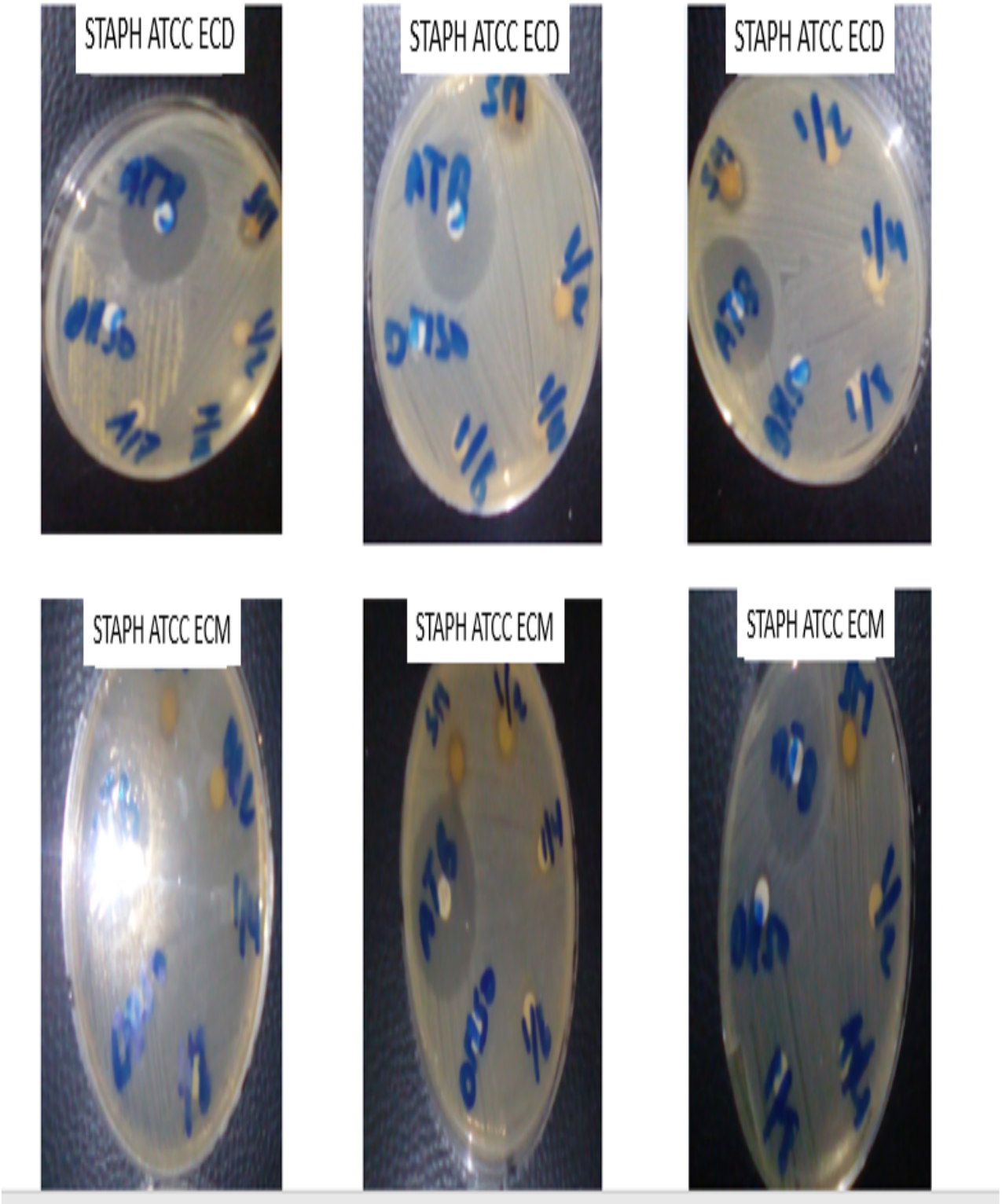


Fig. 07 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *S.aureus* ATCC

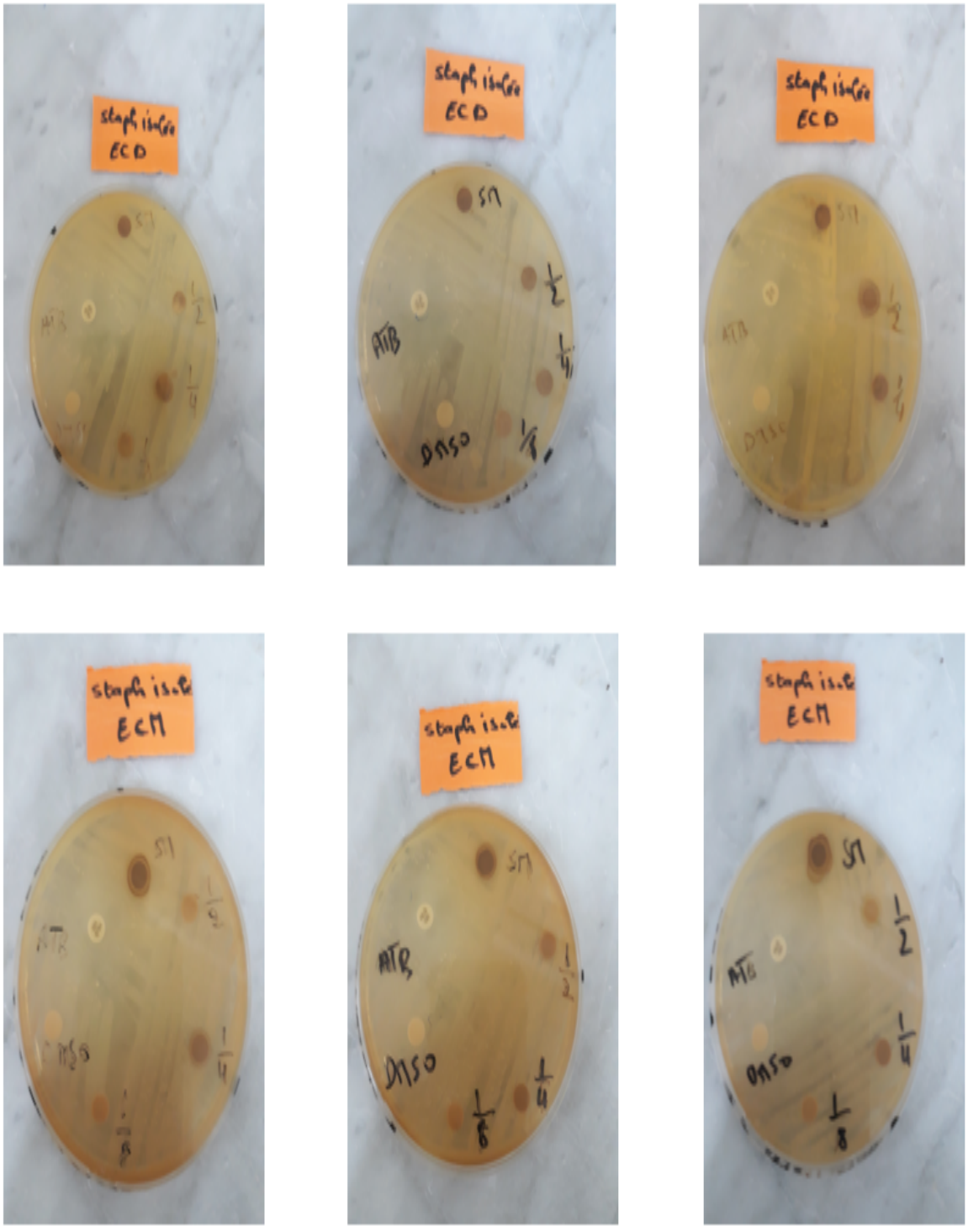


Fig. 08 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *S.aureus* Isolée

