

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : SNV

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

Sensibilité Bactérienne à L'extrait

Bio-Actif *D'Eucalyptus Globulus*

Présenté Par :

- Fares Nour El-Houda
- Chenikher Nour Elhouda
- Boucorra Nour El Houda
- Zahi Imen

Membre de Jury:

Mr MEZEDJRI LYAMINE (Professeur)	Président	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda
Meme. HENI SONIA (MCA)	Promotrise	E.N.E.S.T – Skikda
Melle. BECHEKER IMEN (MCA)	Examinatrise	Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

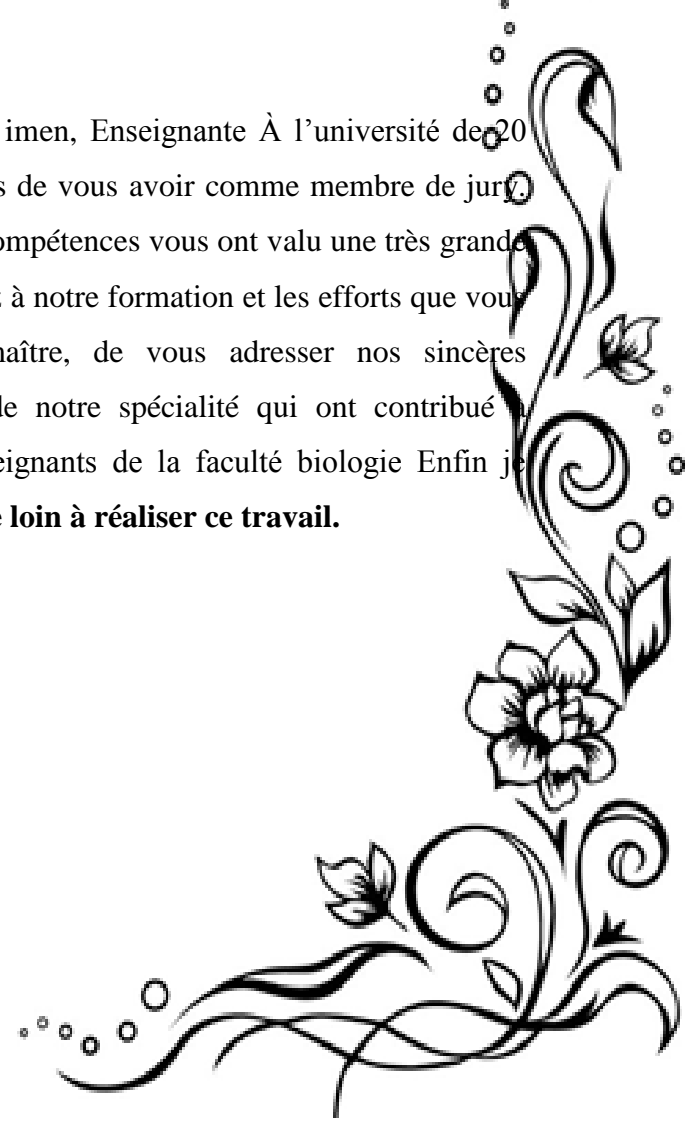


REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord la grâce de DIEU le tout miséricordieux qui m'a donné la force à achever ce parcours vert le savoir scientifique et qui m'a accordé la patience pour réaliser ce projet. Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude : A mon encadreur, Mm Henie Sonia pour m'encadrer et pour m'encourager pendant la réalisation de ce travail. Pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du mémoire. Et pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité

A notre Maitre et le Président de jury Mr Mezdjri Lyamine enseignant à l'université de 20 aout 1955 Skikda. Vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités d'homme de science votre modestie votre disponibilité envers vos collègues et vos étudiants ont forcé l'admiration de tous. Veuillez accepter cher maître notre sincère gratitude

A notre Maitre et examinatrice Mm Becheker imen, Enseignante À l'université de 20 aout 1955 Skikda C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme membre de jury. Votre simplicité, votre disponibilité en plus de vos compétences vous ont valu une très grande renommée. Nous savons le sérieux que vous attachez à notre formation et les efforts que vous déployez dans ce sens. Permettez-nous, cher maître, de vous adresser nos sincères remerciements Je remercie tous les enseignants de notre spécialité qui ont contribué à l'acquisition de nos connaissances et tous les enseignants de la faculté biologie Enfin je remercie tous ce et celle qui m'ont aidé de près **ou de loin à réaliser ce travail.**





DÉDICACE

Tout d'abord, je remercie « Allah » le tout-puissant d'avoir atteint ce
Stade.

Je dédie ce travail à ma chère mère **fatima** et à mon cher **saad**, demandant à Dieu d'être une source de fierté pour eux comme un simple répons à leur effort, leur sacrifice, leur soutien et leur motivation pendant mon parcours scolaire, qu'Allah prolonge leur vie.

A mon grande -père **Abd Allah** et mon frère **yacine** et **MOUAADH** pour leur soutien financier et moral.

A ma sœur **asma** et **ahlam** avoir été toujours à mes côtés.

A mon petite frère **Abd Elatif**, source de bonheur à la maison, qu'Allah lui donne santé et réussite dans ses études.

A tout ma famille

Nour Elhouda Chenikher





DÉDICACE

Avec l'aide de DIEU, j'ai pu réaliser ce modeste travail de fin d'étude

à que je dédie A:

MA chère Maman sabrina

C'elle qui c'est sacrifiée durant sa vie afin de me voir réussir, c'elle qui a éclairé mon chemin de ma vie par ces conseil

Mon père Yacine

Décédé trop tôt pour me voir arriver à cette étape celui qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, que dieu le bénisse et le garde pour l'amour et la confiance dont ils m'ont toujours entouré et m'ont permis de réussir.

A mes frères Ala et Abd Aziz, A ma sœurs Salsabil avoir été toujours à mes côtés.

A toutes la famille,

Pour votre présence, votre soutien et votre affection depuis tout ce parcours

Fares Nour El-Houda





DÉDICACE

A Dieu source de toute connaissance

Je dédie ce travail à mes chers parents

Ma mère

Vous m'avez donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.
Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance je vous porte.
J'avoue vraiment que vous êtes pour moi la lumière qui me guide vers le chemin de ma réussite. C'est à vous que je dois mon succès

En témoignage. Je vous offre ce modeste travail pour vous remercier de vos sacrifices consentis et pour l'affection dont vous m'avez toujours témoignée.

Mon père

L'épaulé solide, l'œil attentif compréhensif et la plus digne de mon estime et de mon respect
Merci pour chaque sourire, chaque conseil et chaque moment partagé Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie

A mes chers frères "Khaled . Amer . Azzedine. et mon frère jumeau Abdou ".

Mes complices de toujours, je vous envoie tout mon amour et ma gratitude Nos liens sont plus forts que les mots ne peuvent l'exprimer. Vous êtes mes piliers, et je vous aime plus que tout au monde.

Surtout mon grand frère Khaled, merci de m'avoir soutenu tout au long de mes études, je t'aime beaucoup et je te souhaite tout le meilleur.

mes sœurs bien-aimées" Amira et wissal "

Merci beaucoup. Il n'y a pas de mots pour décrire mon amour, mais je vous souhaite du succès dans votre vie.

A vous cher lecteur

A tous ceux qui mes connaissent

J'espère qu'ils trouvent dans ce travail l'expression de ma gratitude Aimablement

Boucorra Nour El Houda





DÉDICACE

Je dédie le fruit de ce modeste travail à ma mère Fayza , la plus chère a mon cœur, tu est la source de ma réussite, qui m'a toujours fait prouvé de sacrifices, et qui m'a toujours donné le courage, la volonté, l'espoir et l'aide durant toute ma vie. Que Dieu la repose et la mette au paradis

Je dédie aussi ce travail à mon cher père Issa , qui a été la source nécessaire pour terminer mes études, lui seul qui a resté mon guide dans ma vie et ma pousser devenir ce qui je suis que dieu te protège. Que Dieu ait pitié

A mon cher époux, que Dieu le protège, qui m'a encouragé et soutenu dans mon parcours académique

À mes sœurs, la source de ma force dans cette vie (Nasima , sana ,fatima , chafia ,khouloud)

Un merci spécial à mes amies Nour

Zahi Imen



Sommaire

Titre	Page
Liste des tableaux	
Liste des Figures	
Liste abréviations	
Introduction	
Synthèse Bibliographique	
Chapitre I : Eucalyptus Globulus	
1.1 Historique	1
1.2. Origine et définition	1
1.3. Description botanique	2
1.3.1. L'écorce	2
1.3.2. Les feuille	3
1.3.3. Les fleurs	3
1.3.4. Les fruits	4
1.3.5. Les racines	4
1.4. Position systématique d'eucalyptus	4
1.5. Le nom commun	5
1.6. La répartition géographique	5
1.7. Usage thérapeutique	6
2. Huile Essentielle d'Eucalyptus globulus	7
2.1. Propriétés physiques	7
2.2. Composition chimique des Huiles essentielles	7
2.3. Domaine d'utilisation	9
2.3.1. Dans L'industrie Agroalimentaire	9
2.3.2. En Parfumerie Et Cosmétique	10
2.3.3. En Pharmacie	10
2.4. Toxicologie de l'huiles essentielles	11
2.5. Activités biologiques de l'huiles essentielles	11
2.5.1. Propriétés antioxydants	11
2.5.2. Propriétés antifongiques	12
2.5.3. Propriétés antibactériennes	13
2.5.4. Propriétés antivirales	15
Chapitre II : Résistance Aux Antibiotiques	
1. Généralités sur les antibiotiques	16
2. Définition	16
3. Mode d'action des antibiotiques	17
3.1. Sur la paroi bactérienne	18
3.2. Sur la membrane plasmique	18
3.3. Sur la synthèse des protéines	18
3.4. Sur les acides nucléiques	19
4. La résistance aux antibiotiques	19
4.1. Définition :	19
4.2. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance	20
4.2.1. Usage inapproprié d'antibiotiques	21
4.2.2. Utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire	21

4.2.3. Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants	21
4. 3. Types de résistance	22
4.3.1. La résistance naturelle	22
4.3.2. La résistance acquise	22
4.3.3. Résistance chromosomique	22
4.3.4. Résistance par acquisition des gènes transférés	23
4.4. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	23
4.4.1. Altération des cibles des antibiotiques	24
4.4.2. L'altération des membranes bactériennes	24
4.4.3. L'inactivation enzymatique	25
4.4.4. L'excrétion active	25
4.5. L'impact de la résistance	26
4.6. Les bactéries multi résistantes	27
4.6.1. Définition	27
4.7. Description des bactéries étudiées	27
Partie Expérimentale	
Matériel et méthodes	
1. Matériel végétal	31
1.1. Récolte de la plante	31
1.2. Séchage et conservation	32
2. Souches bactériennes test-objet	32
3. Extraction de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus	32
3.1. Méthodologie	33
3.2. Calcul du rendement en huile essentielle	34
3.3. Conservation des huiles essentielles :	34
3.4. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	34
4. Recherche de l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite	35
Résultats et discussion	
1. Extraction et rendement en huile essentielle	39
2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	39
3. Recherche de l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite	40
Conclusion	
Résumé	
Les références bibliographiques	

Liste des tableaux

Tableau	Page
Tableau 01 : Classification systématique d'Eucalyptus globulus (P. Erau,2019)	5
Tableau 02 : Produits préparés à base des huiles essentielles d'E. globulus	8
Tableau 03 : Principaux composés des HEs d'E. globulus	9
Tableau 04 : Rendements en HE d'Eucalyptus globulus dans certaines régions de l'Algérie	39
Tableau 05 : Caractères Organoleptiques de notre huile essentielle	39
Tableaux 06 : Diamètres des zones d'inhibitions de l'HE d'Eucalyptus. Globulus	40

Liste des Figures

Figure	Page
Figure 01 : L'écorce (site web 1)	2
Figure 02 : photographie des feuilles de l'Eucalyptus globulus (site web 2)	3
Figure 03 : les fleurs de l'Eucalyptus globulus (site web 3)	4
Figure 04 : Les fruits de l'Eucalyptus globulus (site web 4)	4
Figure 05 : Schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne (Bouyahya et al., 2017)	13
Figure 06 : Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques (Wong-Paz et al., 2017) modifié	14
Figure 07 : Mode d'action des antibiotiques (in Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013).	17
Figure 08. Émergence et propagation de souches résistantes (Ahmed M et al 1999).	20
Figure 09 : Schéma des principaux mécanismes de résistance des bactéries	24
Figure 10 : Arbre d'Eucalyptus globulus (Fares et al, 2024)	31
Figure 11 : Feuilles d'Eucalyptus globulus avant et après séchage (Fares et al, 2024)	32
Figure 12 : Souches bactérienne test-objet (Fares et al, 2024)	32
Figure 13 : Montage d'hydro-distillation par Clevenger (fares et al 2024)	33
Figure 14 : Phase de séparation de l'HE par décantation (Fares et al, 2024)	34
Figure 15 : Préparation de l'inoculum (Fares et al, 2024)	36
Figure 16 : Technique d'ensemencement (Fares et al, 2024)	37
Figure 17 : application des disques inhibés d'HE (Fares et al, 2024)	37
Figure 18 : Incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve (Fares et al, 2024)	37
Figure 19 : Mesure des diamètres des zones d'inhibition (Fares et al, 2024)	38
Figure 21 : Sensibilité des souches bactériennes à l'HE testée (Fares et al, 2024)	41

Liste abrégations

E.g	<i>Eucalyptus globolus</i>
AFNOR	L' Association Française de Normalisation
HEs	Huile essentiel
FAO	Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
g	Gramme
APG	Angiospéres Phylogeny Group.
E	<i>Eucalyptus</i>
%	Pourcentage
E. Coli	<i>Escherichia coli</i>
MH	Mueller Hinton
MHE	Masse de l'huile essentielle en g.
MmV	Masse initiale de matière végétale en g.
R%	Rendement en pourcentage %
ADN	Acide désoxyribonucléique
µm	Micromètre
ARNr	Acide ribonucléique ribosomique
ARNt	Acide ribosomique de transfert
ATBs	Antibiotiques
ATP	Adénosine triphosphate
BMR	Bactérie multirésistante
LPS	Lipopolysaccharide
BLSE	lactamase à spectre étendu β
ODC	Ornithine décarboxylase
SARM	<i>Staphylococcus Aureus</i> Résistant à la Méricilline
FDA	Food and drug administration
FERMA	federation of European Risk management

Introduction

Introduction

Les antibiotiques ont été découverts au début du XXe siècle et ont bouleversé l'arsenal thérapeutique. Selon **Zaffiri et al. (2012)**, ces antibiotiques ont non seulement contribué au traitement des maladies les plus mortelles de l'époque, comme la tuberculose, la diphtérie, la pneumonie ou encore la syphilis, mais ont également eu un impact positif sur la santé de la population en augmentant l'espérance de vie.

