



République Algérienne Démocratique Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure de la Recherche Scientifique



Université Echahid Chikh Larbi Tébessi\_TEBESSA-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie

**Filière :** Sciences biologiques

**Option :** Microbiologie appliquée

### Thème

**Etude de l'efficacité comparée des extraits bioactifs d'origine végétale et des molécules synthétiques conventionnelles d'une plante médicinale genre *Eucalyptus* sur des bactéries isolats de différentes localisation infectieuses**

Présentée par

**Melle. Messaoud Kounouz**

**Melle. Bekkai Nouzha**

**Soutenu le : 10/06/2023**

Devant le jury

Dr. Gasmi Salim

Dr. Zouaoui Nassim

Dr. Boukoucha Mourad

M.C.A Université de Tébessa

M.C.A Université de Tébessa

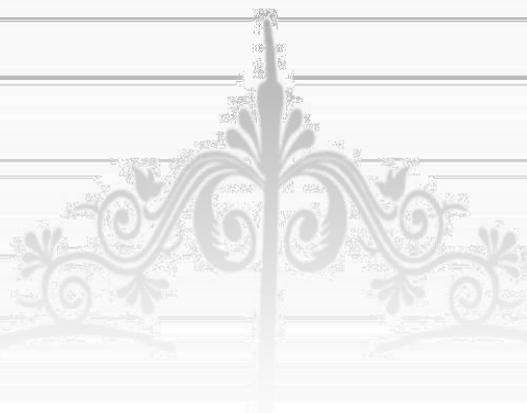
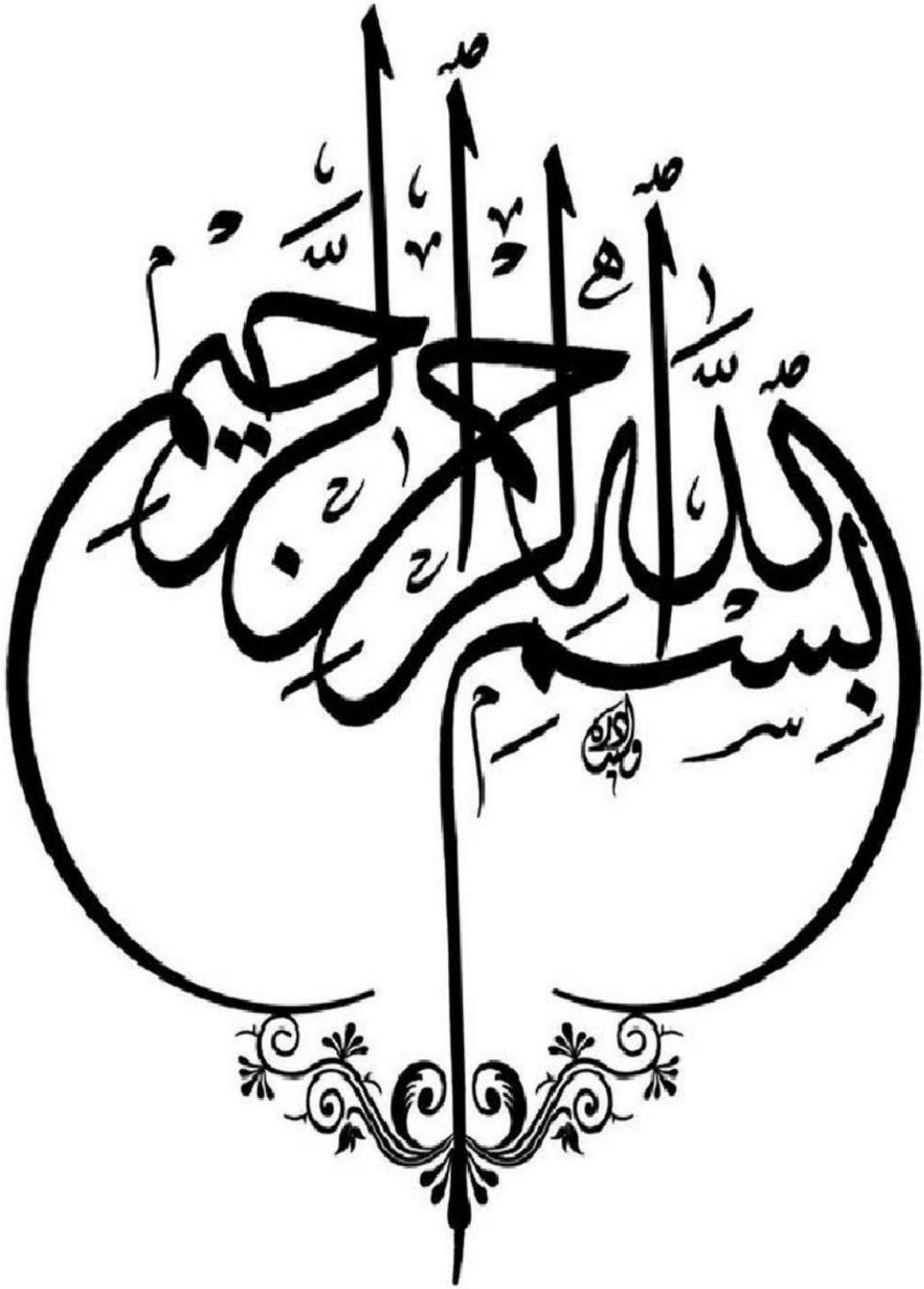
M.C.A Université de Tébessa

Président

Examineur

Rapporteur

**Année universitaire : 2022/2023**



## Remerciement

*Nous remercions tout d'abord **Dieu** le tout puissant pour avoir données La patience, la santé, la volonté, encourage d'achever ce travail.*

*Nous exprime nos remerciement à Notre promoteur **Dr BOUKOUCHA Mourad** Maitre de conférence à la faculté De biologie, Université Echahid Chikh Larbi Tbessi, Pour avoir encadré et dirigé notre travail, on tient vivement à lui exprimer notre profondeur connaissance et notre pour sa disponibilité, sa patient et sa compréhension.*

*Merci pour vos précieux conseil et votre soutien à tous les instants, et surtout merci pour vos qualités scientifiques et humaines qui resteront à jamais un bon exemple pour nous.*

*Nous adressons notre sincère remerciement à **Dr Gasmi Salim** Maitre de conférence à la faculté de biologie, Université Echahid Chikh Larbi Tbessi Tébessa d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous adressons notre sincère remerciement à **Dr ZOUAOUI NASSIM** Maitre de conférence à la faculté de biologie, Université Echahid Chikh Larbi Tbessi*

*Tébessa d'avoir accepté d'examiner notre travail .*

*L'honneur qu'il le nous affait en acceptant d'examiner ce mémoire Nous leur exprimons notre respect et notre profonde sympathie A tout les enseignions qui contribuent dans notre formation pondant tous ces années Merci pour vous tous A toute personne qui a participé de près ou de loin directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

A mes chers parents, ma « **mère** » et mon « **père** ». **pour** leurs amour inestimable ;leurs confiance ,leurs soutien ,et toutes les valeur , pour son affection , ses sacrifices et leurs encouragements ,et pour leurs affection .

A mes chers frères ; **ISLLEM** et **RIYAD**

Chère sœur **ACHAOUK** et mon beau-frère du monde, que Dieu les protèges.

Aux personnes les plus Chères à mon cœur qui Sont absences dans la vie et présence dans mon cœur sont mon Grand-père et Grand-mère ; que DIEU ait pitié d'eux.

Tout ma famille (mes tantes et oncles) leurs soutiens, et leurs amour.

Mon amie intime ; **ROUMAISSA**;

A tous mes cher amis ; **YOUSSRA DONIA**; **HOUDA**; **KHAWTHER**;  
**CHAHRA**; **RAWNEK**; **BOUTHAINA**;

A mes collègues au travail surtout À mon binôme **NOUZHA**. Et toutes qui maconnâit.

**KOUNOUZ**

## Dédicace

أول مدرسة في وجودي، نور أيامي، مصدر جهودي، شعلة قلبي، حياتي، قيمتي  
وسعادتي، أنت يا أمي. صبرك

وتضحياتك وتفهمك

وتشجيعك وصلواتك التي لا تنتهي هي الدعم الأساسي الذي قدمته لي دائمًا. أنا مدينة  
لكي اليوم وغدا. سابقيك دائمًا فخورة

وسأبذل قصارى

جهدي حتى لا أخذلك أبدًا. حفظك الله من مصائب الدنيا وأمدك عمراً.

الى كل من ساهم في انجاز هذا العمل .

La première école de mon existence, la flamme exemplaire, la  
lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon  
cœur, ma vie, ma plus grande valeur et mon bonheur, toi, ma mère.

Votre patience, vos sacrifices, votre compréhension, vos  
encouragements et vos prières sans fin sont le soutien essentiel que  
vous m'avez toujours apporté. Je te dois aujourd'hui et demain. Je te  
garderai toujours fier et ferai de mon mieux pour ne jamais te laisser  
tomber. Que Dieu vous préserve des malheurs de la vie et vous  
accorde une longue vie.

"A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail "

**NOUZHA**

## Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques est la première cause d'échec thérapeutique en maladies infectieuses. Par conséquent des stratégies antimicrobiennes alternatives sont devenu obligatoire. Pendant de nombreuses années Les plantes médicinales ont été la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes alternatives. Dans ce sens notre étude a eu pour objectifs : d'étudier l'activité antibactérienne des extraits bioactifs alcooliques et Acétonique d'une plante médicinale genre *Eucalyptus* achetée à partir d'un herboriste de la région de Tébessa (Est-Algérie), sur des bactéries pathogènes appartenant aux genres : *Staphylococcus* ; *Entérobactéries* ; *Pseudomonas*. Le rendement de l'extraction Acétonique (7,57%) était meilleur que le rendement Méthanolique avec lesquelles on a enregistré (04,31%). L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a été réalisé par méthode des puits sur milieu gélosé. Une série de concentrations : (10mg/100ul), (5mg/100ul), (2,50mg/100ul) et (1,25mg/100ul) a été testé sur les différentes souches. Les résultats obtenus ont révélé une excellente ; très bonne et bonne activité des deux extraits Acétonique avec des intervalles de diamètres ( $>20\text{mm}$ );( $>15;\leq 20\text{mm}$ )et( $>10;\leq 15\text{mm}$ )respectivement vise à vis des Staphylocoques, Entérobactéries et de *Pseudomonas*. L'étude comparative de l'activité antibactérienne des différents extraits avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente, très bonnes activités à l'égard des tous les profils d'antibiorésistances.

Les extraits alcooliques et Acétonique de notre plante genre *Eucalyptus* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de trois genres avec ces différents profils de sensibilité aux antibiotiques.

**MOTS CLES :** *Eucalyptus*, Extraits alcooliques, Extrait Acétonique, Rendement, bactéries, Activité antibactérienne, profil d'antibiorésistance, Etude comparative.

## Abstract

The resistance of bacteria to antibiotics is the leading cause of therapeutic failure in infectious diseases. Therefore alternative antimicrobial strategies have become mandatory. For many years medicinal plants have been the best source of new alternative antimicrobial molecules. In this sense, our study had the following objectives: to study the antibacterial activity of alcoholic and acetic bioactive extracts, obtained by different protocols, of a medicinal plant of the type *Eucalyptus* marketed in the commune of Tébessa, on pathogenic bacteria belonging to the genus: *Staphylococcus*, *Enterobacterias*; *Pseudomonas*. The yield of the acetic extraction (7,57%) was better than to yields: methanolic 80%, with which we recorded (04,31%) respectively. The evaluation of the antibacterial activity of the various extracts was carried out by method of wells on agar medium. A series of concentrations: (10mg/100ul), (5mg/100ul), (2.5mg/100ul) and (1.25mg/100ul) was tested on the different isolates. The results obtained revealed an excellent; very good and good activity of the three extracts with diameter ranges ( $>20\text{mm}$ ) ( $>15; \leq 20\text{mm}$ ) and ( $>10; \leq 15\text{mm}$ ) respectively targets all the *Staphylococci*; *Enterobacterias*; *Pseudomonas*. isolates, This study deduced that the yield of the Methanolic extraction (04.31%) was better than the Acetic yield with which we recorded (7.57%). On the other hand, the antibacterial activity of the Acetic extract was better than the Methanolic one with the bacterial genera tested *staphylococci* and *Enterobacteria*. The comparative study of the antibacterial activity of the different extracts with those of the antibiotics tested has made it possible to record excellent, very good activities with regard to all the antibiotic resistance profiles. The alcoholic and acetic extracts of our plant genus *Eucalyptus* can be promising sources of bioactive substances that inhibit bacteria of three genera with these different antibiotic resistance profiles.

**KEY WORDS:** *Eucalyptus*, Alcoholic extracts, Acetone extract, Yield, Antibacterial activity, Impact extraction protocol; Antibiotic resistance profile, Comparative study.

## ملخص

ان مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية هي السبب الرئيسي للفشل العلاجي للأمراض المعدية لذلك، أصبحت الاستراتيجيات البديلة المضادة للميكروبات الزامية لسنوات عديدة، كانت النباتات الطبية من المصادر المهمة لجزيئات فعالة بيولوجية من مضادات للميكروبات، في هذا الاتجاه كان لدراستنا الاهداف التالية: دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من نوع المكورات العنقودية *Staphylococcus*; *Enthérobactéries*, *pseudomonas* المعوية للمستخلصات الكحولية و الاسيتونية الانشطة بيولوجيا و التي تم الحصول عليها بواسطة بروتوكولات مختلفة لنبات طبي من نوع الكاليتوس *Eucalyptus* يتم تسويقه من قبل بائع الاعشاب في منطقة كيسة ولاية تبسة على البكتيريا المسببة للأمراض التي تنتمي الى المكورات العنقودية *Staphylococcus*; *Enthérobactéries*, *pseudomonas* المعوية، كان مردود المستخلص الاسيتوني (07,31%) افضل من مردود المستخلص الميثانولي الذي سجلت معه (04,31%). تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة بطريقة الثقب على وسط جيلوزي ، أين سلسلة من التراكيز (10مغ/100ملل)، (05مغ/100ملل)، (2.5مغ/100ملل)، (1.25مغ/100ملل) تم اختيارها على العينات المختلفة ، أظهرت النتائج تأثيرات ممتازة، جيدة جدا للمستخلصات بأقطار مداها (<20مم)، (15< و >20) على التوالي ، اتاحت الدراسة المقارنة للنشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المختلفة مع المضادات الحيوية المختبرة تسجيل أنشطة ممتازة و جيدة جدا مع جميع سلسلة العينات باختلاف سمات مقاومتها للمضادات الحيوية .

**الكلمات المفتاحية:** مستخلصات كحولية، خلاصة الاسيتون، المردود، البكتيريا، النشاط المضاد للبكتيريا، خصائص مقاومة المضادات الحيوية، دراسة مقارنة.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Infections bactérienne et leur agent causal.....	6
<b>Tableau 2:</b> Classification des principales classes d'antibiotiques et leurs cibles .....	9
<b>Tableau 3:</b> Activité biologiques des substances bioactives .....	46
<b>Tableau 4 :</b> Classification botanique de genre Eucalyptus .....	52
<b>Tableau 5:</b> souches bactérienne collectés à partir de la pathologie infectieuse humaine.....	53
<b>Tableau 6:</b> Molécules d'antibiotiques utilisés pour chaque souche testée. ....	54
<b>Tableau 7:</b> Table d'interpretation des diamètres des zones d'inhibition enregistrée avec des différents antibiotiques .....	64
<b>Tableau 8:</b> Récapitulatif du rendement des et des caractères organoleptique des différents extraits ( Méthanolique 80%, , Acétonique absolé) .....	66
<b>Tableau 9:</b> Résultats de Staphylococcus (aureus et Epidermidis) de l'activité antibactérienne Observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme.) .....	74
<b>Tableau 10:</b> Résultats des Entérobactéries de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme). ....	75
<b>Tableau 11:</b> Résultats des Pseudomonas. aeruginosa de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme).....	77
<b>Tableau 12:</b> Résultats de l'activité des extrais et les antibiotiques .....	79

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Action des antibiotiques sur les bactéries .....	12
<b>Figure 2:</b> Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	14
<b>Figure 3:</b> les composants des plantes médicinales .....	38
<b>Figure 4:</b> huiles essentielles .....	41
<b>Figure 5:</b> L'appareillage de l'hydrodistillation « Clevenger » .....	43
<b>Figure 6:</b> Représentation schématique du système d'extraction par entraînement a la vapeur .....	44
<b>Figure 7:</b> Illustration schématique du flux de travail de SOX .....	45
<b>Figure 8:</b> Localisation de la région lieu de Tebessa . .....	50
<b>Figure 9:</b> Photographie des feuilles d'Eucalyptus .....	51
<b>Figure 10:</b> la partie aérienne (Feuilles, fruits ) d' <i>Eucalyptus</i> .....	51
<b>Figure 11:</b> Différents disques d'antibiotiques .....	54
<b>Figure 12:</b> Milieux de cultures utilisés : 01: milieu Hektoën, 02: milieu Chapman, 03: milieu MH, 04: milieu Gelose Nutritive) .....	55
<b>Figure 13:</b> Evaporateur rotatif (rota-vap) .....	56
<b>Figure14:</b> Différents étapes de conservation des isolats bactériens .....	57
<b>Figure 15:</b> Protocole d'extraction (Méthanolique 80%, Acétonique absolu) de la partie	

aérienne de la plante d'Eucalyptus .....	58
<b>Figure 16:</b> Différentes étapes de préparation des extraits del'Eucalyptus .....	59
<b>Figure 17:</b> Evaporation des solvants .....	59
<b>Figure 18:</b> Différentes étapes de récupération des souches conservées .....	60
<b>Figure 19:</b> Différents étapes de Préparation de la solution mère et des différentes dilutions	61
<b>Figure 20:</b> Différentes étapes de la technique de puits .....	62
<b>Figure 21:</b> technique d'Antibiogramme .....	63
<b>Figure 22:</b> Aspect macroscopique des différents solvants d'Eucalyptus Extrais Acétonique Extrais Méthanolique .....	66
<b>Figure 23:</b> Entérobactéries « E. Coli » .....	68
<b>Figure 24:</b> Pseudomonas aeruginosa .....	68
<b>Figure 25:</b> Staphylococcus (aureus et Epidermidis) .....	68
<b>Figure 26:</b> l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée.	69
<b>Figure 27:</b> l'Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique 80% vis-à-vis les testée .....	70
<b>Figure 28:</b> l'activité antibactérienne Acétonique vis- à-vis les souches testé.....	71
<b>Figure 29:</b> l'Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis-à-vis les testée .....	71
<b>Figure 30:</b> l'activité antibactérienne de suspension Mère des extraits .....	72