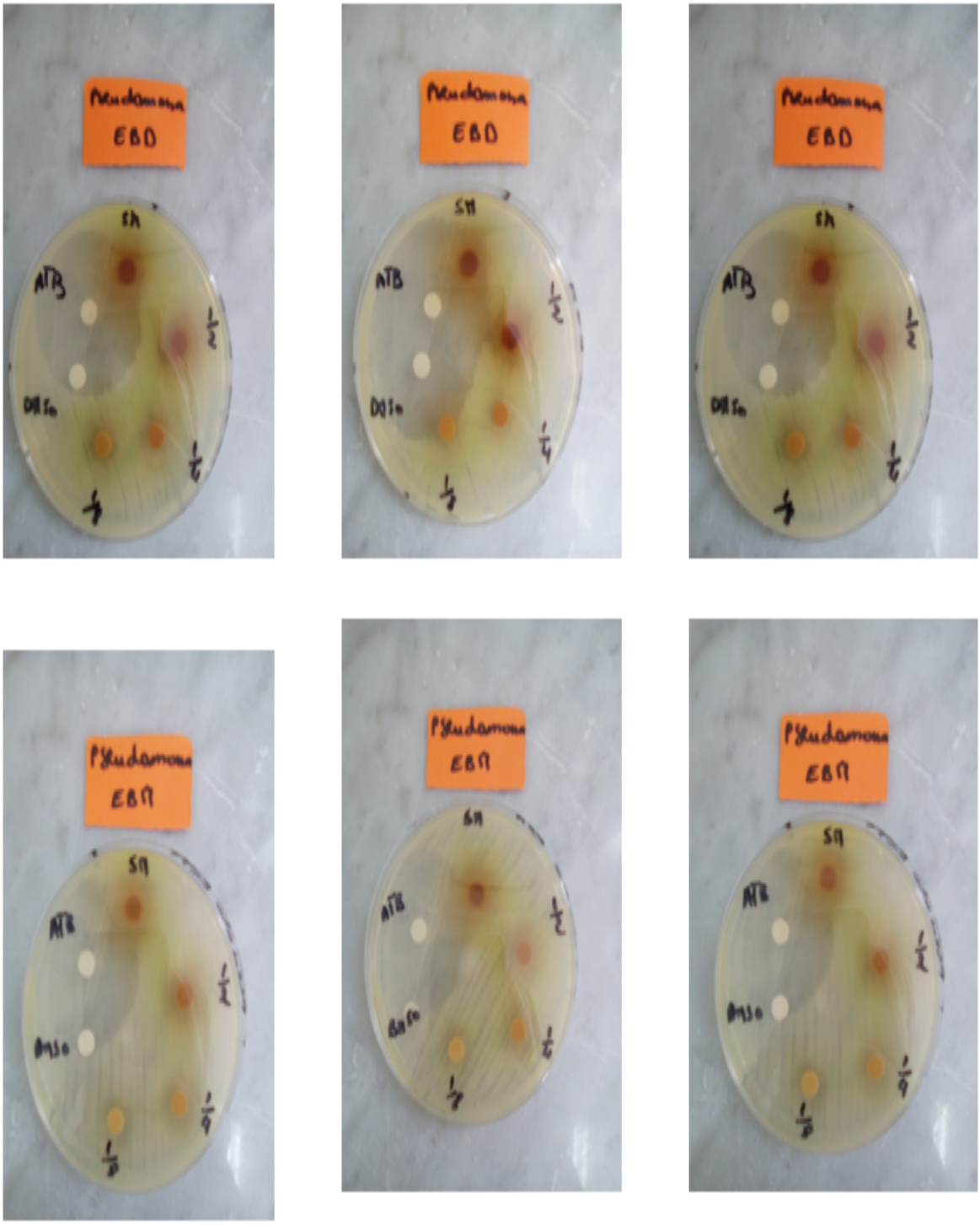


Fig. 09: l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Pseudomonas aeruginosa*

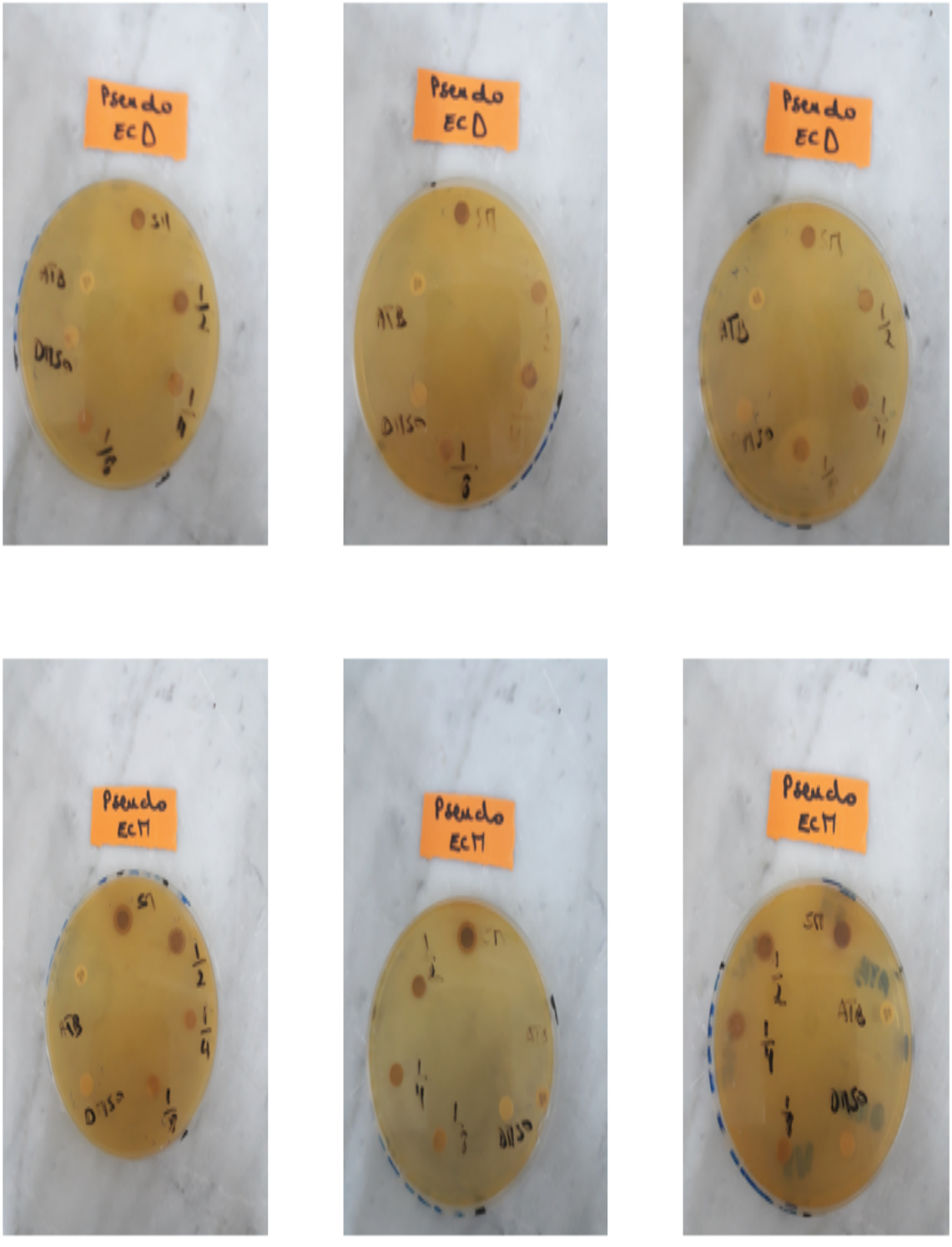


Fig. 10 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Pseudomonas aeruginosa*