Cependant, l'utilisation excessive et inadéquate de ces médicaments a entraîné l'apparition de bactéries qui sont immunisées contre pratiquement tous les antibiotiques. Aujourd'hui, environ 700,000 personnes dans le monde sont tuées par les infections aux bactéries multi résistantes chaque année et 10 millions d'autres seront tuées chaque année d'ici 2050, si rien n'est prévu (**Blair, 2018**).

La menace a encouragé la quête de nouvelles sources d'antimicrobiens, en particulier d'origine naturelle. Selon **Ribeiro et Simões (2019)**, les huiles essentielles pourraient être une option pertinente dans ce contexte en raison de leur composition complexe, ce qui leur permet d'agir à la fois sur une ou plusieurs cibles cellulaires bactériennes. En outre, cette même complexité favorise la diminution de la probabilité de résistance de la part des bactéries (**Yap et al., 2014**). De plus, de nombreuses études in vitro ont prouvé que les huiles essentielles présentaient des propriétés antibactériennes aux mécanismes originaux, telles que l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Eucalyptus globulus* (**Bajpai et al., 2013 ; Saad et al., 2013; Böhme et al., 2014 ; Bouyahya et al., 2017 ; Ribeiro et Simões**).

L'*Eucalyptus globulus* est un arbre à fleurs appartenant à la famille des *Myrtaceae*. Originaire de Tasmanie et bien acclimaté en Algérie, son huile essentielle a été utilisée traditionnellement en raison des diverses propriétés médicinales qu'elle exhibe (**Hayat et al., 2015**). En plus, cette huile s'est avérée particulièrement active sur plusieurs bactéries dont certaines sont multi résistantes (**Mulyaningsih et al., 2010**).

Dans la perspective d'usage de l'huile essentielle de cette plante en pratique médicale, nous nous sommes proposé de rechercher in vitro qualitativement son effet antibactérien sur la croissance des bactéries multi-résistantes.

Le présent travail est composé de deux parties : une synthèse bibliographique subdivisée en trois chapitres portant sur la plante étudiée (*Eucalyptus globulus*), les huiles essentielles et enfin sur les bactéries résistantes aux antibiotiques (BMR).

La seconde partie, nous détaillerons les outils méthodologiques appliqués avant d'exposer les résultats obtenus. Cette étude expérimentale touche essentiellement deux axes principaux :

- Extraction de l'HE.
- Etude qualitative de l'activité

Synthèse Bibliographique

Chapitre I :

Eucalyptus Globulus

1.1 Historique :

L'*Eucalyptus*, comme exotique, a déjà une longue histoire. C'est à partir de 1850 que les *Eucalyptus* ont été introduits par les Français en Algérie, avec l'Écamal du lensis Dehn, comme espèce pionnière. Mais, la plantation massive de ces arbres a eu lieu, entre 1865 et 1963, au début. Les *Eucalyptus* ont été plantés à titre exceptionnel pour l'assèchement des marais (AbdelM in Mehani, 2006).

L'*Eucalyptus globulus* Labill. (Dunom de La billardier le voyageur français qui le découvrit en 1800 lors d'un voyage en Australie) est une espèce très cultivée, prit rapidement une grande extension en Algérie entre 1860 et 1870 (Boudy, 1952). C'est vers les années 1960 et 1970 qu'ont commencé le reboisement à base d'*Eucalyptus* à l'Est du pays (EL-Kala, Annaba, Skikda) au centre (Tizi-Ouzou et Bai nem) et à l'Ouest (Mostaganem) dans le but de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et avec un capital d'environ 130 espèces. La plantation d'*Eucalyptus* a continué jusqu'en 1982 où il a été mis fin à la production des plantes en pépinière et par conséquent à leur plantation (Meziane, 1996 in Mehani, 2006).

1.2. Origine et définition :

Le terme *Eucalyptus* dérive du mot grec "Eu" et "kalyptus" : couvercle ou opercul (Sakina, 2009).

La conception populaire de la découverte de l'*Eucalyptus* se rapporte aux voyages du capitaine James Cook dans l'Endeavour dans les années 1770 (Coppin, 2002). Genre *eucalyptus* contient plus de 750 espèces (*Eucalyptus gigantea*, *Eucalyptus diversifolia*, et *Eucalyptus globulus*, etc.) (Bergfeld et al., 2018).

Le genre de l'*Eucalyptus* qui définit sept sous genres (*corymbia*, *Blakella*, *Eudesmia*, *Gaubeae*, Indigènes, *Monocalyptus* et *symphyomyrtus*) (Marque, 2008).

Un grand nombre d'espèces de l'*Eucalyptus* ont été introduites en Algérie, notamment par M Cordier de 1864 à 1876 (Trabut, 1914). Les premiers planteurs étaient des missionnaires d'origine Européenne, ils l'ont exploité dans le but d'assainir les terrains marécageux où pullulaient les anophèles et les moustiques qui sont vecteurs d'une maladie parasitaire endémique : le paludisme (Ait Youssef, 2006).

1.3. Description botanique :

L'*Eucalyptus* est un très bel arbre au tronc droit, lisse, grisâtre, qui porte des rameaux dressés. Sa croissance rapide, son odeur aromatique qui éloigne les insectes et son pouvoir absorbant de l'humidité l'ont fait introduire dans la région méditerranéenne pour assainir certaines étendues marécageuses. Cet arbre (*Eucalyptus globulus*), de la famille des *Myrtacées*, s'appelle également « gommier bleu », « arbre au koala » et « arbre à la fièvre ». Elle peut atteindre 30 à 40 mètres de hauteur. L'écorce de son tronc et de ses branches, de couleur gris-brun, a tendance à se détacher naturellement par plaques. Ses feuilles, agréablement odorantes, sont persistantes et coriaces, opposées et ovales lorsqu'elles sont jeunes, puis allongées en prenant de l'âge. Ses fleurs disposent de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge. Ses fruits se présentent sous forme de capsules ovoïdes et ligneuses d'environ 1 centimètre, renfermant de nombreuses graines minuscules

Le mot « *Eucalyptus* » vient du grec « eu » (c'est-à-dire « bon ») et le mot « *kalyptol* » signifie « couvrir », car les pétales et les sépales de cette espèce sont soudés. Cet arbre vient d'Australie, de Tasmanie et de Malaisie. Il a été introduit en France en 1828. On le trouve dans les régions méditerranéennes, en particulier en Corse, mais aussi dans d'autres lieux plus septentrionaux. L'*eucalyptus* prospère en sol acide et humide. Il supporte le froid jusqu'à -12°C, mais le gel prolongé de 1985 en a quand même détruit un certain nombre dans le Midi

1.3.1. L'écorce :

L'écorce est de couleur et de texture variable selon les espèces. Souvent elle présente plusieurs couleurs, comme un platane, et se détache en lambeaux qui tombent au sol, mais l'écorce peut être aussi dure, fibreuse, floconneuse, lisse (Figure 01).



Figure 01 : L'écorce (Site Web 1)

1.3.2. Les feuille :

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauque, 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. **(Bruneton. J, 1999)**

Les feuilles juvéniles sont très différentes du feuillage adulte : elles sont ovales, larges, sessiles, opposées et couvertes d'une pruine (couche cireuse, légèrement poudreuse, permettant à la plante de se protéger de la chaleur et des agressions extérieurs). Les feuilles adultes sont alternes, pétiolées, très allongées, falciforme et de couleur vert luisant **(Pauline, 2019)**.



Figure 02 : photographie des feuilles de l'*Eucalyptus globulus* (Site Web 2)

1. 3.3. Les fleurs :

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge. **(Bruneton. J, 1999)**

Visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines. Les fleurs couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée. **(Adouani, L., et al, 2021)**.



Figure 03 : les fleurs de *Eucalyptus globulus* (Site Web 3)

1.3.4. Les fruits :

Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines. 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. Graines : très grosses ressemblant à celle du poireau (Adouani, L., et al, 2021)



Figure 04 : Les fruits de *Eucalyptus globulus* (Site Web 4)

1.3.5. Les racines :

Les racines de *Eucalyptus globulus* s'étendent assez horizontalement dans le sol et sont plutôt traçantes que pivotantes, leur caractère particulier est d'avoir peu de consistance quand elles sont jeunes, aussi toute espèce de labour devient-il préjudiciable à une plantation. Mais, au bout de la deuxième année, les individus acquièrent assez de force pour que les herbes qui les entourent ne puissent plus leur nuire. Par les propriétés absorbantes si énergiques des racines, *Eucalyptus globulus* est regardé comme essentiellement propre à l'assainissement des lieux rendus insalubres par un sous-sol marécageux. (Adouani, L, et al.2021).

1.4. Position systématique d'eucalyptus

La classification d'*Eucalyptus globulus* est la suivante :

Tableau 01 : Classification systématique de *Eucalyptus globulus* (P. Erau,2019)

Règne	Plante
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida -Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus (Labill.)</i>

1.5. Le nom commun :

Nomenclature : en français, il est appelé par plusieurs noms qui sont : *Eucalyptus*, arbre de la fièvre, gommier bleu, en anglais : blue gumtree et en arabe : Kalitus, Kalatus (**Goetz et Ghadira, 2012**). On mentionne spécialement les noms vernaculaires dans notre pays l'Algérie : Calitouss« le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (**Daroui Mokaddem, H. 2012**)

Etymologie : *globulus* fait référence à la forme de l'opercule du fruit (**Pauline, 2019**).

1.6. La répartition géographique

➤ Dans le monde:

Les *Eucalyptus* sont indigènes au continent australien, où ils dominent d'ailleurs 95 % des forêts. Certaines espèces, notamment *Eucalyptus globulus*, ont été introduites en Europe, où elles se sont très bien acclimatées sur les rivages méditerranéens, ainsi qu'au Portugal, où d'immenses forêts d'*Eucalyptus* ont été plantées pour la production de pâte à papier. Ces espèces ont également été plantées en Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. On les rencontre aussi dans les îles de Madagascar, de Mayotte, de Malte et de La Réunion, au Sri Lanka, en Afrique du Sud, sur les pentes du mont Elgon en Ouganda, en Californie, en Argentine, au Brésil, au Chili, en Équateur et au Pérou. Le total des plantations d'eucalyptus dans le Monde Méditerranéen est de l'ordre de 540.000 ha et il s'accroît d'environ 30.000 à 40.000 ha par an. (**S.Baid, 2018**).

➤ En l'Algérie :

Les *Eucalyptus* furent introduits en Algérie entre 1854 et 1860, plusieurs espèces ont donné d'excellents résultats dans les secteurs subhumides et semi-arides du pays, principalement au-dessous de 800 m d'altitude, et dans des régions recevant plus de 400 mm de précipitations annuelles. Les superficies plantées étaient estimées en 1965 à 28 200 hectares. (FAO ,1982)

L'Eucalyptus globulus prit rapidement une grande extension en Algérie entre 1860 et 1870 (F. Rahmane, A. Bentboula ,2018) ; Ils occupaient une surface de 5 855 hectares dont plus de la moitié dans la région Oranaise, actuellement des plantations longent le littoral d'El-Kala et d'Azzefoun. On retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout ; Aus (A. Haddouche, L. Kirad, 2018) , si à Blida, Boumerdes (93 HA), Relizane, Skikda (2250 HA), S.Belabas (342 HA), Sétif (10 Ares), et Ataref (1000 HA) (A. Benameur ; 2014).

1.7. Usage thérapeutique :

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont la principale source d'huile d'eucalyptus dans le monde. Utilisé pour ses vertus médicinales, notamment antitussives et expectorantes, elle n'en a pas moins de propriétés fébrifuges, toniques, astringentes, antiseptiques, hémostatique et vermifuges. et elle peut jouer également un rôle majeur dans l'assainissement des pays infestés par le paludisme.

En médecine traditionnelle africaine, l'infusion ou la décoction de feuille se prend ou s'emploie en usage externe dans le bain, en lotion ou en lavement, contre l'asthme, la bronchite ; l'amygdalite, les rhumes, les trouble urinaires et hémorragies. On inhale la vapeur des feuilles séchées et bouillies en cas d'asthme, de toux, de grippe et de diphtérie, ou bien on inhale la poudre fine des feuilles.

Au Kenya, la décoction de feuilles est utilisée dans l'eau du bain pour traiter la varicelle chez les enfants, et aussi ; on se sert des feuilles, fraîches ou séchées, pour lutter contre les escargots.

En Ethiopie, on fait des gargarismes à base d'extrait de feuilles en cas de méningite.

En Afrique australe, on utilise les feuilles contre les maux d'estomac, la résine gommeuse de la plante s'utilise contre la diarrhée, et diverses préparations à base de feuilles sont utilisées comme insectifuge. (louppe D .2008, coppen. 2002)

2. Huile Essentielle d'*Eucalyptus globulus*

2.1. Propriétés physiques :

Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle

- La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînaibles à la vapeur d'eau

- La densité nous renseigne sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques

- Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires

- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire

- Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides, en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur

- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires, la solubilité est plus ou plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite « eau distillée florale ». (M. Lamara ; A. Tlili, H. Bentayeb ; 2017).

2.2. Composition chimique des Huiles essentielles

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles des feuilles et des fruits d'*E. globulus*, et plus de 30 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le 1,8 cineole, camphène, apinene, globulol, b-pinene, p-cymene, myrcene, g-terpinene, a-terpineol et le limonène (Pereira et al, 2004 ; Songa et al, 2009).

Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit ; dont les monoterpènes (50,4%), les sesquiterpènes (49,6%). Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrene (25,1%), suivi de phellandrene (17,2%), 1,8-cineole (11,7%), ledene (5,83%) et du globulol (5,23%) (**Pereira et al. 2004**). 47 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles des feuilles : le 1, 8-eucalyptol (72,71 %), α -pinene (9,22 %), α -terpineol (2,54%), globulol (2,77%), α -terpineol acétate (3,11%), et d'allooromadendrene (2,47 %) (**Songa A et al., 2009**). Le composé majoritaire : L'eucalyptol ou le 1,8 cineole avec une concentration de 70 à 85% (**Opdyke, 2002 ; Zhiri et Baudoux, 2005**).

Partie distillée : la feuille, utilisée aux états unis dans la préparation de certains produits présentés dans le tableau :

Tableau 02 : Produits préparés à base des huiles essentielles d'*E. globulus*

Concentration	Savon	Détergents	Lotion/crémé	Parfum
Usuelles	0,3	0,005	0.002	0.1
Maximales	30,03	0.004	0.1	1.0

L'huile essentielle de *Eucalyptus* a obtenu le statut de Produit GRAS par la FERMA (1965), et approuvé par la FDA pour son utilisation alimentaire (**Opdyke, 2002**). Son aspect est liquide, limpide, presque incolore à jaune claire son odeur est caractéristique rappelant celle de l'eucalyptol (**Buronso, 2008**). Elle est utilisée comme agent de flaveur dans l'industrie alimentaire à une dose $\leq 5\text{mg/Kg}$ (**Batish et al, 2008**). Les principaux composés identifiés dans les huiles essentielles de la plante *E. globulus* sont montrés dans le **Tableau 3**

Tableau 03 : Principaux composés des HEs d'*E. globulus*

Auteurs	Composition
(Jubril Olayinka et al., 2012)	Feuilles : monoterpènes oxygénés : 46,5%, avec le terpinen-4-ol : 23,46% le constituant le plus abondant. Les autres composés sont γ -terpinène: 7,01 %, spathulenol: 8,94 %, p -cymène: 8,10 % et p -cymen-7-ol: 6,39 %. Globulol: 2,52 % et α -phellandrene: 2.20%
Damjanović Vratnica, 2011)	Feuilles : 1,8 cineole: 85,8%, α -pinène:7,2%, et β -myrcène: 1,5%, β -pinène, limonène, α -phellandrene, γ -terpinène, linalool, pinocarveol, terpinen-4-ol, et α -terpineol
(Song et al, 2009)	Feuilles : 1,8-eucalyptol : 72,71 %, α -pinène : 9,22%, α -terpinéol : 2,54 %, globulol: 2,77 %, α -terpinéolacétate: 3,11%, et alloaromadendrene: 2,47%.
(Tyagi et al, 2011)	feuilles : 20 composés ont été identifiés : 44,5% monoterpènes hydrocarbonés et 52% monoterpènes-oxygénés, donc environ 96,5% des composés détectés. Les constituants majoritaires sont le 1,8-cineole : 45,4%, limonène : 17,8%, p -cymène: 9,5%, c -terpinène: 8,8%, α -pinène: 4,2% .

2.3. Domaine d'utilisation

Par leur nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans le multiple domaine tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie, l'aromathérapie ...

2.3.1. dans l'industrie agroalimentaire :

Les vertus antiseptiques et en même en temps les propriétés aromatisant des

Essences utilisent quotidiennement dans les préparations culinaires avec le thym, ail, laurier,

Les essences aromatiques donnent au condiment (poivre, gingembre,) et aux aromates (menthe, anis,) Leur saveur. Les arômes sont à base d'huiles essentielles (citron, anis vanille,) ainsi les essences d'anis et de badiane sont les principales sources d'éthanol naturel, composé utilisé en liquoristerie (fabrication des boissons anisées), et en chocolats, les glaces.

Par ailleurs, le pouvoir antioxydant de certaine essence permet la conservation des aliments en évitant les moisissures. C'est ainsi que le thym et le romain sert à conserve la semence. Les menthes sont d'excellents condiments crus hachées dans les salades ou dans divers plats ou bien sous formes de sauce à la menthe pour aromatiser les crèmes et les flans.

Actuellement, l'industrie agroalimentaire utilise des essences dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le gout mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien).

2.3.2. En parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dimères une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bais « calmant » ou « relaxant », et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles des lavandes, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. (**Boamera et al, 2004, BOUANANE et al, 2005**)

2.3.3. En pharmacie :

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière :

L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange ...etc.). Toutefois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade ...etc. (**kebsiA ,2011**)

2.4. Toxicologie de l'huiles essentielles

Les HEs ont des effets secondaires, en raison de plusieurs facteurs comme la composition, le surdosage, la durée, la fréquence, l'âge et la santé de la personne. L'HE d'*Eucalyptus globulus* est interdite d'utilisation chez les enfants de moins de 7 ans, les femmes enceintes et allaitantes et les sujets asthmatiques (**Lobstein et al. 2017**).

Heath Canada préconise son utilisation à des doses inférieures à 25% dans la fabrication des produits cosmétiques. La Commission allemande, quant à elle, recommande une dose allant de 300 à 600 mg par jour et une concentration de 5-20% pour les applications dermiques. Elle contre-indique cependant, son utilisation interne dans le cas d'inflammation du tractus gastro-intestinal, des voies biliaires ou dans les maladies hépatiques sévères. En Australie, L'HE d'*Eucalyptus globulus* est classée en 6 ème position dans le tableau des poisons (**Tisserand et Young, 2014**).

Cette haute toxicité est due à la présence élevée de 1,8-cinéole et d' α -pinène. À des doses dépassant le seuil recommandé, le 1,8- cinéole peut provoquer une dépression respiratoire, baisser le seuil épiléptogène (seuil à partir duquel un stimulus va déclencher une crise chez un patient sujet souffrant d'épilepsie), entraîner l'hypotension, l'hypothermie et une confusion mentale (**Mongreville, 2017**). Quant aux α -pinène, leur ingestion peut causer des nausées, des vomissements, une irritation gastro-intestinale, une néphrite toxique avec hématurie et albuminurie et dans le cas de doses très élevées, le coma ou même la mort suite à un arrêt respiratoire (**Jouault, 2012**).

2.5. Activités biologiques de l'huiles essentielles

2.5.1. Propriétés antioxydants

Les HEs sont reconnues comme étant des antioxydants naturels, capables de piéger les radicaux libres et réduire leur formation (**Li et al, 2014**).

Cette faculté est principalement attribuée aux phénylpropanoïdes et terpénoïdes à noyaux phénoliques contenues dans celles-ci (**Amorati et al, 2013**) qui agissent via différents mécanismes : le piégeage direct des espèces réactives oxygénés, l'inhibition des enzymes les générant, la chélation d'ions de métaux de transitions, responsables de leur production, ainsi que la stimulation de la synthèse d'enzymes antioxydantes (**Leopoldini et al, 2011**).

Plusieurs études in vitro ont démontré que l'HE d'*Eucalyptus globulus* possède des propriétés antioxydants (Mishra et al, 2010 ; Harkat-Madouri et al, 2015 ; Luís et al, 2015).

Ces propriétés sont supposément assignées au 1,8-cinéole qui pourrait agir en synergie avec d'autres composants, particulièrement ceux à structure phénolique (Mishra et al. 2010). C'est le cas des α -pinène et β -pinène, composés terpéniques, qui possèdent des activités antioxydants (Salehi et al. 2019(b)).

2.5.2. Propriétés antifongiques

L'HE est un produit à fort potentiel antifongique (Moghaddam et Mehdizadech, 2016). En effet, une étude a démontré que l'HE d'*Eucalyptus globulus* déforme les hyphes, diminue le volume des cellules fongique, induit une fragilisation du biofilm de *Candida albicans* et par conséquent son inhibition (Barbosa et al, 2019).

Les principales molécules responsables de cette toxicité fongique sont les terpénoïdes et flavonoïdes lipophiles, qui interagissent avec les composants membranaires et modifient leur arrangement (Barbosa et al, 2019). Dans une autre étude, l'HE d'*Eucalyptus globulus* a inhibé complètement la croissance des mycéliums du phytopathogène *Colletotrichum* spp, agent de la maladie de l'Anthracnose qui touche les fruits de la tomate.

L'*Eucalyptol* et le Terpinen-4-ol, molécules dominantes de l'huile, seraient responsables de cette action (Osaro-Matthew et al, 2016). Dans une étude parallèle, l'HE d'*Eucalyptus globulus* inhiberait la croissance d'*Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*.

Les chercheurs ont conclu après avoir testé l'action du 1,8-cinéole seul et de la totalité de l'huile, que l'action fongique résulterait de la synergie de plusieurs molécules (Vilela et al, 2008).

2.5.3. Propriétés antibactériennes

Les HEs agissent sur les bactéries non seulement localement, mais aussi, au niveau de différents sites cellulaires (**Bajpai et al, 2013**).

Elles peuvent affecter la morphologie des bactéries, ses mécanismes de régulation ainsi que certaines de ses structures spécifiques (**Bouyahya et al, 2017**). Cette action antibactérienne dépend vraisemblablement de la composition chimique des HEs (**Swamy et al, 2016**) et est attribuée à la présence majoritaire de composés phénoliques et de terpènes (**Saad et al. 2013**).

Les HEs opèrent principalement au niveau de la paroi cellulaire des bactéries mais, peuvent également affecter les protéines, les acides gras membranaires, influencent le Quorum-sensing (capacité des bactéries à détecter et réagir aux molécules de signalisation) et la production d'ATP (**figure 5**) (**Bouyahya et al, 2017**).

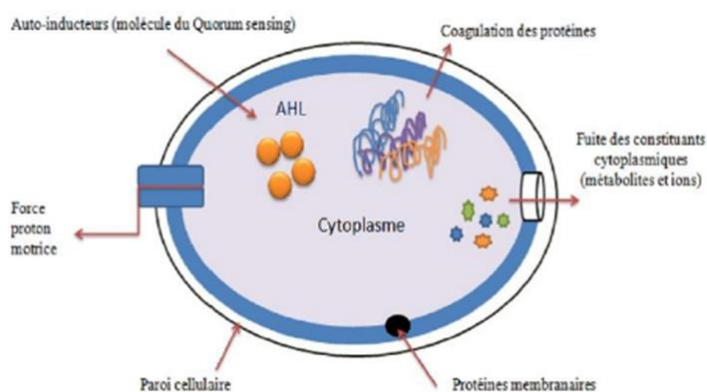


Figure 05 : Schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne (**Bouyahya et al., 2017**)

En effet, les composés phénoliques dégradent et décomposent la membrane cellulaire des bactéries, endommagent la membrane cytoplasmique, provoquent la libération des molécules intracellulaires, une déplétion de la force protonomotrice, une diminution de la production d'ATP ainsi que la coagulation du cytoplasme (**figure 6**) (**Wong-Paz et al., 2017**).

Quant aux terpènes, leur nature lipophile leur permet de s'incruster dans la membrane cellulaire, de changer sa structure, augmenter sa fluidité et sa perméabilité et provoquent ainsi des perturbations au niveau des fonctions membranaires, comme par exemple, la perturbation de la chaîne respiratoire (**Paduch et al, 2007**).

Les HEs peuvent également affecter la biosynthèse des lipides en s'attaquant aux enzymes responsables de leur production, augmenter la quantité des acides gras saturés en C16 et C18 et diminuer celle des acides gras insaturés en C18 (Di Pasqua et al., 2007). Pour ce qui est des protéines, les HEs contenant le Cinna aldéhyde, ont pu arrêter la division cellulaire en inhibant l'assemblage du complexe FtsZ avec les anneaux Z chez *Bacillus creuse* (Bouyahya et al, 2017).

Les composés minoritaires des huiles essentielles jouent aussi un rôle dans l'activité antibactérienne et peuvent même ; dans certains cas, agir en synergie avec les composants majoritaires et amplifier leurs effets (Bajpai et al, 2013).

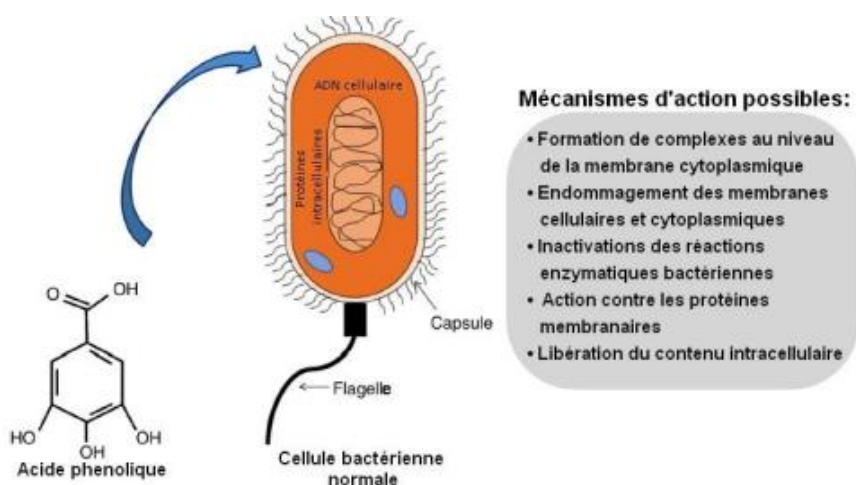


Figure 06 : Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques (Wong-Paz et al., 2017) modifié

L'HE d'*Eucalyptus* renferme une grande quantité de terpènes, accumulés et distribués sur la totalité du parenchyme foliaire et de l'écorce (Ghalem et Benali, 2008). Le monoterpène 1,8-cinéole, est sans doute le composé le plus présent et le mieux mis en évidence. Or, l' α -terpinol a montré une activité huit fois supérieure à ce dernier contre *Staphylococcus aureus* (Ghalem et Benali, 2008).

L'huile d'*Eucalyptus globulus*, en particulier, s'est avérée efficace sur plusieurs bactéries, notamment : *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Sreptococcus pneumoniae* (Cermelli et al, 2007).

Dans une autre étude, l'HE a inhibé significativement la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Mohd, 2019), *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Listeria innocua* (Bey-ould si said et al, 2016).

Pour ce qui est des BMRs, l'huile d'*Eucalyptus globulus* a exercé une inhibition marquée contre les *Staphylococcus aureus* résistants à la Méthicilline (SARM) et *Enterococcus faecalis* résistant à la Vancomycine (ERV) (Mulyaningsih et al., 2010).