<b>Figure 31:</b> l'activité antibactérienne des souches testée de l'extrait (Méthanolique, Acétonique) vis- à-vis les souches testée (Dilution 1/2) .....	72
<b>Figure 32:</b> l'activité antibactérienne des souches testée de l'extrait (Méthanolique ;Acétonique) vis- à-vis souches testée (Dilution 1/4).....	73
<b>Figure 33:</b> l'activité antibactérienne des souche testée de l'extrait (Méthanolique ;Acétonique) vis –à les souches testée (Dilution 1/8) .....	73
<b>Figure 34:</b> l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à- vis les Staphylococcus (aureus et Epidermidis) .....	74
<b>Figure 35:</b> Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Staphylococcus(aureus et Epidermidis) .....	75
<b>Figure 36:</b> l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à- vis Entérobactéries.....	76
<b>Figure 37:</b> Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Entérobactérie .....	76
<b>Figure 38:</b> L'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Pseudomonas aeruginosa .....	77
<b>Figure 39:</b> Résultats des Pseudomonas. aeruginosa de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) .....	77



# Tables des matières

Remerciement	
Dédicace	
Dédicace	
Résumé	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Tables des matières	
Introduction.....	<b>1</b>

## **Partie I : Synthèse Bibliographique**

<b>I. Chapitre I : Pathologie infectieuse bactérienne et Antibiothérapie.....</b>	<b>5</b>
<b>I.1 Pathologie infectieuse bactérienne humaine.....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.1. Infections nosocomiales .....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.2. Infection cutanée .....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.3. Septicémies .....</b>	<b>5</b>
<b>I.1.4. Infection urinaires .....</b>	<b>5</b>
<b>I.2 Mécanisme de virulence des bactéries .....</b>	<b>7</b>

I.2.1. Entérobactéries .....	7
I.2.2. Pseudomonas.....	7
I.2.3. Staphylocoques .....	8
I.3 Antibiothérapie en pathologie infectieuse humaine .....	9
I.3.1. Sensibilité aux antibiotiques .....	9
I.3.2. Mode d'action .....	12
I.3.3. Lésion à la membrane cellulaire .....	12
I.3.4. Action au niveau de la paroi .....	13
I.3.5. Inhibition de la synthèse des composés biologiques métaboliques .....	13
I.3.6. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques .....	13
I.3.7. Inhibition de la synthèse des protéines .....	13
I.4 Résistance aux Antibiotiques .....	14
I.4.1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques .....	15
<b>II. Chapitre II : Les alternatives d'origine végétale .....</b>	<b>37</b>
II .1 Les plantes médicinales .....	38
II .2 Les différents types des extraits .....	39
II . 3 L'origine des substances bioactives .....	39
II.3.1. Définition .....	39
II.3.2. Origine .....	39

<b>II.3.3.</b> les substances bioactives d'origine animale .....	<b>39</b>
<b>II.3.4.</b> les substances bioactives d'origine végétale .....	<b>39</b>
<b>II .4</b> Les extraits selvatiques .....	<b>40</b>
<b>II.4.1.</b> Définition .....	<b>40</b>
<b>II .5</b> Les Huiles essentielles .....	<b>41</b>
<b>II.5.1.</b> Définition .....	<b>41</b>
<b>II.5.2.</b> Techniques d'extraction .....	<b>42</b>
<b>II.6</b> Activité biologiques des substances bioactives .....	<b>46</b>

**Partie II :partie expérimentale**

<b>III. Partie Expérimentale</b> .....	<b>49</b>
<b>III .1</b> Matériel et méthodes .....	<b>49</b>
<b>III.1.1.</b> Cadre et objectifs de l'étude .....	<b>49</b>
<b>III .2</b> Matériel.....	<b>49</b>
<b>III.2.1.</b> Matériel biologique .....	<b>49</b>
<b>III.2.2.</b> Matériel de laboratoire .....	<b>53</b>
<b>III .3</b> Méthodes .....	<b>58</b>
<b>III.3.1.</b> Conservation des souches .....	<b>58</b>
<b>III.3.2.</b> Extraction de la plante .....	<b>58</b>

<b>III.3.3.</b> Évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits selon la technique des puits ...	<b>61</b>
<b>III.3.4.</b> Interprétation des résultats de l'antibiogramme de différentes souches testées ....	<b>64</b>

### Partie III : Résultats

<b>IV. Résultats</b> .....	<b>67</b>
<b>I.</b> Extraction d'Eucalyptus avec différents solvants .....	<b>67</b>
<b>IV.1.1.</b> Aspect macroscopique et organoleptique des différents extraits .....	<b>67</b>
<b>IV.1.2.</b> Rendement de l'extraction effectuée avec différents solvants .....	<b>68</b>
<b>IV. 2</b> Résultats de récupération des souches bactériennes .....	<b>68</b>
<b>IV. 3</b> Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits d'Eucalyptus (Méthanolique 80 % ,Acétonique absolu ) .....	<b>70</b>
<b>IV.3.1.</b> Résultats de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Méthanolique.....	<b>70</b>
<b>IV.3.2.</b> Résultat de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique .....	<b>71</b>
<b>IV .4</b> Résultats de différentes catégories de l'activité antibactérienne observée avec les suspensions mères et les différentes dilutions des extraits( Méthanolique, Acétonique)....	<b>73</b>
<b>IV.4.1.</b> Résultats de différentes catégories de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) .....	<b>74</b>
<b>IV .5</b> Résultats de Staphylococcus (aureus et Epidermidis) de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) .....	<b>74</b>

<b>IV.5.1. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques testée</b>	
Antibiogramme testée souche (Entérobactéries) .....	<b>76</b>
<b>IV.5.2. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques testée</b>	
Antibiogramme testée souche (Pseudomonas. aeruginosa) .....	<b>78</b>
<b>IV .6 Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques .....</b>	<b>79</b>
<b>IV.6.1. Résultats de l'activité des extrais et les antibiotiques .....</b>	<b>79</b>

## Partie VI: Discussion

<b>V. Discussion .....</b>	<b>82</b>
Conclusion et perspectives.....	<b>84</b>
Les références bibliographiques.....	<b>86</b>
Annexes .....	<b>91</b>

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**PIB**: pathologie infectieuse bactérienne

**HE**: Huile essentiels

**MH** : Milieu de Mueller Hinton

**MO** : Microorganisme

**PA**: Pseudomonas aeruginosa

**SA**: Staphylococcus aureus

**DMSO**: Diméthylsulfoxyde

**E.coli**: Escherichia coli

**EB**: Entérobactéries

**SE**: Staphylococcus epidermidis

**RAM**: résistance aux antimicrobiens

**RBA**: résistance bactérienne aux antibiotiques

**MDR**: La multi résistance aux médicaments **GN**: Gélose nutritive

**CDC**: Le Centre de contrôle des maladies infectieuses

**OMS**: l'organisation mondiale de la santé

**BLSE**: Bêta-lactamase à spectre étendu

**AP**: antiprolifératif

# **Introduction**

# Introduction

---

## Introduction

Les maladies infectieuses demeurent une menace mondiale pour la santé. Certaines sont endémiques dans de nombreuses régions, entraînant des charges importantes et constantes. D'autres se propagent à l'échelle mondiale, causant la mort de millions de personnes (**Baker et al., 2021**). De plus, la récurrence des infections émergentes à capacité d'expansion rapide constitue un problème de grand ampleur pour l'être humain (**Collignon et al., 2018 ; Bloom et Cadarette, 2019**).

L'augmentation de la résistance aux antimicrobiens et la première cause d'échec thérapeutique dans le domaine des maladies infectieuses, avec une propagation mondiale rapide, ce qui constitue une grave menace pour la santé publique dans le monde (**Bloom et Cadarette, 2019 ; Mancuso et al 2021**). Plusieurs mécanismes sont utilisés par les bactéries pour résister aux antibiotiques : (i) réduction de l'absorption bactérienne de l'antibiotique; (ii) la production d'enzymes hydrolytiques, telles que les  $\beta$ -lactamases, qui inactivent le médicament antimicrobien ; (iii) la modification de l'antimicrobien récepteur de drogue; (iv) réduction de la concentration de médicament antimicrobien dans l'environnement intracellulaire par les pompes à efflux présentes dans les membranes bactériennes; (v) modification de la voie enzymatique, conduisant à une diminution de la sensibilité bactérienne à l'antibiotique (**Leski et Tomasz, 2005; Piddock, 2006; Rouveix, 2007; Stavri et al., 2007**).

En conséquence le développement de médicaments efficaces est devenu urgent ; mais malheureusement, il s'agit d'un processus lent (**Ventola, 2015 ; WHO, 2018**). Le Centre de contrôle des maladies infectieuses (CDC) et l'organisation mondiale de la santé (OMS) ont publié une liste d'agents pathogènes bactériens prioritaires qui suscitent la recherche et le développement de nouveaux agents anti-infectieux, mais la situation ne cesse de s'aggraver (**Ventola, 2015**). Il est absolument essentiel de développer des stratégies antimicrobiennes alternatives, afin de lutter contre ce grave problème auquel la société est confrontée aujourd'hui à savoir : (i) thérapie phagique; (ii) thérapie à la lysine ; (iii) les bactériocines et les peptides antimicrobiens (**Hanlon, 2007 ; Almeida et al., 2009**).

De plus Les origines naturelles ont été pendant de nombreuses années la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes (**Souza et al., 2016**). Les métabolites primaires et secondaires synthétisés par les animaux, les micro-organismes et ainsi que les végétaux, ont influencé le développement de traitements pour un éventail de maladies et de problèmes de santé, y compris les maladies infectieuses, les processus inflammatoires et le cancer (**Dejani et al, 2021, Omokhefe Bruce 2022**). Les plantes sont une source naturelle et riche d'agents biologiquement actifs prometteurs. Les propriétés antibactériennes naturelles des plantes sont connues depuis des siècles ;, ils sont reconnus comme prometteurs contre les bactéries résistantes aux antibiotiques (**Nj et al., 2021**). Dans ce sens et pour contribuer dans la lutte contre les maladies infectieuses causées par des bactéries pathogènes, notre travail a eu pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne des extraits bioactifs alcooliques et Acétonique d'une plante médicinale du genre *Eucalyptus* sur une gamme de Bactéries pathogènes collectés à partir de différentes pathologies infectieuses .

Ce qui a incité à mener une étude portant principalement sur :

## Introduction

---

- Évaluation du rendement d'extraction des substances bioactives à partir de la partie aérienne (Feuilles) par macération avec les différents solvants alcoolique et Acétonique d'une plante médicinale *Eucalyptus*.
- Appréciation de l'activité antibactérienne des différents extraits par méthode de diffusion
- Étude de l'impact des protocoles d'extraction sur le rendement d'extraction ainsi que sur l'activité antibactérienne.
- Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques (Antibiotique) sur les mêmes souches bactériennes et détermination de profile de sensibilité aux ATB.
- Évaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques.

Notre travail a été organisé comme suivant :

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons présenté une synthèse bibliographique en deux chapitres. Le premier chapitre présente une généralité sur les pathologies infectieuses et l'antibiothérapie ; le second chapitre englobe quelques notions, sur les alternatives et les sources des molécules bioactives d'origine végétale.

La deuxième partie est la partie expérimentale qui comporte les tests et protocoles utilisés pour atteindre les objectifs de notre travail ; les résultats obtenus suivi d'une discussion et enfin une conclusion et perspectives des travaux.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Pathologie infectieuse bactérienne et Antibiothérapie**

## I. Chapitre I : Pathologie infectieuse bactérienne et Antibiothérapie

### I.1 Pathologie infectieuse bactérienne humaine

Selon Nicole (2020), les maladies infectieuses se définissent comme suit : « Des affections générées par des agents pathogènes qui peuvent être des bactéries, des virus ou d'autres micro-organismes tels que des parasites ou des champignons. Après s'être introduits dans l'organisme, ces agents pathogènes se multiplient et perturbent les fonctions corporelles. ». (Nicole 2020).

Par ailleurs, celle-ci ajoute que les maladies infectieuses sont causées par des agents pathogènes qui peuvent se transmettre d'un homme à un autre, d'un animal à un autre, ou encore à partir d'un animal à un être humain. D'ailleurs, celle-ci avait confirmé qu'un pourcentage supérieur à 60% des maladies infectieuses dont souffre l'être humain sont causées par les animaux.

En outre, il faut noter que dans quelques cas, les maladies infectieuses peuvent également être transmises à travers des organismes vivants, notamment : les insectes qui conservent les agents pathogènes et les propages, suite aux piqûres des personnes.

#### I.1.1. Infections nosocomiales

Les infections à *P. aeruginosa* représentent environ 11 % des infections nosocomiales et touchent particulièrement les sujets immunodéprimés. Ces infections sont redoutables par leur pronostic, la létalité atteignant jusqu'à 50 % dans les septicémies et les pneumopathies (Lim Tet al., 2006).

#### I.1.2. Infection cutanée

Les manifestations cutanées des infections à *P. aeruginosa* accompagnent fréquemment une septicémie. L'ecthyma gangrenosum correspond à la manifestation la plus classique : il s'agit d'ulcérations cutanées nécrotiques aiguës avec halo érythémateux inflammatoire, atteignant le plus souvent les régions périnéales et fessières, pouvant apparaître isolément ou correspondre à des localisations secondaires d'une septicémie (Carsuzaa et al., 2002 ; Belhadjali et al., 2006) (Tableau 01).

#### I.1.3. Septicémies

La bactérie *S.aureus* est alors responsable de septicémies à l'origine de localisations viscérales pleuro-pulmonaires (abcès bulleux), cardiaques (endocardites aiguës), ostéo-articulaires (ostéomyélites) (Prévost et al., 2004).

#### I.1.4. Infection urinaires

*Escherichia coli* uropathogène (*E. coli*) (UPEC) est l'agent infectieux dominant dans les deux infections urinaires compliquées. *Enterococcus spp.* Et *Candida spp.* Sont nettement plus fréquents dans les infections compliquées, tandis que *Staphylococcus saprophyticus* est rare (Alós, 2005). L'infection par UPEC augmente la probabilité de récurrence dans les 6 mois

(Alós, 2005) (Tableau 01).

Tableau 1: Infections bactérienne et leur agent causal.

Type d'infection	Agent causal	Traitement nécessaire	Références		
Infection urinaires	Dans 80% des cas, ce type d'infection est causé par les bactéries présentes dans l'intestin (à savoir <i>Escherichia coli</i> ).	-Cortisone et antibiotiques.	Imam et al.2023)		
		-Chirurgie (lors d'un abcès, de correction d'anomalies structurelles sous-jacentes ou lors du soulagement de l'obstruction).			
		Pénicilline ou céphalosporine .	M.Busch. 2021		
		Méningite bactérienne	-Cette pathologie est causée par le pneumocoque ( <i>Streptococcus pneumoniae</i> ) ou le méningocoque ( <i>Neisseria meningitidis</i> ). -Elle se transmet par contact direct avec une personne contaminée (à travers la toux, les éternuements...).	Les antibiotiques bactéricides pour les bactéries responsables de cette pathologie (Ampicilline, Céfotaxime, ceftriaxone...).	Greenlee. 2022

<p><b>Pneumonie</b></p>	<p>-Due à différents micro-organismes, notamment les bactéries (notamment :</p> <p><i>Mycoplasma hyopneumoniae et</i></p> <p><i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>).</p>	<p><b>Antibiotiques d'ordre antiviraux, antifongiques ou antiparasitaires.</b></p>	<p><b>Sethi. 2022</b></p>
-------------------------	---	--	---------------------------

## I . 2 Mécanisme de virulence des bactéries

Le mécanisme de virulence pour chaque type de bactéries (*Enterobactéries, Pseudomonas, et Staphylocoques*).

### I.2.1. Entérobactéries

Ce premier type de bactéries, celui-ci commence, comme phase initiale, par l'invasion des cellules épithéliales intestinales. Ainsi, un système de sécrétion de type III très finement est détecté, comme réponse à des variations de signaux environnementaux.

En effet, cette bactérie dispose de protéines sur sa surface, permettant l'adhésion à l'épithélium digestif (causant ainsi des diarrhées).

### I.2.2. Pseudomonas

Par ailleurs , pour ce qui est des pseudomonas, ces bactéries disposent d'un pouvoir pathogène lié principalement à son système de sécrétion de type III (SST3), qui est puissant et pousse un grand nombre de toxines à entrer dans les cellules de l'hôte, en engendrant ainsi une inflammation considérable ainsi que des dégâts tissulaires importants (**Sylvie., 2014**).

#### A. Lipopolysaccharide (LPS)

Le LPS, localisé dans la membrane externe des bactéries à Gram négatif est, d'une part, connu pour son rôle protecteur contre la lyse provoquée par le sérum et, d'autre par rapport à son activité endotoxique, Il est également impliqué dans la stimulation de la réponse inflammatoire et dans les interactions avec les tissus hôtes. La molécule de LPS peut être divisée en trois parties (**Rocchetta et al., 1999**).

Le lipide A, aussi appelé endotoxine, est responsable d'une stimulation excessive du système immunitaire pouvant provoquer un choc septique et conduire à la mort

L'antigène O qui est une région polysaccharidique variable.

Ainsi, celle-ci provoque principalement plusieurs dégâts à la santé de l'être humain, notamment : des infections pulmonaires aiguës ou chroniques.

### **B. Le flagelle**

Le flagelle bactérien est une structure rotative actionnée par un moteur situé à la base, qui entraîne un filament agissant comme une hélice (**Bardy et al., 2003**) responsable de la mobilité de type “swimming” (**Kohler et al., 2000**)

#### **Les pili de type IV**

Responsable de l’adhésion aux cellules épithéliales pulmonaires (**Hahn., 1997**). Les pili de type IV sont impliqués dans les mobilités de type “twitching” (**Kaiser, 1999**) et de type “swarming” (**Kohler et al., 2000**).

### **C. Facteur d’attachement de type fimbriae**

Ils sont essentiels pour l’adhérence aux surfaces abiotiques et dans la formation du biofilm (**Vallet et al., 2001**).