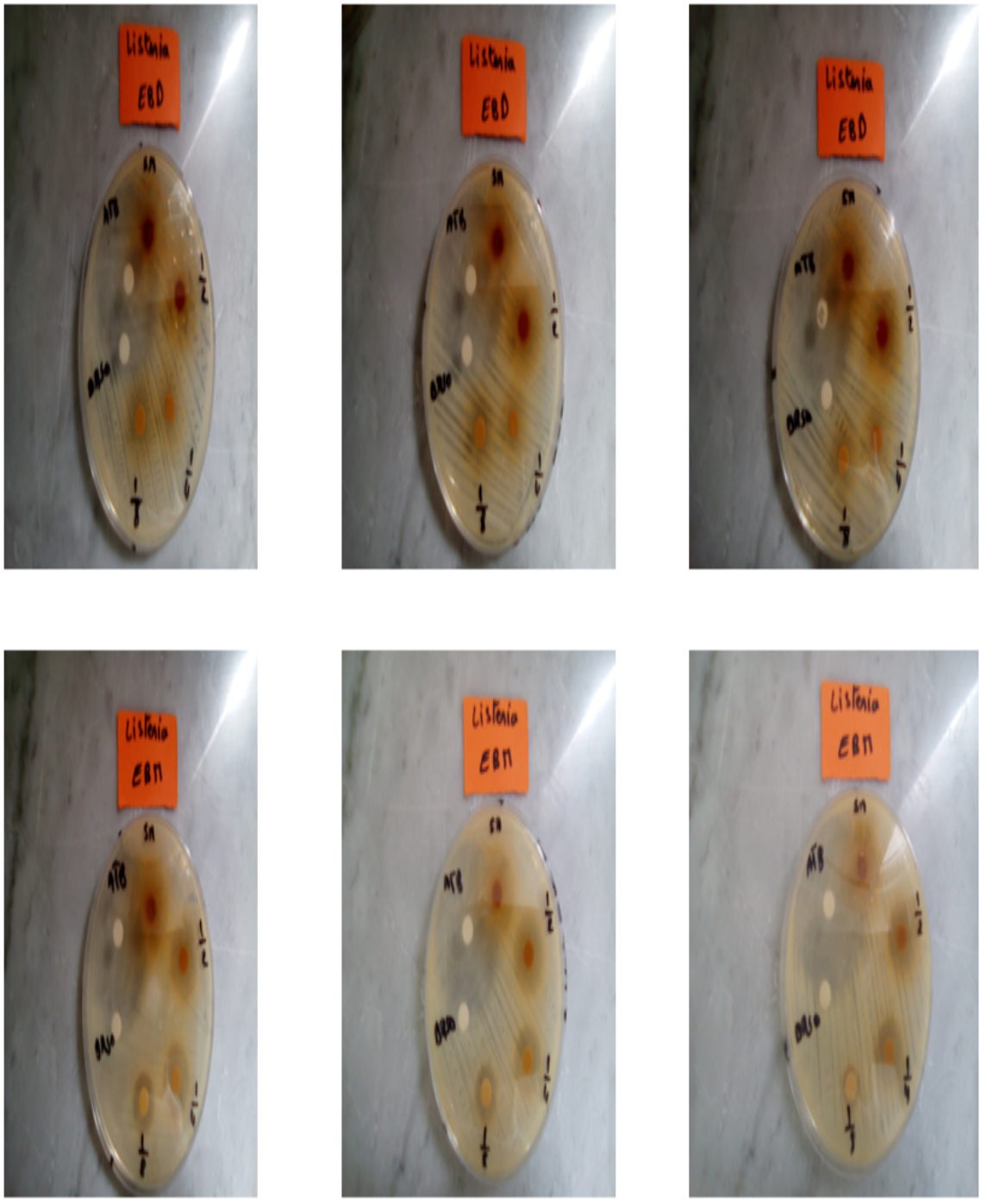


Fig. 11 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Listeria innocua*

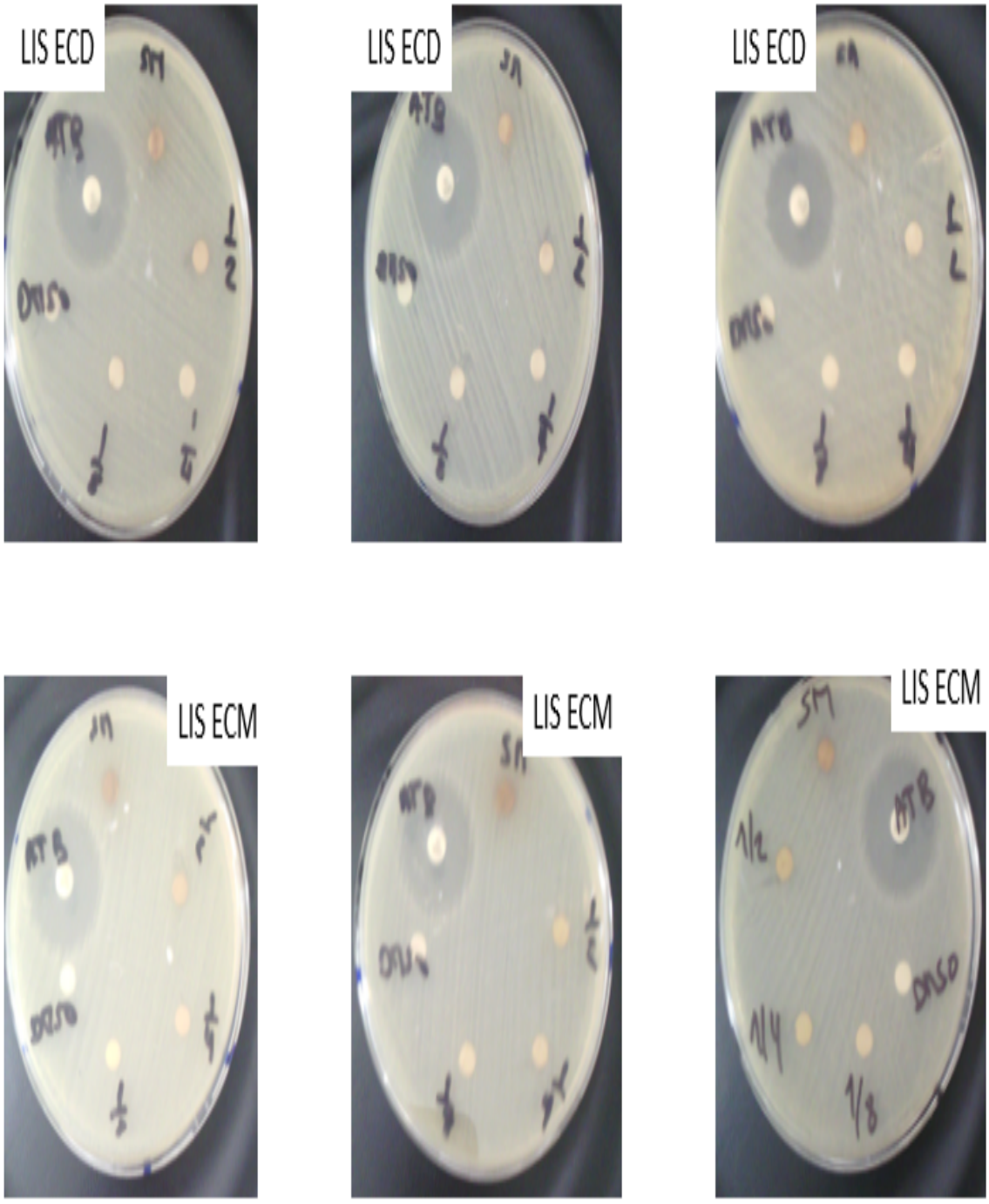


Fig. 12 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Listeria innocua*

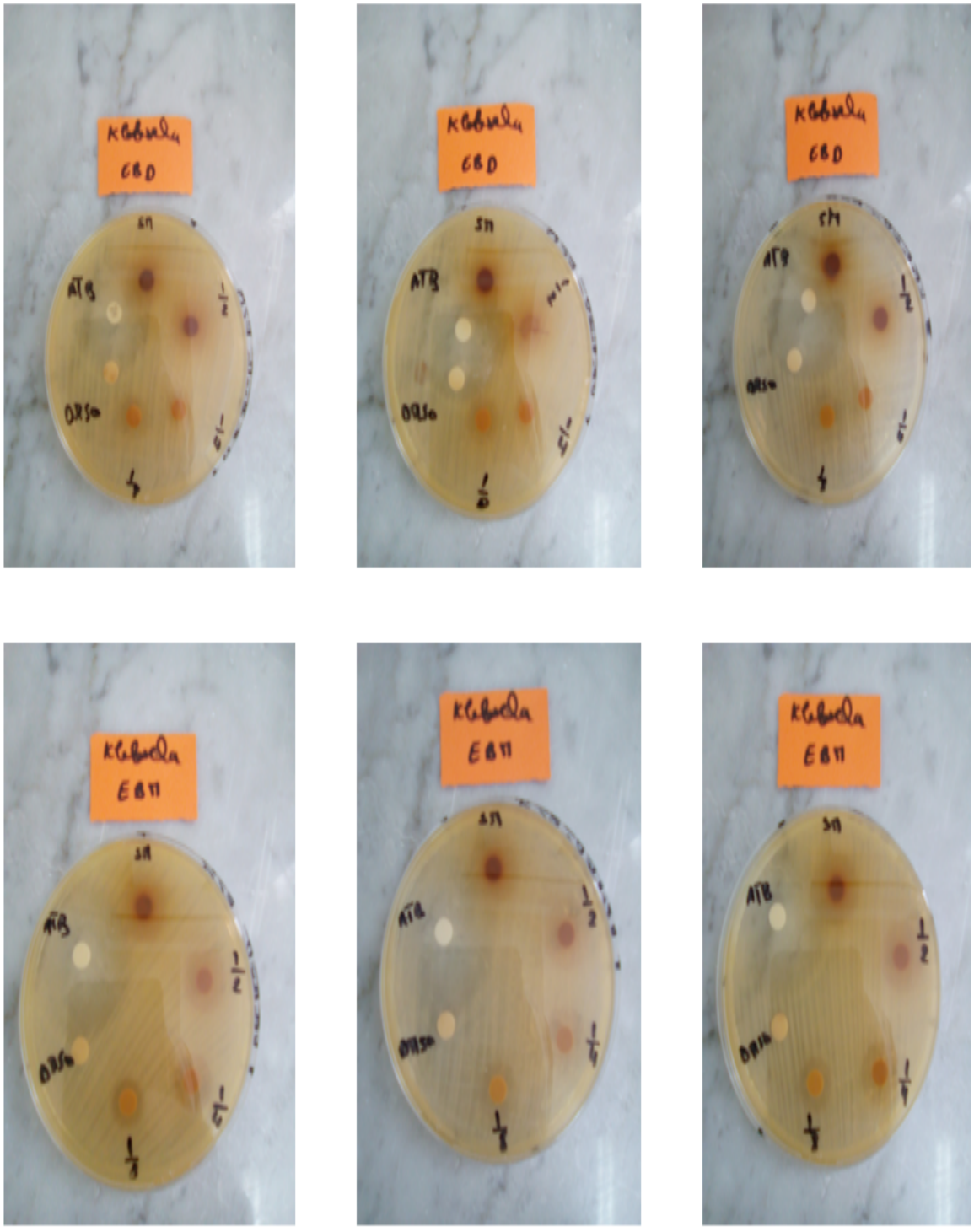


