



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement

Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

---

## Apport de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans le phénomène de la résistance aux antibiotiques

---

Présenté et soutenu par : **BELKHIRI Meïssa**

Le : 28/06/2020

**LANANE Anfel**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** **Mme. MIHOUBI I.** (Professeure – UFM Constantine)

**Examineur :** **Mme. OULMI L.** (MCB – UFM Constantine)

**Rapporteur :** **Mme. ALATOU R.** (MCA – UFM Constantine)

**Co-Rapporteur :** **Mr. DALIA F.** (MA– Salah Boubnider–UC3)

Année Universitaire  
2019 – 2020



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et Environnement  
Spécialité : Ecologie Microbienne

Intitulé :

---

## Apport de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans le phénomène de la résistance aux antibiotiques

---

Présenté et soutenu par : **BELKHIRI Meïssa**

Le : 28/06/2020

**LANANE Anfel**

**Jury d'évaluation :**

<b>Président du jury :</b>	<b>Mme. MIHOUBI I.</b>	(Professeure – UFM Constantine)
<b>Examineur :</b>	<b>Mme. OULMI L.</b>	(MCB – UFM Constantine)
<b>Rapporteur :</b>	<b>Mme. ALATOU R.</b>	(MCA – UFM Constantine)
<b>Co-Rapporteur :</b>	<b>Mr. DALIA F.</b>	(MA– Salah Boubnider–UC3)

Année Universitaire  
2019 – 2020



# Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à la bienveillance de plusieurs personnes à qui nous témoignons toute notre reconnaissance.

À Mme. Mihoubi Ilhem, (Professeure à l'université des frères Mentouri Constantine 1) d'avoir accepté de présider le jury jugeant ce travail.

À, Mme. Oulmi lamia, (Maîtres de conférences, classe B à l'université des frères Mentouri Constantine 1) l'examinatrice de ce mémoire.

À Mme. Alatou Radia (Maître de conférences, classe A à l'université des frères Mentouri Constantine 1) d'avoir accepté de nous encadrer. Merci pour son dynamisme, son aide considérable et tout le temps qu'elle nous a accordé.

À notre co-encadreur, Dr. Dalia Farid (Pharmacien, maître assistant en pharmacognosie à l'université Saleh Bounider Constantine 3) d'avoir encadré une partie de ce travail. Qu'il puisse trouver ici, toute notre gratitude et reconnaissance pour son expertise, sa sympathie et ses précieux conseils.

# Dédicaces

Nous dédions ce modeste travail à tous ceux qui nous ont enseigné durant toutes ces années. Particulièrement aux Pr. Kitouni, Pr. Benhizia et Dr. Oulmi, qui nous ont encouragés tout au long de notre parcours en Microbiologie.

À nos parents

À nos familles

À nos amis

## Listes des figures

<b>Figure 1</b>	Mécanismes de transfert génétique horizontal	8
<b>Figure 2</b>	Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques	9
<b>Figure 3</b>	Structures sécrétrices	17
<b>Figure 4</b>	Principe et montage de l'appareil à entraînement par vapeur d'eau	20
<b>Figure 5</b>	Principe et montage du Clevenger	21
<b>Figure 6</b>	Machine à expression à froid	22
<b>Figure 7</b>	Illustration des feuilles, fleurs, fruits, tige d' <i>Eucalyptus globulus</i>	28
<b>Figure 8</b>	Utilisation et propriétés thérapeutiques de l'HE d' <i>E. globulus</i>	29
<b>Figure 9</b>	Structures chimiques des composants majoritaires de l'HE d' <i>E. globulus</i>	30
<b>Figure 10</b>	Schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne	32
<b>Figure 11</b>	Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques	33
<b>Figure 12</b>	Lieu de récolte des rameaux de l' <i>E. globulus</i>	37
<b>Figure 13</b>	Étude macroscopique des feuilles, fleurs et fruits d' <i>E. globulus</i>	38
<b>Figure 14</b>	Réalisation des coupes des feuilles d' <i>E. globulus</i> et leur coloration	39
<b>Figure 15</b>	Étude microscopique de la poudre d' <i>E. globulus</i>	40
<b>Figure 16</b>	Extraction de l'HE d' <i>E. globulus</i> par Hydrodistillation	41
<b>Figure 17</b>	Étapes de la Chromatographie sur couche mince d' <i>E. globulus</i>	42
<b>Figure 18</b>	Observation microscopique de la CT d'une feuille d' <i>E. globulus</i>	46
<b>Figure 19</b>	Observation microscopique de la poudre d' <i>E. globulus</i>	47
<b>Figure 20</b>	Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'HE d' <i>E. globulus</i>	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b>	Principales familles d'antibiotiques et leur mécanisme d'action	5
<b>Tableau 2</b>	Quelques alternatives à l'antibiothérapie	14
<b>Tableau 3</b>	Taxonomie de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i> selon la nomenclature classique	28
<b>Tableau 4</b>	Caractères organoleptiques des feuilles d' <i>E. globulus</i>	44
<b>Tableau 5</b>	Caractères macroscopiques des feuilles d' <i>E. globulus</i>	44
<b>Tableau 6</b>	Rendement de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> obtenue	48

## Liste des abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ARNr</b>	Acide ribonucléique ribosomique
<b>ARNt</b>	Acide ribosomique de transfert
<b>ATBs</b>	Antibiotiques
<b>ATP</b>	Adénosine triphosphate
<b>BMR</b>	Bactérie multirésistante
<b>BMRs</b>	Bactéries multirésistantes
<b>CPG-MS</b>	Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse
<b>E<sub>HE</sub></b>	Huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> témoin
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>HEs</b>	Huiles essentielles
<b>MDR</b>	Multidrug resistance
<b>PH. EUR</b>	Pharmacopée Européenne
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>R<sub>f</sub></b>	Rapport final
<b>RPP</b>	Protéines protectrices de ribosomes
<b>VS</b>	Vanilline-acide sulfurique
<b>T<sub>HE</sub></b>	Huile essentielle à analyser

## Table des Matières

Résumé	i
Abstract	ii
ملخص	iii
<b>Introduction</b>	<b>1</b>

## Synthèse Bibliographique

### *Chapitre 1 : Résistance aux antibiotiques*

1. Antibiotiques	5
1.1. Définition	5
1.2. Classification des antibiotiques et mode d'action	5
2. Résistance aux antibiotiques	6
2.1. Définition	6
2.2. Types de résistance	6
2.2.1. Résistance naturelle	7
2.2.2. Résistance acquise	7
2.2.3. Résistance croisée	9
2.2.4. Multirésistance	9
2.3. Mécanismes de l'antibiorésistance	9
2.3.1. Diminution de la perméabilité à l'antibiotique	10
2.3.2. Pompes à Efflux	10
2.3.3. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	11
2.3.4. Modification de la cible	11
2.3.5. Protection de la cible	11

3.	Résistance aux antibiotiques dans le monde et en Algérie	12
4.	Causes et stratégies de lutte contre l'antibiorésistance	12
5.	Alternatives à l'antibiothérapie	13

## *Chapitre 2 : Généralités sur les huiles essentielles*

1.	Définition	17
2.	Répartition et localisation	17
3.	Fonctions écologiques	18
4.	Propriétés physico-chimiques	18
5.	Composition chimique	18
5.1.	Terpénoïdes	18
5.2.	Composés aromatiques	19
5.3.	Les terpénoïdes	19
6.	Obtention des HEs	19
6.1.	Entrainement à la vapeur	19
6.2.	Hydrodistillation	20
6.3.	Expression à froid	21
6.4.	Autres procédés	22
7.	Variabilité des HEs et notion de chimiotype	22
8.	Conservation	23
9.	Mode d'emploi des HEs	23
9.1.	Voie olfactive	23
9.1.1.	Diffusion atmosphérique	23
9.2.2.	Inhalation	23

9.2. Voie cutanée	24
9.3. Voie orale	24
9.4. Voie rectale	24
10. Huiles essentielles et résistance aux antibiotiques	24

### ***Chapitre 3 : Eucalyptus globulus***

1. Généralités sur <i>Eucalyptus globulus</i>	27
1.1. Origine et historique	27
1.2. Description botanique	27
1.3. Classification	28
2. HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	29
2.1. Utilisation et propriétés thérapeutiques	29
2.2. Composition	30
2.3. Activités biologiques de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	30
2.3.1. Propriétés antioxydantes	30
2.3.2. Propriétés antifongiques	31
2.3.3. Propriétés antibactériennes	31
2.3.4. Propriétés antivirales	34
2.4. Toxicologie de l'HE de L' <i>Eucalyptus globulus</i>	34

### **Méthodes et Matériel**

1. Déroulement de l'étude	37
2. Localisation et récolte du matériel végétal	37
3. Caractérisations pharmacognosiques	38
2.1. Examen organoleptique	38

2.2. Examen macroscopique	38
2.3. Examen microscopique	39
2.3.1. Examen des coupes histologiques	39
2.3.2. Examen de la poudre	40
3. Extraction de l'huile essentielle	40
4. Calcul du rendement	41
5. Chromatographie sur couche mince	42

### ***Résultats et Discussion***

1. Caractérisations pharmacognosiques	44
1.1. Examen des caractères organoleptiques	44
1.2. Examen des caractères macroscopiques	44
1.3. Examen des caractères microscopiques	45
1.3.1. Coupes histologiques	45
1.3.2. Poudre	46
1.4. Rendement de l'HE	48
1.5. Chromatographie sur couche mince	48

<b>Conclusion et perspectives</b>	47
-----------------------------------	----

<b>Références</b>	49
-------------------	----

## Résumé

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées aux huiles essentielles et plus particulièrement, à l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* et son potentiel dans le traitement des infections aux bactéries multirésistantes. L'objectif ultime était l'évaluation du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis de souches bactériennes multirésistantes isolées de patients souffrants d'infections de la sphère ORL. Pour ce faire, le matériel végétal récolté a subi une analyse botanique, suivie d'un essai chromatographique de l'huile essentielle, obtenue à l'issue de l'hydrodistillation des feuilles. La caractérisation pharmacognosique a confirmé l'identité du matériel végétal, comme faisant partie de l'espèce *Eucalyptus globulus*. La teneur en huile essentielle obtenue est de 19,5 ml/ kg, valeur supérieure à celle fixée par la pharmacopée européenne. L'évaluation du pouvoir antibactérien fera l'objet d'une étude ultérieure.

**Mots clés :** résistance aux antibiotiques ; huile essentielle ; *Eucalyptus globulus* ; alternatives des antibiotiques.

## Abstract

In this work, we were interested in essential oils and more particularly, *Eucalyptus globulus* essential oil and its potential in the treatment of infections caused by multi-drug bacteria. The ultimate objective was to evaluate the antibacterial effect of *Eucalyptus globulus* essential oil against multidrug-resistant bacterial strains isolated from patients suffering from oral and respiratory (ENT) infections. The plant material underwent a botanical analysis, followed by an extraction of its essential oil and a chromatographic test of the latter. The pharmacognosic characterization of the plant material confirmed the identity of the plant material as part of the species of *Eucalyptus globulus*. The essential oil contained in the leaves is 19.5 ml / kg, which is higher than the value set by the European pharmacopoeia. The evaluation of the essential oil antibacterial properties will be done in a further study.

**Key words:** antibiotic resistance; essential oil; *Eucalyptus globulus*; antibiotic alternatives.

## ملخص

في هذا العمل، اهتمنا بالزيوت الأساسية و خاصة الزيت الأساسي ل *Eucalyptus globulus* و إمكانية استعماله في علاج الالتهابات التي تسببها البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية. الهدف النهائي المسطر هو تقييم التأثير المضاد للبكتيريا التي يمارسه الزيت الأساسي ل *Eucalyptus globulus* ضد السلالات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة من المرضى الذين يعانون من التهابات الأنف والأذن والحنجرة. من أجل ذلك، خضعت المادة النباتية المحصودة لتحليل نباتي ، متبوعاً باختبار كروماتوغرافي لزيتها الأساسي. المحصل عليه بعد التقطير المائي للأوراق. أكدت هذه التحاليل هوية المادة النباتية كجزء من نوع *Eucalyptus globulus*. محتوى الزيت العطري الذي تم الحصول عليه هو 19.5 مل / كجم ، وهي قيمة أعلى من تلك التي حددتها دستور الأدوية الأوروبي. تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيوت سيقام في دراسة قادمة.

**الكلمات المفتاحية:** مقاومة المضادات الحيوية؛ زيت أساسي؛ *Eucalyptus globulus* ؛ بدائل للمضادات الحيوية.

# *Introduction*

La découverte des antibiotiques au début du XX<sup>ème</sup> siècle a révolutionné l'arsenal thérapeutique. Ces antibiotiques ont permis, non seulement, le traitement des maladies les plus mortelles de l'époque, telles que la tuberculose, la diphtérie, la pneumonie ou encore la syphilis, mais ont aussi, affecté positivement la santé de la population en augmentant l'espérance de vie (Zaffiri *et al.*, 2012).

Toutefois, l'usage excessif et inadéquat de ces médicaments a favorisé l'émergence de bactéries immunisées contre presque tout antibiotique. Actuellement, les infections aux bactéries multirésistantes tuent environ 700000 personnes dans le monde chaque année et couteront la vie à 10 millions d'autres, annuellement, d'ici 2050 si rien n'est envisagé (Blair, 2018).

Cette menace a stimulé la recherche de nouvelles sources d'agents antimicrobiens, notamment d'origine naturelle. Dans ce contexte, les huiles essentielles pourraient constituer une alternative pertinente en raison de leur composition complexe, qui leur confère la capacité d'agir à la fois sur une ou plusieurs cibles cellulaires bactériennes (Ribeiro et Simões, 2019). D'ailleurs, cette même nature complexe contribue à réduire la probabilité d'apparition de résistance de la part des bactéries (Yap *et al.*, 2014). De même, de multiples études *in vitro* ont démontré que les huiles essentielles possédaient des propriétés antibactériennes aux mécanismes originaux, comme c'est le cas de l'huile essentielle obtenue des feuilles de l'*Eucalyptus globulus* (Bajpai *et al.*, 2013 ; Saad *et al.*, 2013 ; Böhme *et al.*, 2014 ; Bouyahya *et al.*, 2017 ; Ribeiro et Simões, 2019).

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 multirésistantes (Mulyaningsih *et al.*, 2010).