#### **I.2.3. Staphylocoques**

Il s’agit d’une infection qui comporte à la fois plusieurs facteurs de virulence, à savoir : des protéines de surface, des cytotoxines, des enzymes et des super antigènes.

Durant la phase exponentielle de croissance, les protéines de surface sont synthétisées, au moment où les exo protéines ne sont synthétisées que lors de l’étape stationnaire. En effet, les différentes phases du type de l’infection staphylococcique nécessitent des panels différents de facteurs de virulence, qui se présentent comme suit : (**Munck, 2014**).

Le nécessité des protéines de surface afin de joindre (lier) la matrice extracellulaire et coloniser les tissus lors de la phase initiale de l’infection .

Pour ce qui est la phase de dissémination de l’infection, celle-ci requiert des exo protéines, dont nous pouvons citer parmi les facteurs de virulence ce qui suit : les protéines de surface (adhésines) qui ont pour but d’assurer la colonisation de l’hôte et les facteurs permettant le développement et l’extension de l’infection ainsi que des toxines spécifiques agnats causals de syndromes toxiniques. (**Garau et al., 1997**).

Les toxines formant des pores Ces toxines cytolytiques ont la capacité de détruire les cellules de la défense de l'hôte en formant des pores au niveau des membranes cellulaires. (Lesieur C et al., 1997)

Les toxines à activité protéolytique ou anti-protéolytique

Super antigènes

## I.3 Antibiothérapie en pathologie infectieuse humaine

### I.3.1. Sensibilité aux antibiotiques

La classification des antibiotiques ne représente pas un procédé facile, étant donné que celle-ci doit être faite en s'intéressant à la structure ainsi qu'aux caractéristiques chimiques ou aux propriétés biologiques et la source de chaque type (Korzybski et al., 1967). Dans ce même sens, nous allons nous focaliser sur les principales classes d'antibiotiques et leurs cibles ; mises en place par (Munck, 2014 ;BOULAHBAL, 2006 ;Garau et al., 1997). ( Tableau02

**Tableau 2:** Classification des principales classes d'antibiotiques et leurs cibles (Munck,2014 ;BOULAHBAL, 2006 ;Garau et al., 1997)

Classes d'antibiotiques	Exemple		leurs cibles
Bêta-lactamines	Pénicillines (ampicilline)	Pénicillines G Pénicillines V Pénicillines à action semiretard Pénicillines M Pénicillines A	Synthèse de la paroi cellulaire

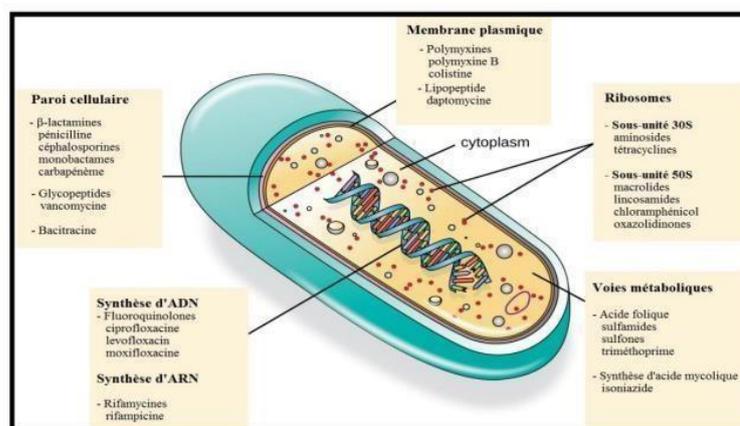
	Céphalosporines (céfotaxime)	De 1ère génération De 2ème génération De 3ème génération De 4ème generation	
	- Carbapénèmes (méropénème)	Doripenem Imipenem Meropenem	
<b>Quinolones</b>	Acide nalidixique, Ciprofloxacine		<b>Gyrase / topoisomérase IV</b>
<b>Aminoglycosides</b>	Streptomycine, gentamicine, amikacine		<b>Sous-unité ribosomale 30S / membrane cellulaire</b>
<b>Macrolides</b>	Erythromycine, Azithromycine	<b>Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S</b>	
<b>Tetracycline</b>	Tetracycline, Tigecycline	<b>ribosomal 50S sous- unité</b>	
<b>Oxazolidinones</b>	Linezolid	<b>Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S sous- unité</b>	

<b>Phenicol</b>	Chloramphénicol	<b>Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S</b>  sous-unité
<b>Lincosamide</b>	Clindamycine, Lincomycine	<b>Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S</b>
<b>Macrolides</b>	Erythromycine, Azithromycine	<b>Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S</b>
<b>Tetracycline</b>	Tetracycline, Tigecycline	<b>Liaison de l'ARNt dans la sous-unité ribosomique</b>  30S
<b>Oxazolidinones</b>	Linezolid	<b>Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S sous-</b>  unité
<b>Phenicol</b>	Chloramphénicol	<b>Centre de peptidyl transférase dans le ribosomal 50S</b>  sous-unité
<b>Lincosamide</b>	Clindamycine, Lincomycine	<b>Tunnel de sortie des peptides dans la sous-unité ribosomique 50S</b>

Sulfonamides	Sulfamethoxazole	Synthèse du tétrahydrofolate
Benzylpyrimidine	Triméthoprime	Synthèse du tétrahydrofolate
Rifamycine	Rifampicine	ARN Polymérase
Nitroimidazoles	Metronidazole	Dommages généraux à l'ADN
Nitrofurans	Nitrofurantoïne	Dommages généraux à l'ADN
Lipopeptide	Daptomycine	Membrane cellulaire
Glycopeptide	Vancomycine	Synthèse de la paroi cellulaire

**I.3.2. Mode d'action**

Pour ce qui est du mode d'action des antibiotiques, nous remarquons d'après la figure ci-dessous, qu'il existe 5 grands mécanismes d'action des antibiotiques, qui se présentent comme suit : **(Figure 01)**



**Figure 1:** Action des antibiotiques sur les bactéries

**I.3.3. Lésion à la membrane cellulaire**

Il s'agit des membranes plasmiques des bactéries qui contiennent des acides gras, sujets à la synthèse dans la cellule. **(Davies , 2010)**. Dans ce cas, les cibles des antimicrobiens

représentent les phases métaboliques de la synthèse des acides gras ainsi que des phospholipides membranaires.

### **I.3.4. Action au niveau de la paroi**

Pour ce qui est de ce mode d'action lié à la paroi, les cellules bactériennes dans ce cas, se retrouvent d'une paroi cellulaire construite en peptidoglycane,  $\beta$ -lactames et glycopeptides qui bloquent la synthèse de la paroi cellulaire. **(Livermore, 2021)** Dans ce même sens, pour ce qui est des antibiotiques bêta-lactamines, ce sont les agents  $\beta$ -lactame qui ciblent la couche de peptidoglycane et causent sa rupture, ce qui engendre la lyse de la bactérie.

Par ailleurs, il s'avère extrêmement important de noter que les glycopeptides se joignent à la partie D-alanyl D-alanine de la chaîne latérale peptidique de la sous-unité peptidoglycane précurseur. Ainsi, l'antibiotique contenant la vancomycine inhibe la liaison de cette sous-unité D-alanyle avec le Penicillin-Binding Protein et bloque ainsi la synthèse de la paroi cellulaire. **(Malachowa, 2010)**

### **I.3.5. Inhibition de la synthèse des composés biologiques métaboliques**

Ce deuxième type d'antibiotiques consiste à inhiber la synthèse de composés biologiques métaboliques.

En effet, il s'agit d'un type de médicaments qui représentent des analogues structuraux de substrats, qui assurent le même rôle des substrats pour ce qui est des enzymes mobilisées dans les réactions métaboliques.

A titre indicatif, nous notons L'acide para-aminobenzoïque (PABA) qui représente un substrat pour la synthèse de l'acide folique. Celle-ci est une coenzyme mobilisée dans les réactions de synthèse des purines ainsi que des acides aminés **(Malachowa, 2010)**.

### **I.3.6. Inhibition de la synthèse des acides nucléiques**

Ce type d'antibiotiques empêche la biosynthèse des protéines, tout en visant le Sous-unité 30S ou 50S du ribosome bactérien. Ainsi, en ce qui concerne les inhibiteurs de la sous-unité 30S, nous notons les aminosides ainsi que les tetracyclines. Par ailleurs, pour ce qui est des inhibiteurs de la sous-unité 50S, nous pouvons évoquer la Chloramphénicol, les macrolides ainsi que les oxazolidinones **(Malachowa, 2010)**

### **I.3.7. Inhibition de la synthèse des protéines**

Ce type d'antibiotiques sont capables de bloquer la réplication, la transcription ainsi que la synthèse des folates des micro-organismes. Ainsi, pour ce qui est du blocage de la réplication, nous notons : les Quinolones et la Mitomycine C, alors que pour la paralysie de la transcription, nous notons la Rifampicine **(Malachowa, 2010)**.

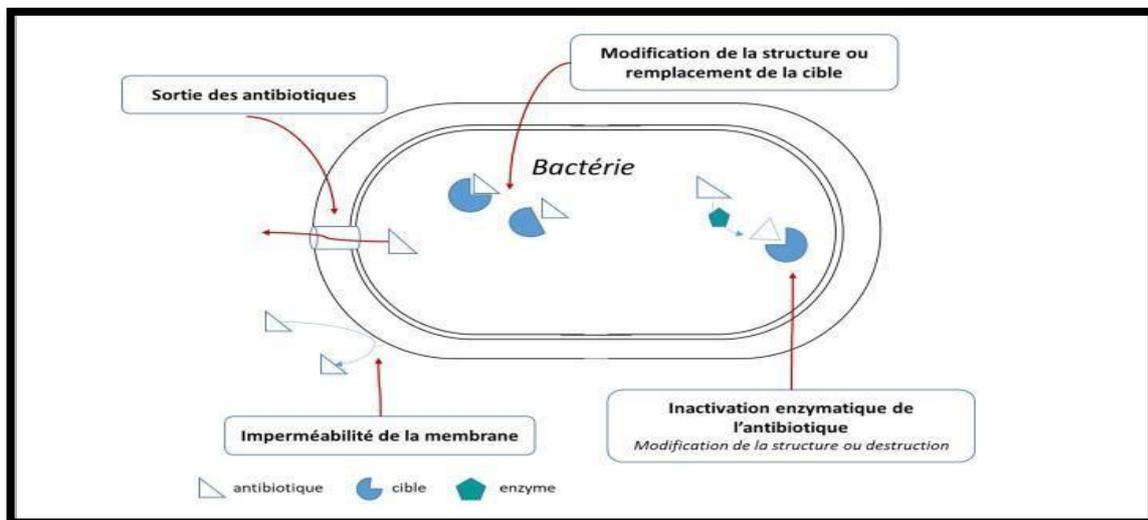
## I.4 Résistance aux Antibiotiques

Suite à la production massive des antibiotiques durant ce dernier siècle, et leur prise en charge de façon généralisée de nombreuses infections, il a été noté que leur utilisation a augmenté considérablement, avec un pourcentage de **40 %**, lors de la période comprise

entre 2000 et 2010 (**Van Boeckel TP et Al ., 2014**).

C'est dans ce même contexte, et suite à une utilisation assez répétitive par quelques individus des antibiotiques, que ces derniers ont développé une résistance. D'ailleurs, la résistance aux antibiotiques, appelée également antibiorésistance se définit comme suit :

« l'inefficacité du traitement antibiotique sur l'infection bactérienne ciblée. ». Ci-dessous une figure représentant les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Figure02**).



**Figure 2:** Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Opatowki, 2020**)

En effet, quand ces mécanismes ne se révèlent pas être naturels chez une espèce bactérienne, c'est à ce moment que la résistance est susceptible d'avoir lieu à travers l'acquisition de nouveaux gènes de résistance, en procédant de deux différentes manières.

En effet, la première façon est à travers un transfert vertical et la deuxième d'une manière horizontale. Ainsi, lors du transfert vertical, les gènes de la bactérie sont susceptibles de muter, vers un autre emplacement génomique stratégique, ce qui permet ainsi de modifier la structure ou la modulation d'expression de la molécule cible. Ensuite, ces gènes obéiront à une réplique lors du moment de la division cellulaire, et seront conservés grâce au deux cellules filles.

Pour ce qui est du transfert horizontal, la bactérie a la capacité de développer un seul ou

plusieurs gènes de résistance à l'aide des éléments transposables, qui se trouvent dans les microorganismes ; et qui sont intégrés directement dans ma cellule ou à travers le chromosome bactérien. Ceci offre la possibilité des transferts de gènes de résistance entre

les différentes bactéries ainsi que le développement d'un grand nombre de gènes de résistance, concernant une seule et même bactérie. (Malachowa, 2010)

### I.4.1. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Il ne fait aucun doute que le stock d'antibiotiques a sauvé l'humanité. Populations atteintes de diverses infections bactériennes pathogènes, La résistance aux antibiotiques n'est pas un phénomène nouveau.

Pour comprendre les facteurs qui contribuent aux mécanismes de résistance, il est important de comprendre le mécanisme d'action des antibiotiques. En général, il existe cinq principaux modes de fonctionnement. (1) la biosynthèse des peptidoglycanes, (2) la synthèse des acides nucléiques, (3) la synthèse des protéines et (4) le métabolisme, et enfin (5) la perturbation des enzymes nécessaires à la perturbation de la membrane cytoplasmique (Kohanski et al., 2010).

Les antibiotiques agissent par un ou plusieurs de ces mécanismes. Le schéma résume le mécanisme d'action des principales classes d'antibiotiques. Une revue détaillée de ces mécanismes a été fournie par Kohanski et al. (2010).

Les agents pathogènes acquièrent une résistance aux antibiotiques par la façon dont ils sont affectés. L'émergence de la résistance varie généralement selon l'espèce, la classe de médicaments et sa cible. Le cas échéant Lorsque les antibiotiques interfèrent avec des voies de signalisation spécifiques, les microbes activent des mécanismes sophistiqués alternatifs pour empêcher l'action bactériostatique ou bactéricide des médicaments (Munita et Arias, 2016).

La résistance aux antimicrobiens est généralement due à des facteurs biologiques naturels, notamment des aspects biochimiques et génétiques. Cependant, la surutilisation des antibiotiques dans l'agriculture, la surutilisation comme désinfectants dans les ménages et le mauvais contrôle des infections et l'hygiène dans les soins de santé aggravent la crise.

#### A. Aspects biochimiques de la résistance

Les micro-organismes ont évolué pour échapper à la mort antimicrobienne et acquérir une résistance par diverses voies biochimiques. Comme le montre la figure 4, les voies biochimiques de résistance sont diverses mais peuvent être classées en fonction de la prévalence d'agents pathogènes médicalement importants (D'zidic et al., 2008 ; Munita et Arias, 2016).

#### B. Inactivation des antibiotiques

L'inactivation des antibiotiques est un processus enzymatique dans lequel les molécules d'antibiotiques sont inactivées par des enzymes produites par des cellules

bactériennes résistantes. Les stratégies d'inactivation des molécules antibiotiques comprennent l'hydrolyse, le transfert de groupe et les processus redox. Un exemple bien étudié d'inactivation hydrolytique est la perturbation des anneaux  $\beta$ -lactamines des pénicillines, des céphalosporines et des carbapénèmes par des bactéries productrices de  $\beta$ -lactamase telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter spp.*, 1994). Et des enzymes telles que les acyltransférases, les phosphotransférases, les thioltransférases (Wright, 2005).

Un processus redox est l'inactivation par oxydation ou réduction d'une molécule médicamenteuse (Wright, 2005).

Cependant, comparée aux mécanismes d'hydrolyse et de transfert de groupe, cette voie est peu courante dans la pratique médicale (Dzidic et al., 2008).

### C. Pénétration réduite des antibiotiques

Étant donné que la plupart des antibiotiques utilisés en milieu clinique ciblent les propriétés intracellulaires, les bactéries ont évolué pour limiter la pénétration des antibiotiques en réduisant la perméabilité des membranes cellulaires. Par exemple, la couche externe de la paroi cellulaire de *Mycobacterium tuberculosis* est hautement lipophile car elle est composée d'acides mycoliques, des acides gras à longue chaîne (Jackson, 2014).

La pénétration des médicaments hydrophiles dépend des canaux des pores, et il a été rapporté que les porines mycobactériennes ralentissent la pénétration en raison de leurs faibles concentrations (Jarlier et Nikaido, 1994).

Ainsi, la paroi cellulaire mycobactérienne forme une barrière de perméabilité aux antibiotiques, entraînant une résistance naturelle à divers antibiotiques. Des études ont montré que l'activité des molécules hydrophiles (telles que l'isoniazide) peut être renforcée par la conversion chimique en composés lipophiles, améliorant la pénétration des antibiotiques à travers les membranes bicouches lipidiques (Parumasivam et al., 2013)

### D. Activation des pompes d'efflux

Le rôle des pompes d'efflux dans l'atténuation de la résistance aux antibiotiques a fait l'objet d'une attention considérable au fil des ans. Les pompes à efflux sont des protéines de transport présentes dans les membranes des parois cellulaires bactériennes qui transportent les nutriments et expulsent les composés toxiques de l'environnement cellulaire. Cependant, les mécanismes d'efflux sont de plus en plus reconnus comme un élément clé de la résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques (Soto, 2013 ; Varela et al., 2013).

Les pompes d'efflux peuvent être spécifiques à un antibiotique, tandis que les pompes d'efflux multidrogues (MEP) peuvent évacuer une variété d'antibiotiques structurellement et fonctionnellement distincts (Fiamegos et al., 2011).

Les principales classes d'antibiotiques connues pour être éliminées par les pompes à efflux bactériennes endogènes sont les macrolides, les  $\beta$ -lactamines, les fluoroquinolones, les oxazolidinones et les céphalosporines et carbapénèmes de quatrième génération (Li et

Nikaido Li et al., 2015).

### E. Contournement cible

Les bactéries contournant la cible produisent des protéines de substitution qui prennent le relais des protéines naturelles qui permettent aux cellules de développer une résistance aux antibiotiques (**Giedraitiene et al., 2011**).

Le gène *mecA* code pour une nouvelle protéine de liaison à la pénicilline (PBP), PBP-2A, qui confère une résistance à la méthicilline chez *Staphylococcus aureus* (**Wielders et al., 2002**).