Fig. 13 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Kleibsella oxycota*

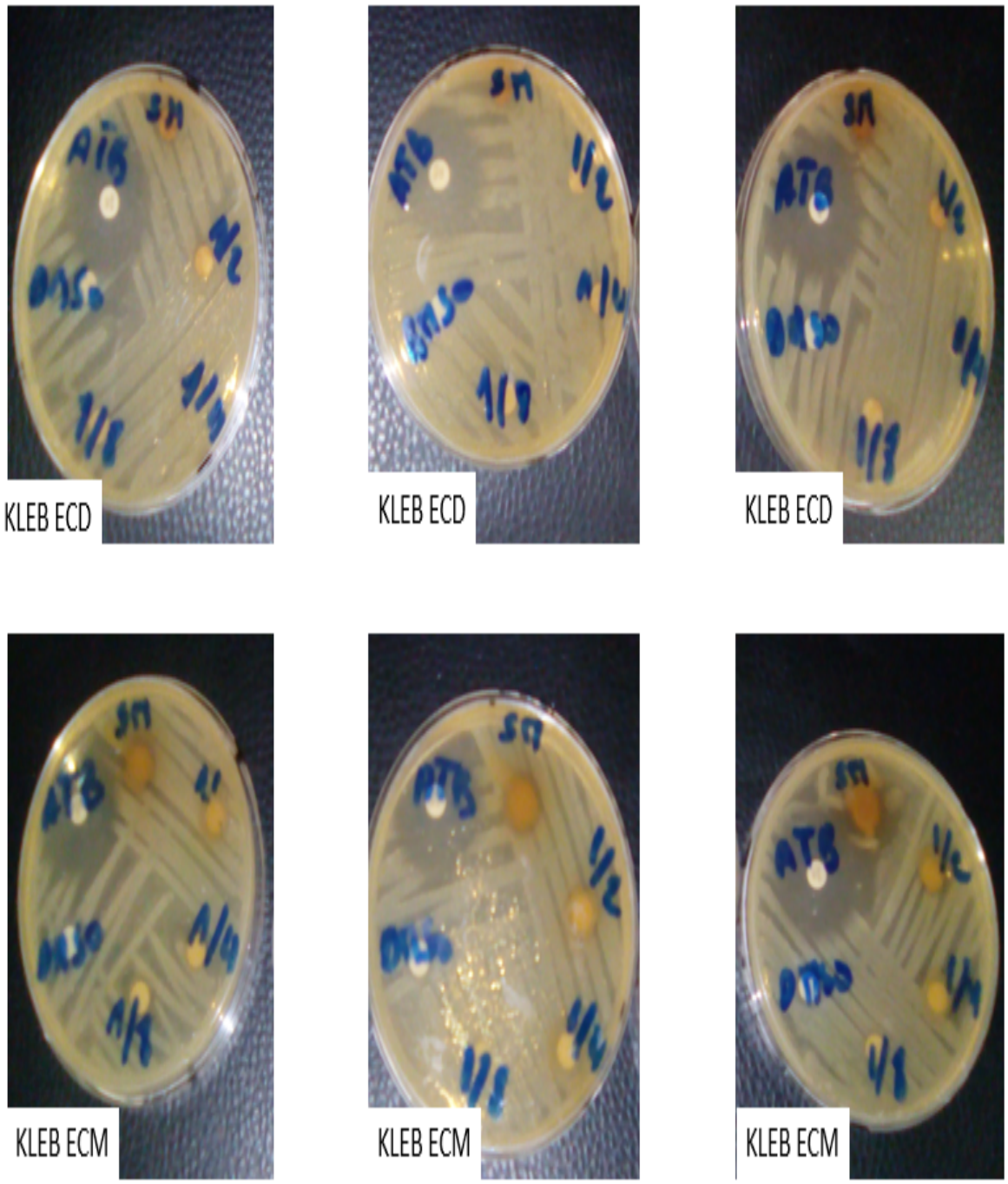


Fig. 14 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Kleibsella oxycota*

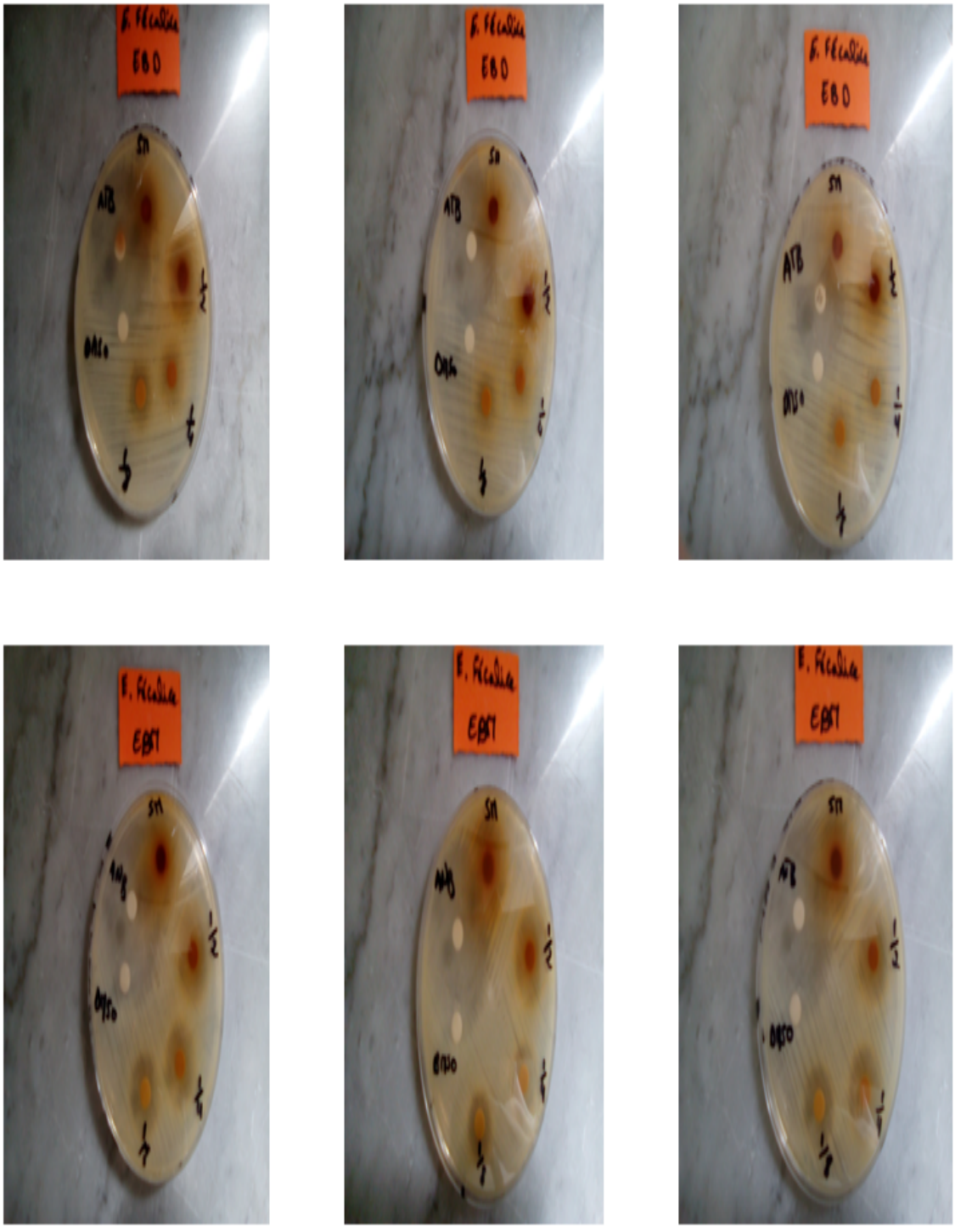


Fig. 15 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Enterococcus faecalis*