L'objectif ultime de cette étude était d'évaluer le potentiel antibactérien de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des feuilles de *Eucalyptus globulus* sur des souches bactériennes cliniques multirésistantes prélevées sur des patients présentant des signes d'infection bactérienne ORL. Pour ce faire, les objectifs secondaires consistaient en :

- La récolte, l'extraction de l'huile essentielle et les caractérisations pharmacognosiques du matériel d'étude.
- L'évaluation *in vitro* du potentiel antibactérien de l'huile essentielle.

Dû à l'épidémie COVID-19, le travail pratique s'est restreint en la première étape. Dès lors, ce mémoire vise à faire mieux connaître l'*Eucalyptus globulus*, son huile essentielle ainsi que le potentiel antibactérien de cette dernière.

Le manuscrit est partagé en deux parties. La partie bibliographique aborde en premier lieu, le phénomène de résistance aux antibiotiques, en second lieu, des généralités sur les huiles essentielles, suivi d'un aperçu sur l'*Eucalyptus globulus* et son huile essentielle. Quant à la partie pratique, elle regroupera les manipulations réalisées dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne *in vitro* de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur des souches multirésistantes de la sphère ORL.

# *Synthèse bibliographique*

# *Chapitre 1*

## *Résistance aux antibiotiques*

## 1. Antibiotiques

Découverte le 3 septembre 1928 par le biologiste écossais Alexandre Fleming, la Pénicilline marqua le début de l'ère des antibiotiques. Dès lors, les découvertes se sont succédées et ainsi, la période de 1950 à 1970 devint l'âge d'or des antibiotiques. Néanmoins, depuis 1980, aucune nouvelle classe majeure n'a vu le jour (Aminov, 2010).

### 1.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par les microorganismes, notamment des champignons et des bactéries, pour inhiber (effet germistatique) ou arrêter (effet germicide) la croissance d'autres organismes spécifiques, selon des mécanismes bien déterminés. La plupart des antibiotiques résultent du métabolisme secondaire des microorganismes tandis que d'autres, sont synthétiques ou semi-synthétiques (Amils, 2015; Mangin, 2016).

### 1.2. Classification des antibiotiques et mode d'action

On peut regrouper les antibiotiques en familles selon plusieurs critères, parmi lesquels : la nature chimique, la structure moléculaire, le mode d'action et le spectre d'action (Etebu et Arikekpar, 2016). Les principales familles selon la structure moléculaire sont représentées dans le tableau (1) ci-dessous :

Tableau 1: Principales familles d'antibiotiques et leur mécanisme d'action (Barna et Williams, 1984 ; Reynolds, 1989 ; Etebu et Arikekpar, 2016 ; Sumanta, 2017).

Classe	Exemple	Mécanisme d'action
Bêta-lactamines	Pénicillines Céphalosporines Monobactames	Interfèrent avec la production des protéines essentielles à la synthèse de la paroi cellulaire bactérienne.
Macrolides	Erythromycine Azithromycine Clarithromycine	Inhibent la synthèse des protéines, en s'adhérant au ribosome et empêchent l'addition des acides aminés à la chaîne peptidique.
Tétracyclines	Tétracyclines Oxytétracycline Déméclocycline	Perturbent l'addition des acides aminés à la chaîne peptidique au cours de la synthèse des protéines bactérienne.

Tableau 1 (Suite) : Principales familles d'antibiotiques et leur mécanisme d'action.

Classe	Exemple	Mécanisme d'action
Quinolones	Cinoxacine Norfloxacin Ofloxacin	Interfèrent dans la réplication et la transcription de l'ADN bactérien.
Sulfonamides	Sulfapyridine Sulfadiazine Sulfanilamide	Inhibent par compétition l'enzyme Dihydropteroate synthétase et empêchent la synthèse de l'acide folique.
Oxazolidinones	Linézolide	Inhibent la synthèse des protéines en se liant au site P de la sous-unité 50S du ribosome.
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Inhibent la synthèse de la paroi cellulaire de la bactérie.

## 2. Résistance aux antibiotiques

### 2.1. Définition

La résistance aux antibiotiques ou antibiorésistance peut être définie suivant différentes approches. Selon un point de vue microbiologique, une souche désignée « résistante » se cultive en présence de concentrations plus élevées en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (Muylaert et Mainil, 2012). Alors que d'un point de vue clinique, une souche est résistante quand elle survit à la thérapie antibiotique mise en place. Ce qui signifie, l'échec de l'antibiothérapie (Weiss, 2002).

Dans ce travail, nous nous limiterons à la résistance des bactéries aux antibiotiques. Alors qu'en réalité, ce terme englobe la résistance des différents microorganismes : bactéries, champignons, virus et autres parasites.

### 2.2. Types de résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques a deux origines essentielles : naturelle et acquise.

### 2.2.1. Résistante naturelle

C'est une résistance intrinsèque, fréquemment rencontrée chez une certaine population bactérienne (espèce, genre, famille, etc.) et régit par des gènes spécifiques (Bouyahya *et al.*, 2017). Elle se traduit par une caractéristique fonctionnelle ou structurelle conférant une certaine tolérance ou une insensibilité envers une molécule spécifique ou une classe d'antibiotique particulière. Comme c'est le cas des mycoplasmes, naturellement résistantes aux  $\beta$ -lactames, inhibant la synthèse des peptidoglycanes. Ou encore la résistance naturelle des bacilles à Gram négatif aux molécules hydrophobes, car ces dernières sont incapables de traverser la membrane externe de leur paroi (Muylaert et Mainil, 2012). Les gènes de résistance peuvent être exprimés consécutivement ou en réponse à un signal enzymatique induit par la présence de l'antibiotique (Bouyahya *et al.*, 2017).

### 2.2.2. Résistance acquise

À la suite d'un contact avec l'antibiotique, certaines bactéries initialement sensibles, sont capables de développer une résistance vis-à-vis de celui-ci (Carle, 2009). Cette résistance est souvent instable et résulte de changements génétiques acquis par mutation ou par transfert génétique horizontal ou les deux à la fois (Muylaert et Mainil, 2012).

#### 2.2.2.1. Mutation

La mutation est définie comme étant tout changement non létal, spontané provoqué par un agent mutagène dans la séquence de l'ADN d'une bactérie (Podglajen, 2006). Les mutations sont très rares et apparaissent avec des fréquences faibles de l'ordre d'une mutation par  $10^9$  paires de bases répliquées (Sharkey et O'Neill, 2020). Ce mode d'acquisition de résistance est adopté par : les bactéries vivants dans des environnements qui n'ont pas été confrontés à une action antimicrobienne et donc n'ont pas d'expériences à partager, des bactéries vivants dans des environnement où la possibilité d'échange génétique est rare (absence d'espèces génétiquement compatibles, l'incapacité de recevoir, répliquer ou exprimer l'ADN nouvellement acquis, etc.) ou dans le cas de bactéries n'ayant la capacité de s'adapter que par mutation ou réarrangement génomique (Blázquez *et al.*, 2002).

### 2.2.2.2. Transfert horizontal de gènes

Une autre manière d'acquérir l'antibiorésistance est l'assimilation d'un ADN étranger, provenant de bactéries ou autres microorganismes vivants dans la même niche écologique (Baylay *et al.*, 2020). Ce type de transfert se fait par le biais d'éléments génétiques mobiles, qui peuvent être soit des plasmides (molécules d'ADN circulaire double brin indépendantes du chromosome), soit des transposons (séquences d'ADN qui permutent d'une position à une autre dans un même génome de façon autonome), ou des intégrons (éléments génétiques capables de capturer et exprimer des gènes par recombinaison spécifique de site médié par une intégrase) (Munita et Arias, 2016). Le transfert de gène d'un microorganisme donneur à un microorganisme receveur se fait

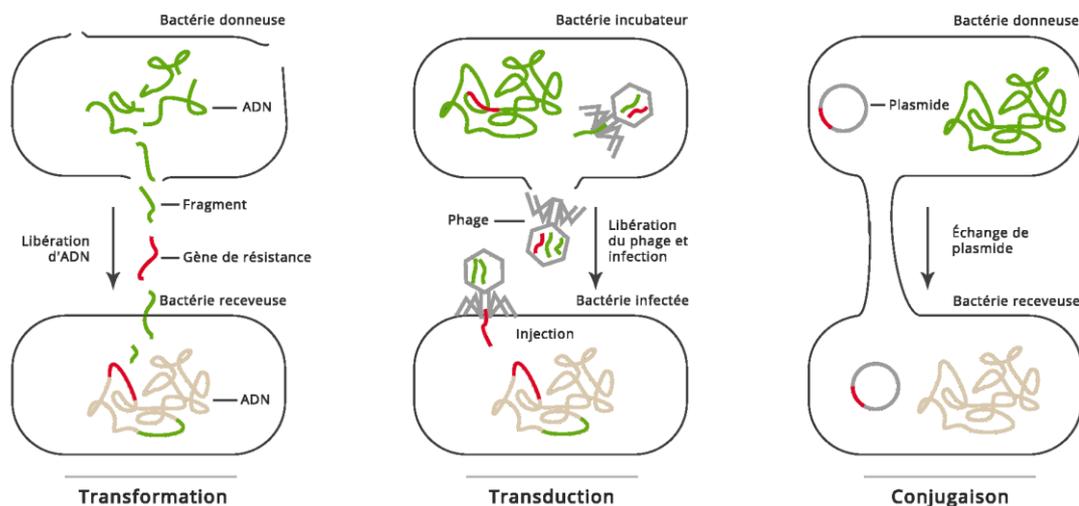


Figure 1 : Mécanismes de transfert génétique horizontal tirée de <https://bioinfo-fr.net/la-resistance-aux-antibiotiques-vu-cote-bioinfo>, Selon Gwenaëlle Lemoine. Consulté le : 24/06/2020 à 21 :10.

selon trois méthodes différentes : La conjugaison, la transduction et la transformation, expliquées dans la figure (1).

Selon Macgowan et Macnaughton, la transformation est le processus par lequel une bactérie intègre un ADN libre issu de l'environnement, provenant de la lyse éventuelle de cellules microbiennes résistantes. La transduction est la réception d'ADN par l'intermédiaire d'un vecteur, le « bactériophage », virus infectant les bactéries. Tandis que la conjugaison, est le transfert d'ADN par contact direct, via des plasmides conjugatifs d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse (Macgowan et Macnaughton, 2017).

### 2.2.3. Résistance croisée

Une bactérie résistante à un certain antibiotique peut bénéficier d'une résistance vis-à-vis d'autres antibiotiques appartenant à la même classe et ayant donc, le même mécanisme d'action. C'est ce qu'on appelle une « résistance croisée » (Courvalin, 2007).

### 2.2.4. Multirésistance

Une bactérie est « multirésistante » quand elle accumule les résistances acquises envers nombreuses classes d'antibiotiques non reliées structurellement et ne demeure sensible qu'à un nombre restreint de ces derniers (Podglajen, 2006 ; Carle, 2009).

## 2.3. Mécanismes de l'antibiorésistance

Les bactéries emploient divers mécanismes pour résister aux antibiotiques. Les principaux mécanismes de résistances sont exposés dans la figure (2), ci-dessous :

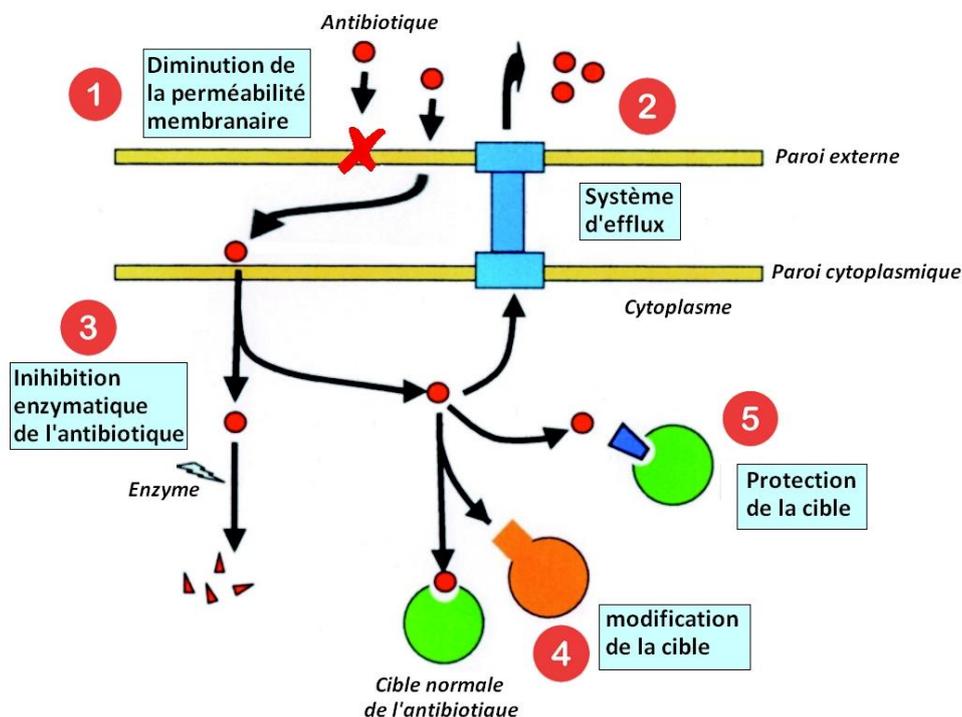


Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (1 à 5) tirée de : <https://devsante.org/articles/antibiotiques-modes-d-action-mecanismes-de-la-resistance> modifiée.

Consulté le : 24/06/2020 à 21 :10.

### 2.3.1. Diminution de la perméabilité à l'antibiotique

Plusieurs antibiotiques ont des cibles intracellulaires ou localisées au niveau de la membrane cytoplasmique, ce qui nécessite leur passage à l'intérieur de la cellule bactérienne pour exercer leur effet antibactérien (Munita et Arias, 2016).

Pour contrer cela, les bactéries ont développé des mécanismes qui permettent de diminuer l'absorption de ces antibiotiques. Chez les bactéries à Gram négatif par exemple, la membrane cellulaire joue le rôle de première ligne de défense en bloquant le passage de multiples molécules toxiques, particulièrement les composés hydrophiles. Ces derniers empruntent les porines, protéines transmembranaires, pour passer du milieu extracellulaire au milieu intracellulaire (Munita et Arias, 2016). La membrane cellulaire externe, pour réduire sa perméabilité, agit sur les porines, soit en réduisant leur expression, soit en les remplaçant par des porines à canaux plus étroits ou en induisant des mutations aux niveau des gènes de porines de façon à ce qu'elles ne permettent plus le passage de l'antibiotique (Baylay *et al.*, 2020).