Lors de l'exposition à la méthacilline, les PBP de haute affinité ont été transportés vers le bas, tandis qu'un PBP de faible affinité, PBP-2A, a repris le rôle de ces PBP dans la propagation bactérienne (**Enright, 2003 ; Hartman et Tomaz, 1984**).

*mecA* contient également des constructions géniques telles que Tn554, pUB110 et pT181 qui codent la résistance aux antibiotiques non- $\beta$ -lactamines (**Ito et Hiramatsu, 1998**). Des antibiotiques à haute affinité pour PBP-2a sont à l'étude pour le traitement du SARM, mais aucun n'est entré dans les essais cliniques.

# **Chapitre II**

## **Les alternatives d'origine végétale**

## II. Les alternatives d'origine végétale

Les alternatives d'origine végétale sont de plus en plus recherchées dans différents domaines, tels que l'alimentation, les cosmétiques, les matériaux de construction et l'énergie. Cette tendance est principalement due à une prise de conscience croissante des problèmes environnementaux et des préoccupations liées à la durabilité. Les produits d'origine végétale offrent des solutions potentielles pour réduire notre dépendance aux ressources non renouvelables et minimiser notre impact sur l'environnement. La phytothérapie, qui apporte des remèdes naturels bien tolérés par l'organisme, Souvent associé à une thérapie conventionnelle. Actuellement, elle crée un boom inhabituel, notamment dans le domaine médical.

De plus, à travers Les médicaments déstabilisent les usagers qui ont recours à des traitements moins agressifs (**Iserin et al., 2001**).

Actuellement, les recherches sur les effets pharmacologiques des plantes progressent et sont publiées. Par conséquent, de nombreuses études scientifiques soutiennent son utilisation. Explorer les plantes médicinales traditionnelles et parfois de nouvelles indications. Les études analytiques fournissent également de meilleures informations à propos de la composition chimique et du mécanisme d'action des plantes et/ou de leurs composés

(**Dessoroux et al., 2011**).

La découverte des antibiotiques a été une véritable révolution dans la lutte contre les infections. Cependant, la consommation inappropriée et la surconsommation d'antibiotiques sont en augmentation. La sélection de bactéries multi résistantes est désormais un problème majeur. Antibiothérapie et santé publique.

Influence collective et individuelle Ce problème est sérieux : La plupart des infections, qu'elles soient bénignes ou graves, Le traitement devient de plus en plus difficile (**Chebaibi et al., 2011**).

La résistance bactérienne aux antibiotiques reste aujourd'hui un problème de santé publique. La situation dans les hôpitaux semble particulièrement préoccupante. La pression de sélection découle de l'utilisation généralisée et de la prévalence de l'antibiothérapie.

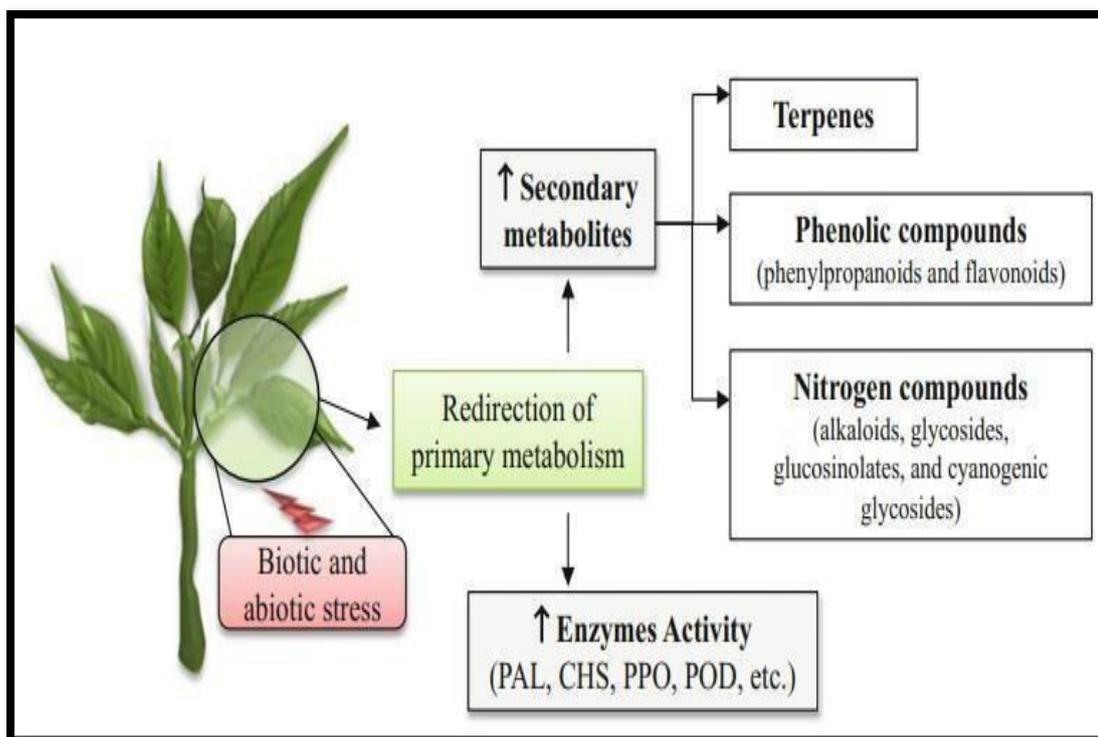
Les souches résistantes aux épidémies sont les deux facteurs de conditionnement les plus importants Cet élargissement (**Soussy, 2007**).

Utilisation des ressources naturelles en général et des plantes médicinales en particulier l'un des outils les plus importants et les plus intéressants pour la recherche Nouveaux produits antimicrobiens plus efficaces (**Chebaibi et al., 2011**).

## II . 1 Les plantes médicinales

Les plantes sont appelées médicinales en raison de la présence de certains métabolites secondaires en elles qui ont un effet physiologique profond sur le système mammalien. Ces composés ont des effets curatifs, additifs ou synergiques sur la santé humaine. Bien qu'ils puissent être présents dans tout le corps de la plante, des concentrations plus élevées peuvent être présentes dans une ou plusieurs parties telles que la tige, les racines, l'écorce, les graines ou les feuilles. Bien que les métabolites secondaires (non impliqués dans le métabolisme) soient considérés comme des déchets de la plante, de nombreuses preuves démontrent qu'ils agissent comme des modulateurs de croissance des plantes ou sont réutilisés par la plante productrice en tant que métabolites primaires (impliqués dans le métabolisme primaire). Les métabolites secondaires sont également impliqués dans la défense des plantes (**Erb et al ;2020**).

La plupart des plantes médicinales sont une source de plusieurs médicaments précieux connus sous le nom de produits naturels ou métabolites secondaires. Seule une poignée de plantes médicinales sont cultivées, tandis que la plupart d'entre elles sont encore collectées dans la nature. En raison de la forte demande pour ces produits, leur surexploitation a entraîné la mise en danger des espèces, la perte de biodiversité, l'altération des matières végétales et des produits, ainsi que des effets sur l'écosystème (**Halina et al ;2021**) . (**Figure03**)



**Figure 3:** les composants des plantes médicinales (**Borgesetal.,2017**)

**II . 2 Les différents types des extraits****II . 3 L'origine des substances bioactives****II.3.1. Définition**

Le terme "bioactif" est composé de deux mots : "bio-" et "-actif" ; "bio" vient du grec "bios" qui signifie vie, et "actif" vient du mot latin "activus" qui signifie énergique. Ce sont des composés ayant une activité biologique, qui ont un effet direct sur un organisme vivant. Les effets de ces composés peuvent être positifs ou négatifs selon les substances, la dose ou la biodisponibilité.(Chataoui et al ;2022)

En outre, Les ingrédients bioactifs sont des molécules pharmacologiquement et biologiquement actives obtenues à partir de sources naturelles ou par synthèse chimique.

Les substances bioactives naturelles bénéfiques sont des molécules tirées d'une source naturelle biologique (animale ou végétale ou micro-organisme), ayant des propriétés physico-chimiques bénéfiques (anti-tumorales, antivirales, antifongiques, antimicrobiennes, antioxydantes, cicatrisantes...) offrant un large champ d'application : additifs nutritionnels, compléments alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques, , ...) (Anonyme ;2020)

**II.3.2. Origine**

Les substances bioactives peuvent provenir à la fois de sources animales et végétales :

**II.3.3. les substances bioactives d'origine animale**

Dans le règne animal, certains tissus, organes ou sécrétions peuvent contenir des composés bioactifs. Par exemple, la bile d'ours est utilisée dans la médecine traditionnelle chinoise pour ses propriétés anti-inflammatoires, et le venin de serpent est étudié pour ses applications potentielles dans le domaine pharmaceutique.

Il se trouvent sous forme des acides gras présents dans le lait et les poissons, des flavonoïdes, des caroténoïdes, la carnitine, la choline, la coenzyme Q, la créatine, les poly stérols, les poly stérogènes, les glucosinolates, les polyphénols, les anthocyanines et les prébiotiques (Santana-Méridas et al., 2012 ; Georganas et al., 2020).

**II.3.4. les substances bioactives d'origine végétale**

D'autre part, de nombreuses plantes produisent naturellement des substances bioactives pour se défendre contre les prédateurs ou attirer les pollinisateurs. Ces composés, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes ou les terpénoïdes, peuvent avoir des propriétés médicinales. Par exemple, la quinine, utilisée pour traiter le paludisme, est extraite de l'écorce de l'arbre à quinquina.

Les composés bioactifs d'origine végétale sont les phénols du thé, la quercétine, les caroténoïdes, le lycopène et les polyphénols (issus des fruits et légumes) ; la rutine, les isoflavones, la curcumine et l'acide ellagique (jus de grenade) ; les proanthocyanidines (jus de

canneberge) ; la podophyllotoxine (podophylle) ; ou les poly stérols (issus des huiles) ; (**Ben-Othman et al., 2020**).

## **II . 4 Les extraits solvatiques**

### **II.4.1. Dfinition**

Les extraits solvatiques (**Kumar et al., 2017**) ont un effet à la fois sur les micro-écosystèmes et les macro-écosystèmes. Ces sous-produits sont les sources les plus riches en nombreux composants bioactifs, antioxydants et fibres. Par conséquent, ces sous- produits et déchets peuvent être valorisés pour réduire la pollution des sols, de l'eau et de l'air, et conduire à des produits à valeur ajoutée, créant ainsi des marchés secondaires et des sources de revenus (**Ben-Othman et al., 2020**).

Parmi ces extraits on distingue :

#### **A. Les extraits méthanoïques**

Un extrait méthanoïque Consiste à introduire 1g de matériel végétal dans 20 ml de méthanol puis on le laisse macérer pendant 24h.( **EL-Haoud et al ;2018**)

L'extrait méthanoïque fait référence à une préparation obtenue en utilisant le méthanol comme solvant pour extraire les composés chimiques présents dans une substance végétale ou animale. Le méthanol est un solvant couramment utilisé en chimie pour extraire une large gamme de composés, y compris les métabolites secondaires présents dans les plantes. Lorsqu'une substance végétale est traitée avec du méthanol, les composés solubles dans ce solvant seront extraits, tandis que les composés insolubles resteront dans la matrice solide. Cependant, L'extrait méthanoïque et ses fractions peuvent être examinés de divers métabolites secondaires tels que les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les alcaloïdes, les glycosides, les phytostérols et les glucides (**Guleria et al., 2016**).

#### **B. Les extraits éthanolique**

Un extrait éthanolique est une préparation obtenue en utilisant l'éthanol (alcool éthylique) comme solvant pour extraire les composés chimiques présents dans une substance végétale ou animale. L'éthanol est un solvant couramment utilisé en chimie et dans l'industrie pharmaceutique pour extraire une variété de composés bioactifs

#### **C. Les extraits Acétonique**

L'extrait Acétonique est une préparation obtenue en utilisant l'acétone comme solvant pour extraire les composés chimiques présents dans une substance végétale ou animale.

L'acétone est une cétone liquide inflammable parfumée volatile  $C_3H_6O$  utilisée principalement comme solvant et en synthèse organique et trouvée en quantités anormales dans l'urine des diabétiques

Lorsqu'une substance est traitée avec de l'acétone, les composés solubles dans ce solvant seront extraits, tandis que les composés insolubles resteront dans la matrice solide. L'extrait

Acétonique obtenu peut ensuite être utilisé pour diverses analyses et applications, telles que des études phytochimiques ou des tests biologiques pour évaluer les activités biologiques ou les propriétés des composés extraits.

### II . 5 Les Huiles essentielles

#### II.5.1. Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges complexes de divers constituants tels que des phénylpropanoïdes, des esters, des homoterpènes, des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes, des triterpènes et des tétraterpènes. Leurs utilisations thérapeutiques sont liées au traitement du cancer, du diabète, des maladies cardiovasculaires et neurologiques, en plus d'avoir des effets anti-âge, antioxydants et antimicrobiens (**Saljoughian et al. 2018 ; Benny et Thomas 2019 ; Bezerra et al. 2020**). Les mécanismes impliqués dans l'action pharmacologique des huiles essentielles sont complexes en raison de leur composition étendue et variée. Ainsi, des études *in vivo*, *in situ* et *in silico* ont été réalisées pour clarifier et confirmer les utilisations ethnopharmacologiques traditionnelles et en faire une alternative viable aux médicaments thérapeutiques actuels, qui, dans leur grande majorité, entraînent des effets secondaires chez les patients (**da Costa et al. 2019 ; Leão et al. 2020 ; Araújo et al. 2020**). (Figure04 )

Les huiles essentielles ont été utilisées comme thérapie complémentaire dans le traitement de l'anxiété, de la douleur, des troubles bipolaires, du trouble du déficit de l'attention avec hyperactivité et de la dépression, par administration orale, inhalation, application dans des diffuseurs, des bains et d'autres utilisations.



**Figure 4:** huiles essentielles

**II.5.2. Techniques d'extraction****A. l'Hydro- distillation**

L'hydro -distillation (HD) est utilisée depuis l'Antiquité pour l'extraction des huiles essentielles. Malgré les limitations intrinsèques de cette technique, elle reste la méthode la plus couramment utilisée aussi bien en laboratoire qu'à l'échelle industrielle (**Orio et al. 2012 ; Azmir et al. 2013 ; de Oliveira et al. 2020**). Le principe de l'extraction repose sur la distillation azéotrope. En effet, à pression atmosphérique et pendant le processus d'extraction, les molécules d'huile et d'eau forment un mélange hétérogène qui atteint sa température d'ébullition près de 100 °C. Le mélange huile essentielle/eau est alors distillé simultanément comme s'il s'agissait d'un seul composé (**El Asbahani et al. 2015 ; Rassem et al. 2016 ; Bezerra et al. 2020c**). L'hydrodistillation est une variante de la distillation à la vapeur, indiquée par la Pharmacopée française pour l'extraction des huiles essentielles à partir de plantes séchées. Le temps de distillation dépend du matériau végétal en cours de traitement. Une distillation prolongée ne produit qu'une petite quantité d'huile essentielle, mais ajoute des composés indésirables à point d'ébullition élevé et des produits d'oxydation (**Rassem et al. 2016 ; Silva et al. 2019 ; Castro et al. 2021**).

**a. Le système de l'hydrodistillation**

Le système d'hydro-distillation se compose d'un récipient, généralement une fiole volumétrique, relié à un appareil de type Clevenger couplé à un système de refroidissement, avec des températures allant de 10 à 15 °C. Le mélange solide-liquide est chauffé, à pression atmosphérique, jusqu'à ce qu'il atteigne la température d'ébullition de l'eau, permettant aux molécules odorantes de s'évaporer avec l'eau, formant un mélange azeotropique. Cette combinaison est dirigée vers le condenseur, où elle se liquéfie et est collectée à la fin du processus. En raison de son caractère hydrophobe, l'huile ne se mélange pas à l'eau et peut être séparée par décantation. Après séparation, l'huile est complètement déshydratée avec du Na<sub>2</sub>SO anhydre (**Rassem et al. 2016**). (**Figure 05**)

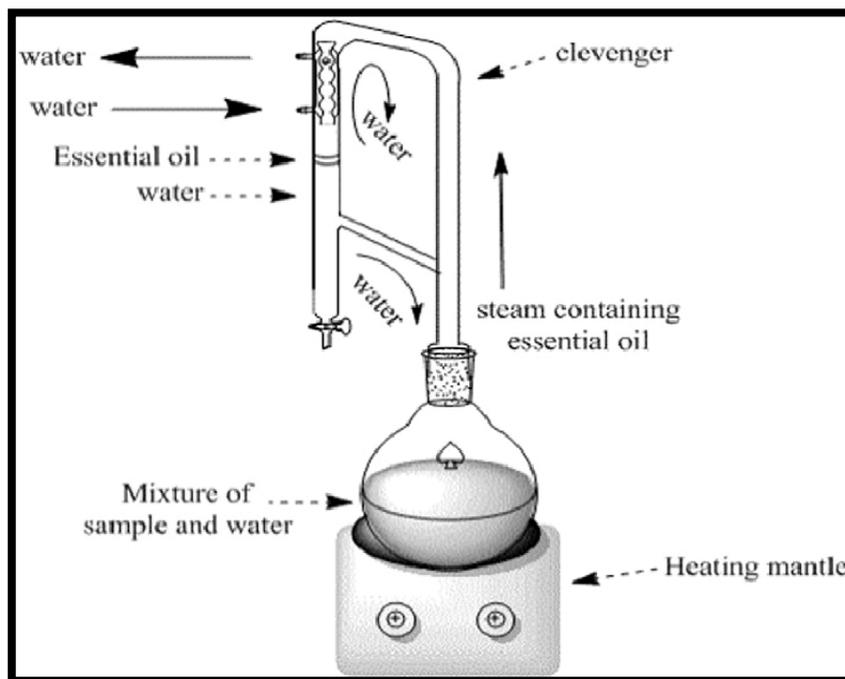


Figure 5: L'appareillage de l'hydrodistillation « Clevenger » (Zurina ;2016)

## B. Extraction par entrainement à la vapeur

La distillation à la vapeur présente certaines caractéristiques qui en font l'une des méthodes les plus largement utilisées pour l'obtention d'huiles essentielles à l'échelle industrielle, telles que son faible coût, sa simplicité et sa facilité de conception par rapport à d'autres techniques avancées (Muhammad et al., 2013).

Il existe deux types de distillation à la vapeur : directe et indirecte.