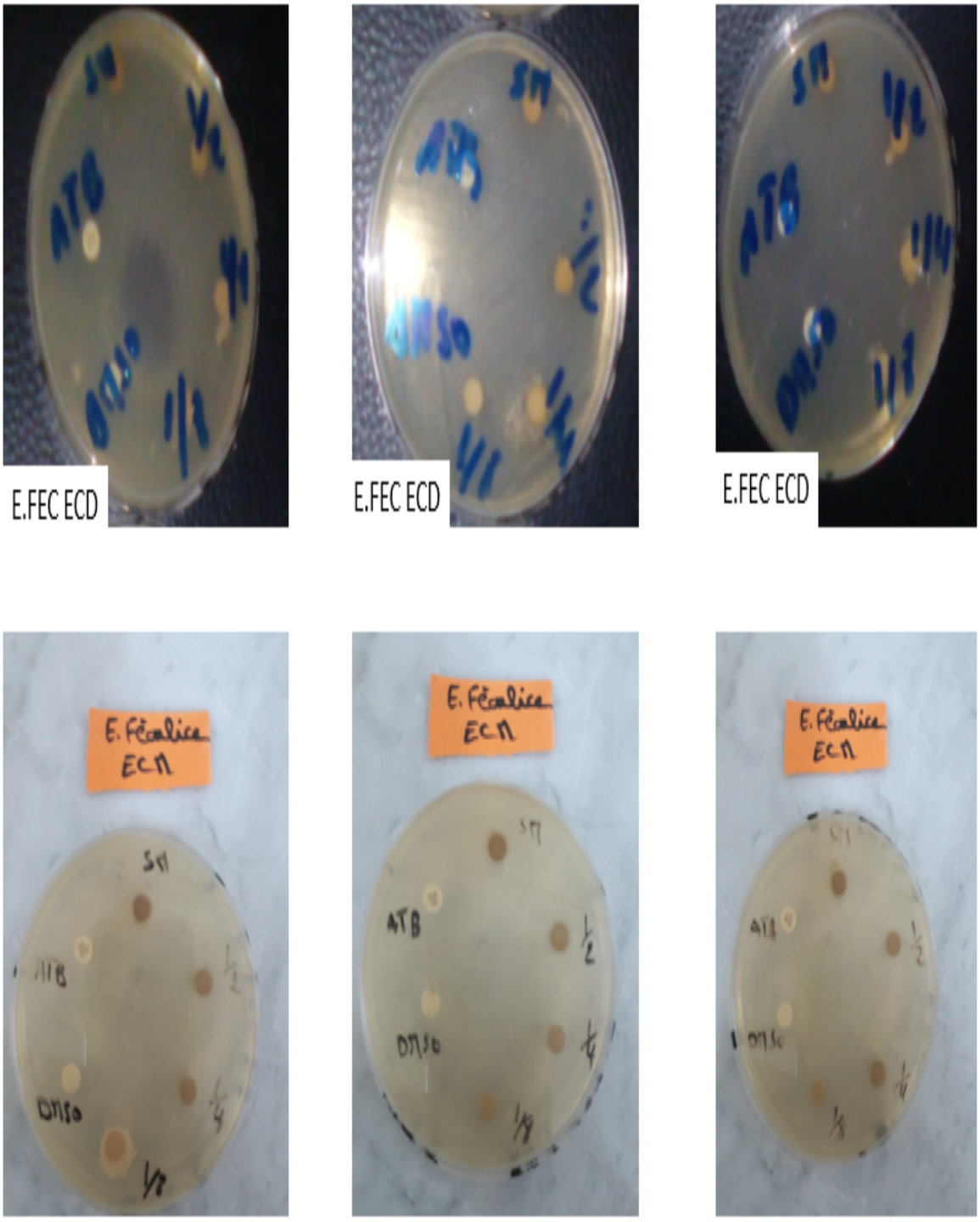


Fig. 16 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Enterococcus faecalis*