Chez les bactéries à Gram positif, l'absence de membrane cellulaire externe les rend moins capables de contrôler leur perméabilité et donc les rend moins tolérants à la présence de l'antibiotique dans le milieu intracellulaire. Toutefois, des mécanismes de réduction de perméabilité ont été décrits chez la bactérie *Staphylococcus aureus* ayant une sensibilité intermédiaire à la Vancomycine. Cette bactérie produit une paroi cellulaire épaisse qui séquestre la Vancomycine et empêche son passage à l'intérieur de la cellule (Baylay *et al.*, 2020).

### 2.3.2. Pompes à Efflux

Un autre mécanisme permettant de maintenir à des taux bas, la concentration de l'antibiotique à l'intérieur de la cellule, est « l'efflux actif », médié par les « pompes à efflux » (Muylaert et Mainil, 2012). Les pompes à efflux sont des protéines transmembranaires retrouvées à la fois, chez les bactéries à Gram négatif et positif (Munita et Arias, 2016). Ces pompes expulsent les molécules toxiques à l'extérieur de la bactérie en présence d'énergie et peuvent être spécifiques à une seule classe d'antibiotiques, ou prennent en charge diverses molécules (pompes MDR pour Multi Drug Resistance) (Cattoir, 2004). Les pompes spécifiques sont souvent codées par des

gènes mobiles tandis que les pompes MDR sont habituellement codées par les gènes chromosomiques (Cattoir, 2004).

### **2.3.3. Inactivation enzymatique de l'antibiotique**

Ce mécanisme consiste à produire des enzymes capables de modifier la structure de l'antibiotique afin de l'empêcher de se lier à sa cible et donc l'inactiver (Plésiat, 2006). Ces enzymes bactériennes agissent sur le noyau actif de l'antibiotique par hydrolyse, acétylation, phosphorylation, nucléotidylation, estérification, réduction ou une addition de glutathion (Muylaert et Mainil, 2012). Ces enzymes peuvent être produites de façon intrinsèque par des gènes chromosomiques ou de façon extrinsèque, par des gènes mobiles (plasmides ou transposons) (Plésiat, 2006).

### **2.3.4. Modification de la cible**

Les bactéries peuvent aussi affecter l'affinité de l'antibiotique envers sa cible en modifiant sa structure ou en la remplaçant de façon à ce qu'il ne puisse plus la reconnaître et s'y lier. Ce type de résistance peut apparaître suite à l'acquisition de gènes mobiles ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Muylaert et Mainil, 2012).

### **2.3.5. Protection de la cible**

La protection de la cible est un énième moyen de résistance utilisé par les bactéries. Ce mécanisme nécessite une interaction directe, continue ou répétée, entre des protéines de résistance et la cible où se lie l'antibiotique (Sharkey et O'Neill, 2020). Ce mécanisme est bien connu pour les résistances vis-à-vis des tétracyclines et est récemment décrit chez les quinolones et fluoroquinolones (Muylaert et Mainil, 2012).

Habituellement, les tétracyclines se lient à l'ARNr 16S de la sous-unité ribosomale 30S et empêchent l'entrée des aminoacyl-ARNt dans le site ribosomal A et provoquent donc, l'arrêt de la synthèse protéique (Sharkey et O'Neill, 2020). La résistance aux tétracyclines résulte de l'acquisition de protéines protectrices de ribosomes (RPP) (Baylay *et al.*, 2020). Parmi ces RPP, on trouve les protéines Tet(M) et Tet(O), qui interagissent avec le ribosome, soit en délogeant directement les tétracyclines de leur site de liaison, ou en altérant la structure du site de liaison, les empêchant de s'y lier, ce qui permet la reprise de la synthèse protéique (Munita et Arias, 2016).

### 3. Résistance aux antibiotiques dans le monde et en Algérie

L'apparition des antibiotiques a permis considérablement d'abaisser le taux de mortalité associé aux maladies infectieuses. Cependant, l'émergence des bactéries multirésistantes, due à leur utilisation intensive et non contrôlée, risque de peser lourdement sur l'humanité. En effet, l'OMS tire la sonnette d'alarme et enregistre dans son dernier rapport plus de 1700000 cas d'infections causées par des bactéries multirésistantes (BMRs) pour 45 pays seulement (GLASS, 2018). Les BMRs les plus rencontrées étant respectivement : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* ainsi que *Shigella spp.* (GLASS, 2018).

En Algérie la situation n'est pas différente. Selon le dernier rapport du réseau algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (AARN, 2018), pour les 49673 bactéries isolées, 10565 étaient des BMRs, soit 21,27%. Les BMRs rencontrés et dépassant les 10% étaient : les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (33,77%), les enterobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (28,8%), et les *Acinetobacter baumannii* résistantes à la Ciprofloxacine (10,95%) (AARN, 2018).

### 4. Causes et stratégies de lutte contre l'antibiorésistance

La rapidité de l'émergence et de la dispersion de l'antibiorésistance est due en majeure partie à l'accumulation de comportements irrationnels, depuis la production de l'antibiotique et jusqu'à sa consommation (Ayukekbong et al., 2017). Parmi ces comportements : la contrefaçon des antibiotiques, particulièrement en Afrique (Ouedraogo et al., 2017), leur conservation non conforme, l'absence de contrôle de leur vente, leur prescription inappropriée (mauvais antibiotique, dose insuffisante ou excessive, l'usage abusif d'antibiotiques à spectre large, etc.), la mauvaise prise du médicament par le patient (oubli, non respect de la durée du traitement, etc.), l'usage démesuré des antibiotiques en médecine vétérinaire, en élevage et en agriculture (comme promoteur de croissance ainsi que pour la prévention et le traitement d'infections), le manque de réseaux de surveillance et de plans d'action contre l'antibiorésistance, etc. (Ayukekbong et al., 2017).

Selon cette perspective, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a élaboré un plan d'action mondial basé sur cinq objectifs stratégiques: la multiplication des campagnes de sensibilisation et de prévention de l'antibiorésistance, l'amélioration des systèmes de surveillance et incitation des pays à s'y investir d'avantage, le renforcement des lois régissant la production, la distribution et l'utilisation des antibiotiques, le développement d'outils de diagnostic efficaces, simples, rapides et non coûteux et finalement, garantir des investissements durables pour combattre la résistance aux antimicrobiens (OMS, 2016).

## **5. Alternatives à l'antibiothérapie**

Depuis l'émergence du phénomène de résistance aux antibiotiques, les chercheurs n'ont pas cessé de prospecter de nouvelles sources potentielles, à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens. Parmi les nombreuses solutions envisagées : la phagothérapie, la transplantation fécale, l'usage de bactériocines, de peptides antimicrobiens et d'anticorps (tableau 2).

Une des méthodes prometteuses de lutte contre les BMRs, est l'application de combinaisons synergiques d'antibiotiques et d'huiles essentielles. L'alternative des huiles essentielles est d'autant plus intéressante car ces dernières ont une composition complexe, dont les constituants peuvent agir sur une ou plusieurs cibles à la fois (Ribeiro et Simões, 2019). Ce qui pourrait être une approche pertinente en cas de phénomène de résistance. Selon Kon et Rai, elles constituent une importante solution dans le cas d'infections mixtes, car elles agissent non seulement, sur les bactéries, mais aussi, sur les champignons, virus et protozoaires. Par ailleurs, elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-tumorales, anticancéreuses ainsi que des propriétés régénératives et modulatrices de l'immunité qui les rendent le parfait candidat dans le traitement de diverses infections (Kon et Rai, 2012). Ajouté à cela, les huiles essentielles exhibent peu ou pas d'effets secondaires, comparé à l'usage de produits synthétiques actuels (Ribeiro et Simões, 2019).

Tableau 2 : Quelques alternatives à l'antibiothérapie (Andres et Dimarcq, 2007; Bourlioux, 2013; Brunel et Guery, 2017; Rello *et al.*, 2017; Dillenseger, 2019; Ghosh *et al.*, 2019)

Moyen	Description	Principe	Avantages	Inconvénients
Phagothérapie	Utilisation des bactériophages pour le traitement des maladies infectieuses.	Le bactériophage reconnaît des structures spécifiques à la surface de la bactérie, s'y fixe et entraîne sa lyse.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Spectre d'action large (Bactéries à Gram positif, négatif et BMRs).</li> <li>- Pas d'effets secondaires sérieux décrits.</li> <li>- Possibilité d'agrandir le spectre d'action en utilisant une association de phages.</li> <li>- La résistance aux phages est plus faible que celle aux ATBs.</li> <li>- Technique non couteuse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Emergence de résistances aux phages et aux associations de phages.</li> <li>- Manque de données pharmaco-cinétiques et d'informations sur les réponses immunologiques.</li> <li>- Manque d'études cliniques contrôlées et de preuves sur l'efficacité <i>in vivo</i> de la phagothérapie.</li> </ul>
Bactériocines	Peptides ou protéines aux pouvoirs antimicrobiens, synthétisées par certains microorganismes comme les bactéries lactiques.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Altération de la perméabilité membranaire des bactéries.</li> <li>- Inhibition de la synthèse des peptidoglycanes.</li> <li>- Destruction des liaisons peptidiques entre les peptidoglycanes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Spectre d'action large (Bactéries à Gram positif, négatif et BMRs).</li> <li>- Résistants aux hautes températures et aux UV.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Production à grande échelle chère.</li> <li>- Susceptibles à la lyse protéique.</li> <li>- Pas d'essais cliniques concluants.</li> </ul>

Tableau 2 (suite) : Quelques alternatives à l'antibiothérapie (Andres et Dimarcq, 2007; Bourlioux, 2013; Brunel et Guery, 2017; Rello *et al.*, 2017; Dillenseger, 2019; Ghosh *et al.*, 2019)

Moyen	Description	Principe	Avantages	Inconvénients
Peptides antimicrobiens	Polypeptides de moins de 100 acides aminés, effecteurs de l'immunité innée des vertébrés, présentant diverses propriétés thérapeutiques notamment une activité antibactérienne.	Destruction des microorganismes en perméabilisant leur membrane avec formation de pores dans certains cas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Spectre d'action large.</li> <li>– Agissent aussi bien sur les cellules en croissance que les cellules en dormance.</li> <li>– Leur synthèse ne coûte pas cher</li> <li>– Agissent en synergie avec les ATBs</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– peuvent être détruits par les protéases du tractus digestif.</li> <li>– Apparition de résistances dues à des mutations de cibles.</li> <li>– Possibilité d'effet négatif sur l'immunité innée.</li> </ul>
Transplantation fécale	Thérapie visant à rééquilibrer la flore intestinale via transfert d'une préparation diluée de selles d'un donneur sain à un receveur souffrant de dysbiose.	Arrivées à l'intestin, la nouvelle flore s'implante, exclue les pathogènes, renforce la barrière muco-intestinale et le système immunitaire et produit des molécules antibactériennes.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Non coûteuse</li> <li>– Amélioration immédiate et après un temps court</li> <li>– Effet durable</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Possibilité de troubles digestifs</li> <li>– Possibilité de transmission de BMRs</li> </ul>
Anticorps	Protéines spécifiques produites par le système immunitaire à l'encontre des pathogènes.	Neutralisent les microorganismes pathogènes, leurs toxines et leurs facteurs de virulence par la reconnaissance d'antigènes spécifiques à leur surface.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Hautement spécifiques</li> <li>– N'endommagent pas la microflore.</li> <li>– Efficaces dans le traitement des infections à bactéries intraitables</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Production coûteuse.</li> <li>– Durée de conservation limitée.</li> </ul>

## ***Chapitre 2***

### *Généralités sur les huiles essentielles*

## 1. Définition

Selon la sixième édition de la pharmacopée européenne, une huile essentielle est définie comme un « produit odorant », généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche ou par un procédé mécanique sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition.» (Commission Européenne de Pharmacopée, 2009).

Les huiles essentielles (HEs) sont des mélanges complexes de composés odorants liquides, lipophiles, volatils, synthétisés par des organes spécialisés retrouvés dans les plantes aromatiques (Teuscher *et al.*, 2005).

## 2. Répartition et localisation

Les HEs n'existent que chez les végétaux supérieurs. Elles sont synthétisées et accumulées au niveau de structures spécialisées (poils, poches sécrétrices, canaux sécrétrices, papilles épidermiques, cellules sécrétrices isolées, etc.) (figure3) (Duval, 2012). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, fruits, graines, racines, rhizomes, écorces, bois, etc. Il se peut que chez une même espèce, chaque organe puisse fournir une HE de composition différente (cas de l'oranger amer). Généralement, les teneurs en HE sont plutôt faibles et ne dépassent pas les 10 ml pour 1 kg de drogue végétale (Bruneton, 2009).

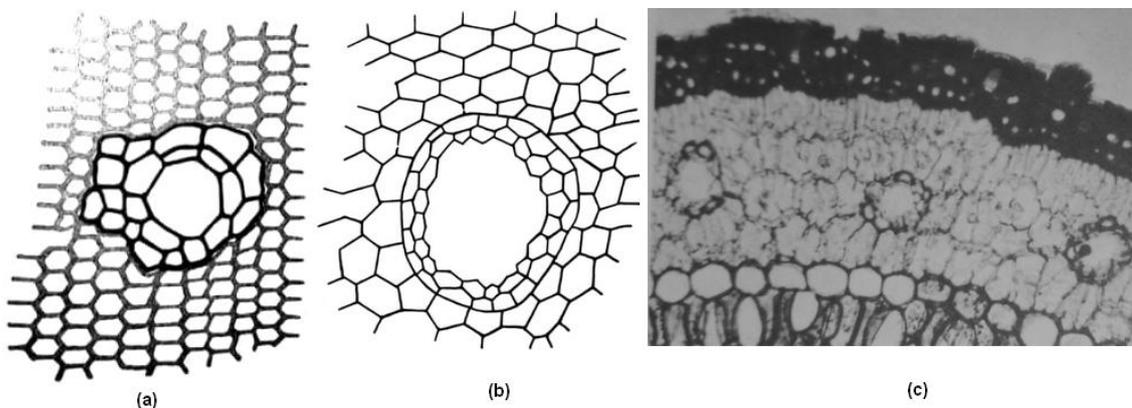


Figure 3 : Structures sécrétrices (a) schéma représentant un canal sécréteur (Théron, 1964) (modifié)  
(b) schéma représentant une poche sécrétrice (Théron, 1964) (modifié)  
(c) photographie des canaux sécrétrices de la feuille du Pin, prise par Andreb (Théron, 1964)

### 3. Fonctions écologiques

Les HEs, métabolites secondaires, étaient longtemps considérées comme de simples déchets. Les récentes études ont démontré que ces composés constituent un mécanisme d'adaptation qui compense en quelques sortes, l'immobilité de la plante (Reynaud, 2011).