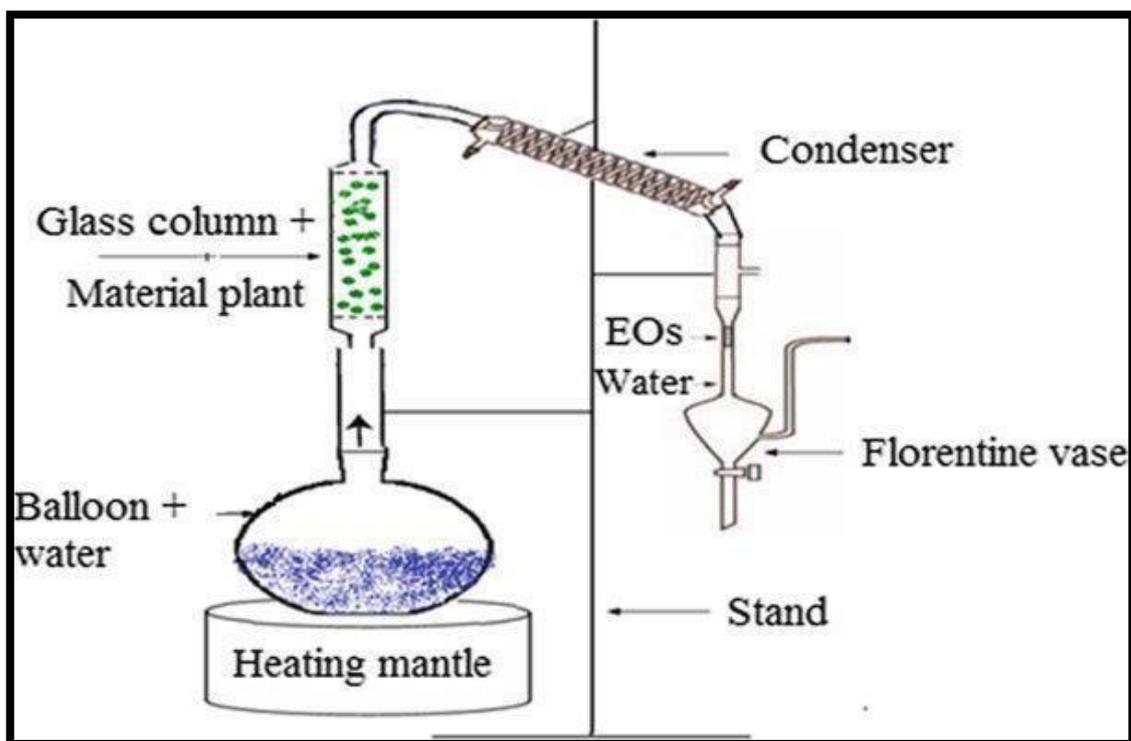
### a. La méthode direct

Dans la distillation à vapeur directe, qui est la méthode la plus couramment utilisée pour l'obtention d'huiles essentielles, aucune eau n'est placée à l'intérieur de l'ampoule de distillation. Au lieu de cela, la vapeur est dirigée dans l'ampoule depuis une source externe. Les huiles essentielles sont libérées de la matière végétale lorsque la vapeur fait éclater les sacs contenant les molécules d'huile (Chemat et Boutekedjiret, 2015 ; do Nascimento et al., 2020).

### b. La méthode indirect

La matière végétale est trempée dans l'eau et chauffée jusqu'à ébullition. La vapeur résultante de l'eau bouillante transporte avec elle les composés volatils. Ensuite, le refroidissement et la condensation permettent de séparer l'huile de l'eau. L'inconvénient de cette technique est la dégradation des matériaux et l'odeur désagréable due à une exposition constante à la chaleur. En revanche

Dans le processus de distillation à la vapeur, l'eau bout au-dessus de 100 °C, à une pression supérieure à la pression atmosphérique, ce qui facilite l'élimination de l'huile essentielle de la matière végétale et réduit la formation d'artefacts (El Asbahani et al., 2015 ; Yadav et al., 2017) (Figure 06)



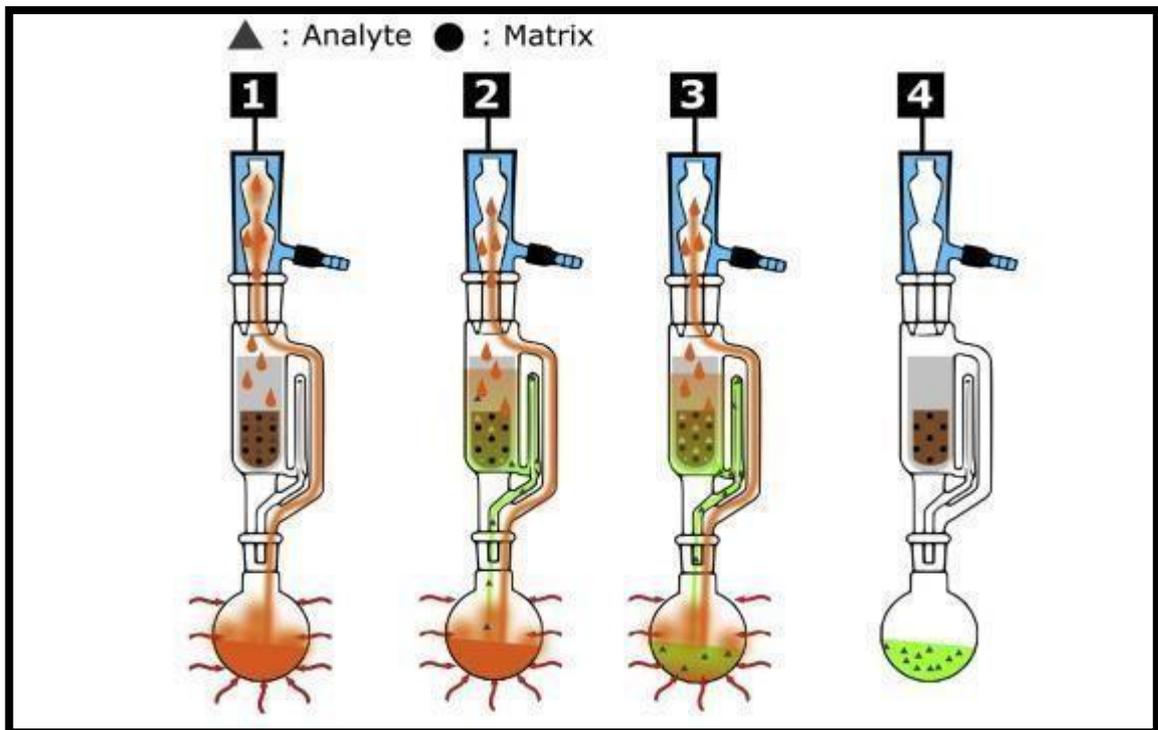
**Figure 6:** Représentation schématique du système d'extraction par entraînement à la vapeur (Boutekdjiret ;2015)

### C. Extraction soxhleti

La méthode SOX est une pratique analytique standard depuis plus d'un siècle et est certainement la méthode la plus largement utilisée et acceptée pour l'extraction de composés organiques semi-volatils (SVOCs) à partir d'échantillons solides. Bien qu'elle soit considérée comme une technique plus traditionnelle, SOX est la norme acceptée pour la comparaison avec d'autres approches d'extraction et donc d'une importance centrale pour les méthodes de l'Agence de protection de l'environnement des États-Unis (EPA), comme discuté dans la méthode EPA 3540 (Wegler et al ;2020)

Une illustration schématique du flux de travail de la méthode SOX est présentée dans la figure 3. Dans la première étape, l'échantillon est placé dans une coupelle jetable qui est positionnée dans l'appareil Soxhlet. L'extraction continue a lieu par reflux du solvant. Une fois que la chambre d'extraction est remplie, l'extract est transféré dans le ballon de distillation (Figure 3). Ce processus est répété jusqu'à ce que l'extraction complète soit prévue. Les temps d'extraction typiques varient entre 12 et 24 heures, ce qui rend SOX une technique longue. De plus, les extracteurs les plus courants utilisent de grandes quantités de solvant purifié

(plusieurs centaines de millilitres) Le temps d'extraction peut être considérablement réduit par une modification de la procédure Soxhlet, comme proposé par Randall dans les années 1970. Ici, l'échantillon est plongé dans le solvant en ébullition jusqu'à ce que l'extraction souhaitée ait lieu. Cela améliore la vitesse d'extraction car les analytes sont plus solubles dans un solvant chaud. Après cette étape d'extraction, le manchon est soulevé au-dessus du solvant en ébullition jusqu'à ce que l'extrait résiduel soit éliminé. La fermeture d'une soupape de retour de solvant et une évaporation prudente permettent une concentration intégrée de l'échantillon. De plus, l'automatisation de la méthode Randall-Soxhlet peut être réalisée plus facilement, ce qui a conduit à l'incorporation de la méthode SOX automatisée par l'EPA américaine (Weggler et al ;2020)( Figure 07 )



**Figure 7:** Illustration schématique du flux de travail de SOX (Weggler et al ;2020)

## **II6**    **Activité biologiques des substances bioactives (Tbleau03)**

**Tableau 3:** Activité biologiques des substances bioactives

<p><b>Activité antibactériennes</b></p>	<p>Les effets antibactériens des huiles essentielles sont connus et utilisés depuis l'Antiquité. Ils ont un très large spectre d'activité car ils agissent contre les organismes résistants aux antibiotiques et inhibent la croissance des bactéries, des levures et des moisissures. Leur action est principalement due à leur composition chimique et surtout due à la nature des principaux composés actifs contenus dans les huiles essentielles, l'huile de romarin, qui peut avoir un effet plus prononcé sur les bactéries Gram-positives que Gram. - bactéries négatives, qui sont dues à des différences dans la structure de la membrane externe. La haute résistance des bactéries Gram aux huiles essentielles est liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes, qui comprend une simple double</p>	<p>Mouas et al., 2017</p>
	<p>membrane de bactéries Gram</p>	
<p><b>Activité anticancéreuses</b></p>	<p>Parmi les substances bioactives HE, cette activité a été démontrée contre diverses cellules tumorales, et il a été prouvé que l'huile essentielle de Myriagail a pour effet de supprimer la croissance des cellules cancéreuses du poumonet du côlon, à savoir les huiles.</p> <p>Un symbopogonflexus essentiel déclenche l'apoptose dans les cellules cancéreuses hématologiques.</p> <p>Les flavonoïdes peuvent supprimer le développement ducancer. Ils inhibent également l'angiogénèse et la prolifération cellulaire, affectant l'invasion et le potentielmétastatique des cellules tumorales .</p>	<p><b>Chénikar2019, Chénikar, 2019</b></p>

<p><b>Activité antifongiques</b></p>	<p>L'activité antifongique a été déduite de la grande complexité de la composition des HE, les phénols étant plus antifongiques que les aldéhydes et décroissant avec le type de fonction chimique.</p> <p>Formation de la structure membranaire Gram</p>	<p><b>Hâche et Bouras.,2021</b></p> <p><b>Mouas etal., 2017</b></p>
<p><b>Activité anti_inflammatoire</b></p>	<p>Les furanoïdes présentent des effets anti-inflammatoires en fonction de leur structure. Cet effet a été confirmé par des tests in vitro de sa capacité à inhiber les lipoxygénases et les cyclooxygénases .</p>	<p><b>Kaurinovicet Vastag., 2019</b></p>
<p><b>Activité antioxydants</b></p>	<p><b>Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle(C3-OH)fortementréactif.Ilsontégalementcapablesd'echélaterlesionsmétalliques(largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effetsdélétèresparlaproduction desradicaux hydroxyles(OH).</b></p>	<p><b>Ghedira., 2005</b></p>

# **Partie Expérimentale**

### III. Partie Expérimentale

#### III. 1 Matériel et méthodes

##### III.1.1. Cadre et objectifs de l'étude

###### A. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée en une période de Quatre mois du février 2022 jusqu'au Mai 2023, au niveau du laboratoire des analyses microbiologiques de la faculté des sciences exacte et sciences de la nature et de la vie université de El Chahide Cheikh Larbi Tébessi-Tebessa.

###### B. Objectif de l'étude (rappel)

Notre étude a eu pour objectifs :

Evaluation du rendement d'extraction a partir de (**Feuilles**) après macération avec les différents solvants : Alcoolique (Méthanolique) et Acétonique et évaporation par Rotavap.

Etude de l'activité antibactérienne des deux extrais sur les souches bactériennes isolées à partir des différentes infections par la méthode des puits sur milieux solide.

Étude de l'impact des protocoles d'extraction sur le rendement d'extraction ainsi que sur l'activité antibactérienne.

Etude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques sur les mêmes souches bactériennes.

Évaluation comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques.

#### III. 2 Matériel

##### III.2.1. Matériel biologique

###### A. Matériel végétal

La plante médicinale objet de notre étude est de genre *Eucalyptus*, achetée à partir d'un herboriste de la région de Tebessa (Est- Algérie) sous forme sèche. (**Figure08**).



**Figure 8:** Localisation de la région lieu de Tébessa (Google Maps).

### A.1. Description botanique de la plante

Il faut savoir que cet arbre est exotique car il est introduit en Algérie vers 1856 par Ramel de l’Australie. Il forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays. Les jeunes feuilles sont bleuâtres, opposées et étroitement attachées sur la tige. Les feuilles adultes sont d’un vert sombre, alternées et tombantes. Les fleurs sont visibles au printemps, d’une couleur crème sont solitaires à l’aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée (Metro, 2009).

Les fruits ligneux mesurent de 1,5 à 2,5 cm de diamètre ont une capsule très dure, il renferme deux types de graines de nombreuses petites graines s’échappent par des valves qui s’ouvrent sur le dessus du fruit.

- **Odeur** : forte, fraîche, balsamique « odeur d’une baume », camphrée.
- **Saveur** : chaude aromatique, un peu amère, suivie d’une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- **Biotop**e : très cultivé sur le littoral dans l’air de l’oranger, il préfère les terrains humides.
- Le but, c’est d’assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- **Récolte** : en Février et en Novembre à la taille des arbres.
- **Partie à utiliser** : essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés

(Daroui, 2012).

La figure présente une photographie des feuilles d’Eucalyptus.



**Figure 9:** Photographie des feuilles d'Eucalyptus (Beyould, 2014)



**Figure 10:** la partie aérienne (Feuilles, fruits ) d'*Eucalyptus* (photos personnel, 2023)

## A.2. Classification botanique d'*Eucalyptus*

La classification taxonomique de l'Eucalyptus est se suivant selon : (Quezel et santa, 1963)( Tableau 04).

Tableau 4: Classification botanique de genre *Eucalyptus* (Quezel etsanta, 1963)

Règne	<i>plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphyte</i>
Sous-embranchement	<i>Angiosperme</i>
Classe	<i>dicotylidones</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales.</i>
Famille	<i>Myrtaceae.</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i>

### A.3. Propriétés et composition chimique de l'*Eucalyptus*

L'*Eucalyptus* possède des nombreuses propriétés thérapeutiques, et également une composition chimique très variée.

#### A.3.1. Propriétés thérapeutiques

On a introduit depuis les temps anciens dans la thérapeutique .les feuilles d'*Eucalyptus*, ont des propriétés suivantes (Dellile et al., 2007).

propriété balsamique ayant la fonction d'un baume adoucissant pour les muqueuses respiratoires.

Propriété antiseptique des voies respiratoires, il soigne les rhumes, gripes et maux de gorge.

#### A.4. Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues. De nombreux antibiotiques sont développés pour les traiter, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multi résistance bactérienne (Yala et al,2001).

Plusieurs études ont montré une activité antimicrobienne modérée de l'HE d'*Eucalyptus* ; à la fois sur les bactéries Gram-négatives (*Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Entérocoques factum*, *Listeria monocytogenes* et *Listeria monocytogenes*) et une activité bactériostatique contre toutes les souches testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* (Ait-Ouazzou et al ,2011).

## B. Souches bactériennes

Pour évaluer l'activité antibactérienne de deux types d'extraits de la Plante *d'Eucalyptus.*, des souches bactériennes de Staphylocoques, *Pseudomonas*, *Entérobactérie* isolées à partir de la pathologie infectieuse humaine ont été utilisés pour tester nos extraits ainsi que nos antibiotiques.

Les souches bactériennes collectées à partir des différentes localisations infectieuses au niveau de l'établissement hospitalier Mère et enfant (**Khaldiabd El Aziz**) (**Tableau05**).

**Tableau 5:** souches bactérienne collectés à partir de la pathologie infectieuse humaine

Ordre	Souche isolée	sex	Type d'infection
Souche 01	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 02	<i>Staphylococcus aureus</i>	Homme	Infection cutanée
Souche 03	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 04	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 05	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 06	<i>Staphylococcus aureus</i>	Femme	Infection cutané
Souche 07	<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	Femme	Infection cutané
Souche 08	<i>Entérobactérie</i>	Homme	Infection urinaire
Souche 09	<i>Entérobactérie</i>	Femme	Infection urinaire
Souche 10	<i>Pseudomonas</i>	Femme	Infection urinaire

### III.2.2..Matériel de laboratoire

#### A. Solvants utilisés pour l'extraction

Différents solvants ont été utilisés pour réaliser les extractions par macérations ainsi queles différentes dilutions des extraits pour l'étude de l'activité antibactérienne.

Méthanol 80 % ( 20% eau distillée , 80% Méthanol) .

### A.1. Acétone absolue.

Diméthylsulfoxyde (DMSO).

### B. Disques d'antibiotiques

Différentes molécules d'antibiotiques commercialisés sous forme de disque chargé pour étudier la sensibilité des nos isolats bactériennes vis –à vis des ces molécules (Tableau 06 ; Figure11 ).