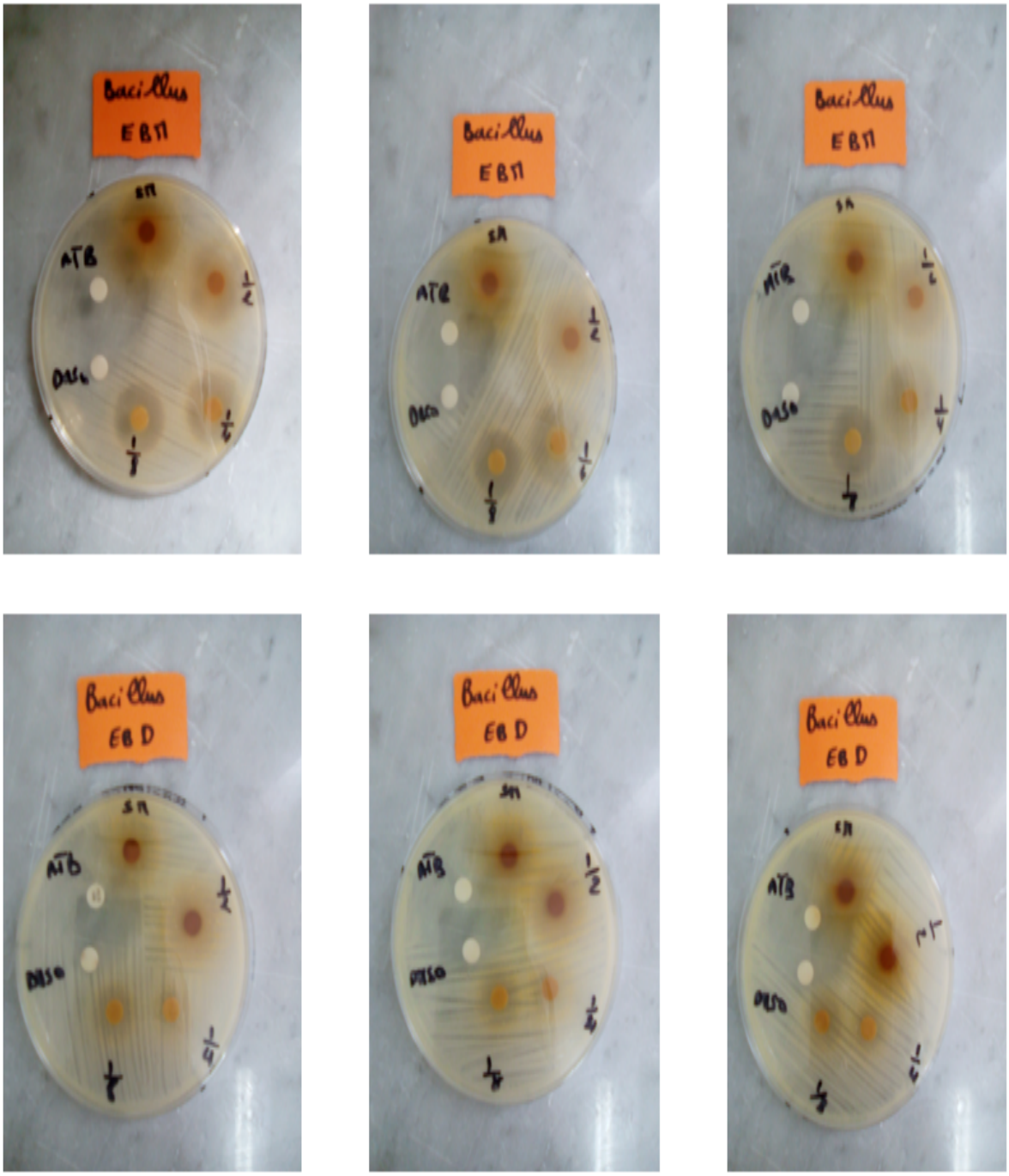


Fig. 17 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Bacillus subtilis*

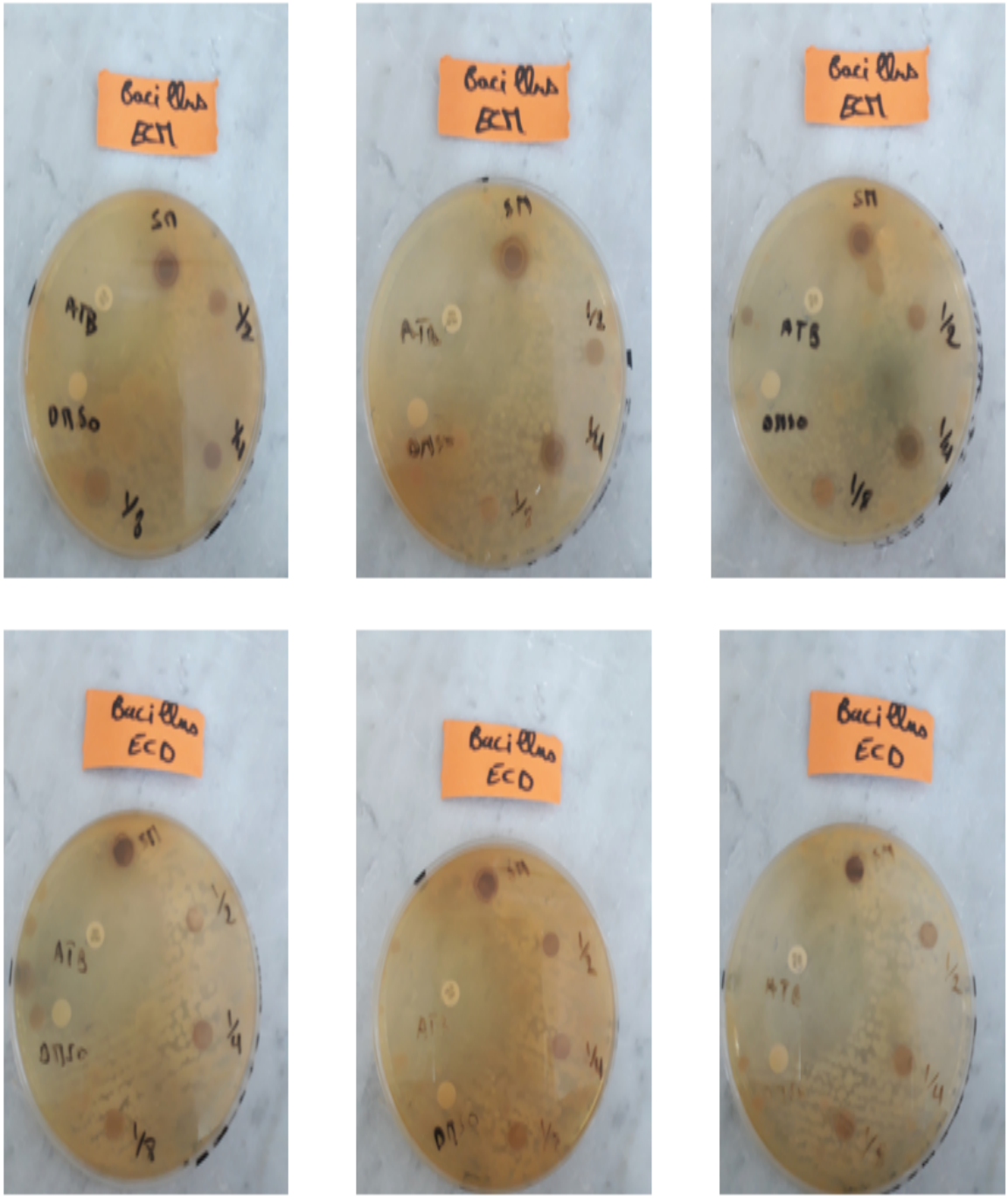


Fig. 18 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Bacillus subtilis*

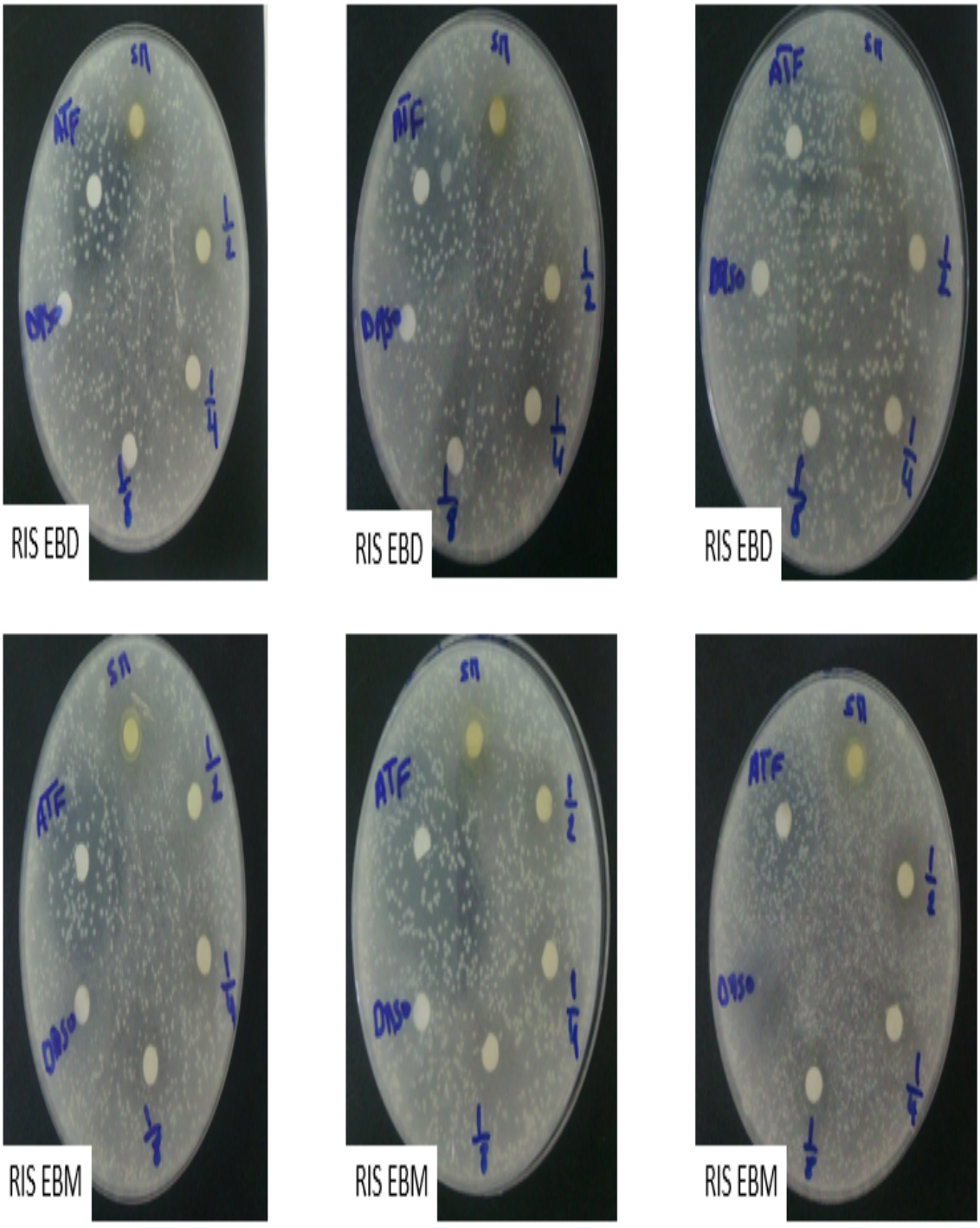