En effet, leurs composants interviennent dans différentes situations, comme la pollinisation par exemple, où l'odeur d'une fleur, provenant de composés terpéniques volatils, sert de guide aux abeilles vers la plante (Reynaud, 2011). Pour se défendre contre les herbivores et les insectes, les plantes synthétisent des molécules toxiques, aux odeurs répulsives et qui empêchent la digestion. Pour se débarrasser de la concurrence, certains arbres secrètent des molécules antagonistes comme, le camphre ou le cinéole qui permettent de faire le vide autour de la plante (Merghem, 2009 ; Reynaud, 2011).

### 4. Propriétés physico-chimiques

Les HEs sont des composés d'odeur forte, différentes des huiles fixes à cause de leur volatilité. Elles sont liquides à température ambiante, très peu solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et les solvants organiques (chloroforme, le benzène, l'éther de pétrole, etc.). Elles peuvent prendre une couleur jaune pâle, bleue claire mais sont généralement incolores. Les HEs ne rancissent pas, ont une faible densité, généralement inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et peuvent dévier la lumière polarisée (Deschepper, 2017).

### 5. Composition chimique

Les HEs sont constituées principalement de composés odorants appartenant à deux groupes distincts : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (El haib, 2011).

#### 5.1. Terpénoïdes

Le terme « terpénoïde » est attribué à un ensemble de substances issues de l'isoprène ( $C_5H_8$ ). Elles peuvent présenter une ou plusieurs fonctions chimiques : alcool,

acide, aldéhyde, cétone, etc. (Gavira, 2015). Les HEs ne contiennent que les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire, dont la masse moléculaire est peu élevée comme, les mono et sesquiterpènes (Malecky, 2008).

### 5.2. Composés aromatiques

Ce sont des composés dérivés du phénylpropane  $C_9H_{12}$ . Ils sont moins fréquents dans les HEs que les terpènes, sauf, chez les Apiaceae (El haib, 2011).

### 5.3. Autres composés

Cette catégorie rassemble tous les composés issus de la dégradation d'acides gras, ceux issus de la dégradation de terpènes, des composés azotés ou soufrés, des homologues de phénylpropanes, des hétérosides de substances volatiles, des hydrocarbures saturés, etc. (Bruneton, 2009).

## 6. Obtention des HEs

L'extraction d'une l'huile essentielles est un procédé complexe et délicat qui a pour objectif l'obtention des produits les plus volatils qu'élabore le végétal sans en altérer leur qualité. Les huiles essentielles peuvent être extraites selon différentes méthodes en fonction de la matière végétale primaire. (Boukhatem *et al.*, 2019)

### 6.1. Entraînement à la vapeur

Entraînement à la vapeur d'eau ou hydrodistillation est l'une des méthodes préconisées par la pharmacopée européenne car l'absence de contact direct entre l'eau et les molécules aromatiques minimise les phénomènes de dégradation et d'hydrolyse pouvant nuire à la qualité de l'huile essentielle (Boukhatem *et al.*, 2019).

Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers le matériel végétal, non soumis à macération préalable. Les vapeurs d'eau dissolvent les composés volatils puis les entraînent vers à un système de refroidissement. L'échange thermique entre l'eau froide et la vapeur d'eau chargée en huile essentielle fait qu'il y a condensation de cette dernière au niveau de l'essencier. Le produit de la distillation, au niveau de l'essencier, se sépare donc en deux phases distinctes : l'hydrolat ou eau florale ainsi que l'huile essentielle. L'huile essentielle, de densité inférieure surnage

l'eau florale, tandis que ce dernier, plus dense, descend en bas (Gayda, 2013). L'appareil à distillation par entraînement à vapeur d'eau est exposé dans la figure (4).

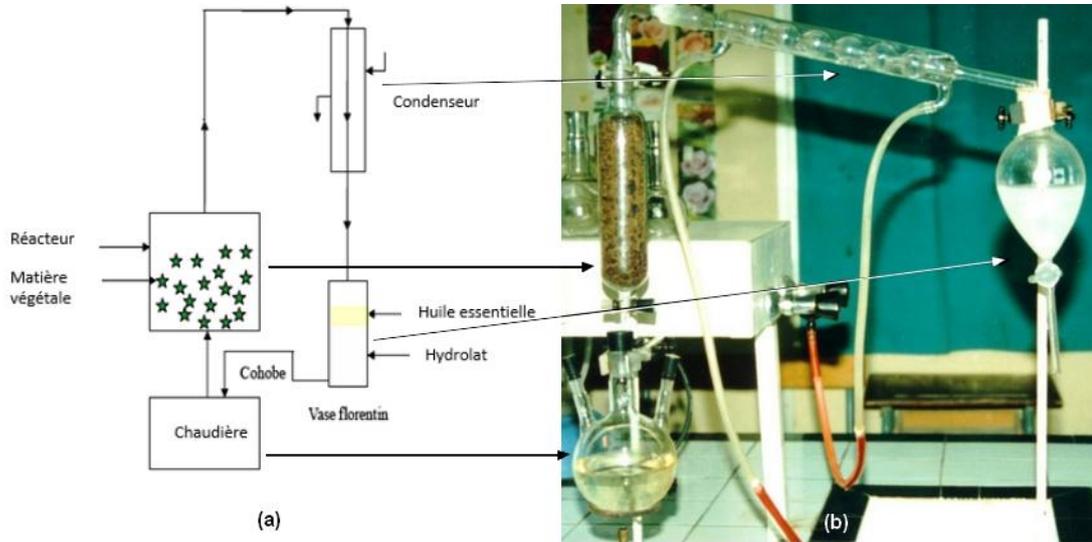


Figure 4 : Principe et montage de l'Appareil à entraînement par vapeur d'eau.

(a) schéma représentant le principe de l'entraînement par vapeur d'eau (Boukhatem *et al.*, 2019) (modifié)

(b) photographie correspondant à un montage d'entraînement par vapeur d'eau

(tirée du site internet : <http://sainte-liberte.over-blog.com/article-31226891.html> consulté le 30/03/2020 à 12:38 ).

## 6.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale broyée ou intacte dans un ballon rempli d'eau distillée et porter l'ensemble à ébullition. Les vapeurs hétérogènes émanant du ballon se condensent sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare de l'eau florale par différence de densité (comme cité dans la technique précédente) (Bruneton, 2009).

Ce procédé présente quelques limites : cette technique n'est pas adaptée à la distillation des fleurs, qui sont fragiles et ne supporte ni l'hydrodistillation ni la distillation par entraînement à la vapeur d'eau. Le chauffage puissant et prolongé endommage certains végétaux et altère certaines molécules aromatiques. Le contact direct avec l'eau ainsi que l'acidité et une température élevée stimulent les réactions de dégradation telles que : l'hydrolyse des esters, isomérisation, racémisation, oxydations, etc. Ce qui fait que le produit final de la distillation est, le plus souvent, différent de l'essence contenue dans le végétal (Boukhatem *et al.*, 2019). L'appareil à hydrodistillation est montré dans la figure (5).

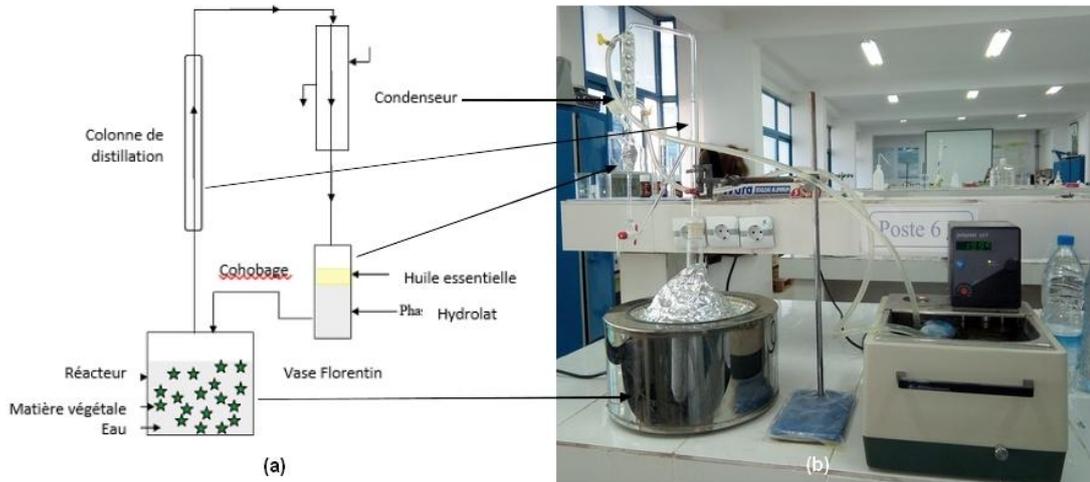


Figure 5 : Principe et montage du Clevenger

(a) : schéma représentant le principe de l'hydrodistillation (Boukhatem *et al.*, 2019) (modifié)

(b) : photographie correspondant à un montage d'hydrodistillation (Clevenger)

### 6.3. Expression à froid

L'expression à froid est destinée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les fruits mais spécialement les agrumes. Ce procédé peut se faire selon diverses manières, le principe commun est de soumettre la surface du fruit à une action mécanique qui permet de dilacérer les péricarpes et rompre les poches sécrétrices puis récupérer, par mécanisme physique, l'essence libérée. Une des techniques consiste à exercer une action abrasive sur la surface du fruit, le tout soumis à un courant d'eau. Après élimination des déchets solides, l'essence est séparée de l'eau florale par centrifugation (Bruneton, 2009).

Actuellement, l'expression à froid se fait, quasi- exceptionnellement, par des machineries très performantes comme la Food Machinery Corporation in line FMC, qui permet d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière presque simultanée sans contact des deux (Boukhatem *et al.*, 2019). L'appareil à distillation par expression à froid est illustré dans la figure (6).



Figure 6 : Machine à expression à froid (a) grattage des épicarpes d'agrumes (tirée de : <http://alambic-inox.com/distillation-agrumes/distillation-agrumes-huiles-essentielles.html> consulté le 30/03/2020 à 13:06) (modifié)

(b): machine à extraction par expression à froid des huiles essentielles d'agrumes (tirée de : <http://alambic-inox.com/distillation-agrumes/distillation-agrumes-huiles-essentielles.html> consulté le 30/03/2020 à 13:06) (modifié)

#### 6.4. Autres procédés

Une des nouvelles techniques d'obtention des huiles essentielles misent au point, l'extraction assistée par micro-ondes. Cette méthode consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante dilate les cellules végétales et rompt les glandes oléifères libérant ainsi l'huile essentielle qui s'évapore avec l'eau de la plante (Boukhatem *et al.*, 2019). Cette technique présente nombreux avantages : elle est nettement plus rapide, peu consommatrice d'énergie, ajouté à cela le fait que le produit final est, le plus souvent, de meilleure qualité comparé à celui issu de l'hydrodistillation traditionnelle (Bruneton, 2009).

#### 7. Variabilité des HEs et notion de chimiotype

Le chimiotype ou race chimique est un terme qui caractérise la variation de la composition biochimique des HEs extraites au sein d'une même espèce botanique. Cette variabilité des huiles essentielle est d'ordre génétique mais, peut dépendre également, de la localisation géographique, des conditions climatiques, de la nature du sol, de la période de collecte ou encore de la méthode d'obtention (Gayda, 2013). Le chimiotype est mis en évidence par une analyse chromatographique (Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse CPG-MS) qui identifie les molécules constituant l'HE. Cette classification permet de différencier certaines HEs, pour une utilisation plus sûre et plus ciblée (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

## 8. Conservation

La conservation des HEs est primordiale. L'HE est constituée de molécules instables qui subissent constamment des réactions de dégradation (hydrolyse, oxydation, polymérisation, photo-isomérisation, etc.) qui contribuent à modifier sa composition, ses propriétés et mettent en cause son innocuité (Teuscher *et al.*, 2005).

Les HEs doivent être conditionnées dans des flacons propres et secs, en verre ambré, en aluminium vernissé, en acier inoxydable, presque entièrement remplis (l'espace libre est rempli d'azote ou autre gaz inerte), fermés hermétiquement et stockés loin de toute chaleur et humidité. Le stockage au réfrigérateur est déconseillé (Desmares *et al.*, 2008).

## 9. Mode d'emploi des HEs

L'administration des HEs dépend de leur composition chimique, de leur utilisation thérapeutique et se fait selon quatre principales voies : olfactive, cutanée, orale et rectale (Laurent, 2017).

### 9.1. Voie olfactive

Ce mode d'administration est adopté dans le traitement des maladies respiratoires, nerveuses et ORL. Elle se fait par diffusion atmosphérique ou par inhalation (Poirot, 2016).

#### 9.1.1. Diffusion atmosphérique

Les HE s'utilisent seules dans un diffuseur électrique par nébulisation à froid, pour éviter leur oxydation. Il est conseillé de les diffuser par périodes de 10 à 15 minutes, trois à quatre fois par jour en tenant compte de la personne (âge, conditions, allergies...) afin d'éviter, la saturation de l'air par les molécules de l'huile (Mayer, 2012 ; Laurent, 2017).

#### 9.1.2. Inhalation

Elle se fait par l'inhalation sèche, en versant des gouttelettes de l'HE sur un tissu, ou par l'inhalation humide, en ajoutant des gouttes de l'HE dans un bol d'eau tiède ou dans un inhalateur (Poirot, 2016).

### 9.2. Voie cutanée

La propriété lipophile des huiles essentielles leur permet de passer à travers la peau directement vers le sang. Cette voie est utilisée dans le cas des affections locales et pour les personnes ne supportant pas l'administration de L'HE par voie orale (Poirot, 2016 ; Buvat, 2017).

### 9.3. Voie orale

Cette voie est indiquée dans le traitement de plusieurs infections, respiratoires, digestives, urinaires, etc. L'HE est utilisée sous forme pure, dans un comprimé, diluée dans une huile végétale ou du miel, ou en versant quelques gouttes sur du sucre (Poirot, 2016).

### 9.4. Voie rectale

La voie rectale est indiquée dans le cas d'un traitement local ou systémique, en raison de la perméabilité de la muqueuse rectale et la présence des veines hémorroïdaires. Cela permet d'éviter le passage hépatique et assurer une bonne biodisponibilité. Cette voie est l'alternative à la voie orale, idéale pour les enfants, les nourissants et les personnes qui ne peuvent pas avaler les HEs et ne supportent pas leur goût (Koziol, 2015).