Cette activité microbienne est attribuée à l'aromadendrene, composé ayant un groupement méthylique exocyclique et un cycle cyclopropane qui peut alkyle les protéines et donc, détruire leur conformation. De plus, comme le composé est hautement lipophile, il peut perturber la fluidité et la perméabilité des biomembranes (Mulyaningsih et al, 2011).

2.5.4. Propriétés antivirales

L'HE d'*Eucalyptus globulus* a démontré une capacité élevée d'inactiver le virus d'herpes labial (VHS-1). Cette huile agit sur le virus en l'inactivant avant même qu'il n'infecte la cellule, soit en perturbant l'enveloppe virale, soit en interagissant avec les structures virales responsables de l'insertion du virus dans la cellule hôte (Coffre, 2018).

Cette huile a montré également une activité antivirale efficace à l'encontre du virus Influenza A H1N9 et une capacité à inactiver le phage M13 non enveloppé d'*Escherichia coli* (Usachev et al, 2013).

Dans une autre étude, l'HE a exhibé une action légère sur les virus ourliens *Myxovirus parotidis*, virus responsable des oreillons, mais ne présente aucune activité sur les adénovirus (Cermelli et al, 2007).

Chapitre II :
Résistance aux
antibiotiques

1. Généralités sur les antibiotiques

Dès 1877, Pasteur et Joubert mettent en évidence la notion d'antagonisme microbien– (antibiose) : des cultures de bactéries charbonneuses poussent mal lorsqu'elles sont souillées par certaines bactéries saprophytes.

- En 1889, Vuillemin crée le terme d'antibiose (anti=contre, biose =vie) action exercée par les substances antibiotiques.

- En 1912, Vandenner montra que les extrais obtenus à partir de *Aspergillus fumigatus* avaient une activité anti-staphylococcique.

- En 1928, Fleming découvre la pénicilline.

- Entre 1938-1942, la pénicilline G est purifiée et utilisée en clinique par H. Florey, E. Chain

- En 1940, le terme d'antibiotique a été proposé par R. Dubos.

- En 1940, Waksman isole l'actinomycète produite par un streptomycetes et il découvre la– streptomycine active en particulier sur le bacille de Koch.

A partir de cette date, de nombreux antibiotiques sont découverts : Chloramphénicol,– Tétracyclines en 1949, Aminosides en 1950, Macrolides en 1952, Glycopeptides en 1958, Streptogramines en 1962, Triméthoprime en 1970 et Oxazolidinones en 2000 (**Boulahbal, 2009**).

2. Définition

Les antibiotiques sont des molécules à activité antibactérienne. Ils sont soit d'origine biologique (β lactamines, aminosides, macrolides, polypeptides) semi synthétique (sulfamides, quinolones). Ils agissent spécifiquement sur des cibles moléculaires perturbant une étape essentielle du métabolisme des bactéries (synthèses protéiques, synthèse des acides nucléiques, réplication, transcription, transport transmembranaire...) (**Boulahbal, 2009**). Qu'ils soient d'origine biologique ou de synthèse chimique, ces agents antimicrobiens doivent posséder les mêmes propriétés, à savoir :

- Avoir une activité antibactérienne.

- Etre actifs en milieu organique puisqu'ils doivent atteindre les microorganismes dans les tissus de l'hôte (sang, poumons, os etc...).

- Etre de toxicité sélective (contre les cellules bactériennes et non les cellules de l'hôte)

- Etre de bonne absorption et de bonne diffusion.

Il existe deux catégories d'antibiotiques, les antibiotiques à effet bactériostatiques qui inhibent la croissance bactérienne en ralentissant puis arrêtant la multiplication et les antibiotiques bactéricides qui lisent les bactéries (**Boulaḥbal, 2002**). La notion de bactériostase est actuellement remise en cause à la suite de diverses expériences ayant démontré qu'en augmentant la dose, un antibiotique bactériostatique peut avoir des effets bactéricides. Mais pour ces antibiotiques, *in vitro*, la dose toxique est peu éloignée, leur utilisation en médecine humaine ne peut se contenter que de leur effet bactériostatique (**Boulaḥbal, 2002**).

3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques bloquent de manière spécifique les processus métaboliques vitaux des bactéries sensibles et arrêtent ainsi leur développement, le plus souvent seulement temporairement (effet bactériostatique) mais parfois définitivement (effet bactéricide). Il existe différents types d'antibiotiques capables d'agir sur les bactéries selon différents mécanismes (**Fig7**) Antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne.

- Antibiotiques qui altèrent la perméabilité de la membrane plasmique.
- Antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique.
- Antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs

(in– **Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013**).

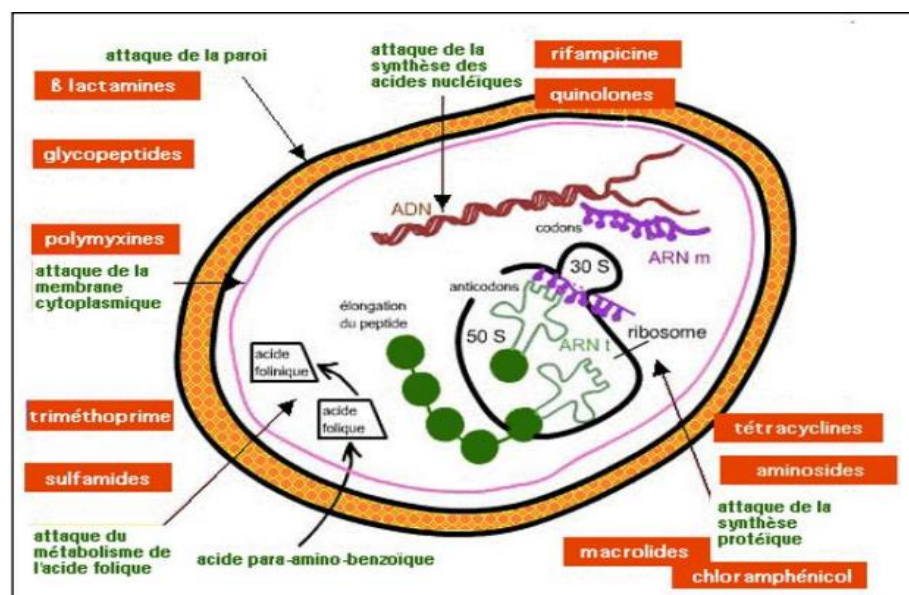


Figure 07 : Mode d'action des antibiotiques (in **Meziani, 2012 ; Mammeri, 2013**).

3.1. Sur la paroi bactérienne

Ces antibiotiques agissent sur des cibles extracellulaires et ne sont actifs que sur les germes en croissance. Les cellules au repos ne sont pas perturbées par l'action de ces molécules. Les antibiotiques bloquent la synthèse de la paroi, la cellule s'allonge sans faire de paroi (cloison) et elle explose sous l'effet de la pression osmotique interne. Si on ajoute un stabilisant osmotique, on obtient un protoplaste (**Site Web 5**).

Exemple

- Les β -lactamines, qui inhibent la transpeptidase intervenant dans la synthèse de la paroi.
- Les glycopeptides, qui se lient à un intermédiaire de synthèse du peptidoglycane.
- La fosfomycine inhibe la synthèse de précurseurs de la paroi (**Site Web 6**).

3.2. Sur la membrane plasmique

L'antibiotique a des propriétés de surfactant qui lui permettent de s'insérer parmi les phospholipides de la membrane externe. Cela perturbe la perméabilité membranaire (augmentation anormale) et permet la diffusion de substances hydrosolubles hors de la bactérie ce qui entraîne sa destruction (**Site Web 7**).

Exemple

Les polymyxines, agissent comme des détergents cationiques : grâce à leur caractère amphipathique, elles pénètrent dans la cellule bactérienne et s'insèrent parmi les phospholipides de la paroi, perturbant la perméabilité membranaire (**Site Web 5**).

3.3. Sur la synthèse des protéines

De nombreux antibiotiques inhibent la synthèse protéique en se fixant sur le ribosome procaryote. Comme ces agents distinguent les ribosomes procaryotes des ribosomes eucaryotes, leur indice thérapeutique est relativement élevé mais moins favorable que celui des inhibiteurs de la synthèse de la paroi. Certains agents se fixent sur la petite sous unité 30S, alors que d'autres s'attachent à la grande sous-unité 50S du ribosome. Plusieurs étapes différentes du mécanisme de la synthèse protéique peuvent être affectées, la fixation de l'aminocyl-ARNt, la formation de la liaison peptidique, la lecture de l'ARNm et la translocation (**Prescott et al, 2010**).

Exemple :

- Macrolides, lincosamides, streptogramines, phénicolés, oxazolidinones : inhibent la sous-unité 50S.
- Tétracyclines, aminoglycosides : inhibent la sous-unité 30S (**site 2**)

3.4. Sur les acides nucléiques

Les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques agissent en inhibant l'ADN polymérase, et l'ADN hélicase ou l'ARN polymérase, en bloquant de ce fait respectivement la réplication ou la transcription (**Prescott et al, 2010**).

Exemple

Ansamycines : Inhibe l'ARN polymérase.

Quinolones et fluoroquinolones : Inhibent l'ADN Gyrase et de la topoisomérase IV

4. La résistance aux antibiotiques**4.1. Définition :**

La résistance aux antibiotiques est définie comme la capacité acquise d'un microorganisme à résister à l'action inhibitrice d'antibiotiques auxquelles l'espèce est généralement sensible (**Debabza, 2015**). On peut dire aussi qu'une souche est résistante lorsqu'elle peut supporter une concentration d'antibiotiques beaucoup plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce.

La résistance bactérienne résulte toujours de l'incapacité de l'antibiotique à agir sur sa cible, du fait de la réaction des bactéries vis à vis de l'antibiotique, exprimée par divers mécanismes (**Debabza, 2015**).

4. 2. Facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance

L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de micro-organismes résistants (SIMONSEN GS et al 2004). L'exposition à un antimicrobien favorise la survie des souches bactériennes résistantes présentes dans une population. La réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne et préserver le plus longtemps possible l'efficacité des médicaments disponibles. La figure présente la manière dont la pression sélective de la résistance s'effectue. Elle décrit les événements qui suivent une mutation spontanée dans une population bactérienne. Si la mutation favorise l'émergence d'une résistance à un antibiotique, celui-ci va détruire les autres bactéries et sélectionner la souche mutante. Les mutants vont se multiplier et devenir prédominants.

Lorsque les mesures de lutte contre les infections sont inadéquates, comme le lavage des mains, les clones résistants peuvent se propager d'un patient à l'autre en produisant une éclosion monoclonale ou oligoclonale, c'est-à-dire que toutes les bactéries résistantes sont identiques à la souche originale mutante ou présentent un nombre restreint de clones. Par opposition, la pression de sélection aux antibiotiques favorise une épidémiologie polyclonale,

C'est-à-dire la présence de clones multiples. La figure 8 illustre l'interaction de ces deux facteurs sur l'émergence et la propagation de souches bactériennes résistantes (Ahmed M et al 1999).

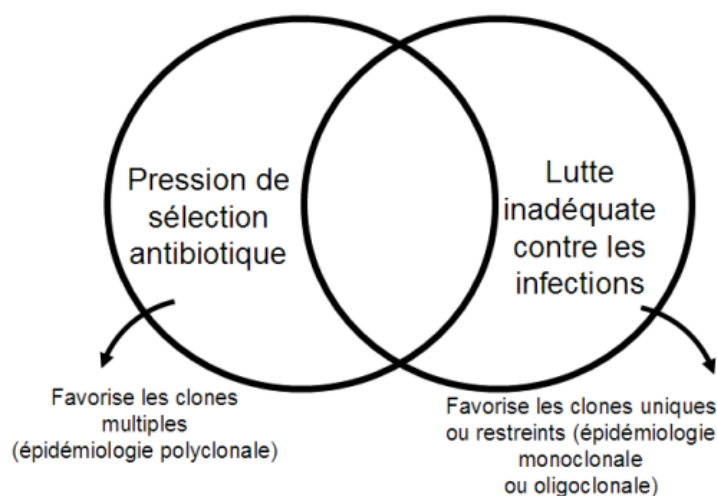


Figure 08. Émergence et propagation de souches résistantes (Ahmed M et al 1999).

4.2.1. Usage inapproprié d'antibiotiques

L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance microbienne, et celle-ci augmente à l'échelle mondiale¹. Le nombre croissant de patients plus âgés ou présentant des déficits immunitaires plus marqués, les interventions chirurgicales plus complexes, l'utilisation accrue de procédures invasives, les systèmes de soutien des fonctions vitales plus avancés, comme la ventilation assistée, favorisent une utilisation fréquente et parfois inappropriée d'antibiotiques à large spectre d'activité

Les traitements des patients simplement contaminés ou colonisés constituent un des principaux exemples d'usage abusif des antibiotiques. L'arrêt du traitement empirique lorsque les cultures sont négatives pourrait réduire considérablement l'utilisation d'antimicrobiens.

En milieu communautaire, la pression environnementale sur le corps médical pour l'obtention d'une ordonnance a également contribué fortement au développement de la résistance. Paradoxalement, la sous utilisation par manque d'accès, posologie insuffisante, mauvaise observance ou antibiotique non approprié semble jouer un rôle aussi important dans l'accroissement de la résistance que la sur-utilisation (Avorn JL et al, 2001 Simonsen GS et al ,2004).

4.2.2. Utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire :

L'utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agroalimentaire contribue au fardeau environnemental de la résistance, puisque des populations bactériennes comportant de nombreuses souches résistantes aux antibiotiques sont libérées dans les excréments. Le transfert d'agents pathogènes résistants des animaux aux êtres humains peut aussi se faire par voie de contact direct ou au moyen d'eau ou de nourriture contaminées et permettre le transfert de gènes de résistance aux bactéries humaines.

4.2.3. Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants :

Les antibactériens, présents dans les dentifrices et incorporés dans de nombreux produits d'entretien ménager, accroissent la pression sélective de souches bactériennes résistantes à ces agents. Une fois présent, le mécanisme conférant la résistance peut entraîner

une résistance croisée à l'égard d'autres antimicrobiens. L'usage d'antibiotiques topiques a aussi été associé au développement de résistance aux agents utilisés. (**Graham DR et al 1980**).