Fig.19: l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Rhizopus sp*

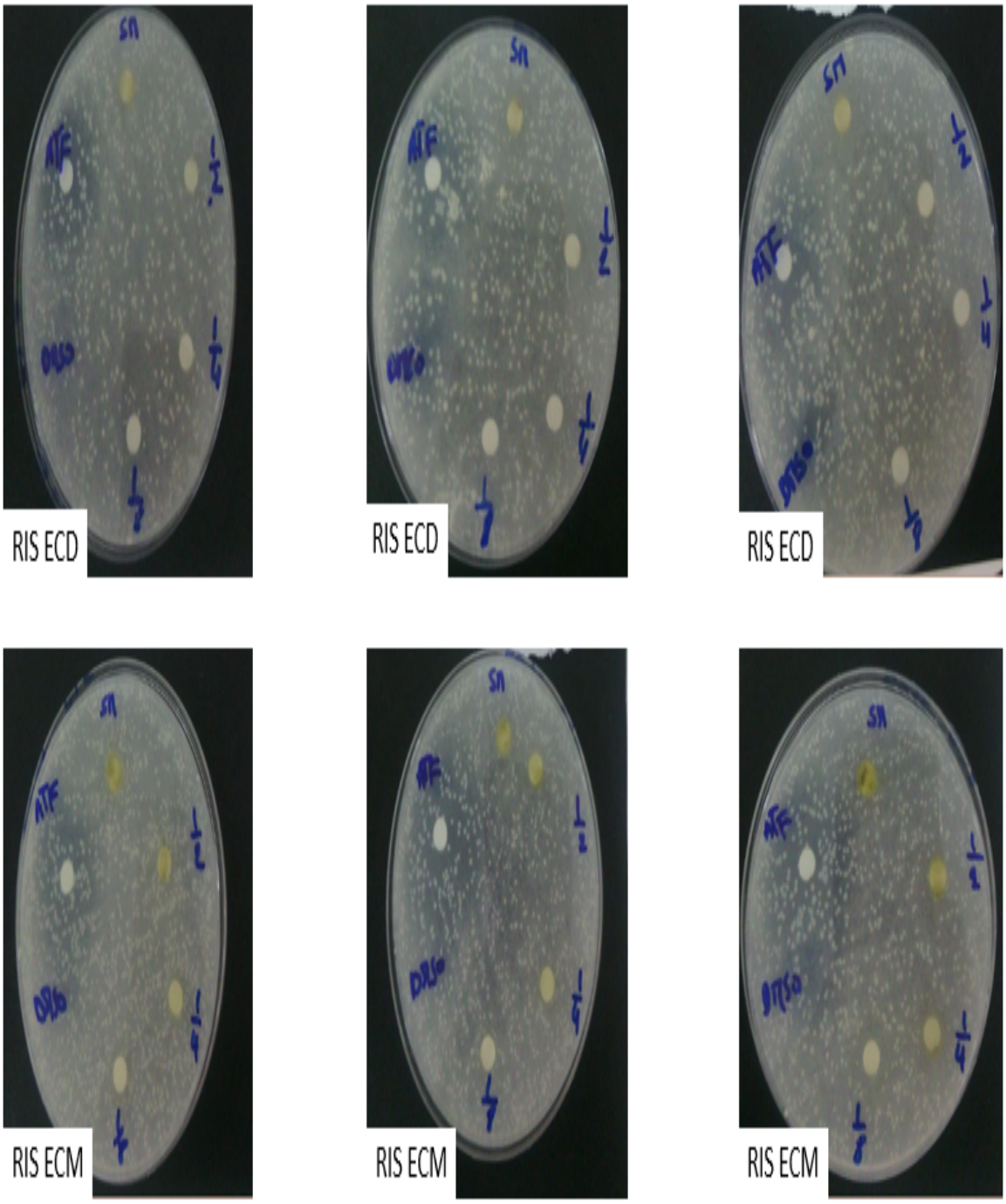


Fig. 20 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Rhizopus sp*

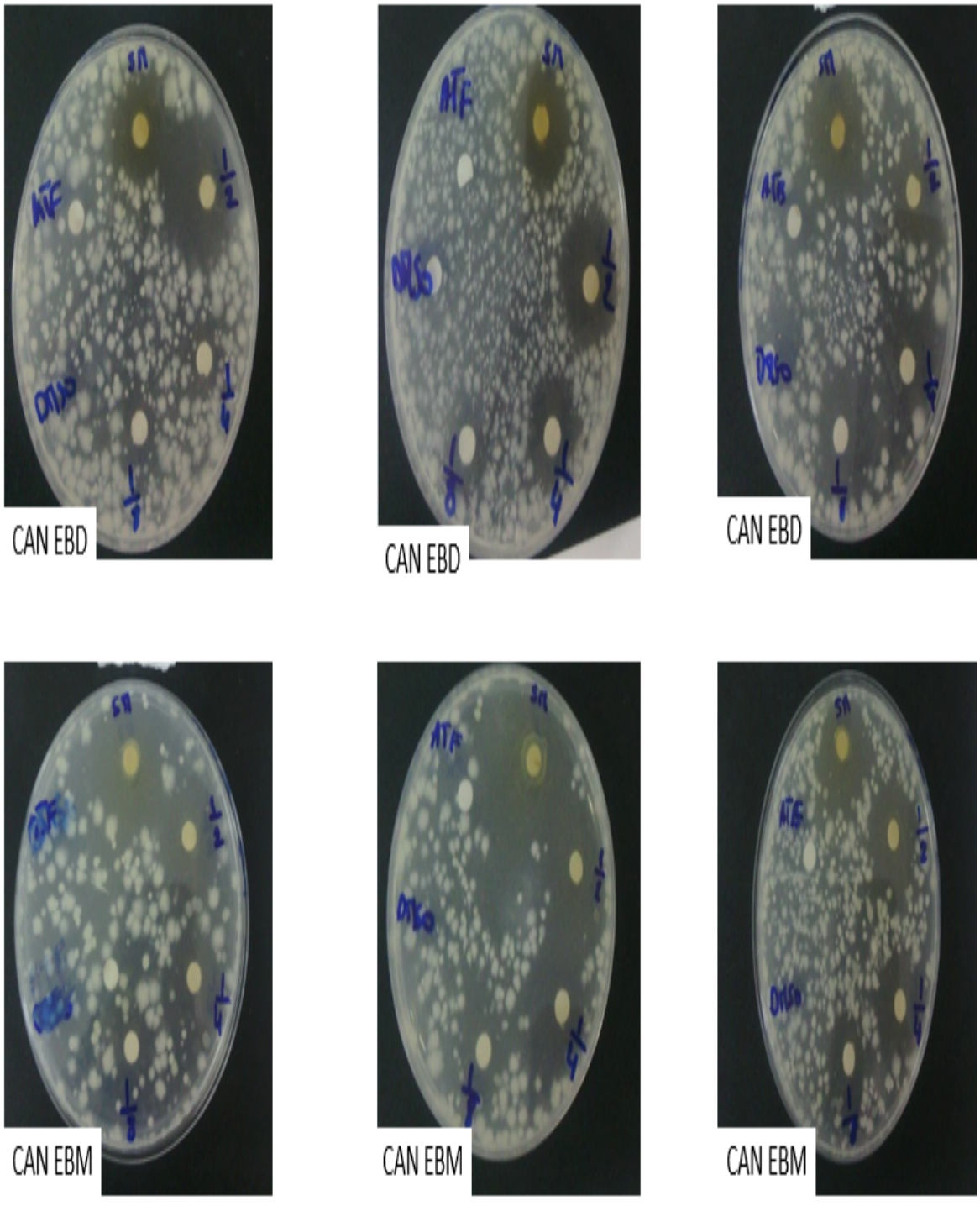


Fig. 21 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus blakelyi* sur *Candida albicans*