## 10. Huiles essentielles et résistance aux antibiotiques

Les HEs ont longtemps été utilisées pour combattre les infections, bien avant la découverte des microorganismes (Bajpai *et al.*, 2013). Or, leur popularité a significativement chuté avec l'avènement des antibiotiques. Cependant, avec l'évolution alarmante de la résistance aux antibiotiques, l'intérêt pour les HEs s'est rapidement accru comme l'atteste les nombreuses publications récentes sur le sujet (Kon et Rai, 2012).

Bien que beaucoup de données sur le potentiel des HEs vis-à-vis des BMRs existent, elles proviennent essentiellement de modèles *in vitro*. L'efficacité clinique des HEs reste hypothétique en l'absence de données *in vivo* chez l'animal et l'homme (Yap *et al.*, 2014).

Actuellement, l'utilisation de combinaisons d'antibiotiques conventionnels et d'huiles essentielles permettrait d'amplifier le pouvoir antibactérien exercé, réduire la

concentration minimale inhibitrice des antibiotiques lors du traitement des infections et diminuer les effets indésirables de l'antibiotique (Yap *et al.*, 2014). Les HEs sont également utilisés au niveau des hôpitaux, institutions de santé et locaux publics, pour assainir l'air ambiant et les systèmes de ventilation afin de limiter la propagation des BMRs (Billerbeck, 2007).

## *Chapitre 3*

*Eucalyptus globulus*

## 1. Généralités sur *Eucalyptus globulus*

*Eucalyptus globulus* est un arbre appartenant à l'une des espèces les plus importantes et les plus représentées de la pharmacopée internationale. C'est une plante aromatique, aux composants odorants et aux multiples vertus médicinales. C'est aussi l'espèce qui constitue le fournisseur principal d'huiles essentielles d'Eucalyptus (Curir *et al.*, 1995).

### 1.1. Origine et historique

L'origine du nom Eucalyptus vient du grec, « *eu* » qui signifie bon ou bien et « *kalypto* » qui signifie couvrir et protéger du fait que les pétales et sépales sont soudés (Boukhatem *et al.*, 2017).

L'arbre d'Eucalyptus, appelé aussi Gommier bleu ou arbre aux fièvres, forme actuellement une partie importante de la végétation mondiale. Originaire d'Australie, cet arbre à croissance rapide s'est parfaitement adapté au climat méditerranéen et aux régions subtropicales grâce à sa propriété d'assécher les terres humides (Wichtl et Anton, 2003).

### 1.2. Description botanique

L'Eucalyptus appartient à la famille des Myrtaceae (Myrtacées) et apparaît sous plusieurs espèces. C'est un arbre à tronc lisse dont la croissance est tellement rapide qu'il peut atteindre les 100 m de longueur. Les feuilles âgées sont verte-grisâtre, coriaces, pendantes, à limbe falciforme relié à la tige via un pétiole court. Les jeunes feuilles sont de couleur verte pâle, sessiles, cireuse à limbe arrondie. Le calice de la fleur est formé de quatre sépales, cireux et râpeux, soudés, qui forment une urne à quatre pans dont le « couvercle » se détache en période de floraison et d'où sortent de nombreuses étamines (Bruneton, 2009). La figure (7) montre l'aspect des feuilles, fleurs, fruits et tiges de l'*Eucalyptus globulus*.



Figure 7 : Illustration des feuilles, fleurs, fruits, tige d'*Eucalyptus globulus* (Mouillefert, 1892-1898)  
 via : <https://www.remedes-de-grand-mere.com/les-fondamentaux/les-plantes-medicinales/eucalyptus/> consulté le  
 24/06/2020 à 20:06

### 1.3. Classification

La taxonomie d'*Eucalyptus globulus* est montrée dans le tableau (3)

Tableau 3 : Taxonomie de l'espèce *Eucalyptus globulus*, selon la nomenclature classique (Goetz et Ghedira, 2012).

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

## 2. HE d'*Eucalyptus globulus*

### 2.1. Utilisation et propriétés thérapeutiques

L'HE d'*Eucalyptus* était utilisée depuis l'antiquité comme remède, principalement pour lutter contre les maladies respiratoires. Elle est dotée de nombreuses propriétés thérapeutiques (figure 8) : antipyrétique, antiseptique, tonique, astringente et hémostatique, antiparasitaire, antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et antitumorales (Boukhatem et al., 2017 ; Salehi et al., 2019 (a)). De même, elle peut être employée dans la conservation d'aliments ou comme bioinsecticide contre les moustiques et les mouches domestiques (Koziol, 2015).

En cas de brûlures ou blessures, elle peut accélérer le temps de cicatrisation, aide à renfermer les plaies et peut également calmer les douleurs musculaires et rhumatismales (Koziol, 2015). Elle est utilisée aussi, comme désinfectant atmosphérique au niveau des hôpitaux pour combattre les maladies nosocomiales et les contaminations à transmission aérienne (Boukhatem et al., 2017).

Dans les troubles respiratoires et bronchiques, lorsque l'HE atteint les poumons, elle excite les cellules sécrétrices pulmonaires, élimine l'irritation au niveau des zones réflexogènes, soulage la toux et agit comme expectorant et mucolytique (Wichtl et Anton, 2003).



Figure 8 : Utilisation et propriétés thérapeutiques de l'HE d'*E. globulus*  
 ([https://target.scene7.com/is/image/Target/GUEST\\_4f756e02-72f5-4422-90f3-75353c05baf3?wid=488&hei=488&fmt=pjpeg](https://target.scene7.com/is/image/Target/GUEST_4f756e02-72f5-4422-90f3-75353c05baf3?wid=488&hei=488&fmt=pjpeg)) modifiée.

## 2.2.Composition

La composition chimique de l'HE d'*Eucalyptus globulus* varie en fonction de différents facteurs biotiques et abiotiques. Or, certains constituants restent quasiment toujours présents, mais à des taux variables. Les constituants majoritaires les plus caractéristiques sont : Le 1,8-cinéole ou Eucalyptol (1),  $\alpha$ -pinène (2),  $\beta$ -pinène (3), aromadendrène (4), globulol (5), p-cymène (6),  $\alpha$ -terpinéol (7) et parfois le limonène (8) (Curir *et al.*, 1995 ; Goldbeck *et al.*, 2014 ; Luís *et al.*, 2015 ; Boukhatem *et al.*, 2017). Leurs structures chimiques sont montrées dans la figure (9), ci-dessous :

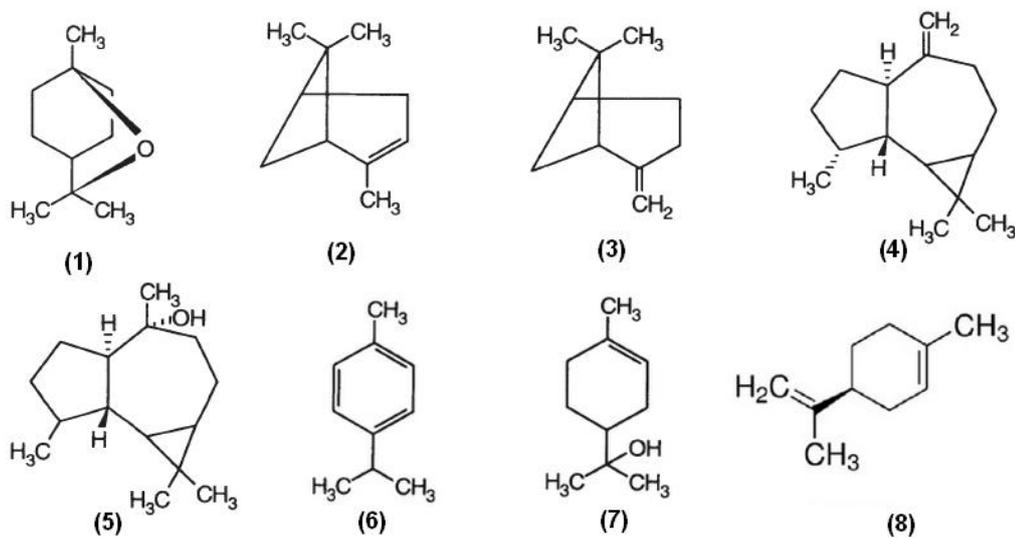


Figure 9 : Structures chimiques des composants majoritaires de l'HE d'*E. globulus*

## 2.3.Activités biologiques de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

### 2.3.1. Propriétés antioxydantes

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 antioxydantes (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  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ -pinène, composés terpéniques, qui possèdent des activités antioxydantes (Salehi *et al.*, 2019<sup>(b)</sup>).

### 2.3.2. Propriétés antifongiques

L'HE est un produit à fort potentiel antifongique (Moghaddam et Mehdizadeh, 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).

### 2.3.3. 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 10) (Bouyahya *et al.*, 2017).

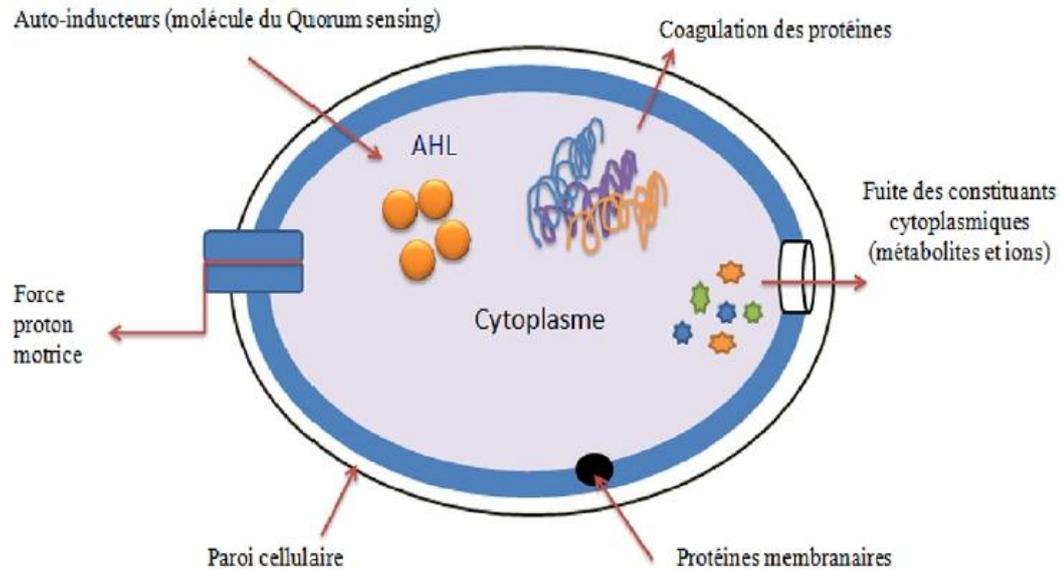


Figure 10 : schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne (Bouyahya *et al.*, 2017)

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 11) (Wong-Paz *et al.*, 2017). Quant aux terpènes, leur nature lipophile leur permet de s'incruster dans la membrane cellulaire, de changer sa structure, d'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 cinnamaldéhyde, ont pu arrêter la division cellulaire en inhibant l'assemblage du complexe FtsZ avec les anneaux Z chez *Bacillus cereus* (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).

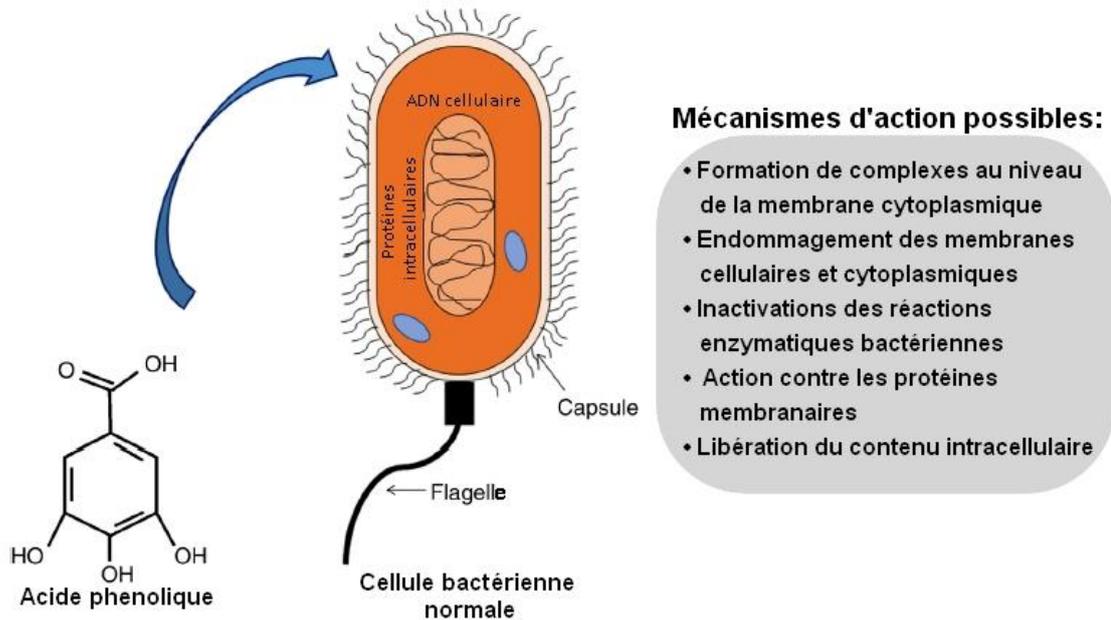


Figure 11 : Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques (Wong-Paz et al., 2017) modifié

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' $\alpha$ -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 attribué à l'aromadendrene, composé ayant un groupement méthylique exocyclique et un cycle cyclopropane qui peut alkyler 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).

#### **2.3.4. 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).

#### **2.4. Toxicologie de l'HE de L'*Eucalyptus globulus***

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). Health 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<sup>ème</sup> 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' $\alpha$ -pinène. À des doses dépassant le seuil recommandé, le 1,8- cinéole peut provoquer une dépression respiratoire, baisser le seuil épileptogène (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  $\alpha$ -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).

## *Méthodes et matériel*

## 1. Déroulement de l'étude

Dans le but d'étudier l'activité antibactérienne de l'HE d'*Eucalyptus globulus*, nous avons effectué la reconnaissance botanique de la plante, l'extraction de l'huile essentielle ainsi que son analyse chromatographique au niveau du laboratoire de pharmacognosie, département de pharmacie, faculté de médecine, université Constantine 3 Saleh Boubnider durant la période allant du 3 février 2020 jusqu'au 6 Mars 2020.