4. 3. Types de résistance :

La progression de la résistance bactérienne aux antibiotiques cause des infections difficiles à traiter et pose un problème de santé publique. Les bactéries résistantes sont souvent la cause des infections nosocomiales aggravant le pronostic des malades, prolongent leur hospitalisation et augmentent les coûts de traitement. On distingue deux types de résistance bactérienne : la résistance naturelle et la résistance acquise.

4.3.1. La résistance naturelle

Certaines bactéries sont naturellement résistantes à certains antibiotiques. Cette résistance (lactamines), peut être due à plusieurs causes : cibles absentes (mycoplasmes et accessibles (bacilles à gram négatif et macrolides) ou non affines (bactéries à Gram positif et quinolones) (**Lavigne 2007**). Elle délimite le spectre d'action des antibiotiques (**Courvalin 2007**).

4.3.2. La résistance acquise

La résistance bactérienne acquise à un antibiotique est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme. (**mehdi, s.2008**)

4.3.3. Résistance chromosomique

La résistance chromosomique résulte d'une mutation qui présente les caractères suivants:

- **La rareté** : une mutation se produit en moyenne toutes les 10⁵ à 10¹⁰ divisions mais compte tenu de l'importance des populations bactériennes dans un foyer infectieux, la probabilité d'existence d'une bactérie résistante à un antibiotique n'est pas négligeable.

- **La spécificité** : la mutation n'affecte généralement qu'un caractère et la résistance ne touche qu'un antibiotique ou une famille d'antibiotique ayant le même mode d'action. Il existe toutefois des exceptions notables à cette règle, comme par exemple chez *Serratia*

marcescens et *Pseudomonas aeruginosa* ou une seule mutation entraîne une résistance simultanée aux bêta-lactamines et aux aminosides.

- **L'indépendance** : La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit du taux de mutation et elle est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques.

- **La transmissibilité** : Une mutation résulte de la modification d'un gène, elle est permanente, sauf mutation reverse et elle a un caractère héréditaire (transmissible sur un mode vertical de la bactérie mère aux bactéries filles). (mehdi, s .2008)

4.3.4. Résistance par acquisition des gènes transférés

Les résistances par acquisition d'ADN sont la conséquence d'un transfert horizontal y compris entre espèces éloignées phylogénétiquement. Les bactéries utilisent trois mécanismes principaux de transfert horizontal d'éléments génétiques entre bactéries d'une même espèce ou d'espèces et de genres différents : la transformation, la transduction et la conjugaison. (B.doblet et al, 2012)

Les gènes de résistance aux antibiotiques, pour la plupart chromosomiques, proviennent généralement de micro-organismes producteurs d'antibiotiques pour lesquels ils sont immunisés. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que les plasmides, les transposons, les intégrons ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population. (stephanie.F.2009)

4.4. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Il existe plusieurs mécanismes (Figure 9) permettant à la bactérie d'échapper à l'action de l'antibiotique :

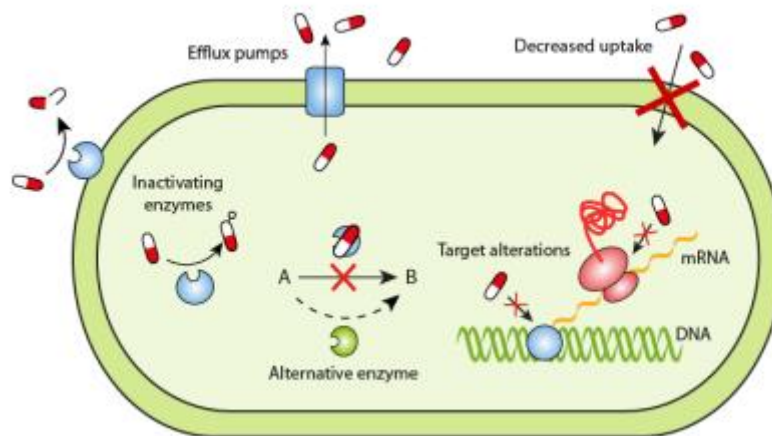


Figure 09 : Schéma des principaux mécanismes de résistance des bactéries

4.4.1. Altération des cibles des antibiotiques :

Avec une modification de leur structure, elles se rendent insensibles à l'action de l'antibiotique. C'est un des principaux mécanismes de résistance à la streptomycine, un des premiers antibiotiques utilisés pour le traitement de la tuberculose (**Rabarijaona et al. 1999**). Certaines bactéries ont développé la capacité des modifier ses PLPs, les souches de *S.aureus* - lactamines sontβrésistantes à la méticilline (SARM) sont résistantes à l'ensemble des classées dans les BMR.

4.4.2. L'altération des membranes bactériennes :

La perméabilité des canaux membranaires par lesquels l'antibiotique pénètre dans la bactérie est altérée. Ce type de résistance peut apparaître aussi par diminution du diamètre des porines chez les bacilles à Gram négatif (**Courvalin 2007**).

Il existe beaucoup moins de porines chez *A.baumannii* que chez *E.coli* ce qui rend *A.baumannii* 100 fois moins perméable qu'*E.coli* (**Decré 2012**). La membrane externe des bactéries à Gram négatif présente une face interne constituée de phospholipides et une face externe, constituée de Lipopolysaccharides (LPS) (**Cronan et al. 1987**) qui représentent 75% de la surface totale de la membrane externe.

Les LPS ont une forte charge négative qui facilite le passage des antibiotiques cationiques. Certaines bactéries ont développé des mécanismes de résistance qui réduisent la charge négative nette des LPS (**Helander et al. 1998**).

4.4.3. L'inactivation enzymatique :

La bactérie peut synthétiser des enzymes qui inactivent l'antibiotique. En 1940, a été publié le premier article sur la découverte d'une enzyme d'inactivation de type pénicillase chez *Bactérium coli* (**Abraham and Chain 1940**). - β C'est le mode de résistance le plus répandu. On peut citer en particulier la production de lactamases sont des enzymes d'inactivation- β lactamases (**Hamouche and Sarkis 2012**).

Les -lactame en formant un complexe enzyme-substrat. Le β capables d'hydrolyser le cycle produit final de la réaction aboutit à la formation de composés acides tels que l'acide pénicilloïque ou céphalosporoïque. Pour certaines bactéries comme *P.aeruginosa*, certaines de ces enzymes comme les céphalosporinases sont produites sur un mode inductible. Ainsi -lactamines, puis diminue lorsque l'antibiotique β leur production augmente en présence de est moins présent (Picard), contrairement à *A.baumannii* (**Bou and Martinez-Beltran 2000**).

4.4.4. L'excrétion active :

L'efflux d'antibiotiques a été observé pour la première fois avec la tétracycline à la fin des années 1970 (**Levy and McMurray, 1978**). Une fois entré dans la cellule bactérienne, l'antibiotique subit l'effet d'une pompe membranaire (de type transporteur) qui le rejette tel quel dans le milieu extérieur. Ce mécanisme est un des principaux mécanismes de résistance de *P.aeruginosa*. Il peut être exprimé par des nombreuses bactéries à Gram négatif ou à Gram positif dont des souches de *Staphylococcus* ou de *Streptococcus*.

Ce type de résistance est typique chez les macrolides et les tétracyclines. A la différence des bactéries à Gram positif, les bactéries à Gram négatif possèdent un nombre important de « transporteurs » d'antibiotiques, dont la plupart ont un spectre large (ce qui peut affecter à un grand nombre d'antibiotiques) (**Mesaros et al. 2007**).

Ainsi la surexpression de la pompe A de ABC présente dans 80% des souches d'*A.baumannii* -lactamases, aux β (**Nemec et al. 2004**) implique une diminution de la sensibilité aux aminoglycosides, aux fluoroquinolones, aux tétracyclines, à la tigécycline et au chloramphénicol (**Magnet et al. 2001**).

4.5. L'impact de la résistance

L'impact sur la résistance est l'effet secondaire délétère le plus fréquent de l'antibiothérapie. A la différence des autres effets secondaires classiques de l'antibiothérapie (toxicité, allergie) qui, bien que parfois très graves, n'ont que des conséquences individuelles et à court terme, l'effet sur la résistance concerne l'ensemble de la collectivité, il se fait sentir à court, moyen et peut-être long terme, justifiant pleinement sa qualification d'impact « écologique ». L'impact écologique des antibiotiques, notamment sur les flores commensales, est un champ de recherche récent dont l'exploration, mise en route par Cyril Tancrède dans les années 1980 à l'Institut Gustave Roussy (Villejuif, France), commence seulement à s'épanouir.

Dans l'avenir, le niveau de la résistance au sein des flores commensales pourrait constituer un indicateur sensible et précoce de l'évolution de la résistance. De même, des différences significatives peuvent exister entre divers antibiotiques en termes d'impact écologique. Celles-ci pourraient constituer un critère à prendre en compte dans le choix thérapeutique.

En fait, quels que soient les mécanismes de résistance mis en jeu et les différences de cibles cellulaires de ces molécules thérapeutiques, il semble bien que la réduction de la consommation constitue la meilleure voie pour préserver l'efficacité des antibiotiques. La consommation des antibiotiques est devenue massive. Elle atteignait 10 000 tonnes par an en Europe en 1997, quantité répartie presque également entre consommation humaine et usage animal. Les différences entre pays sont considérables.

En France, la consommation en médecine de ville est la plus importante d'Europe, représentant par habitant le double de celle de l'Autriche, de l'Allemagne et de la Suède et le triple de celle du Danemark et des Pays-Bas. Nous sommes en deuxième position pour les prescriptions hospitalières. Dans les pays à faible consommation, la prévalence en ville des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline et la prévalence à l'hôpital des staphylocoques résistants à la méticilline sont plus faibles qu'en France.

Il est donc probable que l'on peut, au moins dans notre pays, réduire singulièrement la consommation des antibiotiques tout en respectant les règles de leur bon usage et sans faire courir de risque aux malades authentiquement infectés. C'est à cet objectif que doit concourir le « Plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques » qui vient d'être présenté par le

ministère de la Santé. Il ne prendra toutefois sa pleine efficacité que lorsque l'ensemble des acteurs professionnels concernés, médecins, vétérinaires, agriculteurs, mais aussi le public en général, seront convaincus du caractère dangereux de notre situation et de la nécessité de modifier nos pratiques. Réduire l'impact écologique des antibiotiques, c'est bien l'affaire de tous.

4.6. Les bactéries multirésistantes

4.6.1. Définition

Le terme « multi résistance », fait référence à une bactérie qui, du fait de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques, et présente une résistance à au moins 3 familles d'antibiotiques (**Lozniewski and Rabaud 2010**). Ces bactéries sont référencées par certains organismes comme le RIPIN (Réseau Interhospitalier de Prévention des Infections Nosocomiales), le C-CLIN (Comité de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales). Elles représentent 20 à 30% des infections nosocomiales (**Godreuil et al.2007**).

Les bactéries multirésistantes (BMR) concernent principalement les infections hospitalières. L'absence de BMR est un indicateur de qualité des établissements de santé (Secrétariat d'Etat à la Santé et à l'action sociale 1999). Les BMR peuvent aussi concerner les infections communautaires (**Chen et al. 2009**). L'association de plusieurs mécanismes de résistance a transformé des bactéries peu pathogènes en BMR comme *P.aeruginosa* ou *A.baumannii* (**Hamouche et Sarkis 2012**).

Parmi les BMR impliquées dans les infections nosocomiales nous avons sélectionnée quelques-unes qui ont fait l'étude de cette thèse, et qui font partie des dix bacilles à Gram négatif les plus rencontrés en milieu hospitalier (**Mulvey and Simor2009**)

4.7. Description des bactéries étudiées

•*Pseudomonas aeruginosa*

Bactérie saprophyte présente en milieu aqueux. Ce bacille à Gram négatif est généralement une bactérie peu agressive mais peut devenir pathogène dans certains cas, surtout chez les patients immunodéprimés. Cette bactérie a la capacité de devenir très résistante aux antibiotiques.

Cette bactérie est responsable d'infections cutanées, iatrogènes, oculaires, ou digestives. On peut citer aussi les broncho-pneumopathies (fréquentes chez les patients atteints de mucoviscidose, cancer ou leucémie). En cas d'infection grave ou multirésistante, le traitement de cette bactérie implique l'utilisation d'une bithérapie en associant une lactamine avec des carbapénèmes, aminosides ou fluoroquinolones.

Pseudomonas, a aussi la capacité de produire des pigments, ce qui l'a fait connaître sous le nom de bacille pyocyanique (« pus bleus »). Ces pigments sont des sidérophores (transporteurs de fer) (Neilands 1995), qui récupèrent le fer de l'environnement pour le mettre à disposition de la bactérie, ce qui favorise la prolifération bactérienne (Guillot et al. 2000 ; Neilands 1995). Ces pigments peuvent promouvoir la production de radicaux libres d'oxygène par les globules blancs polynucléaires (éosinophile, neutrophile et basophile) (Guillot et al. 2000).

•*Escherichia coli*

Bactéries commensales dont le chef de file est *E.coli*. *E.coli* est un bacille à Gram négatif de la flore intestinal de l'être humain. Si la plupart des souches d'*E.coli* sont inoffensives et sensibles à la plupart des antibiotiques, certaines peuvent être pathogènes et responsables de sévères infections urinaires, de gastro-entérites ou de septicémies. *E.coli* est naturellement sensible à la plupart des antibiotiques (Vu-Thien 1998).

Néanmoins pour un grand nombre de souches *E.coli*, on observe des résistances aux pénicillines (De Mouy et al. 1996), aux céphalosporines de 3ème génération (C3G), à l'amoxicilline + acide clavulanique et au céfixime (Goldstein et al. 1997). De nombreuses études ont montré que le mécanisme de résistance le plus souvent rencontré chez *E.coli* est la présence d'une pénicillinase plasmidique (De Mouy et al. 1996 ; Nguyen et al.1994 ; Weber et al. 1995 ; Stapleton et al. 1995).

•*Klebsiella pneumoniae*

Elle est surtout responsable d'infections des voies respiratoires. Elle s'est, dans les années 80-90, avérées résistantes à plusieurs antibiotiques comme les céphalosporines de 3ème génération ou les aminosides, par acquisition de plasmide, mais restait sensible aux carbapénèmes. Dans les années 90 et concernant *Klebsiella*, 14% des souches étaient - lactamases à spectre étendu (BLSE). Ce taux est variable selon les pays et peut attendre des valeurs très élevées (Chen et al. 2009).