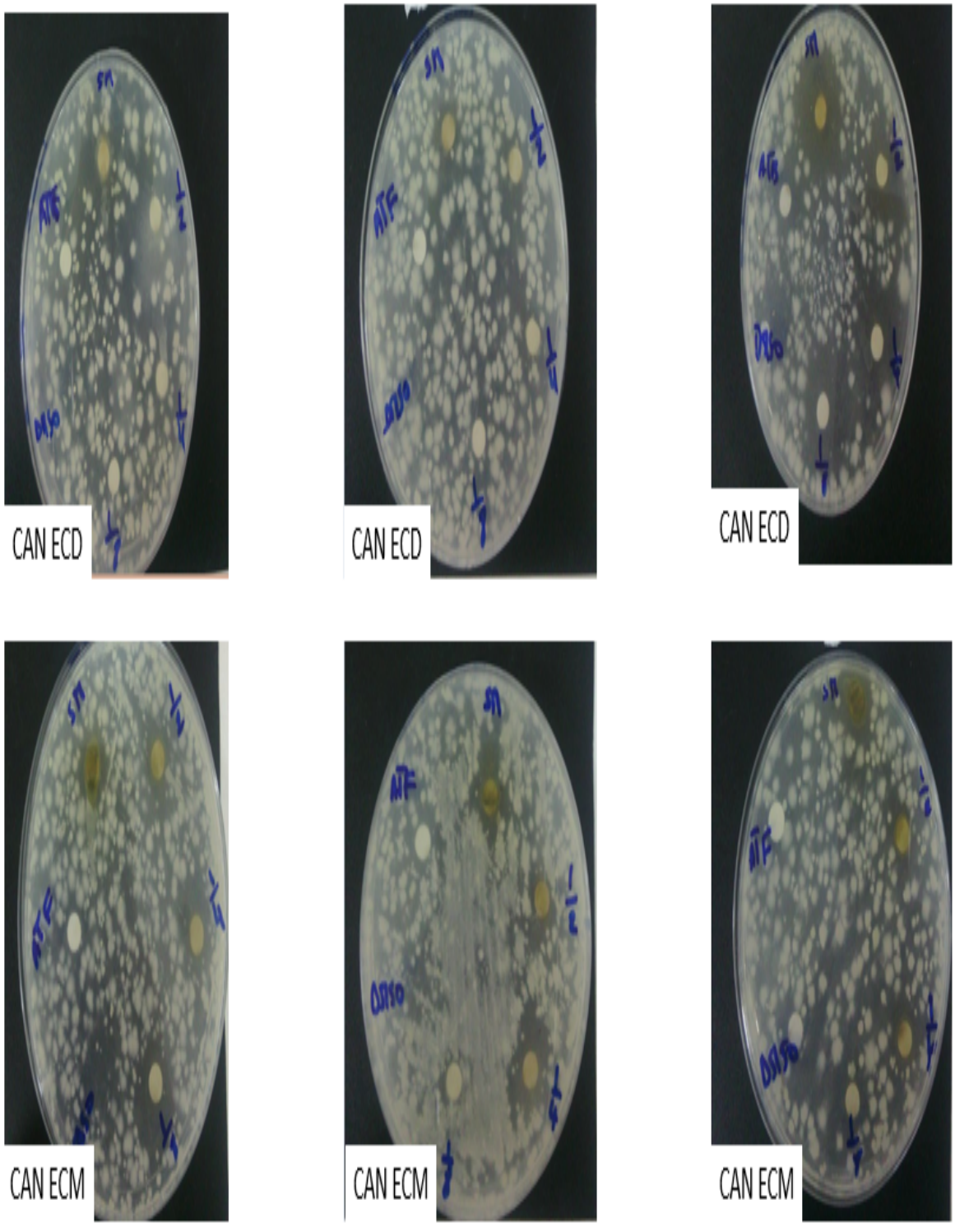


Fig. 22 : l'effet des extraits méthanoliques et aqueux de l'*Eucalyptus cladocalyx* sur *Candida albicans*

Annexe 04 : résultats des analyses statistiques

F1*F2	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S6	43,667	A
D1 S2	41	AB
D1 S1	41	AB
D1 S9	38,667	B
D1 S3	35	C
D1 S4	34,667	C
D1 S8	34,333	C
D1 S7	34	C
D1 S5	33	C
D3 S7	19,667	D
D5 S8	18	DE
D5 S7	18	DE
D4 S8	17,667	DE
D4 S7	17,667	DE
D2 S7	16,667	DEF
D5 S2	16,667	DEF
D4 S9	16,667	DEF
D3 S8	16,333	DEF
D3 S9	15,667	DEFG
D2 S8	15,667	DEFG
D4 S2	15,333	DEFG
D2 S1	14,667	DEFG
D2 S2	14,667	DEFG
D3 S6	14,333	EFG
D3	13,667	EFG

S2		
D5 S1	13,667	EFG
D4 S6	13,667	EFG
D3 S1	13,667	EFG
D5 S6	13,667	EFG
D5 S9	13,333	EFG
D4 S1	13	EFG
D5 S4	13	EFG
D4 S5	13	EFG
D5 S5	13	EFG
D4 S4	12,667	EFG
D2 S6	12,333	EFG
D2 S4	12,333	EFG
D3 S5	12,333	EFG
D3 S4	11,667	FG
D2 S9	10,667	G
D2 S5	10,333	G
D5 S3	10,333	G
D2 S3	10	G
D3 S3	9,667	G
D4 S3	9	G

Tableau 2 : Les résultats statistiques des extraits méthanoliques d'*E.blakelyi*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S6	40	A
D1 S2	38	AB
D1 S1	38	AB

D1 S4	37	AB
D1 S5	35	ABC
D1 S9	35	ABC
D1 S3	34	BC
D1 S8	33	BC
D1 S7	31,667	C
D4 S1	16	D
D4 S7	16	D
D4 S9	15,667	DE
D5 S9	15,667	DE
D5 S6	14,333	DE
D4 S2	14	DEF
D5 S7	13,667	DEF
D4 S8	13,333	DEF
D4 S6	13,333	DEF
D5 S2	13	DEF
D5 S1	12,333	DEF
D2 S7	11,667	DEF
D4 S5	11,333	DEF
D5 S5	11	DEF
D3 S2	10,667	DEF
D2 S1	10,667	DEF
D4 S4	10,667	DEF
D5 S8	10,333	DEF
D3 S7	10,333	DEF
D2 S2	10,333	DEF
D5 S3	10	DEF
D3 S1	10	DEF
D3 S8	10	DEF
D2 S8	10	DEF
D5 S4	10	DEF
D3 S9	9,667	DEF
D4 S3	9	EF
D3 S6	9	EF
D3 S4	9	EF
D3 S5	8,667	EF
D2 S9	8,333	F
D2 S4	8	F
D2 S6	7,667	F
D2 S5	7,333	F
D2 S3	7	F
D3 S3	6	F

Tableau 3 : Les résultats statistiques des extraits aqueux d'*E.blakelyi*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S7	37	A
D1 S1	31,333	B
D1 S5	31	B
D1 S2	29,667	BC
D1 S3	28	BCD
D1 S4	26,333	CDE
D1 S6	25	DE
D1 S9	23,667	E
D1 S8	17,667	F
D5 S5	11,333	G
D3 S4	10,667	G
D5 S7	10,333	G
D4 S5	10,333	G
D5 S2	10	G
D3 S3	10	G
D4 S4	9,667	G
D2 S1	9,333	G
D3 S5	9,333	G
D5 S4	9,333	G
D2 S5	9,333	G
D5 S3	9	G
D4 S3	9	G
D2 S3	9	G
D5 S6	8,667	G
D2 S4	8,667	G
D4 S1	8,667	G
D3 S1	8,333	G
D5 S8	8	G
D3 S7	7,667	G
D4 S6	7,667	G
D2 S7	7,333	G
D4 S8	7	G
D3 S6	6,667	G
D5 S1	6,667	G
D4 S2	6,667	G
D5 S9	6,333	G
D4 S7	6,333	G
D3 S2	6,333	G
D3 S9	6,333	G
D4 S9	6	G
D3 S8	6	G
D2 S6	6	G
D2 S8	6	G
D2 S9	6	G

D2 S2	6	G

Tableau 4 : Les résultats statistiques des extraits méthanoliques d'*E.cladocalyx*

LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES
D1 S7	41,667	A
D1 S1	29,667	B
D1 S5	29	B C
D1 S2	28	BC
D1 S3	27,667	BC
D1 S6	27	C
D1 S4	24,333	D
D1 S9	24	D
D1 S8	10,667	E
D5 S1	10,667	E
D5 S3	9,333	EF
D5 S7	9,333	EF
D5 S4	8	FG
D5 S2	8	FG
D5 S5	7,333	FG
D4 S4	7,333	FG
D4 S5	6,667	FG
D3 S4	6,667	FG
D2 S4	6,667	FG
D3 S8	6,667	FG
D2 S5	6,333	G
D4 S6	6,333	G
D2 S8	6,333	G
D4 S8	6	G
D3 S7	6	G
D5 S9	6	G
D4 S7	6	G
D3 S6	6	G
D3 S2	6	G
D2 S1	6	G
D2 S7	6	G
D2 S9	6	G
D5 S8	6	G
D4 S9	6	G
D5 S6	6	G
D3 S1	6	G
D4 S3	6	G
D3 S9	6	G

D3 S5	6	G
D2 S6	6	G
D2 S2	6	G
D4 S1	6	G
D4 S2	6	G
D3 S3	6	G
D2 S3	6	G

Tableau 5 : Les résultats statistiques des extraits aqueux d'*E.cladocalyx*