**Tableau 6:** Molécules d'antibiotiques utilisés pour chaque souche testée.

Les souches	Les antibiotiques testée	Les antibiotiques testée	Les antibiotiques testée	Les antibiotiques testée	Les antibiotiques testée
<i>Entérobactérie</i>	Amoxicilline+A cide clavunalique (AMC 30 mg)	Gentamine (C 30 mg)	Chloramphénicol (CTX3 mg)	Ciprofloxacine (CIP10 mg)	Cotrimoxazole (CTX3 mg)
<i>Pseudomonas</i>		Gentamine (C 30 mg)	Colistine (CT 10 mg)	Ciprofloxacine (CIP10 mg)	
<i>Staphylococcus</i>	Erythromycin e (E30 mg)	Gentamine (C 30 mg)	Cefoxitin (FOX 30 mg)	Ciprofloxacine (CIP10 mg)	Clindamycine (CD2 mg)



**Figure 11:** Différents disques d'antibiotiques (photos personnelle,2023)

### C. Milieux de cultures

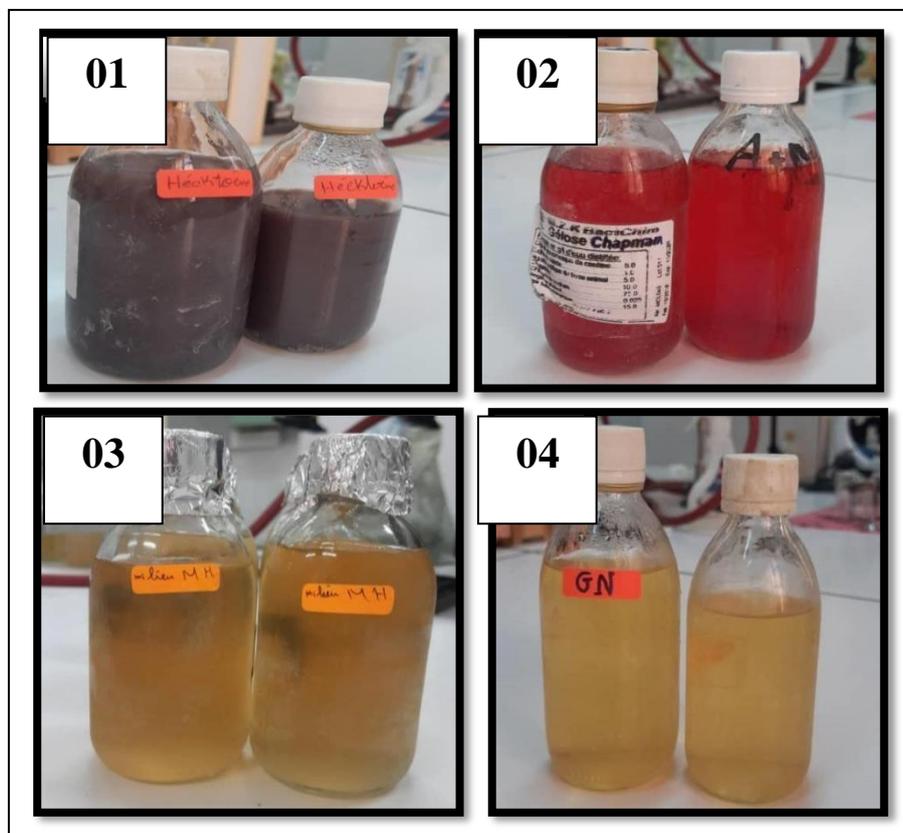
Différents milieux de culture ont été utilisés pour isoler, purifier et conserver nos isolats bactériens (**Figure 12**) .

**Milieux Hektoën** : milieu sélectif pour *Entérobactéries*.

**Milieu Chapman** : milieu sélectif pour *Staphylococcus spp.*

**Milieu Muller Hinton** : milieu pour la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

**Gélose nutritif** : milieu solide ordinaire pour la conservation des souches.



**Figure 12:** Milieux de cultures utilisés : 01: milieu Hektoën, 02: milieu Chapman, 03: milieu MH, 04: milieu Gelose Nutritive) (photo personnelle, 2023)

### D. Appareillage

#### Evaporateur rotatif (Rota-vape)

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet

d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement. La solution est mis en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosse ou mousseuses, pour augmentes la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression(**Figure14**).



**Figure 13:** Evaporateur rotatif (rota-vap) (photo personnelle.,2023)

**Réfrigérateur :** pour la conservation des extraits bioactives.

**Etuve bactériologique:** incubation des cultures bactériennes.

**Balance :** pour la mesure le poids.

**Agitateur magnétique:** pour l'agitation de différents milieux de culture.

**Autoclave:** : autoclavage des milieux de culture lors de la préparation.

**Bec bunsen :** pour crée une zone stérile pour le travail dans des condition aseptique.

**Stérilisateur :** pour stérilisation les matériaux ( métalliques ou en verre) .

### **E. Verreries et petit consommable**

Écouvillons bactériologiques

Pipettes pasteur stériles

Disques d'antibiotiques

Boîtes de pétri en plastiques

Papiers Whatman

Tubes à essai stériles

Flacons stériles

Béchers

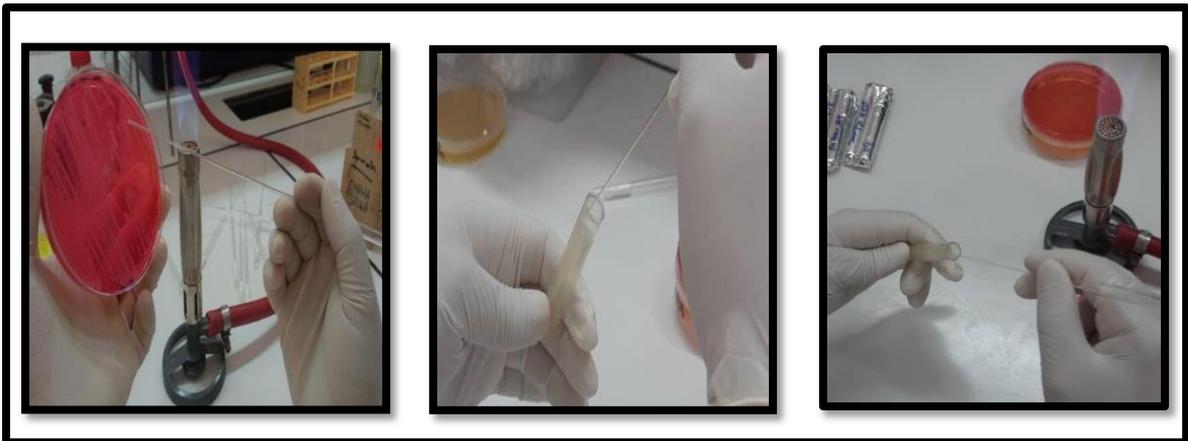
Tubes Ependorf

Emboue de différent calibres

### III . 3 Méthodes

#### III.3.1. Conservation des souches

les souches bactériennes collectés préalablement identifiés ont été conservés dans destubes contenant la gélose ; par piqûre centrale en profondeur (**Figure14** )



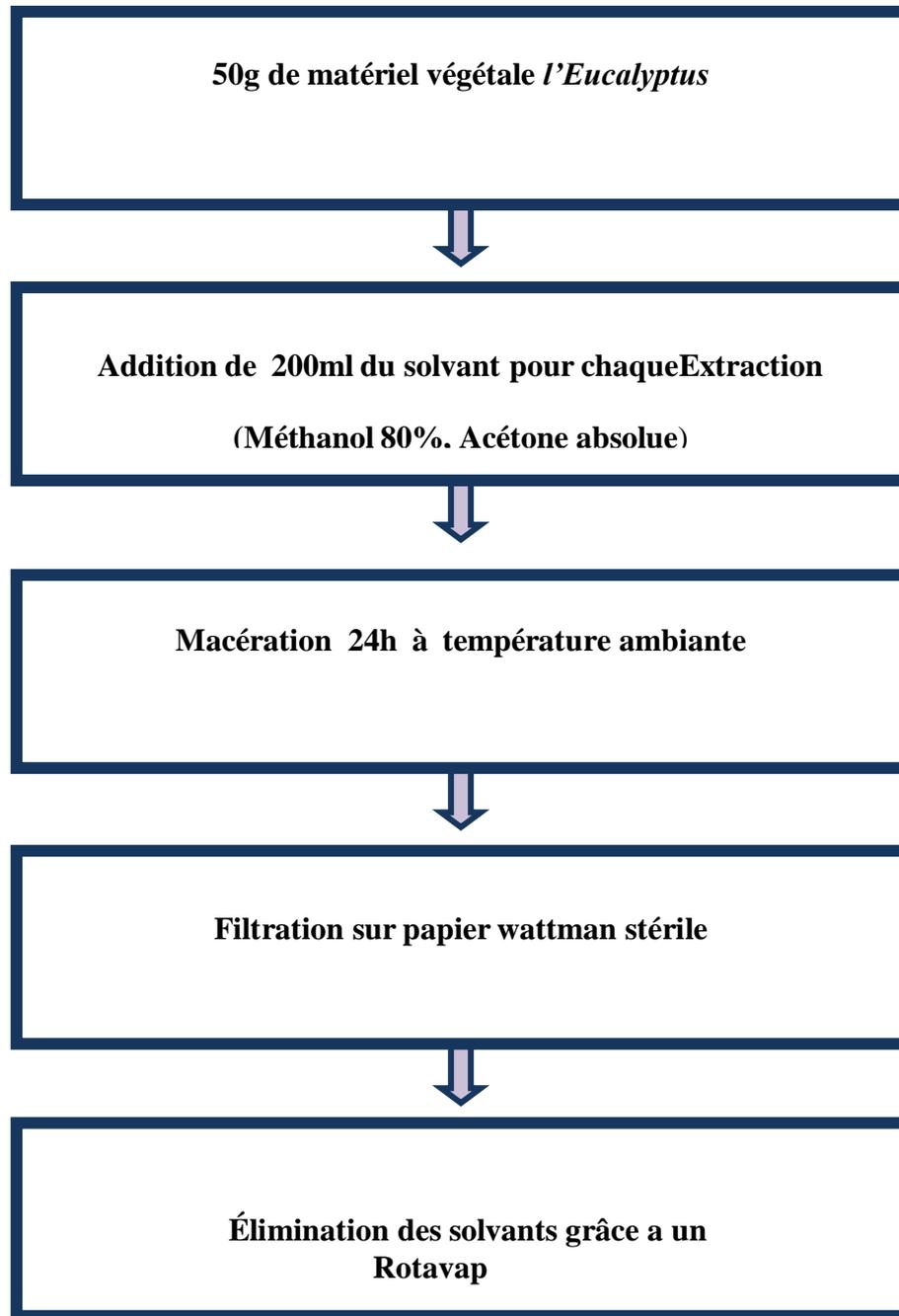
**Figure 14:** Différents étapes de conservation des isolats bactériens (photos personnels.,2023)

#### III.3.2.Extraction de la plante

##### A. Protocole d'extraction des substances bioactive de la parties aériennes de laplante d' *Eucalyptus*

Le protocole adopté pour faire l'extraction (Méthanolique 80%, Acétonique absolu), a été effectué en trois étapes essentielles : Macération, Filtration et Evaporation. **50g** de matériel végétale (feuilles de la plante *l'Eucalyptus*) lavées et sèches et broyés jusqu'à l'obtention d'une poudre. Cette dernière a été mise en incubation avec **200 ml** de solvant (Méthanolique 80%, Acétonique absolu) pendant **24H**. Après ils ont été filtré à l'aide d'un papier filtre

stérile. Le filtrat obtenu a subi une évaporation pour élimination des solvants grâce a un Rotavap a une Température de 37°C pendant 45 min. Les extraits obtenus sont conservés à 4°C jusqu'à leur (Mutaz,j ;al 2011) (Figure15,16,17)



**Figure 15:** Protocole d'extraction (Méthanolique 80%, Acétonique absolu) de la partie aérienne de la plante d'Eucalyptus (Mutaz,j ;al 2011)



**Figure 16:** Différentes étapes de préparation des extraits de l'Eucalyptus (photos personnel,2023)



**Figure 17:** Evaporation des solvants (photos personnel,2023).

## B. Calcul de rendement de l'extraction

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminé après évaporation de solvant ; il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante ;

$$R(\%) = M/M_0 * 100$$

**R(%)** : Rendement exprimé en %

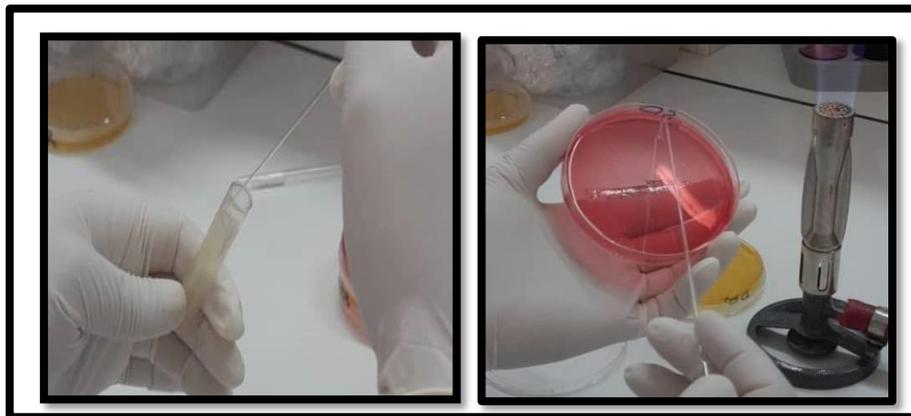
**M** : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

**M<sub>0</sub>** : Masse en gramme de matériel végétale à traiter

## III.3.3. Évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits selon la technique des puits

### A. Récupération des souches conservées et préparation de la suspension bactérienne

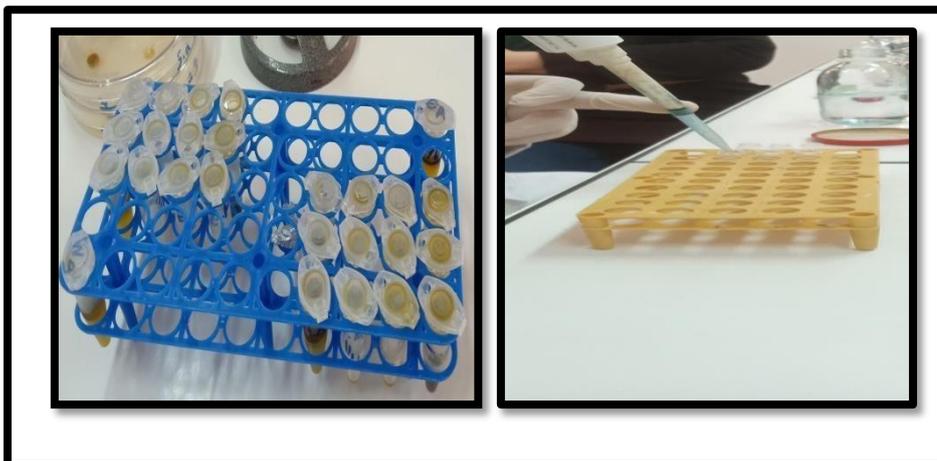
Pour faire l'évaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits d' *Eucalyptus*, les souches conservées ont été ré-isolées sur différents milieux de culture pour avoir des cultures jeunes et pures. L'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette pasteur par des stries sécher puis on les incube à **37°C** pendant **24h**. Des suspensions bactériennes ont été préparées et ajustées à une densité optique de **0,5 McFarland** qui correspond à **1 à 2x10<sup>8</sup> UFC/ml**. (Figure19).



**Figure 18:** Différentes étapes de récupération des souches conservées (photos personnelle, 2023)

### A.1. Préparation de la solution mère et des différentes dilutions des extraits

Pour réaliser nos tests , une solution mère a été Préparée en déposant **100 mg** de chaque extrais dans **1 ml** de **DMSO** pour avoir une concentration de (**100mg /ml**). Une série de dilution à été réalisée a partir de la solution mère (**1/2 ; 1/4 ;1/8** ) ce qui correspond a des dilutions finales de :**5mg /ml ;2.5 mg/ml ; 1.25/mg/ml** respectivement. (**Figure19**)



**Figure 19:** Différents étapes de Préparation de la solution mère et des différentes dilutions (photos personnel, 2023)

### B. Evaluation de l'activité antibactérienne des deux extraits par méthode des Puits

La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la glosée Mueller- Hinton par ecouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boite de pétri à **60°**de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter

l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.Des puits ont été par la suite créés pour recevoir **100µl** de différents extraits avec différentes dilutions (**1 ,1/2 , 1/4 et 1/8** ) ce qui correspond a des concentrations finales de **10 mg /100ul , 5/100ml ;2,5mg /ml ; 1,25 mg/ml** à raison de quatre puits par boite (Methanolique, Acétonique) . Les boites ont été laissées pendant **15min** à température ambiante, puis incubées à **37°C** pendant **24h**. Les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètre en utilisant un pied à coulisse. Toutefois un **Témoin négatif (DMSO)** et positif représenté par un antibiotiques (**Figure20**)



**Figure 20:** Différentes étapes de la technique de puits (photos personnels 2023)

### C. Lecture d'interprétation des résultats

La lecture des résultats après incubation en mesurant les différentes zones d'inhibition à l'aide d'une règle à coulisse et l'interprétation des résultats suivant une grille établie par (Hamidi, 2013)

**Diamètre  $< 6$  :** absence d'activité

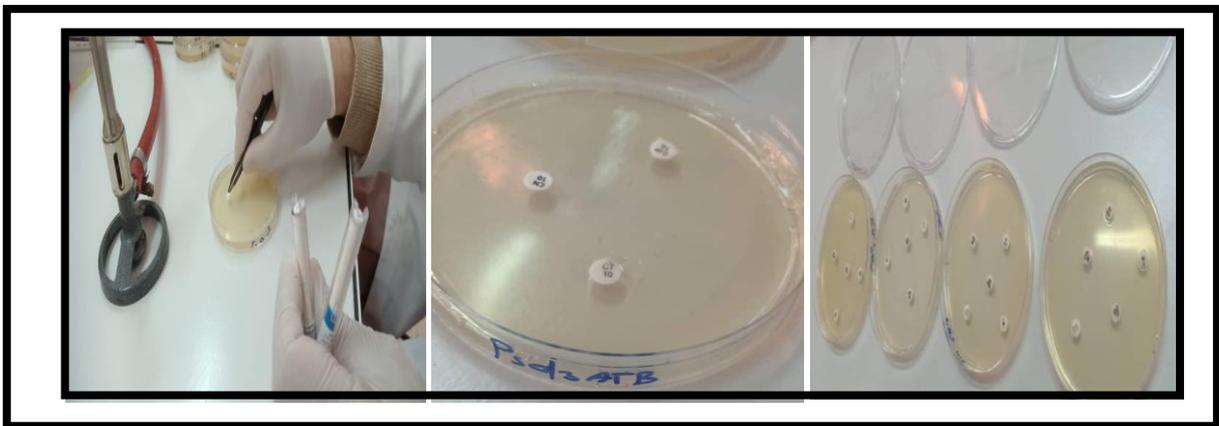
**Diamètre  $> 6$  et  $< 10$  :** Faible activité