## 2. Localisation et Récolte du matériel végétal

Les rameaux des feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont été récoltés dans la région de Filfila, wilaya de Skikda (figure12) à la première quinzaine du mois de Janvier 2020. La plante a été identifiée par les services des forêts de la wilaya de Skikda. Un voucher spécimen a été déposé sous le n° EG00221 au laboratoire de pharmacognosie (UC3). Après récolte, le matériel végétal a été séché à l'ombre et stocké dans des boites en plastique jusqu'à analyse.

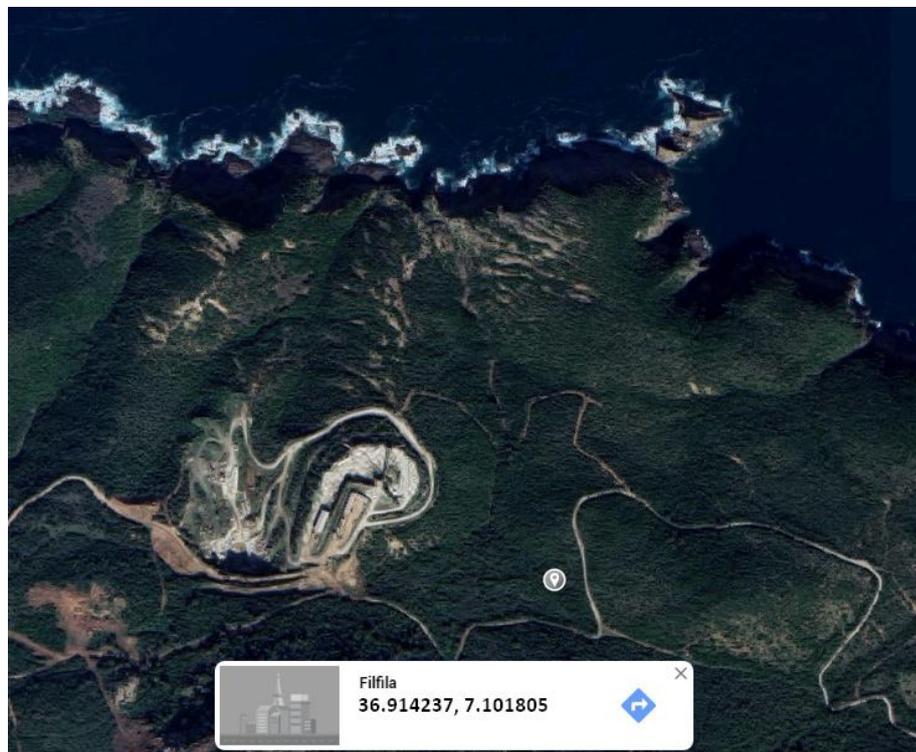


Figure 12 : lieu de récolte des rameaux d'E.globulus, Filfila, Skikda (GPS : 36.914237,7.101805 tirée de : Google earth)

### 3. Caractérisations pharmacognosiques

L'*Eucalyptus globulus* est une drogue normalisée. Elle est présente dans de nombreuses pharmacopées (pharmacopée européenne, internationale, française) où une monographie lui est dédiée.

#### 3.1. Examen organoleptique

Durant cet examen, les caractères organoleptiques suivants ont été vérifiés : odeur, couleur, saveur et texture des feuilles de l'*E. globulus*.

#### 3.2. Examen macroscopique

La drogue a été examinée à l'œil nu et à l'aide d'une loupe binoculaire puis comparée au référentiel (Wichtl et Anton, 2003 ; PH. EUR., 2008). (Figure 13).

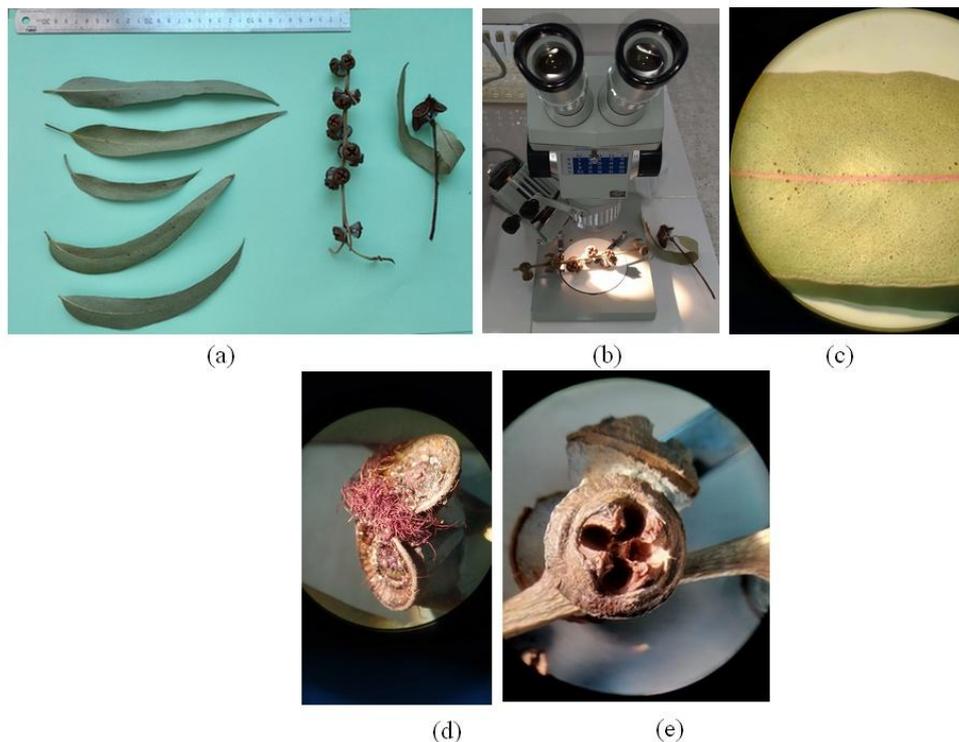


Figure 13 : Étude macroscopique des feuilles, fleurs et fruits de l'*E. globulus*.

(a) Mesure des feuilles d'*E.globulus* (b) (d) observation des fleurs sous loupe binoculaire  
(c) Observation de la feuille sous loupe binoculaire (e) observation des fruits sous loupe  
binoculaire (photos personnelles, 2020).

### 3.3. Examen microscopique

Un examen des coupes histologiques des feuilles et de la poudre d'*E. globulus* a été effectué à l'aide d'un microscope optique.

#### 3.3.1. Examen des coupes histologiques

Les feuilles de l'*E. globulus* sont coupées soigneusement à l'aide d'une lame afin d'obtenir des coupes transversales très fines. Les coupes obtenues sont mise dans un tamis puis, dans une solution d'eau de javel diluée à moitié pendant 15 à 20 minutes. Un rinçage à l'eau distillée est effectué avant de remettre le tamis dans une solution de NaOH à 5% pendant 30 secondes. Après rinçage à l'eau distillée, le tamis est transféré dans une solution d'eau distillée additionnée de quelques gouttes d'acide acétique pendant 15 secondes. Après cette étape, aucun rinçage ne sera effectuée et le tamis est directement déposé dans du vert de méthyle pendant une à deux minutes. Après rinçage, on place le tamis dans du Carmin 15 à 20 min puis on termine avec un rinçage à l'eau distillée (figure 14). (PH. EUR., 2008) Les coupes colorées sont ensuite placées entre lame et lamelle et observées au microscope optique sous grossissement X4, X10 puis X40.

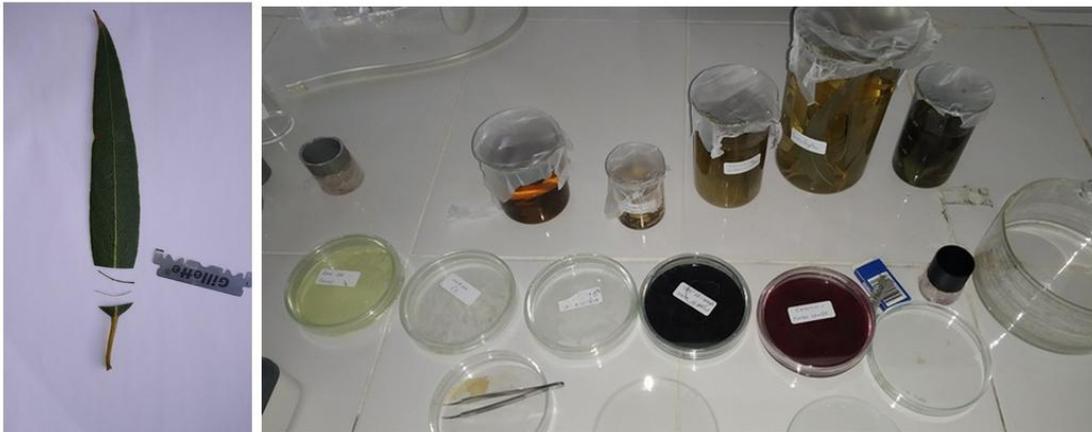


Figure 14: Réalisation des coupes des feuilles d'*E. globulus* et leur coloration (photos personnelles, 2020).

### 3.3.2. Examen de la poudre

La poudre de l'*E. globulus* est obtenue à l'aide d'un broyeur à couteaux électriques et stockée dans des petits pots en verre en attendant l'analyse. Quelques gouttes d'Anhydre chloral sont déposées sur une lame propre où une petite quantité de poudre y est diluée puis la lamelle est rabattue en veillant à ne pas former de bulles d'air. La lame est ensuite observée sous grossissement X10 et X40 (Figure 15). La procédure est répétée jusqu'à avoir observé tous les structures anatomiques mentionnées dans la monographie (PH. EUR., 2008).

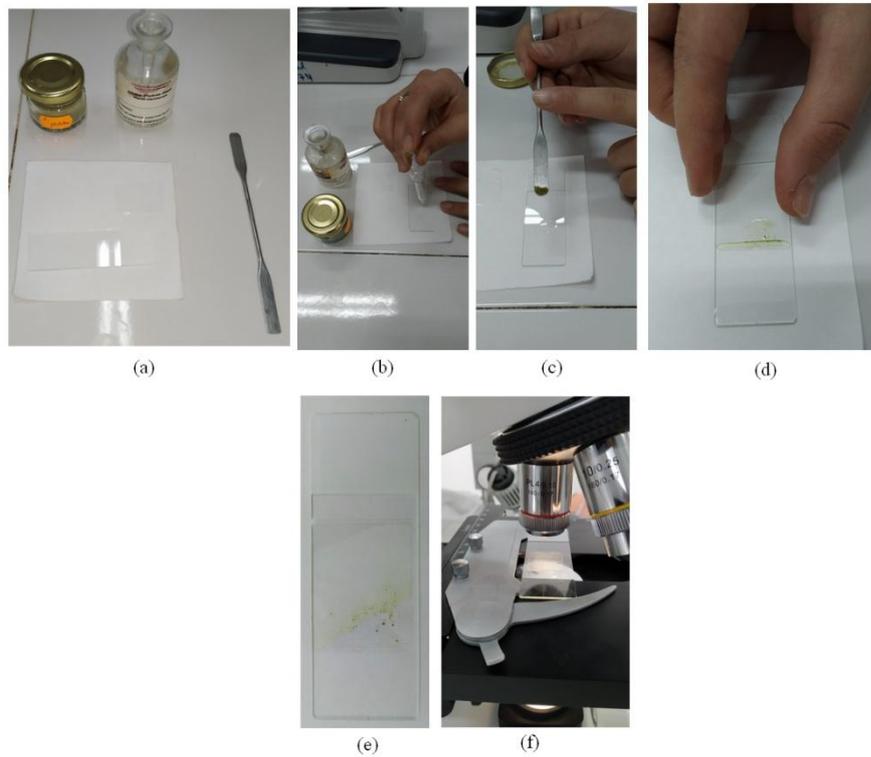


Figure 15 : Étude microscopique de la poudre d'*E. globulus*. (a) Matériel utilisé (b, c, d, e) préparation de la poudre pour l'examen microscopique (f) observation microscopique. (photos personnelles, 2020).

## 4. Extraction de l'huile essentielle

Les feuilles sèches (100g), grossièrement morcelées à l'aide d'un broyeur à couteaux électrique, ont été immédiatement distillées dans un litre d'eau distillée dans un appareil Clevenger (Hydrodistillateur) pendant environ 3h de temps. L'huile

essentielle a été récupérée par décantation, séchée sur du Sulfate de Sodium Anhydre ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , Sigma-Aldrich) et filtrée puis stockée dans un flacon ombré. Cette opération a été répétée six fois dans les mêmes conditions (figure 16).



Figure 16: Extraction de l'HE d'*E.globulus* par Hydrodistillation (a) broyage des feuilles ; (b) pesée des feuilles broyées ; (c) mélange des feuilles et de l'eau distillée dans un ballon en verre ; (d) extraction de l'HE d'*E.globulus* à l'aide du Clevenger. (photos personnelles, 2020).

Le volume d'huile essentielle obtenu après chaque distillation a été mesuré à l'aide d'une éprouvette graduée de 5 ml de capacité puis pesée à l'aide d'une balance analytique après son transfert dans un flacon ombré avec une micropipette.

## 5. Calcul du rendement

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport de la masse de l'HE sur la masse de la matière végétale sèche. Il est calculé selon la méthode précédemment décrite (Benyoussef *et al.*, 2002 ; Cheurfa *et al.*, 2013) et obtenu sur la base de six déterminations selon la formule (1) :

$$(1) Rdt HE(\%) = \frac{mHE}{mVEG} \times 100$$

Rdt HE(%) : rendement en HE exprimé en pourcentage

mHE : valeur moyenne de la masse de l'HE obtenue après distillation

mVEG : moyenne de la masse de la drogue végétale

## 6. Chromatographie sur couche mince

Afin de réaliser l'analyse chromatographique, nous avons commencé par découper des plaques de gel de silice 60 GF<sub>254</sub> (10 X 5 cm) et préparer l'éluant toluène-éthylacétate (93 :7) ainsi que le réactif Vanilline-Acide sulfurique (VS) selon la méthode de Wagner (Wagner *et al.*, 1984). Nous avons par la suite, versé une quantité d'éluant dans la cuve à chromatographie puis, nous l'avons refermé avec un couvercle de manière à la saturer en éluant. À l'aide d'un crayon, nous avons tracé la ligne de dépôt en veillant à ce que le trait soit au-dessus du niveau de l'éluant. Quelques gouttes d'HE à analyser (T<sub>HE</sub>) et d'HE d'*Eucalyptus globulus* témoin (E<sub>HE</sub>) ont été entreposés sur la ligne de dépôt. La plaque est ensuite déposée verticalement, dans la cuve à chromatographie et l'éluant commence à migrer par capillarité. Nous faisons sortir la plaque dès que l'éluant commence à atteindre la partie supérieure, puis, on trace la ligne du front du solvant. Dans une étuve, nous séchons la plaque à 105°C jusqu'à ce que l'éluant s'évapore. Après évaporation de l'éluant, nous pulvérisons une quantité du réactif vanilline-Acide sulfurique (VS) pour révéler les taches (figure 17).