Aujourd'hui, l'émergence de *Klebsiella* productrice de carbapénemases représente un danger de santé publique par le risque de dissémination de ces souches totorésistantes.

•*Proteus mirabilis*

Le genre *Proteus* a été découvert par un pathologiste allemand nommé Gustav Hauser en 1885 et qui a donné le nom à cette bactérie qui se caractérise par l'envahissement de la gélose (**Hauser, 1885**) et qui est parvenu à distinguer 04 espèces génomiques. Certaines étant clairement dénommées comme *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgarise*, *Proteus penneri*, *Proteus myxofaciens* (**Brenner et Holmes, 1995**).

Le genre avait à l'origine deux espèces : *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris*, en fonction de la vitesse de leur capacité à liquéfier la gélatine. *Proteus vulgaris* liquéfie la gélatine rapidement. *Proteus mirabilis* le fait plus lentement (**Hauser, 1892**).

Ce genre de bactéries Gram négatifs, dont beaucoup causent des infections des voies urinaires, et fréquemment isolés à partir de l'urine des patients âgés subissant un cathétérisme à long terme chez l'homme (**Warren, 1991**). *Proteus mirabilis* causent 90% de ces infections. En raison de leurs habitats variés, elles ont plusieurs voies possibles d'infections humaines (**Liu, 2010**).

•*Citrobacter koseri*

Bacilles à Gram négatif, mobile appartiennent à la famille des Entérobactéries. Ce sont des bactéries présentes dans l'environnement et des hôtes normaux du tube digestif. Le plus souvent elles sont pathogènes opportunistes, responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital (**Avril et al. 2000**). Ces espèces sont caractérisées par la présence d'une galactosidase et l'utilisation de citrate de Simons comme seule source de carbone.

Résistantes à de nombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (**Vincent. J. (2000)**)

• *Enterobacter SPP*

Bacilles à Gram négatif, appartiennent à la famille des Entérobactéries, elles se distinguent des *Klebsiella* par leurs mobilités, par la présence d'une ODC et l'absence d'uréase (Avril et al. 2000). Ces espèces présentes dans l'environnement, sont également des commensaux du tube digestif de l'homme et des animaux. Ce sont des pathogènes opportunistes responsables en milieu hospitalier d'infections urinaires, aussi de bactériémies et de méningites. (Avril et al. 2000, Anne et Pagés 2015).

Résistantes à denombreuses β -lactamines (sauf imipénème), et souvent céphamycines pour les espèces qui y sont naturellement sensibles, et très souvent résistantes aussi aux aminosides et aux fluoroquinolones (Vincent. J. (2000))

Partie
Expérimentale

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Notre étude se propose de déterminer in vitro qualitativement l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'une plante médicinale '*Eucalyptus globulus*' sur des souches bactériennes isolées de prélèvements effectués chez l'homme et responsables d'infections.

Ce travail s'inscrit dans la perspective de la valorisation des huiles essentielles de l'Algérie en vue de leur utilisation en agroalimentaire, en médecine...ect.

1. Matériel végétal

La plante choisie appartenant au genre *Eucalyptus*, de la famille des *Myrtaceae*, plante introduite en Algérie et de part le monde, est classé parmi les plantes les plus utilisées comme source d'extraits à qualité médicinale intéressante.

1.1. Récolte de la plante

Nous avons récolté les feuilles d'*Eucalyptus globulus* dans la ville de Tamalous (Skikda) figure 10. Les échantillons fraîchement récoltés sont transportés au laboratoire de botanique de l'ENSET Azzaba.



Figure 10 : Arbre d'*Eucalyptus globulus* (Fares et al, 2024)

1.2. Séchage et conservation

Les feuilles du végétal considéré, sont délicatement trier et séché à l'air libre, et à l'ombre pendant quinze jours. Une fois séchée, elles sont conservées dans des sacs en papier.



Figure 11 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* avant et après séchage (Fares et al, 2024)

2. Souches bactériennes test-objet

Un total de dix (10) souches bactériennes multi-résistantes(BMR) selon les résultats de l'antibiogramme, ont été collectées auprès de laboratoires d'analyses médicales à Skikda et à Tamalous laboratoire el Manar.

Dont huit (08) souches collectées appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et deux (02) souches de *Pseudomonas aeruginosa*, de différentes origines humaines (de pus, urine, coproculture et plaies cutanées).

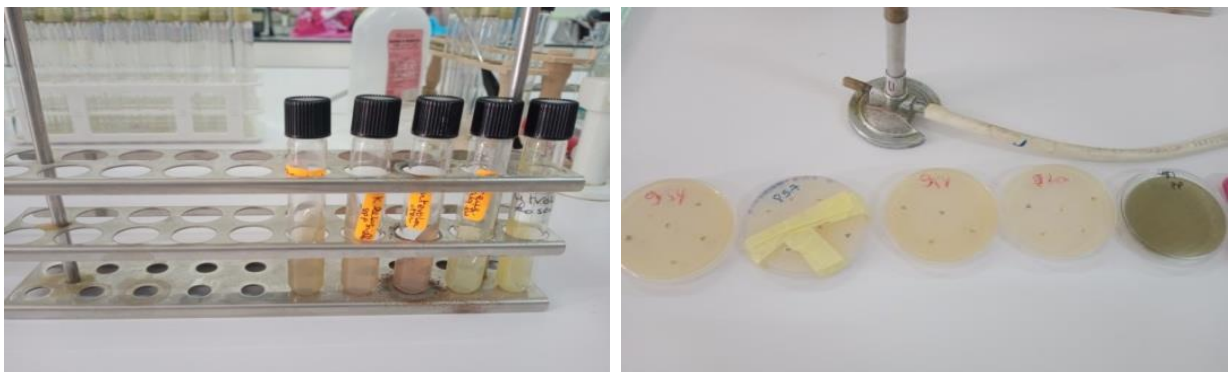


Figure 12 : Souches bactérienne test-objet (Fares et al, 2024)

3. Extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

L'huile essentielle (HE) a été extraite par hydro-distillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger au laboratoire de Botanique de l'E.N.S.E. T. Skikda.

Matériel et méthodes

C'est la méthode la plus employée en industrie pour la production d'HE, la plus simple et la moins couteuse avec une reproductibilité facilement contrôlable



Figure 13 : Montage d'hydro-distillation par Clevenger (Fares et al, 2024)

3.1. Méthodologie

➤ Principe

La méthode la plus simple et la plus ancienne utilisée est l'hydrodistillation (**Mebarki, 2010 ; Abdelli, 2017**). Le processus implique de faire bouillir le mélange d'eau et de plantes pour extraire l'huile essentielle. Les cellules végétales se brisent et dégagent des molécules odorantes, qui sont ensuite emportées par la vapeur d'eau produite. Ces molécules sont ensuite recueillies dans un refroidisseur d'eau où elles se condensent.

➤ Mode opératoire

Introduire 200g de matière végétale (feuilles) dans un ballon avec 1000 ml d'eau distillée (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers pour éviter les débordements au cours de l'ébullition)

- L'ensemble est ensuite porté à ébullition, une fois on atteint l'ébullition, les cellules éclatent et commencent à dégager leurs contenus en huiles essentielles, qui par la suite sont transportées avec la vapeur d'eau jusqu'au réfrigérant ;
- Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter ;
- L'eau et l'huile se séparent par différence de densité.
- L'huile essentielle obtenue sera par la suite récupérée et pesée pour le calcul du rendement.



Figure 14 : Phase de séparation de l'HE par décantation (Fares et al, 2024)

3.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, il est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = [\text{mHE} / \text{mv}] \times 100$$

RHE : Rendement en huile (%)

MHE : Poids de l'huile en (g)

Mv : Poids de la matière sèche de la plante en (g)

3.3. Conservation des huiles essentielles :

La plupart des molécules constitutives des huiles essentielles sont insaturées, ce qui les rend instables et sensibles à l'altération. Selon les conditions de conservation, les essences naturelles peuvent être sujettes à des réactions secondaires telles que : le réarrangement moléculaire, la polymérisation, l'oxydation, la fermentation, l'hydrolyse, etc. (**H. Bouacha, et al.2017**)

L'huile essentielle extraite à partir d'*Eucalyptus globulus* obtenue a donc été conservée à une température voisine de 4°- 6°C, dans un récipient opaque, brun.

3.4. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

Les caractéristiques organoleptiques représentées par l'aspect, la couleur, l'odeur et la saveur de l'huile essentielle de d'*Eucalyptus globulus* ont été notées.

4. Recherche de l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite

L'activité antibactérienne a été réalisée au niveau du Laboratoire de biochimie/microbiologie de l'ENSET –Azzaba-.

Pour rechercher l'activité antibactérienne *in vitro*, nous avons choisi la méthode de diffusion en milieu solide, appelée aromatoگرامme, méthode décrite par (Vincent, 1991), c'est une technique inspirée de l'antibiogramme, disposant des souches bactériennes en présence d'extraits d'huile essentielle. L'effet antibactérien est déterminé en fonction des capacités d'inhibition de la croissance des bactéries par l'huile essentielle extraite.

C'est dans ce contexte qu'on a collecté des souches bactériennes multirésistantes test-objet et incriminées dans différentes infections humaines, dont trois (3) souches d'*Escherichia coli*, une (01) souche de *Klebsiella spp*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter spp*, *Serratia odorifera*, et deux (02) souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

➤ Principe de l'aromatoگرامme

Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques, préalablement sélectionnées et reconnues. L'aromatoگرامme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antibactérienne.

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'huile à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton).

➤ Préparation des pré-cultures

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches bactérienne est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri, et ensuite incubée à 37C° pendant 18 à 24h.

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 24h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Décharger l'anse dans 5 à 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9% Na Cl et bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex, jusqu'à obtenir une opacité équivalente à 0,5Mc. Farland (10^6 - 10^8 UFC/ml).

Matériel et méthodes

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.



Figure 15 : Préparation de l'inoculum (Fares et al, 2024)

➤ Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.

- D'abord on va commencer par le coulement de milieu dans les boîtes pétries à une épaisseur de 4 mm pour la solidification.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne.

- L'essorer en le passant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haute en bas, en stries serrées.

- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figure 16 : Technique d'ensemencement (Fares et al, 2024)

➤ Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, deux disques stériles ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée et séchée, l'un imbibé de 20 μ l d'huile essentielle pure et l'autre est un disque témoin vierge dépourvu de tout extrait.

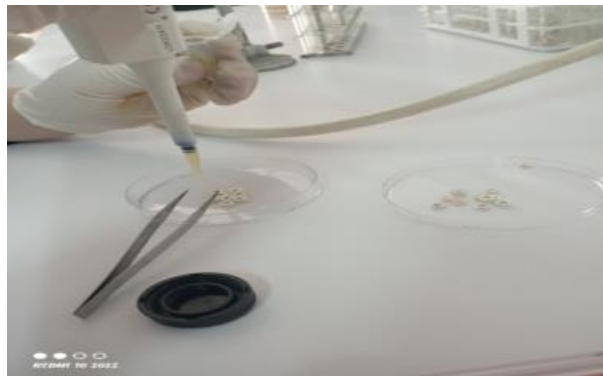


Figure 17 : application des disques inhibés d'HE (Fares et al, 2024)

Incubation

Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 24h.



Figure 18 : Incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve (Fares et al, 2024)

➤ Lecture

L'activité antibactérienne est estimée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés d'HE, à l'aide d'un pied à coulisse. Ce qui classe ainsi les souches bactériennes dans l'une des catégories suivantes selon (Ponce *et al* 2003). Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ; Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ; Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ; Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

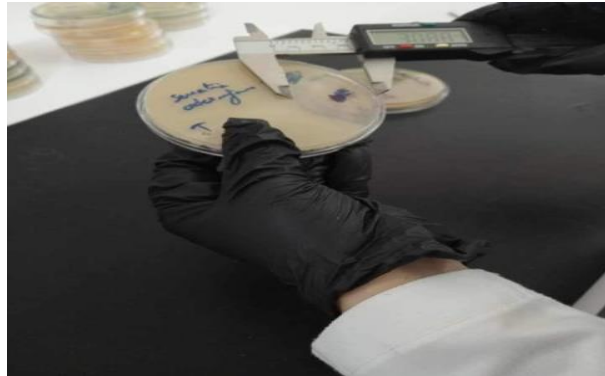


Figure 19 : Mesure des diamètres des zones d'inhibition (Fares et al, 2024)

Résultats et discussion

1. Extraction et rendement en huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par hydrodistillation, a donné un rendement de 0.44%.

En termes de valeurs, le rendement en HE est significativement proche de ceux obtenus par d'autres travaux sur la même espèce récoltée dans certaines régions de l'Algérie et qui sont résumés dans le tableau ci- dessous (Tableau4)

Tableau 04 : Rendements en HE d'*Eucalyptus globulus* dans certaines régions de l'Algérie

Rendements en huile (%)	Région	Travaux
0.93	Constantine	Atmani-Merabet et al, 2018
0.2	Blida	Boukhatem et al, 2014
0.65	Ain Defla	Chiba-Djouaher, 2018
0.51	Ouargla	Kebsi, 2011
0.48	Tizi-Ouzou	Taleb-Toudert, 2015

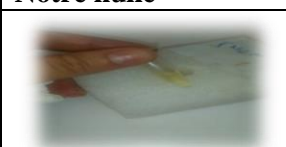
Les rendements en huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* rapportés dans différentes régions de l'Algérie, varient entre 0,2 % et 0.93%. Par ailleurs, notre résultat (0.44%) fait partie de cet intervalle.

Ces variations dans le rendement peuvent être attribuées à plusieurs facteurs en même temps d'une part à la quantité la drogue utilisée, et à une perte d'huile dans la phase aqueuse du distillat (conditions d'hydrodistillation) d'autre part.

2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Caractères Organoleptiques de notre huile essentielle

Notre huile	Aspect	Couleur	Odeur
	Liquide	Jaune clair	Fraiche et épicée

3. Recherche de l'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite

Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des entérobactéries testées varient dans un intervalle compris entre 11 mm et 61 mm. En référence à la classification de Ponce et ses collaborateurs, il ressort que toutes les souches testées sont sensibles à l'huile extraite. (Tableaux 6).