Diamètre  $>_{15} <_{20}$  : très Bonne activité

Diamètre  $>_{20}$  : Excellent activité

#### D. Evaluation de l'activité antibactérienne des antibiotiques par méthode de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme)

La répartition de la suspension bactérienne sur la surface de la gélose Mueller-Hinton par écouvillonnage de haut en bas en stries serrées. Opération répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à  $60^\circ$  de façon à croiser les stries sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les disques d'antibiotiques sont déposés sur la surface de milieu MH préensemencée avec différentes souches. (Figure 21)



**Figure 21:** technique d'Antibiogramme (photos personnelles., 2023)

#### III.3.4. Interprétation des résultats de l'antibiogramme de différentes souches testées

Après la mesure des diamètres des zones d'inhibition nos résultats ont été interprétés en

Utilisant la table fournie par le comité CLS I. (Tableau 07)

**Tableau 7:** Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrée avec des différents antibiotiques

Bactéries ATB	Staphylocoques		
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Gentamicine	>_15	13_14	<_12
Erythromycine	>_23	14_22	<_13
Ciprofloxacine	>_21	16_20	<_15
Clindamycine	>_21	15_20	<_14
cefoxitin	>_22		<_21
	Entérobactéries		
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Gentamycine	>_15	13_14	<_12
Ciprofloxacine	>_21	16_20	<_15
Cefotaxime	>_26	23_25	<_13
Amoxi+acide cla	>_18	14_17	<_13
	<i>Pseudomonas</i>		
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Gentamycine	>_15	13_14	<_12
Ciprofloxacine	>_21	16_20	<_15

# **Partie III**

# **Résultats**

## IV. Résultats

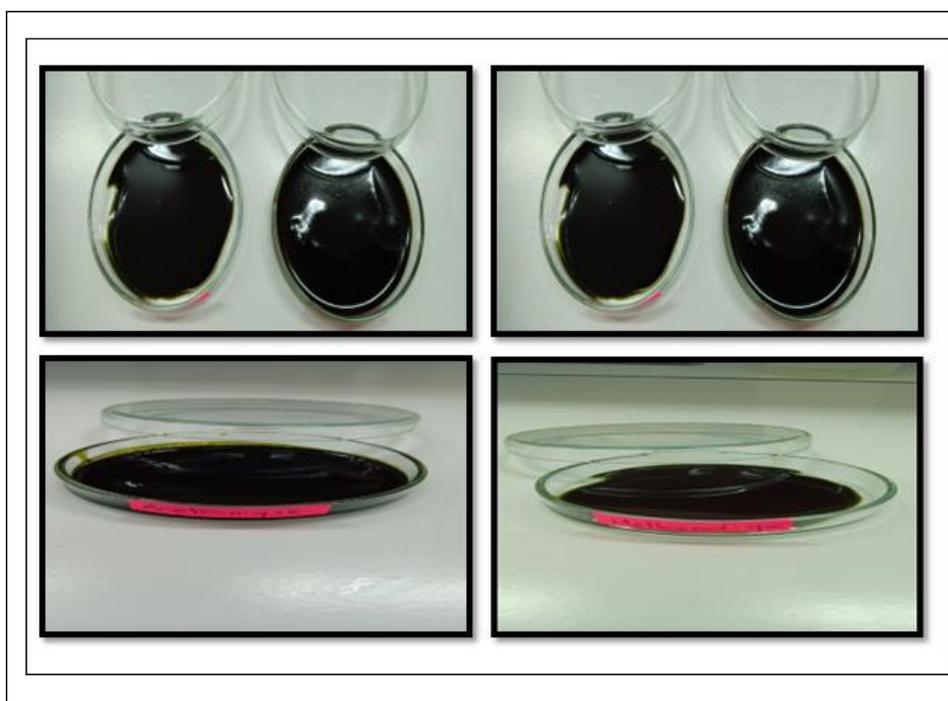
### I. Extraction d'*Eucalyptus* avec différents solvants

#### IV.1.1. Aspect macroscopique et organoleptique des différents extraits

L'extraction avec deux types de solvants (Méthanol , Acétone) et l'élimination de ces derniers par l'évaporateur rotatif a permis de récupérer nos extraits avec différents rendement (Figure 22 ),avec des caractéristiques organoleptiques (Tableau08).

**Tableau 8:** Récapitulatif du rendement des et des caractères organoleptique des différents extraits ( Méthanolique 80% , Acétonique absulé)

Extrait	couleur	Odeur
Extrait Methanolique	Verts foncé	Forte et agréable
Extrait Acétonique	Verts clair	Forte et agréable



**Figure 22:** Aspect macroscopique des différents solvants d'Eucalyptus Extraits Acétonique Extraits Méthanolique (photo personnelle, 2023).

**IV.1.2. Rendement de l'extraction effectuée avec différents solvants**

Le calcul du rendement d'extraction par la formule suivante :

$$R(\%) = M/M_0 * 100$$

a permis de déduire que le rendement de l'extraction Méthanoliques 80% (**4.31%**) été meilleur que le rendement Acéthanoiques absolu (**7.57%**) respectivement.

**A. Rendement de l'extrait Acétonique**

Masse de flacon et extrait : **37.45 g**

Masse de flacon : **26.037 g**

Masse de la végétale à traiter : **50g**

Masse de l'extrait : **3.785 g**

$$3.785/50 * 100 = 7.57\%$$

Rendement (%) = **7.57%**

**B. Rendement de l'extrait Méthanolique :**

Masse del'extrait et flacon : **25,025g**

Masse de flacon : **21,252g**

Masse de la végétale à traiter : **50g**

Masse de l'extrait : **2,159g**

Rendement en% = **4.31%**

$$2.159/50 * 100 = 4.31\%$$

**IV . 2 Résultats de récupération des souches bactériennes**

Après l'incubation de 24h on a obtenu les résultats suivants (**Figure23,24,25**)



**Figure 23:** . Entérobactéries « E. Coli » (photo personnelle., 2023)



**Figure 24:** Pseudomonas aeruginosa (photos personnelle., 2023)



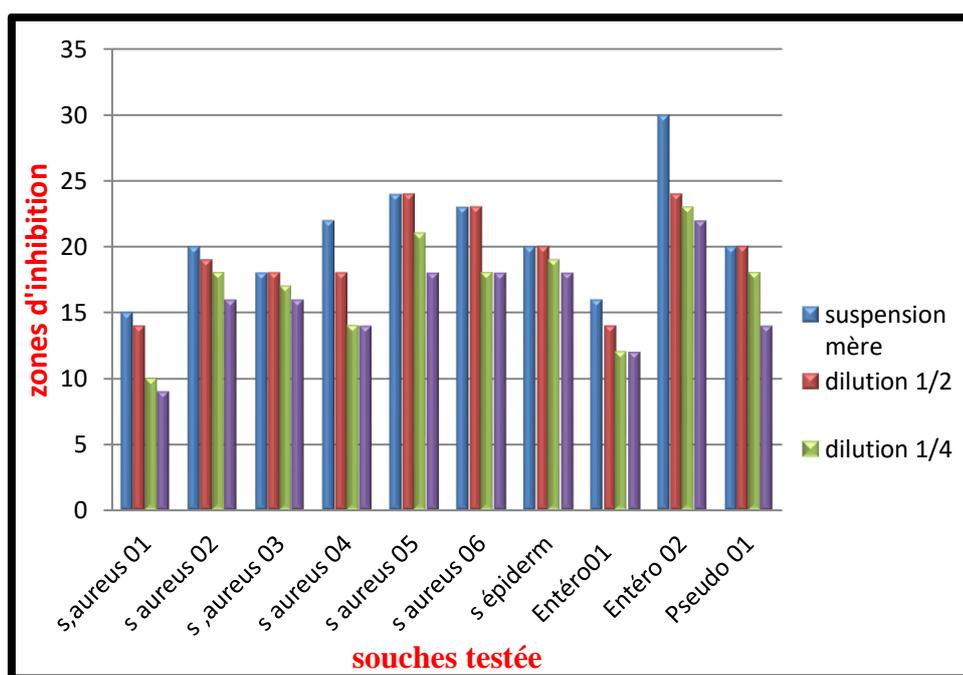
**Figure 25:** Staphylococcus (aureus et Epidermidis) (photos personnelle., 2023)

### IV.3 Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des différents extraits d'*Eucalyptus* (Méthanolique 80 % ,Acétonique absolu )

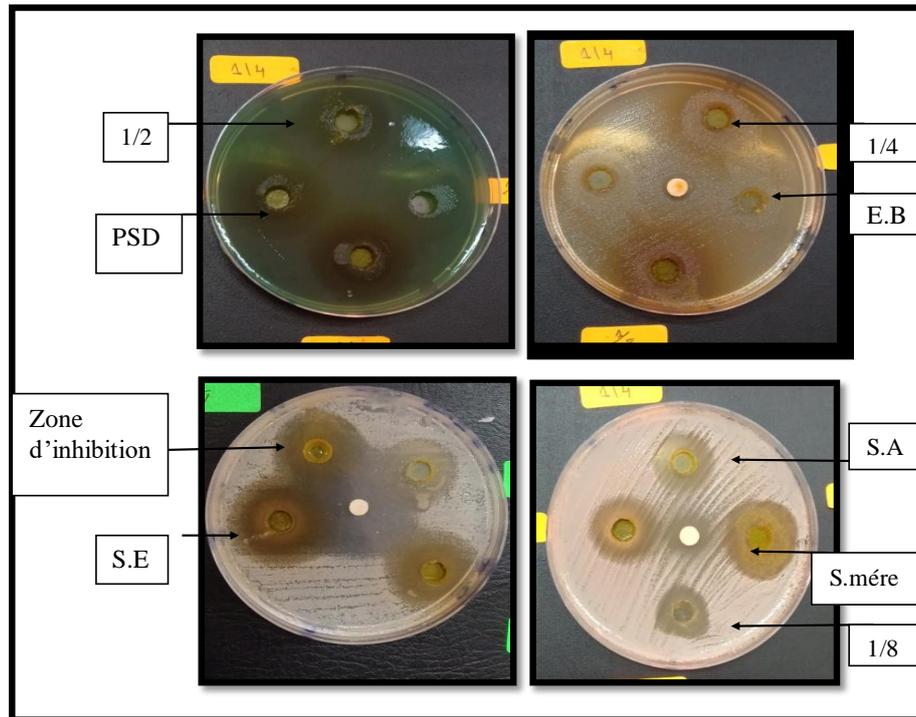
Une activité antibactérienne à été enregistré avec les 02 extraits ( Méthanolique ; Acétoniques ) avec différentes dilutions vis-à-vis des souches bactériennes testées de *Staphylococcus Sp*, *Enterobacteries*, *Pseudomonas* .

#### IV.3.1.Résultats de l'activité antibactérienne observée avec l'extrait Méthanolique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de l'extrait méthanolique 80% a permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère la dilution 1/2 , 1/4 les diamètres ont dépassés les 20mm et les diamètres >15mm et ≤20mm d' on l' inhibition de *Staphylococcus aureus* a été remarquable avec tous les dilutions ; d'un diamètre de 15 jusqu'a 24 mm *Entérobactéries* présent d'un diamètre de 30 mm et *Pseudomonas* présent d'un diamètre de 20 mm (**Figure26 ;27**)



**Figure 26:** l'activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique vis- à-vis les souches testée



**Figure 27:** l'Activité antibactérienne de l'extrait Méthanolique 80% vis-à-vis les testée (photos personnels 2023)

#### IV.3.2. Résultat de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de l'extrait Acétonique absolu a

permis de conclure que la meilleur activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution

mère la dilution **1/2** , **1/4** les diamètres ont dépassés les **20mm** et les diamètre

**>15mm et ≤20m** d' on l'inhibition de *Staphylococcus aureus* a été remarquable avec tous

les dilutions. d'un diamètre de **14** jusqu'a **26 mm** *Entérobactéries* présent d'un diamètre de **25 mm**

et *Pseudomonas* présent d'un diamètre de **19mm** (Figure28 ,29 )

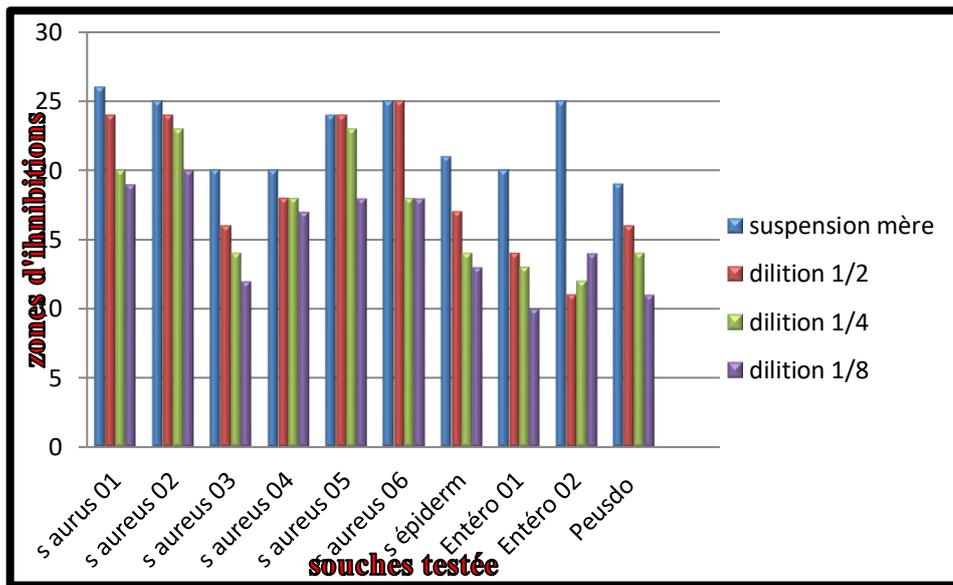


Figure 28: l'activité antibactérienne Acétonique vis- à-vis les souches testé

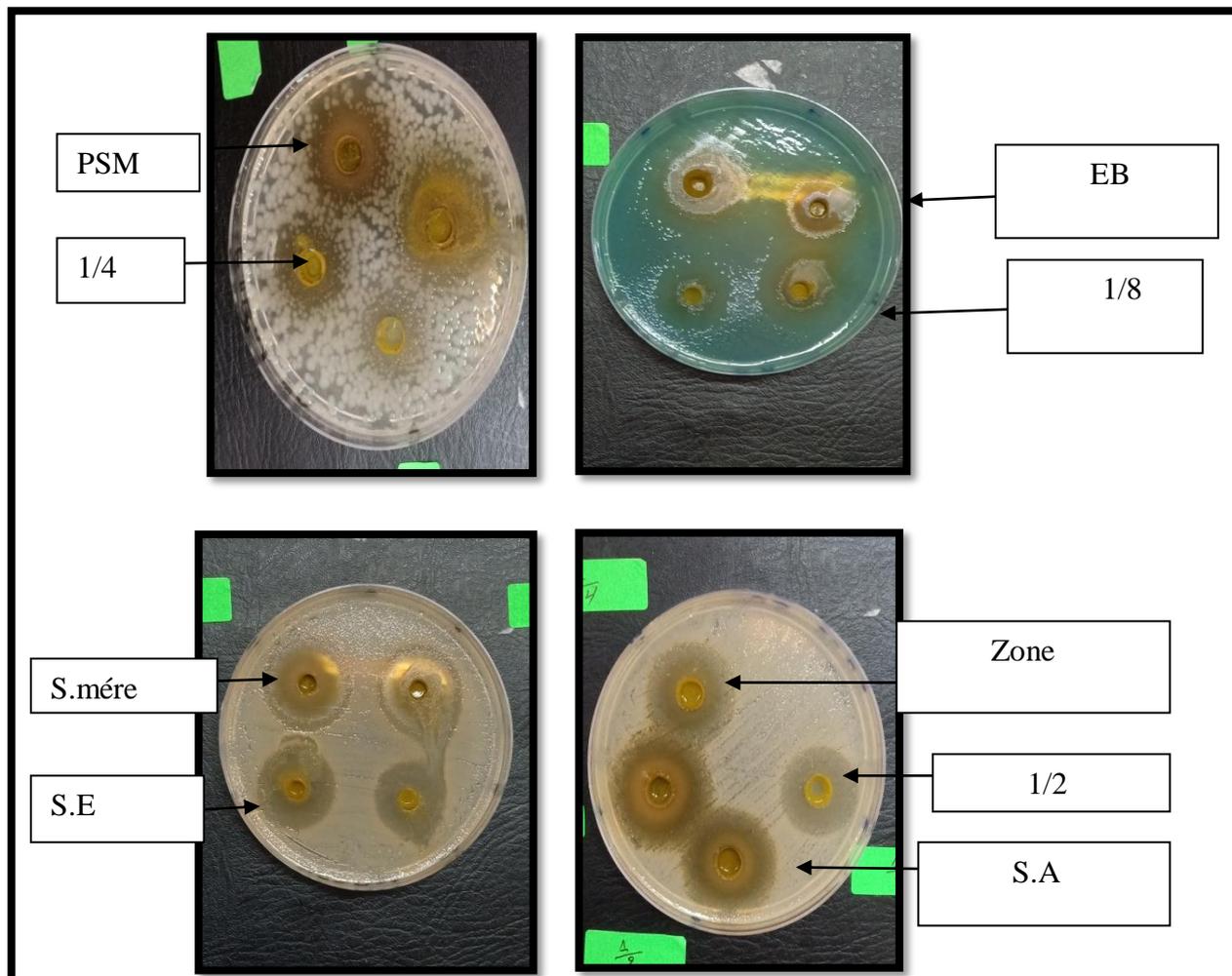


Figure 29: l'Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique vis-à-vis les testée

#### IV.4 Résultats de différentes catégories de l'activité antibactérienne observée avec les suspensions mères et les différentes dilutions des extraits (Méthanolique, Acétonique)

La mesure de la zone d'inhibition des différentes dilutions de différents extraits a permis de conclure que la meilleure activité antibactérienne a été enregistrée avec la solution mère et la dilution 1/2 ou les diamètres ont dépassés les 20 mm et les meilleurs diamètres ont été enregistrés avec l'extrait Acétonique (Figure 30, 31, 32, 33)