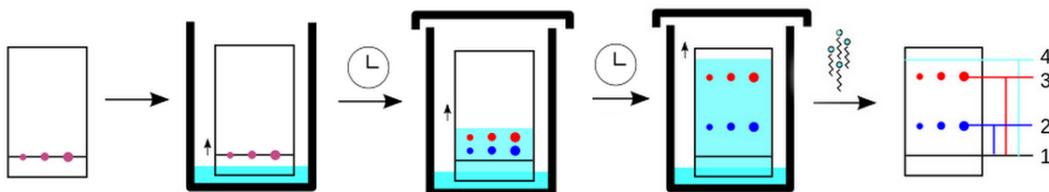


Figure 17 : Étapes de la Chromatographie sur couche mince d'*E.globulus*. tirée de : [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Tlc\\_sequence.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Tlc_sequence.svg), Quantockgoblin, modifié.

Les rapports frontaux  $R_f$  des taches ont été calculés sur la base de la formule (2):

$$(2) R_f = \frac{dx}{df}$$

$R_f$  : Rapport frontal

dx : distance de la ligne de dépôt de l'HE au milieu de la tache.

df : distance de la ligne de dépôt de l'HE au front du solvant.

## *Résultats et discussion*

## 1. Caractérisations pharmacognosiques

Les résultats des études botanique et chromatographique de l'*Eucalyptus globulus* sont exposés dans la partie ci-dessous:

### 1.1. Examen des caractères organoleptiques

Le résultat de l'analyse des caractères organoleptiques est mentionné dans le tableau (4) :

Tableau 4 : Caractères organoleptiques des feuilles d'*E. globulus*

<i>Caractère</i>	<i>Echantillon</i>	<i>Référentiel</i> (PH. EUR., 2008)
Couleur	Vert-gris	Vert-gris
Texture	Rigide, glabre	Rigide, coriace, entière, glabre, assez épaisse
Odeur	Forte, camphré	Cinéole
Saveur	Rafraichissante et amère	Rafraichissante

Les feuilles d'*E. globulus* examinées sont vertes grisâtres, assez rigides et cassantes. Elles dégagent après froissement une odeur aromatique camphrée et dont le goût est amer.

### 1.2. Examen des caractères macroscopiques

Le résultat de l'analyse des caractères macroscopiques des feuilles de l'*E. globulus* est mentionné dans le tableau (5) :

Tableau 5 : Caractères macroscopiques des feuilles d'*E. globulus*

<i>Caractère</i>	<i>Echantillon</i>	<i>Référentiel</i> (PH. EUR., 2008)
Forme	Falciforme	Allongée, elliptique, légèrement falciforme
Longueur (cm)	23	25
Largeur (cm)	3,5	5

Tableau 5 (suite) : Caractères macroscopiques des feuilles d'*E. globulus*

<b>Caractère</b>	<b>Echantillon</b>	<b>Référentiel (PH. EUR., 2008)</b>
Aspect des feuilles	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Nervure centrale jaune verdâtre</li> <li>– Bords réguliers légèrement épaissis</li> <li>– Présence de petites taches verruqueuses brun foncée sur la surface des feuilles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Nervure centrale vert-jaune</li> <li>– Bords réguliers légèrement épaissis</li> <li>– Présence de minuscules taches verruqueuses brun foncé, réparties irrégulièrement sur les faces foliaires</li> </ul>

Les feuilles d'*E. globulus* sont falciformes, aux bords réguliers et dont les dimensions moyennes sont de 23 x 3,5. Elles présentent des taches brunes foncées verruqueuses sur leur surface et une nervure centrale jaune verdâtre.

### **1.3. Examen des caractères microscopiques**

Les résultats des observations microscopiques des coupes histologiques et de la poudre des feuilles de l'*E. globulus* sont mentionnés dans les figures (18) et (19) :

#### **1.3.1. Coupes histologiques**

Le résultat de l'observation microscopique est exposé dans la figure (18) :



Figure 18 : Observation microscopique de la coupe transversale d'une feuille d'*E. globulus* à grossissement x40. (1) bois ; (2) liber ; (3) Collenchyme inférieur ; (4) Epiderme inférieur ; (5) poche sécrétrice vide ; (6) poche sécrétrice contenant de l'huile essentielle.

(Photos personnelles, 2020)

L'observation microscopique des coupes transversales des feuilles d'*E. globulus* (figure 18) montre différentes structures histologiques caractéristiques de cette plante à savoir : la présence de bois, liber, collenchyme inférieur, épiderme inférieur, des poches sécrétrices vides et remplies d'HE d'*E. globulus*.

### 1.3.2. Poudre

La poudre des feuilles d'*E. globulus* est de couleur verte grisâtre. Le résultat de l'observation de cette poudre au microscope optique est exposé dans la figure (19) :

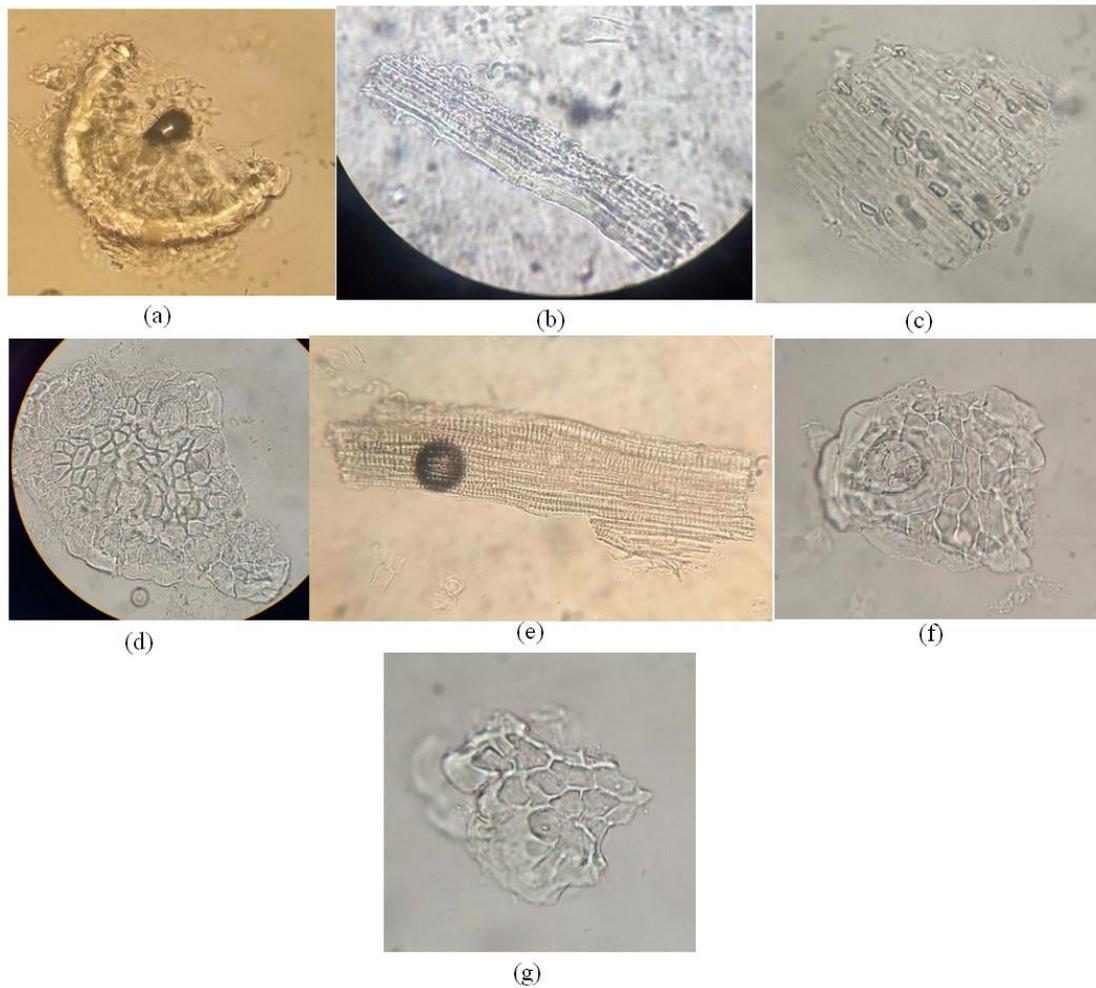


Figure 19 : Observation microscopique de la poudre d'*E. globulus*. (a) poche sécrétrice schizogène accompagnée de parenchyme palissadique ; (b) fibre ; (c) cellules contenant des prismes d'oxalate de calcium ; (d) cellules épidermiques à paroi épaisse et stomates anomocytiques ; (e) vaisseaux de bois ; (f) cellules epidermiques à paroi épaisse et stomates anomocytiques, accompagnées de parenchyme palissadique ; (g) cellules de parenchyme. (photos personnelles, 2020)

L'observation microscopique de la poudre obtenue après broyage des feuilles d'*E. globulus* (figure 19) montre la présence de plusieurs éléments caractéristiques de la plante mentionnés dans la monographie à savoir : la présence de stomates anomocytiques, de fibres et vaisseaux de bois, cellules épidermiques à parois épaisses, cellules du parenchyme lacuneux à prismes et macles d'oxalate de calcium, des poches sécrétrices schizogènes. (PH. EUR., 2008).

A l'issu de ces analyses, il peut être conclu que les caractères organoleptiques, macroscopiques et microscopiques examinés de la drogue correspondent à celles mentionnés dans la monographie correspondante aux feuilles d'*E. globulus* (PH. EUR., 2008).

#### 1.4. Rendement de l'HE

Le rendement de l'huile essentielle obtenu est exprimé dans le tableau (6) :

Tableau 6 : Rendement de l'huile essentielle d'*E. globulus* obtenue

	Masse de la matière végétale	Masse de l'HE
En gramme (g)	600	9,953
Rendement (%)	1,659	

La quantité d'HE obtenue est de 19,5 ml/kg. Cette valeur est supérieure au seuil limite fixé par la pharmacopée européenne à savoir, 15 ml/kg. Ce qui signifie que l'HE obtenue est de bonne qualité d'un point de vue quantitative.

#### 1.5. Chromatographie sur couche mince

Le résultat de la chromatographie sur couche mince est représenté dans la figure (20) :



Figure 20: Résultat de la chromatographie sur couche mince de l'HE d'*E. globulus*

(E<sub>HE</sub>) : HE examinée, (T<sub>HE</sub>): HE témoin (photos personnelles, 2020)

Après révélation avec le Réactif VS, l'examen à l'œil nu du chromatogramme à révélé deux principales taches aux R<sub>f</sub> de 0.3 et 0.4. En tenant compte de la position et de la couleur des taches, celles-ci correspondent à un alcool terpénique et au cinéole, respectivement (Wagner *et al.*, 1984). Le cinéole est considéré comme un marqueur de l'HE d'*E. globulus*.

## *Conclusion et perspectives*

L'émergence de la résistance aux antibiotiques a stimulé la prospection de nouvelles sources d'agents antimicrobiens, notamment d'origine naturelle.

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées aux huiles essentielles et plus particulièrement, à l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* et son potentiel dans le traitement des infections aux bactéries multirésistantes.

Dans ce cadre, le matériel végétal récolté a fait l'objet d'une identification et d'une caractérisation pharmacognosique avant de subir une extraction par hydrodistillation pour obtenir l'huile essentielle. Les analyses effectuées sur le matériel d'étude (les feuilles et l'huile essentielle) confirment l'identité botanique de l'espèce, en l'occurrence, il s'agit de l'*Eucalyptus globulus* famille des Myrtaceae.

L'HE devait, par la suite, faire l'objet d'une évaluation *in vitro* de son activité antibactérienne sur des souches cliniques, multirésistantes, prélevées sur des patients présentant des infections bactériennes de la sphère ORL. Cette étape n'a pas pu être achevée en raison de l'indisponibilité des services hospitaliers (épidémie COVID-19) et fera l'objet d'une étude ultérieure quand les conditions le permettront.

Les nombreuses données provenant essentiellement d'expérimentations *in vitro* encouragent l'idée d'utiliser les huiles essentielles en association avec les antibiotiques actuels. Toutefois, ces applications butent sur de nombreux problèmes propres à la nature même des HEs. En effet, l'un des obstacles majeurs rencontrés est lié à leur composition complexe et extrêmement variable. La standardisation de la composition de tout produit est un pré-requis à toute évaluation clinique (efficacité/innocuité) et au développement pharmaceutique (qualité).

Le chemin est encore long au vue des problèmes posés et nécessite donc d'avantage de recherches et d'efforts fournis pour essayer d'établir tout d'abord, une standardisation des HEs qui permettrait d'évaluer leur réel potentiel et déterminer leur rôle réel dans l'arsenal thérapeutique avenir.

## *Références*

- Amils, R. (2015).** *Encyclopedia of Astrobiology*. Gargaud, M. et al. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Aminov, R.I. (2010).** *A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future*. *Frontiers in Microbiology*, Vol n°1. P : 1-7. doi: 10.3389/fmicb.2010.00134
- Amorati, R., Foti, M.C. et Valgimigli, L. (2013).** *Antioxidant Activity of Essential Oils*. *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol n° 61. American chemical society. P : 10835–10847.
- Andrès, E. et Dimarcq J.L. (2007).** *Peptides antimicrobiens cationiques : de l'étude de l'immunité innée à la production de médicaments, mise à jour*. *Médecine et maladies infectieuses*, Vol n°37. Edition Elsevier Masson. P : 194-199.
- Ayukekbong, J.A., Ntemgwa, M. et Atabe, A.N. (2017).** *The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies*. *Antimicrobial Resistance and Infection control*. Vol n°6. BioMed Central. P: 1-8.
- 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.
- Barbosa, J.P., Rossini de Oliveira, T., Bragado Puppim, D.G.P., Teixeira, A.L., Cláudia 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.
- Barna, J.C.J. et Williams, D.H. (1984).** *The structure and mode of action of glycopeptide antibiotics of the vancomycin group*. *Annual reviews Microbiology*, Vol n°38. P : 339-357.
- Baylay, A.J., Piddock, L.J.V. et Webber, M.A. (2020).** "Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance- Part I". Chap 1. Dans: Bonev, B.B. et Brown, N.M. (eds). *Bacterial Resistance to Antibiotics – From Molecules to Man*. Première édition. John Wiley & Sons Ltd. P: 1-26.
- Benyoussef, E., Hasni, S., Belabbes, R. et Bessière, J.M. (2002).** *Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre*. Vol n°85. *Chemical Engineering Journal*. Edition Elsevier. P : 1-5.
- Bey-Ould Si Said, Z., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., Khaled Khoudja, N. et Medani, K. (2016).** *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

**Billerbeck, V.G. (2007).** *Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques*. Phytothérapie, Vol n°5. Springer. P : 249-253.