Tableaux 06 : Diamètres des zones d'inhibitions de l'HE d'*Eucalyptus. Globulus*

Groupe bactérien	Souches bactériennes testées	Ø (mm)	Sensibilité
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	44,5 mm	(+++)
	<i>Escherichia coli</i>	43 ,5mm	(+++)
	<i>Escherichia coli</i>	24 ,5 mm	(+++)
	<i>klebsiella spp</i>	36 mm	(+++)
	<i>Proteus mirabilis</i>	19 mm	(++)
	<i>Enterobacter spp</i>	11 mm	(+)
	<i>Citrobacter koseri</i>	61 mm	(+++)
	<i>Serratia odorifera</i>	38,5 mm	(+++)
<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11 mm	(+))
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 mm	

Ø : Diamètres des zones d'inhibition

(+++) : Extrêmement sensible

(++) : Très sensible

(+) : sensible

Le diamètre de zone d'inhibition le plus important est observé pour la souche de *Citrobacter koseri* avec un diamètre de 61 mm pour un volume de 20µL d'HE pur. Ce résultat est encourageant, vu l'incrimination grandissante de cette bactérie dans les infections nosocomiales, urinaires et sur sites opératoires.

Les souches *Pseudomonas aeruginosa* sont les moins sensibles avec des diamètres allant de 10 à 11 mm.

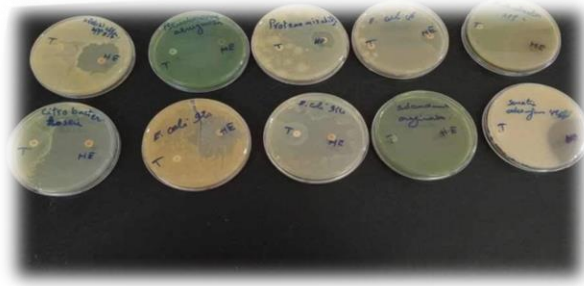


Figure 21 : Sensibilité des souches bactériennes à l'HE testée (Fares et al, 2024)

Nos résultats sont comparables avec ceux obtenus par (D. sabiha, B. leila 2022), dont l'activité de l'huile de la même espèce récoltée dans la région de Constantine, et testée sur des entérobactéries notamment les souches de *Klebsiella* et *E. coli* avec une sensibilité moyenne.

Jusqu'à présent le mode d'action des HEs sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé et il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée précise sur cette activité qui est principalement liée au type et des caractéristiques des composants volatils complexe, cette complexité nous explique que ce mode d'action est assez difficile à cerner du point de vue moléculaire. (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004 ; Guinoiseau, 2010).

L'activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire ; les molécules lipophiles des HEs sont capables de pénétrer et accumuler dans la double couche phospholipidique. L'accumulation entraîne un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire et donc perturbant, ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Par ailleurs, ils peuvent provoquer une perturbation dans le gradient ionique de la membrane cytoplasmique, bloquant la production de l'énergie cellulaire et diminuant la stabilité membranaire.

Les groupements fonctionnels de certains composés des HEs réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique. Certain composé inhiber la décarboxylation des acides aminés et d'autre inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.

Conclusion

Conclusion

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente plusieurs propriétés antibactériennes, ce qui fait d'elle une des solutions que l'on peut proposer pour soulever le défi de l'antibiorésistance.

L'extraction par hydrodistillation des feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltées dans la région de Tamalous de la wilaya de Skikda, a donné un rendement moyen en huile essentielle de 0.44%. Ce rendement est sous l'effet de l'ensemble des conditions climatiques des régions de provenance et les composants génétiques de la plante.

Les propriétés gustatives de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ont démontré que l'huile essentielle présente une apparence liquide transparente, une teinte jaune clair et une odeur intense.

L'effet antibactérien de l'huile extraite a été évalué sur des souches multi résistantes selon leur profil de l'antibiogramme, et incriminées dans différentes infections humaines.

Les souches bactériennes test-objet font partie de la famille des *Enterobacteriaceae* et des *Pseudomonaceae*, se sont montrées sensibles vis-à-vis de l'huile extraite testée, avec des diamètres de zones d'inhibition allant de 11mm à 61mm, ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur toutes les souches testées.

Par ailleurs, son effet important sur les pathogènes, constitue un atout quant à la perspective d'usage de cette substance comme molécule antibactérienne dans l'arsenal thérapeutique. Cependant, les HEs sont des éléments contribuant à la solution des problèmes de résistances et de la limite des synthèses chimiques de produits antimicrobiens. Ainsi, c'est un patrimoine à préserver, à développer et à valoriser, dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

Ce qui ouvre la porte à des perspectives pour développer des préparations d'antibiotiques à base de fraction de l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus*. Il serait intéressant d'éloigner le champ d'application de l'HE d'*E. globulus* sur d'autres souches bactériennes ou fongiques provenant d'autres types d'infection, également, il est indispensable d'effectuer un screening phytochimique pour déterminer les métabolites secondaires actifs de cette plante.

Résumé

Résumé

L'*Eucalyptus globulus*, appartenant à la famille des *Myrtaceae* plante introduite en Algérie et de part le monde, est classé parmi les plantes les plus utilisées comme source d'extraits à qualité médicinale intéressante.

L'extraction par hydro-distillation des parties aériennes a donné un rendement moyen de 0.44%.

L'effet antibactérien de l'huile essentielle extraite a été déterminé 'in vitro' qualitativement sur des souches bactériennes multi-résistantes(BMR) selon les résultats de l'antibiogramme. Par la méthode de l'aromatogramme.

Les souches bactériennes test objet bien que pour *entérobactéries* multirésistantes sont totalement extrêmement sensible à l'huile brute testée, avec des diamètres des zones d'inhibitions variant de [11mm à 61mm]. Alors que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont montrés aussi sensible à l'extrait ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur les souches considérées.

Mots clés : *Eucalyptus globulus* – extraction – huile essentielle – effet antibactérien.

Abstract

Eucalyptus globulus, belonging to the family *Myrtaceae* plant introduced in Algeria and from around the world, is ranked among the most widely used plants as a source of extracts of interesting medicinal quality.

Hydrodistillation extraction of air parts produced an average yield of 0.44%.

The antibacterial effect of the extracted essential oil has been qualitatively determined 'in vitro' on multi-resistant bacterial strains (BMR) according to the results of the antibiogram. By the method of the aromatogram.

The bacterial strains test object although for multi-resistant *enterobacteria* are totally extremely sensitive to the tested crude oil, with inhibition areas diameter ranging from [11mm to 61mm]. While the strains of *Pseudomonas aeruginosa* are also shown to be sensitive to the extract which makes it possible to describe the activity of our oil on the concerned strains as excellent.

Keywords : *Eucalyptus globulus* – extraction – essential oil – antibacterial effect.

ملخص

وتصنف نباتات *Eucalyptus globulus*، التي تنتمي إلى نبتة الأسرة " *Myrtaceae* " التي استحدثت في الجزائر ومن جميع أنحاء العالم، ضمن النباتات الأكثر استخداما كمصدر لاستخراجات ذات نوعية طبية مثيرة للاهتمام.

وننتج عن الاستخراج الهيدروولوجي لأجزاء الهواء عائد متوسط قدره 0.44 في المائة .

وقد تم تحديد الأثر المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخرجة نوعياً " في المختبر " على السلالات البكتيرية المتعددة المقاومة وفقا لنتائج المضاد للأوعية. بواسطة طريقة الأروتماغرام.

ومع أن السلالات البكتيرية تختبر جسماً، على الرغم من أنه بالنسبة للبكتيريا المعوية المتعددة المقاومة، تكون شديدة الحساسية تماما للنفط الخام المختبر، حيث تتراوح مناطق التثبيط بين [11 مم و61 مم]. وفي حين تبين أيضا أن سلالات *Pseudomonas aeruginosa* حساسة للمستخرج الذي يجعل من الممكن وصف نشاط نفطنا على السلالات المعنية بأنه ممتاز .

الكلمات الرئيسية: التأثير المضاد للبكتيريا - *Eucalyptus globulus* الاستخراج - النفط

الأساسي.

Les références bibliographiques

Les références bibliographiques :

1. **Abraham, E. P., Chain, E.** 1940. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, 146(3713), 837.
2. **Adouani, L., Merghadi, I., & Mosbah, C. (2021).** Etude des activités biologiques des extraits et l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.
3. **Ahmad M, Urban C, Mariano N, Bradford PA, Calgani E, Projan JS et coll.** Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 1999;29:352-5.
4. **Anne DR, Pagés JM.** Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*. 2015, 6: 392.
5. **Atmani-Merabet, G. ;Belkhiri, A. ; Dems, A.M.; Khalfaoui, Z.; Lalaouna, A.; Mosbah, B.(2018).** Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of Eucalyptus globulus essential oil from Algeria. *Current issues in pharmacy and medical sciences*, 31(2), 89-93
6. **Avorn JL, Barrett JF, Davey PG, McEwen SA, O'Brien TF, Levy SB.** Organisation mondiale de la santé (OMS). Antibiotic resistance: synthesis of recommendations by expert policy groups: alliance for the prudent use of antibiotics, 2001. http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_CDS_CSR_DRS_2001.10.pdf (site visité le 30 mars 2009).
7. **Avril L, Dabemat H, Denis F, Monteil H.** Bactériologie clinique. 2 EME edition. Marketing. Paris. 2000.
8. **Benameur.** « Etude physico-chimique et pollinique du miel d'Eucalyptus globulus de la région de Tlemcen ». Mémoire de Master. Université de Tlemcen (Algérie), 2014.
9. **Haddouche, L. Kirad.** « Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (Eucalyptus globulus) et le Romarin (Rosmarinus officinalis L) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers ». Mémoire de Master. Université de Ain Defla (Algérie), 2018.
10. **Tlili, H. Bentayeb.** « Etude analytique comparative et caractérisation de l'huile essentielle des différentes parties d'Ocimum basilicum L cultivées sous climat aride ». Mémoire de master, Université de Ouargla (Algérie), 2017.
11. **Barbosa, J.P., Rossini de Oliveira, T., Bragado Puppim, D.G.P., Teixeira, A.L., Cláudia Bey-Ould Si Said, Z., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., Khaled Khoudja, N. et Medani, K. (2016).**

Les références bibliographiques

- Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Industrial Crops and Products*, Vol n°89. Edition Elsevier. P: 167-175
12. **Boni, G., Busato de Feiria, S.N., Buso-Ramos, M.M. et Höfling, F.J. (2019).** *Eucalyptus* spp : *Candida albicans* Antibiofilm Activity. *EC Dental Science*, Vol n°18. P : 824-840.
 13. **Batish D R, Pal Singh H, Kumar Kohli A , Shalinder Kaur S.(2008).** *Eucalyptus* essential oil as a Natural pesticide *Forest Ecology and Management* 256 :2166–2174
 14. **Bajpai, V.K., Shukla, S. et Sharma, A. (2013).** "Essential oils as antimicrobial agents". Chap 132. Dans: Ramawat, K. G. et Mérillon, J. M. (eds). *Natural products*. Edition : Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. P : 3975-3988.
 15. **Blair J.M.A. (2018).** A climate for antibiotic resistance. *Nature Climate Change*, Vol n°8. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. P : 458–461
 16. **Böhme, K., Barros-Velázquez, J., Calo-Mata, P. et Aubourg, S.P. (2014).** "Antibacterial, Antiviral and antifungal activity of essential oils: Mechanisms and Applications". Chap 3. Dans: Villa, T.G. et Veiga-Crespo, P. (eds), *Antimicrobial Compounds*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. P : 51-81.
 17. **Bou G, Martinez-Beltran J.** 2000. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene β -lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* β encoding an AmpC 44, 428-32
 18. **Bouamar A , Bellaghit M , et Mollay A ,**2004 Etude comparative entre huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de ouargla ; mémoire des ourgla : université kasdi marbah, p2-5 ;10 ;19 ;21-22
 19. **BOUANANE N , BOUSSEHEL N ,** cntribution agro écologique aux essais d'introduction de menthe poivrée (menthe piperata L) dans la région de ouargla en vue de l'utilisation des ses huiles essentielles en thérapie : mémoire d'ingénieur . université de ourgla,2005,pp 22-23 ;28.
 20. **Boukhatem, M.N ., Ferhat, M.A ., Kameli, A .,Kerkedi, W ., Sadok Bouziane , M ., Saidi, F (2014) .**Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida(Algeria) origin. *Int Lett of Chem, Phys and Astron (enligne)* , 17(3) : 303-15, 315 P . disponible sur
:file:///C:/Users/samir/Downloads/Quality_assessment_of_the_essential.pdf
 21. **Boulahbal F. (2002).** *Microbiologie S1 clinique*. Office des publications universitaires. Alger. P : 126-145 ,150 -166, 167-173.