**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.

**Blázquez, J., Oliver, A. et Gomez-Gomez, J.M. (2002).** *Mutation and Evolution of Antibiotic Resistance: Antibiotics as Promoters of Antibiotic Resistance?*. Current Drug Target. Vol n°3. Bentham Science. P: 345-349

**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.

**Boukhatem, M.N., Ferhat, A. et Kameli, A. (2019).** *Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature*. Agrobiologia, Vol n°9. P: 1653-1659.

**Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A. et Mekarnia, M. (2017).** *Eucalyptus globules (Labill) : un arbre à essence aux mille vertus*. Lavoisier SAS. Doi : <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3>

**Bourlioux, P. (2013).** *De quelles alternatives notre arsenal thérapeutique anti-infectieux dispose-t-il face aux bactéries multi-résistantes?*. Annales pharmaceutiques françaises, Vol n°71. Edition Elsevier Masson. P : 150-158.

**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>

**Brunel, A.S. et Guery, B. (2017).** *Multidrug resistant (or antimicrobial-resistant) pathogens - alternatives to new antibiotics ?*. Biomedical Intelligence. Swiss Medical Weekly. P: 1-15. doi:10.4414/smw.2017.14553

**Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4<sup>ème</sup> édition. Edition Tec & Doc, Lavoisier.

**Buvat, C. (2017).** *Conseils en aromathérapie à l'officine: création de fiches conseils pratiques à destination de l'équipe officinale*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Grenoble Alpes, soutenue le : 10 novembre 2017.

**Carle, S. (2009).** *La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important!*. Vol n°42. Pharmactuel. <https://pharmactuel.com/index.php/pharmactuel/article/view/977/638>

**Cattoir, V. (2004).** *Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries*. Pathologie Biologie, Vol n°52. Edition Elsevier. P : 607-616.

**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.

**Cheurfa, M., Allem, R., Sebahia, M. et Belhireche, S. (2013).** *Effet de l'huile essentielle de Thymus vulgaris sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites*. Phytothérapie, Vol n°11. Springer-Verlag, France. P : 154-160.

**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.

**Comission européenne de pharmacopée (2010).** *Pharmacopée européenne*. 7<sup>ème</sup> édition.

**Commission européenne de Pharmacopée (2009).** *Pharmacopée européenne*. 6<sup>ème</sup> édition.

**Couic-marinier, F. et Lobstein, A. (2013).** *Mode d'utilisation des huiles essentielles*. Actualités pharmaceutiques, Vol n° 525. Elsevier-Masson. P : 27-30.

**Courvalin, P. (2007).** *La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques*. Tome n° 161. Académie Vétérinaire de France. P : 7-12.

**Curir, P., Beruto, M. et Dolci, M. (1995).** "Eucalyptus species: in vitro culture and production of essential oils and other secondary metabolites". Dans: Bajaj, Y.P.S. (ed.). *Medicinal and Aromatic Plants VIII*. Springer, Berlin, Heidelberg. P : 194-214.

**Deschepper, R. (2017).** *Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état en pharmacie. Université d'Aix-Marseille, soutenue le 26 avril 2017.

**Desmares, C., Laurent, A. et Delerme, C. (2008).** *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles*. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

**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.

**Dillenseger, H. (2019).** *Les bactériocines: en alternative aux traitements antibiotiques*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Bordeaux, soutenue le : 05/03/2019.

**Duval, L. (2012).** *Les huiles essentielles à l'officine*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état en pharmacie. Université de Rouen, soutenue le 5 avril 2012.

**El haïb, A. (2011).** *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytique*. Thèse de doctorat, Chimie organique et catalyse. Université Toulouse III Paul Sabatier, soutenue le 05 février 2011.

**Etebu, E. et Arikekpar, I. (2016).** *Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives*. International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology research, Vol n°4. BluePen journals. P : 90-101.

**Gavira, C. (2015).** *Production de terpènes fonctionnalisés par les cytochromes P450 de plantes recombinants*. Thèse de doctorat, Biochimie et biologie Moléculaire. Université de Strasbourg, soutenue le 06 mars 2015.

**Gayda, A. (2013).** *Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'état en pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier, soutenue le 19 décembre 2013.

- 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.
- Ghosh, C., Sarkar, P., Issa, R. et Haldar, J. (2019).** *Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance.* Trends in Microbiology. Cell Press. Vol n °27. Edition Elsevier. P: 323-338.
- GLASS. (2018).** *Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2017-2018.* World Health Organisation. Switzerland.
- Goetz, P. et Ghedira, K. (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse.* Springer-Verlag. Paris, France. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0058-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0058-5_1)
- Goldbeck, J.C., do Nascimento, J.E., Jacob, R.G., Fiorentini, A.M. et da Silva, W.P. (2014).** *Bioactivity of essential oils from Eucalyptus globulus and Eucalyptus urograndis against planktonic cells and biofilms of Streptococcus mutans.* Industrial Crops and Products, Vol n°60. Edition Elsevier. P: 304-309.
- Harkat-Madouri, L., Boudria, A., Medani, K., Bey-Ould Si Said, Z., Rigou, P., Grenier, D., Allalou, H., Remini, H., Adjaoud, A. et Boulekbache-Makhlouf, L. (2015).** *Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria.* Industrial Crops and Products, Vol n°78. Edition Elsevier. P : 148-153.
- 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.
- Jouault, S. (2012).** *La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 4 Avril 2012.
- Kon, K.V. et Rai, M.K. (2012).** *Plant essential oils and their constituents in coping with multidrug-resistant bacteria.* Anti Infection Therapy, Vol n°10. Edition Expert reviews. P: 775-790.

- Koziol, N. (2015).** *Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora: qualité, efficacité et toxicité.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 11 septembre 2015.
- Laurent, J. (2017).** *Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université Toulouse 3, soutenue le : 15 décembre 2015.
- Leopoldini, M., Russo, N. et Toscano, R. (2011).** *The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants.* Food Chemistry, Vol n°125. Edition Elsevier. P : 288-306.
- Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S. et Chemat, F. (2014).** "Essential Oils as Antioxidants". Chap 3 dans : *Essential Oils as Reagents in Green Chemistry.* Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability. P : 21-27.
- Lobstein, A., Couic-Marinier, F. et Koziol, N. (2017).** *Huile essentielle d'Eucalyptus globulus.* Actualités pharmaceutiques, Vol n°57. Edition Elsevier Masson SAS. P : 59-61.
- Luis, A., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F. et Duarte, A.P. (2015).** *Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils.* Industrial Crops and Products, Vol n°79. Edition Elsevier. P : 274-282.
- MacGowan, A. et Macnaughton, E. (2017).** *Antibiotic resistance.* Prevention and Control of Infection, Vol n°45. Medicine. Edition Elsevier. P : 622-628.
- Malecky, M. (2008).** *Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins.* Thèse de doctorat, Physiologie de la Nutrition Animale. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, soutenue le 27 mai 2008.
- Mangin, L. (2016).** *Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 15 septembre 2016.
- Mayer, F. (2012).** *Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 30 mars 2012.

**Merghem, R. (2009).** *Éléments de biochimie végétale (à l'usage des étudiants en pharmacie, sciences alimentaire, science de la nature et de la vie)*. Edition Bahaeddine.

**Mishra, A.K., Sahu, N., Mishra, A., Ghosh, A.K., Jha, S. et Chattopadhyay, P. (2010).** *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf*. Pharmacognosy Journal, Vol n°2. Edition Elsevier. P : 25-28.

**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.

**Mohd, A. (2019).** *Bioactive potential of essential oil extracted from the leaves of Eucalyptus globulus (Myrtaceae)*. Journal of pharmacognosy and phytochemistry, Vol n°8. P : 213-216.

**Mongreville, A. (2017).** *Aromathérapie : Législation et toxicologie en France et en Europe, appliquées à la pédiatrie*. Thèse pour l'obtention du diplôme d'État de Docteur en Pharmacie. Université de Rouen, soutenue le : 9 Juin 2017.

**Mouillefert, P. (1892-1898).** *Traité des arbres et arbrissaux*. Atlas, t.4, fig. A. Eucalyptus globulus.

**Mulyaningsih, S., Sporer, F., Reichling, J. et Wink, M. (2011).** *Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens*. Pharmaceutical biology, Vol n°49. Informa healthcare. P : 893–899.

**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.

**Munita, J.M. et Arias, C.A. (2016).** "Mechanisms of Antibiotic Resistance". Kudva, I.T. et al. (eds). *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. 5<sup>ème</sup> édition. American Society for Microbiology, Washington, DC. P: 481-511.

**Muylaert, A. et Mainil, J.G. (2012).** *Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité »*. Annales de Médecine Vétérinaire, Vol n°156. Université de Liège. P : 109- 123.

- OMS. (2016).** *Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens.* Organisation Mondiale de la Santé.
- 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.
- Ouedraogo, A.S., Jean Pierre, H., Bañuls, A.L., Ouédraogo, R. et Godreuil, S. (2017).** *Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisant et évaluation de la menace.* Médecine et santé tropicales, Vol n°27. P : 147-154.
- Paduch, R., Kandefér-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.
- Plésiat, P. (2006).** "Biochimie de la résistance" .Chap 2. Dans : Courvalin et al. (eds). *ANTIBIOGRAMME.* 2<sup>ème</sup> édition. ESKA. Paris.
- Podglajen, I. (2006).** "Génétique de la résistance". Chap 3. Dans : Courvalin et al. (eds). *ANTIBIOGRAMME.* 2<sup>ème</sup> édition. ESKA. Paris.
- Poirot, T. (2016).** *Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie.* Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lorraine, soutenue le : 13 juillet 2016.
- Rello, J., Bunsow, E. et Perez, A. (2017).** *What if there were no new antibiotics? A look at alternatives.* Expert review of clinical pharmacology, Vol n°9. Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group. P : 1547–1555.
- Réseau algérien de surveillance de la résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN). (2019).** *Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques.* 19<sup>ème</sup> rapport d'évaluation (de janvier à décembre 2018).
- Reynaud, J. (2011).** *Comprendre la botanique : histoire, évolution, systématique.* Edition ellipses.
- Reynolds, P.E. (1989).** *Structure, Biochemistry and Mechanism of Action of Glycopeptide Antibiotics.* European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Vol n°8. Springer. P : 943–950.

- 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.
- 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.
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A., Trombetta, D., Ezzat, S., Salem, M.A., Zayed, A., Salgado Castillo, C.M., Emamzadeh Yazdi, S., Sen, S., Acharya, K., Sharopov, F. et Martins, N. (2019).** *Insights into Eucalyptus genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects*. Journal Science Direct. Trends in Food Science & Technology, Vol n°91. Edition Elsevier. P : 609-624. (a)
- Salehi, B., Upadhyay, S., Orhan, I.E., Jugran, A.K., Jayaweera, S.L.D., Dias, D.A., Sharopov, F., Taheri, Y., Martins, N., Baghalpour, N., Cho, W.C. et Sharifi-Rad, J. (2019).** *Therapeutic Potential of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Pinene: A Miracle Gift of Nature*. Biomolecules, Vol n°9. MDPI. P : 1-34. (b)
- Sharkey, L.K.R. et O'Neill, A.J. (2020).** "Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance- Part II". Chap 2. Dans: Bonev, B.B. et Brown, N.M. (eds). *Bacterial Resistance to Antibiotics – From Molecules to Man*. 1ère édition. John Wiley & Sons. P: 27-50.
- Sumanta, M. (2017).** *Sulfonamides*. Researchgate.
- 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.
- Teuscher, E., Anton R. et Lobstein A. (2005).** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Éditions Tec & Doc, éditions médicales internationales et Lavoisier.
- Thréon, A. (1964).** *Botanique*. Edition Bordas.
- Tisserand, R. et Young, R. (2014).** *Essential Oil Safety*. Deuxième édition. Edition Churchill Livingstone Elsevier. China.

**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.

**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

**Wagner, H., Bladt, S. et Zgainski, E.M. (1984).** *Plant Drug Analysis :A Thin Layer Chromatography Atlas.* Traduit par Scott, A. Première édition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

**Weiss, K. (2002).** *La résistance bactérienne la nouvelle guerre froide.* Le Médecin du Québec, Vol n°37. P : 41-49.

**Wichtl, M. et Anton, R. (2003).** *Plantes thérapeutiques.* 2<sup>ème</sup> édition. Edition Tec & Doc, Edition médicales internationales. Lavoisier.

**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.

**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.

**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.

## Apport de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans le phénomène de la résistance aux antibiotiques

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Ecologie Microbienne

### Résumé :

Dans ce travail, nous nous sommes intéressées aux huiles essentielles et plus particulièrement, à l'huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus* et son potentiel dans le traitement des infections aux bactéries multirésistantes. L'objectif ultime était l'évaluation du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis de souches bactériennes multirésistantes isolées de patients souffrants d'infections de la sphère ORL. Pour ce faire, le matériel végétal récolté a subi une analyse botanique, suivie d'un essai chromatographique de l'huile essentielle, obtenue à l'issue de l'hydrodistillation des feuilles. La caractérisation pharmacognosique a confirmé l'identité du matériel végétal, comme faisant partie de l'espèce *Eucalyptus globulus*. La teneur en huile essentielle obtenue est de 19,5 ml/ kg, valeur supérieure à celle fixée par la pharmacopée européenne. L'évaluation du pouvoir antibactérien fera l'objet d'une étude ultérieure.

**Mots clés :** Résistance aux antibiotiques, huile essentielle, *Eucalyptus globulus*, alternatives des antibiotiques.

Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	<b>Mme Mihoubi I.</b>	(Professeure – UFM Constantine)
<b>Examineur :</b>	<b>Mme Oulmi L.</b>	(MCB – UFM Constantine)
<b>Rapporteur :</b>	<b>Mme Alatou R.</b>	(MCA – UFM Constantine)
<b>Co-rapporteur :</b>	<b>Mr. Dallia F.</b>	(MA– Salah Bounbnider–UC3)

**Date de soutenance :** 28/06/2020