Les références bibliographiques

22. **Boulahbal F. (2009).**Manuel de Microbiologie à l'usage des étudiants en 3 années de Médecines. Edition : 1.04.5042 Office des Publications Universitaires 10-2009 .P 91.
23. **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J. et Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Lavoisier SAS. Doi : <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1118-z>
24. **Bruneton. J (1999)** : Pharmacognosie Photochimie plantes médicinales. Édition Lavoisier Technique & Documentation, Paris.)
25. **Burt S.,(2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253
26. **B.Doublet et al.(2012).**Antibiorésistance et les flux de gènes. Innovations Agronomiques 24 79-90.Disponible sur : <https://www6.inra.fr/ciag/content/download/3807/.../Vol24-6- Doublet.pdf>
27. **Cermelli, C., Fabio, A., Fabio, G. et Quaglio, P. (2007).** Effect of Eucalyptus Essential Oil on Respiratory Bacteria and Viruses. Curr Microbial. Vol n° 56. Edition Springer. P : 89–92
28. **Chen LF, Chopra T, Kaye K. 2009.** Pathogens resistant to antibacterial agents. Infect Dis Clin N Am. 23, 817–45.
29. **Chiba, S.;Djouaher, F.(2018).**Activité antibactérienne, anti oxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'Eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
30. **Coffre, C. (2018).** Les huiles essentielles dans la prise en charge de l'herpès labial. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Picardie Jules Verne, soutenue le : 26 juin 2018.
31. **Coppen, J. J. W. (2002).** Eucalyptus: The Genus Eucalyptus (Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles). In Journal of Chemical Information and Modeling
32. **Courvalin, P. 2007.** La résistance des bactéries aux antibiotiques combinaisons de mécanismes bichimiques et génétiques. Bull. Acad. Vét. 161:1, 7-11.
33. **Daroui-Mokaddem H. (2012).** Etude phytochimique et biologique des especes Eucalyptusglobulus (Myrtaceae), Smyrnum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et chrysanthemum trifurcatum (asterarceae).Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée.Universite Badji Mokhtar-Annaba.P8,14, 28

Les références bibliographiques

34. **Decré, D. 2012.** Acinetobacter baumannii et résistance aux antibiotiques: Un modèle d'adaptation. Revue Francophone des Laboratoires, 441, 43-52.
35. **De Mouy D, Cavallo ID, Fabre R, GarraM E, Armengaud A** et les membres de l'AFORCOPIBIO. 1996. Les entérobactéries isolées d'infections urinaires en pratique de ville : Etude AFORCOPIBIO. Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse. 398-422
36. **Di Pasqua, R., Betts, G., Hoskins, N., Edwards, M., Ercolini, D. et Mauriello, G. (2007).** Membrane Toxicity of Antimicrobial Compounds from Essential Oils. Vol n °55. Journal of Agriculture and Food Chemistry. P :4863-4870.
37. **FAO 1982.** « Les eucalyptus dans les reboisements ». Collection FAO : Forêts N.1, 92- 5-200570-6, 1954.
38. **F. Rahmane, A. Bentboula.** « Comparaison des maladies de deux espèces d'Eucalyptus (Eucalyptus camaldulensis et Eucalyptus globulus) dans la région de Medjez Amar (Guelma) ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), 2016
39. **Ghalem, B.R. et Benali, M. (2008).** Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis. Vol n°2. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. P: 211-215
40. **Graham DR, Correa-Villasenor A, Anderson RL, Vollman JH, Baine WB.** Epidemic neonatal gentamicin-methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection associated with nonspecific topical use of gentamicin. J Pediatr 1980;97:972-8.
41. **Godreuil, S., Torrea, G., Terru, D., Chevenet, F., Diabougou, S., Supply, P., Banuls, A. L. 2007.** First molecular epidemiology study of Mycobacterium tuberculosis in Burkina Faso. Journal of clinical microbiology, 45 :3, 921-927.
42. **Goldstein FW** and the multicenter study group. 1997. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract infections in the community: results of a multicenter study. Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse 387IP24
43. **Guillot, M., Eckart, P., Desrosières, H., Brouard, J. 2000.** Macrolides et infection à Pseudomonas aeruginosa. Archives de pédiatrie, 7, S523-S530.
44. **Guinoiseau E., (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse.
45. **Hamouche, E., & Sarkis, D. K. 2012.** Évolution de la sensibilité aux antibiotiques de Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter

Les références bibliographiques

- baumanii dans un CHU de Beyrouth entre 2005 et 2009. Pathologie Biologie, 60:3, 15-20.
46. **Hayat, U., Jilani, M.I, Rehman, R. et Nadeem, F. (2015).** A Review on Eucalyptus globulus: A New Perspective in Therapeutics. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences, Vol n°8. International Scientific Organization. P :85-91
47. **Helander, I. K.; Alakomi, H. L.; Latva-Kala, K.; Mattila- Sandholm, T.; Pol, I.; Smid, E. J.; von Wright, A.** 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram- negative bacteria. J. Agric. Food Chem. 46, 3590-3595
48. **H. Bouacha, N. Khafrabi, D. Seghairia.** « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre Candida albicans ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), 2017. **AbdelliW., (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperusphoenicea et de Thymus vulgaris. Thèse dedoctorat3ième cycle LMD : Microbiologie Appliquée : Université Abdelhamid IbnBadis Mostaganem,104p
49. **Kalemba D., Kunicka A., (2003).**Antibacterial and antifungal properties of essentialoils. Curr. Med. Chem. 10: 813-829.
50. **Kebsi A , 2011.** Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huilles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de ourgla. Mémoire de master en génie des procédés . ourgla :université kasdi marbah ; 44p .
51. **Levy, S. B., McMurry, L.** 1978. Plasmid-determined tetracycline resistance involves new transport systems for tetracycline.
52. **LoppeD, 2008.PROTA:** ressources végétale de l'afrique tropicale. Backhuys publishers, wageningen, pays-bas (site web : [http //www .prota4u .org](http://www.prota4u.org))
53. **Lozniewski, A., Rabaud, C. 2010.** Résistance bactérienne aux antibiotiques. Disponible en ligne sur: http://cclin-sudest.chu-lyon.fr/Doc_Reco/guides/FCPRI/IAS/IAS_ResistanceAntibiotiques.pdf.
54. **Magnet S, Courvalin P, Lambert T.** 2001. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in Acinetobacter baumannii strain BM4454. Antimicrob Agents Chemother .45, 557-62.
55. **Mammeri H. (2013).** Mode d'action des antibiotiques. Service de bactériologie, CHU Amiens.P : 2.
56. **MartinettiP., 2013.MON GUIDE** des huiles essentielles. Éditions FernandLanore ,Paris,France

Les références bibliographiques

57. **Mebarki N., (2010).** Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse –antimicrobienne. [En ligne]. Magister : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques Boumerdes: Université M'hamed Bougara Boumerdes, 137
58. **Mesaros, N., Glupczynski, Y., Avrain, L., Caceres, N. E., Tulkens, P. M., Van Bambeke, F.** 2007. A combined phenotypic and genotypic method for the detection of Mex efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 59:3, 378-386.
59. **Mehdi. S .(2008).** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassan II de Settat .THESE.[en ligne] .Pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. RABAT : UNIVERSITE MOHAMMED V FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE, 48-51p.
60. **Meziani M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des Entérobactéries et *Pseudomonas* .Mémoire de Magister .Université Mentori.Constantine P : 30 ,32 *Microbial. Infect.* 10:12-13.
61. **Moghaddam, M. et Mehdizadeh, L. (2016).** "Essential Oil and Antifungal Therapy". Basak, A. et al. (eds.). *Recent Trends in Antifungal Agents and Antifungal Therapy*. Springer India. P : 29-74
62. **Morley PS, Apley MD, Besser TE, Burney DP, Fedorka-Cray PJ, Papich MG et coll.** Antimicrobial drug use in veterinary medicine. *J Vet Intern Med* 2005;19:617-29.
63. **Morley PS, Diouri A.** Antibiorésistance et consommation de viande. *Reviews in Biology and Biotechnology* 2004;3:2-15
64. **Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S. Reichling, J. et Wink, M. (2010).** Synergistic properties of the terpenoids aromadendrene and 1,8-cineole from the essential oil of *Eucalyptus globulus* against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant pathogens. *Phytomedicine*, Vol n°17. Edition Elsevier. P : 1061-1066.
65. **Mulvey MR, Simor AE.** 2009. Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? *Can Med Ass J.* 180 (4).
66. **Murthy R.** Implementation of strategies to control antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119(suppl 2):405-11
67. **M. Lamara.** « Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L) Parl et de *Filipendula hexapetala* Gibb ». Mémoire de Magister. Université de Sétif (Algérie).

Les références bibliographiques

68. **Neilands, J. B.** 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270:45, 26723-26726
69. **Nemec A, Dolzani L, Brisse S, et al.** 2004. Diversity of aminoglycoside resistance genes and their association with class 1 integrons among strains of pan-European *Acinetobacter baumannii* clones. *J Med Microbiol.* 53, 1233-40
70. **Nguyen Van JC, Collet L, Chardon H, Jarlier V, Poyart-Salmeron C, Sirot D.** 1994. Etude de la sensibilité à l'Augmentin de 998 souches d'*Escherichia coli* isolées en 1992 dans quatre centres hospitaliers français (étude Colicerib I). *Méd Mal Infect.* 24 : 765-73
71. **Opdyke D.L.J.** (2002). *Eucalyptus oil* . P107*
72. **Osaro-Matthew, R.C., Azubike-Izah, F.O. et Ofoegbulam, A.H.** (2016). Characterization and In vitro antifungal potential of *Rosmarinus officinalis* and *Eucalyptus globules* essential oils on phytopathogen *Colletotrichum* sp. *World Journal of Microbiology WJM*, Vol n°3. P : 38-42.
73. **Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M. et Fiedurek, J.** (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, Vol n°55. P : 315-327.
74. **Pauline Erau.**(2019). *L'Eucalyptus : botanique , composition chimique , utilisation thérapeutique et conseil a l'Officine*. these de DOCTEUR EN PHARMACIE. LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE pp 40-77.
75. **Pereira S., Freire S.R.C.; Neto P., Silvestre J. D.,and Silva M.S.A.**(2005). Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal. *Flavour and fragrance journal flavour fragr. J.* 2005; 20: 407-409
76. **Prescott W., Harley S. et Klein W.** (2010). *Microbiologie*. 3eme édition. deboek. Bruxelles P : 843, 845.
77. **Ponce A.G., Fritz R.,DelvalleC., Roura S.I.,** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft and Technologic* 36:679-684
78. **P. Erau.** « L'Eucalyptus : Botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine ». Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie de Marseille (France), 2019.
79. **Rabarijaona, L., Boisier, P., Ratsirahonana, O., Razafinimanana, J., Rakotomanana, F., Ratsitorahina, M., Aurégan, G.** 1999. Replacement of

Les références bibliographiques

- streptomycin by ethambutol in the intensive phase of tuberculosis treatment: no effect on compliance. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 3:1, 42-46.
80. **Ribeiro, M. et Simões, M. (2019)**. "Antimicrobial Activity of Essential Oils". Dans : Goldfine, H. (ed.). *Health Consequences of Microbial Interactions with Hydrocarbons, Oils, and Lipids*. Edition Springer Nature, Switzerland. P: 1-22.
81. **Rybak MJ**. Resistance to antimicrobial agents: an update. *Pharmacotherapy* 2004 ;24(suppl 12) :203-15.
82. **Saad, N.Y., Muller, C.D. et Lobstein, A. (2013)**. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance journal* Vol n°28. Wiley. P: 269-279.
83. **Simonsen GS, Tapsall JW, Allegranzi B, Talbot EA, Lazzari S**. The antimicrobial resistance containment and surveillance approach – a public health tool. *Bulletin of World Health Organization* 2004; 82:928-34.
84. **Song A., Wang Y., Liu Y. (2009)**. Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4 (4) PP
85. **Stapleton P, Wu PJ, King A, Shannon K, French G, Phillips I**. 1995. Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxicillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemotherapy*. 39 : 2478-83
86. **Stephanie.F. (2009)**. Transfert d'un gene de resistance aux bêta-lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les enterobacteries de la ore intestinale humaine : inuence d'un traitement antibiotique. Medication. Universite Rennes 1. French
87. **Swamy, M.K., Akhtar, M.S. et Sinniah, U.R. (2016)**. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol n°2016. Hindawi. P : 1-21.
88. **S. Baid**. « Etude de l'effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivé au Maroc par ACP ». Mémoire de Master. Université de Fès (Maroc), 2018
89. **Taleb-Toudert, K. (2015)**. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleotear : Bruchidae). Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie

Les références bibliographiques

90. **Tyagi A., Malik A.** Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry* 126 (2011) 228–235
91. **Usachev, E.V., Pyankov, O.V., Usacheva, O.V. et Agranovski, I.E. (2013).** Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour. *Journal of Aerosol Science*, Vol n°59. Edition Elsevier. P: 22-30.
92. **Vilela, G.R., de Almeida, G.S., Regitano D'Arce, M.A.B., Duarte Moraes, M.H., Brito, J.O., das G.F. da Silva, M.F., Silva, S.C., de Stefano Piedade, S.M., Calori-Domingues, M.A. et da Gloria, E.M. (2008).** Activity of essential oil and its major compound, 1,8- cineole, from Eucalyptus globulus Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*, Vol n°45. Edition Elsevier. P: 108-111
93. **Vu-Thien, H.** 1998. Sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les infections urinaires en pédiatrie. *Archives de pédiatrie*, 5, 266S-268S.
94. **Weber P, Scotto M, Plaisance JJ, Mancy C, Chouteau J. Chef F.** 1995. Activités in vitro de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline acide clavulanique vis-à-vis d'*Escherichia coli* en médecine de ville. *Md Mal Infect.* 25, 593-R
95. **Wong-Paz, J.E., Muñoz-Márquez, D.B., Aguilar-Zárate, P., Ascacio-Valdés, J.A., Cruz, K., Reyes-Luna, C., Rodríguez, R. et Aguilar, C.N. (2017).** "Extraction of Bioactive Phenolic Compounds by Alternative Technologies". Chap 5. Dans: Grumezescu, A.M et Holban, A.M. (eds). *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*. Première édition. Vol n°4. Edition Elsevier. P : 523-638.
96. **Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C. et Lim, S.H.E. (2014).** Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. *The Open Microbiology Journal*, Vol n°8. Bentham. P : 6-14.
97. **Zaffiri, L., Gardner, J. et Toledo-Pereyra, L.H. (2012).** History of Antibiotics. From Salvarsan to Cephalosporins. *Journal of Investigative Surgery*, Vol n°25. Informa healthcare. P: 67-77
98. Site Web (1) <https://guide-huile-essentielle.com/huile-essentielle-eucalyptus-bienfaits>.
99. Site Web (2) <https://www.achat-vente-palmiers.com/fr/eucalyptus/2979-eucalyptus-globulus.html>
100. Site Web (3) <https://www.aujardin.info/plantes/eucalyptus-globulus.php>
101. Site Web (4) <https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie>

Les références bibliographiques

102. Site Web (5) <http://www.technoscience.net/?onglet=glossaire&definition=1039>

(Consulter le 03/03/2016 à 10 :15h)

103. Site Web (7) <http://lesantibiotiques->

lapenicilline.emonsite.com/pages/iilefonctionnement.html (Consulter le 04/04/2016 à

13:30 h).

104. Site Web (6) <http://www.123bio.net/cours/antibio/modeaction.html>(Consulter le

04/04/2016 à 13:05h)