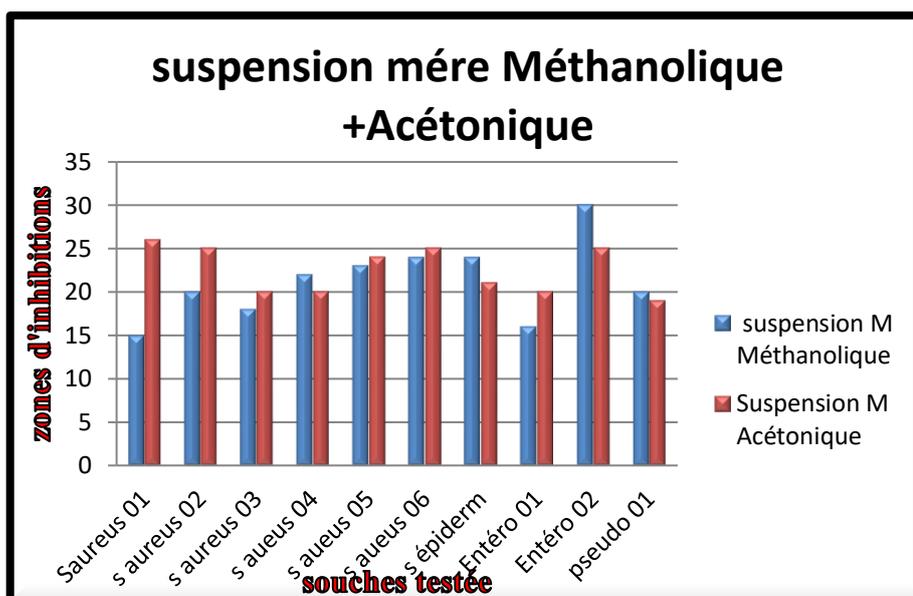


Figure 30: l'activité antibactérienne de suspension Mère des extraits

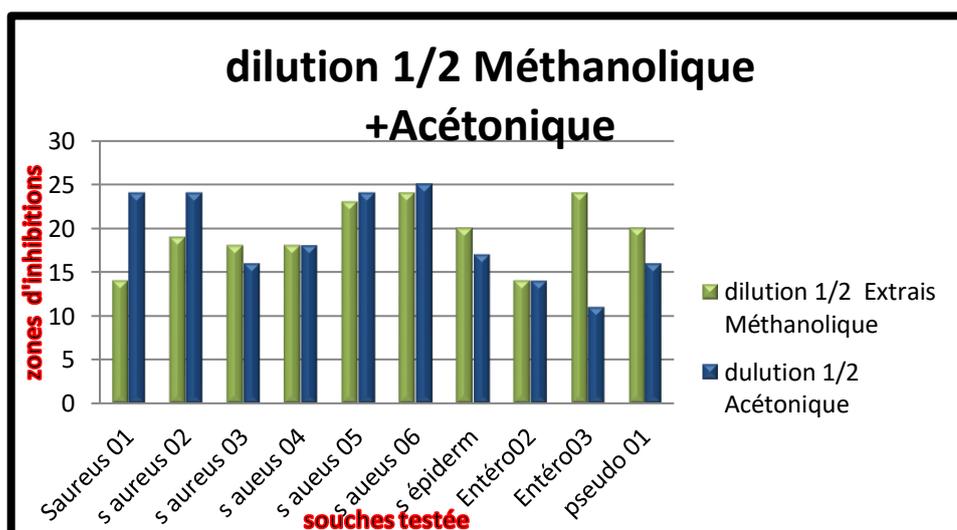


Figure 31: : l'activité antibactérienne des souches testée de l'extrait (Méthanolique , Acétonique) vis- à-vis les souches testée (Dilution 1/2)

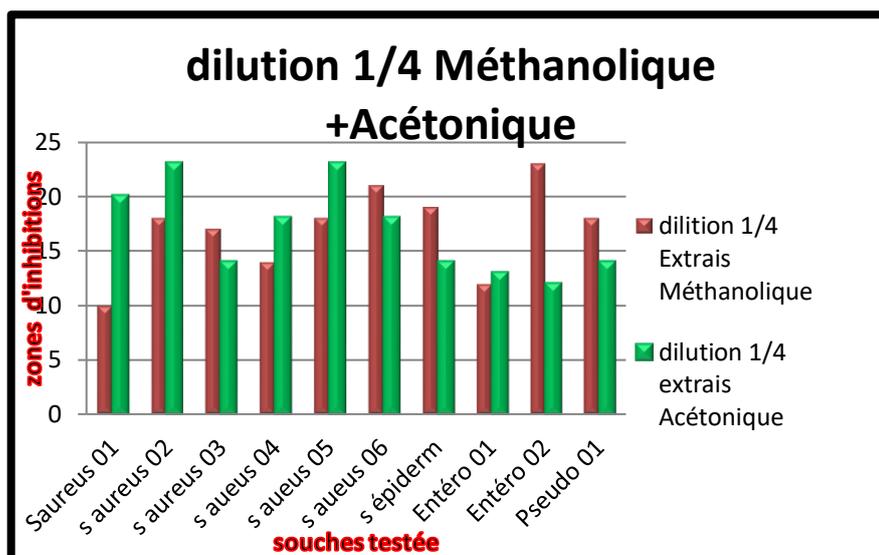


Figure 32: l'activité antibactérienne des souches testée de l'extrait (Méthanolique ;Acétonique) vis- à-vis souches testée (Dilution 1/4)

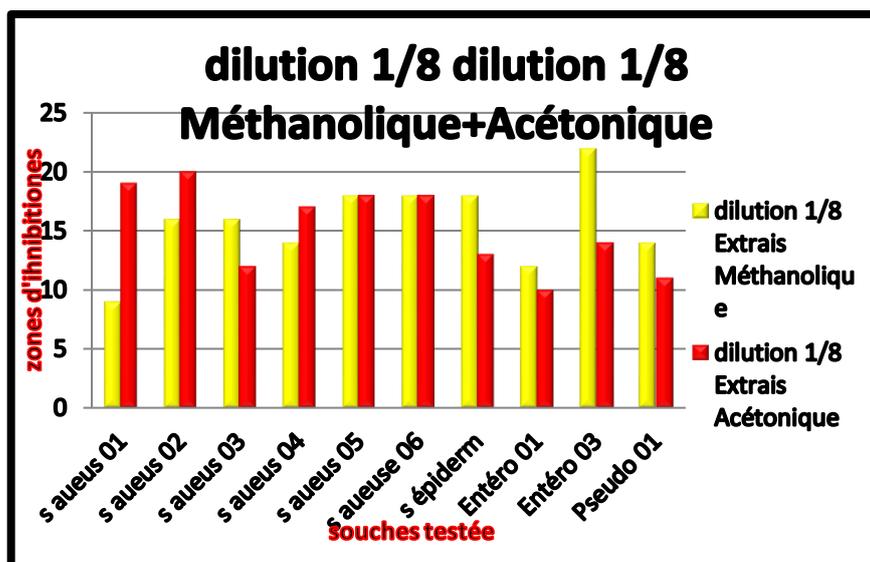


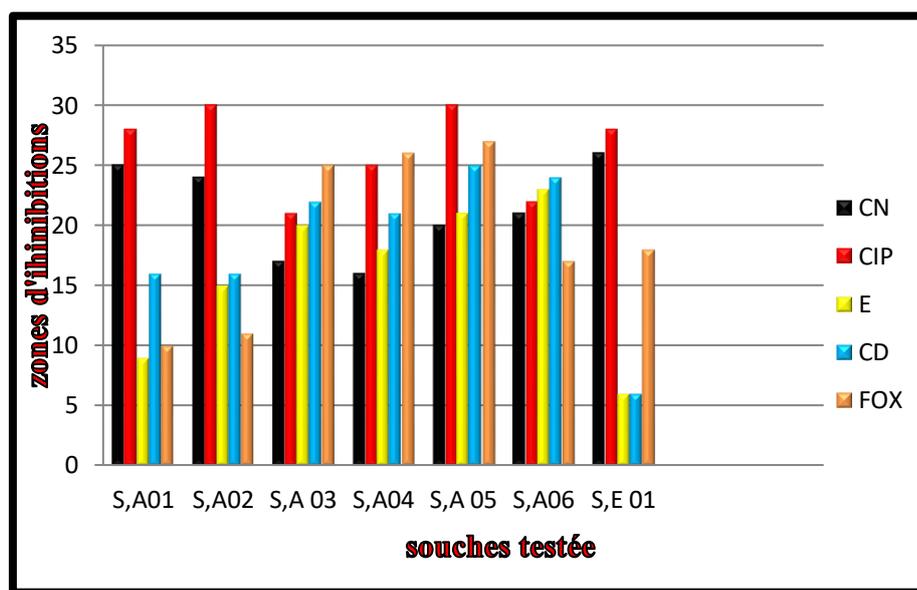
Figure 33: l'activité antibactérienne des souche testée de l'extrait (Méthanolique ;Acétonique) vis –à les souches testée (Dilution 1/8)

IV.4.1. Résultats de différentes catégories de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme)

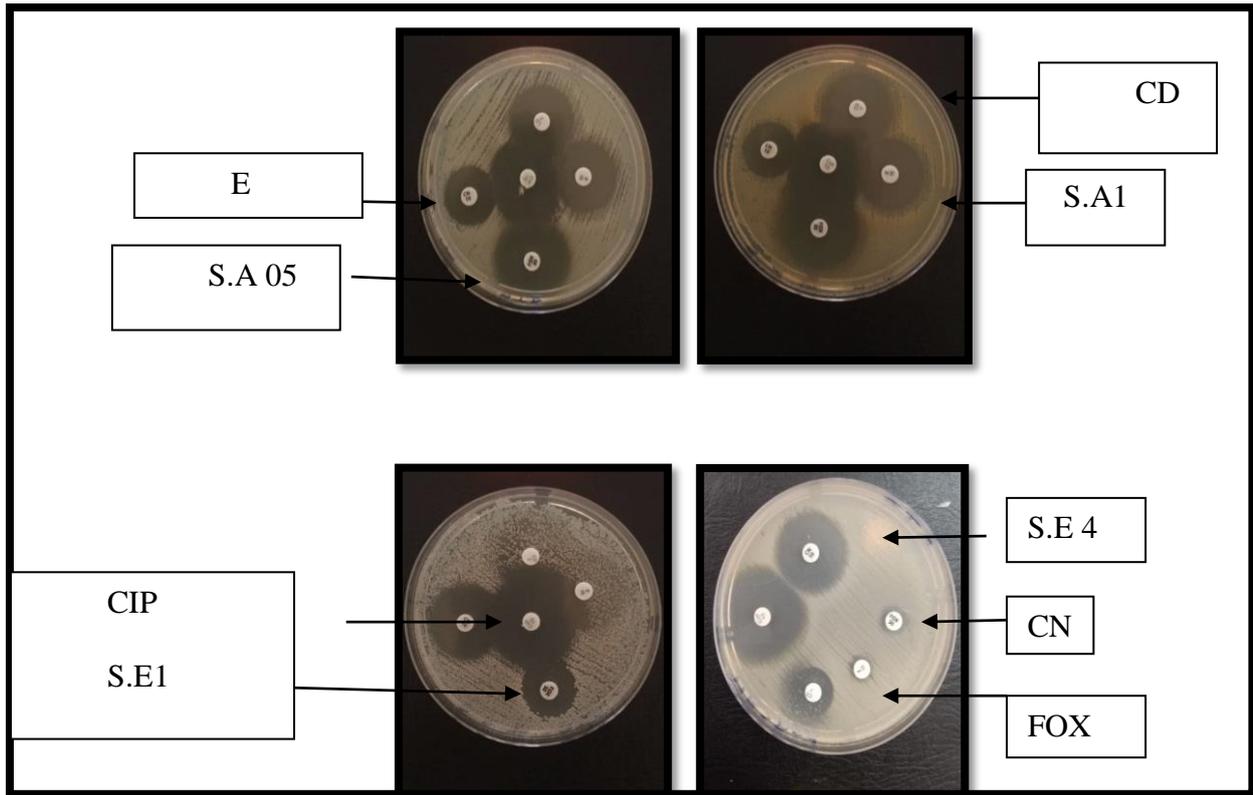
IV .5 Résultats de *Staphylococcus (aureus et Epidermidis)* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) (Figure34,35) ( Tableau 9)

**Tableau 9:** Résultats de Staphylococcus (aureus et Epidermidis) de l'activité antibactérienne Observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme.)

Les antibiotiques	CN	CIP	E	CD	OX	F
<i>Staphylococcus</i> <i>us01</i>	25	28	09	16	0	1
<i>Staphylococcus</i> <i>us02</i>	24	30	15	16	1	1
<i>Staphylococcus</i> <i>us03</i>	17	21	20	22	5	2
<i>Staphylococcus</i> <i>us04</i>	16	25	18	21	6	2
<i>Staphylococcus</i> <i>us05</i>	20	30	21	25	7	2
<i>Staphylococcus</i> <i>us06</i>	21	22	23	24	7	1
<i>Staph</i> <i>épidermidis</i>	26	28	6	6	8	1



**Figure 34:** l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à- vis les Staphylococcus (aureus et Epidermidis)



**Figure 35:** Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Staphylococcus(aureus et Epidermidis) (photos personnelles.,2023)

**IV.5.1. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques testée**  
**Antibiogramme testée souche (Entérobactéries) (Figure36,37) (Tableau 10 )**

**Tableau 10:** Résultats des Entérobactéries de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme).

Les antibiotiques	<i>AMC</i>	<i>CIP</i>	<i>CTX</i>	<i>CN</i>	<i>CH</i> <i>LO</i>
<i>Entéroba ctérie 02</i>	08	32	35	22	24
<i>Entéroba ctérie 03</i>	12	28	27	18	23

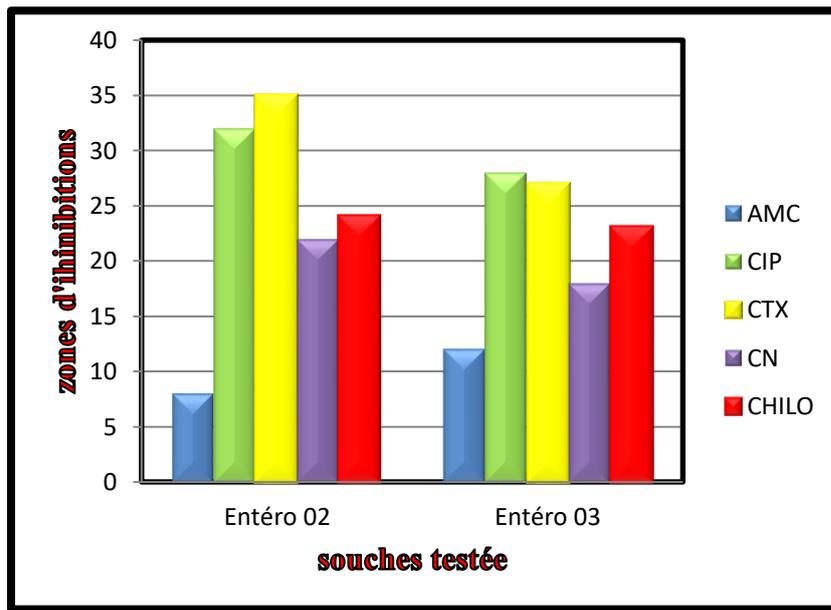


Figure 36: l'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à- vis Entérobactéries

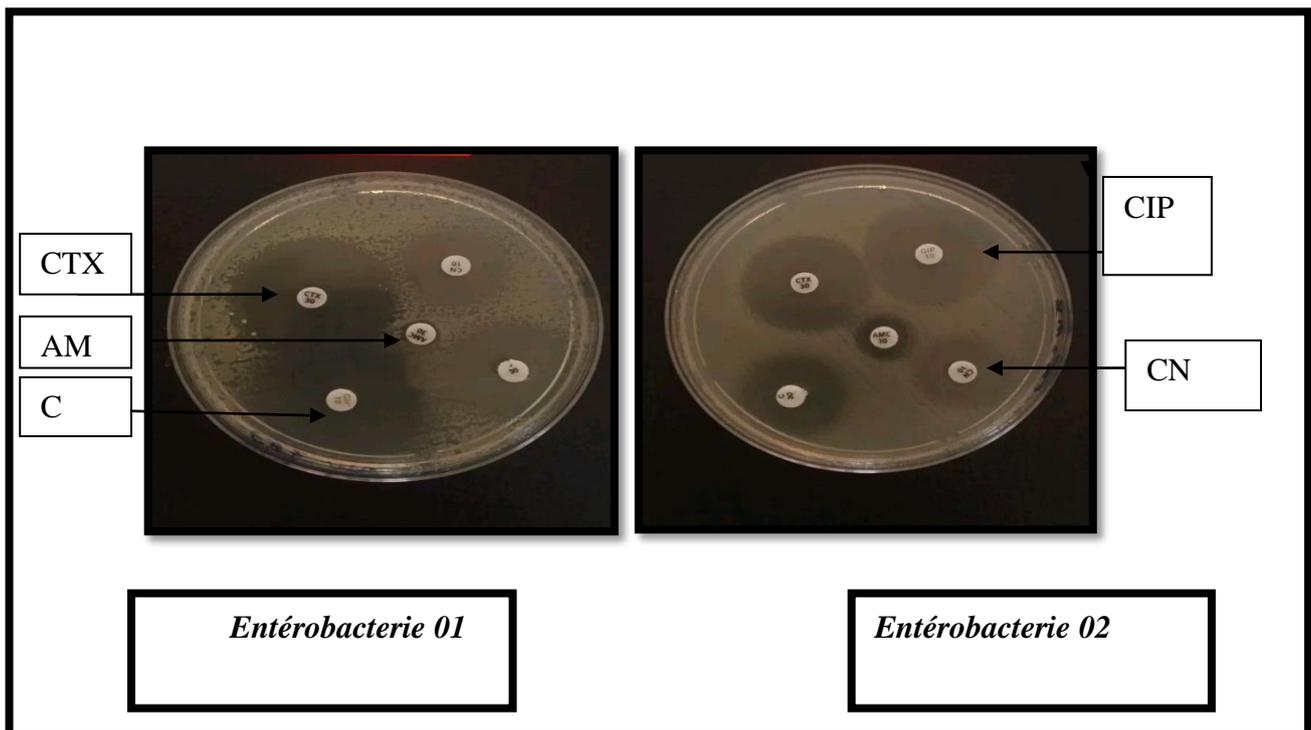
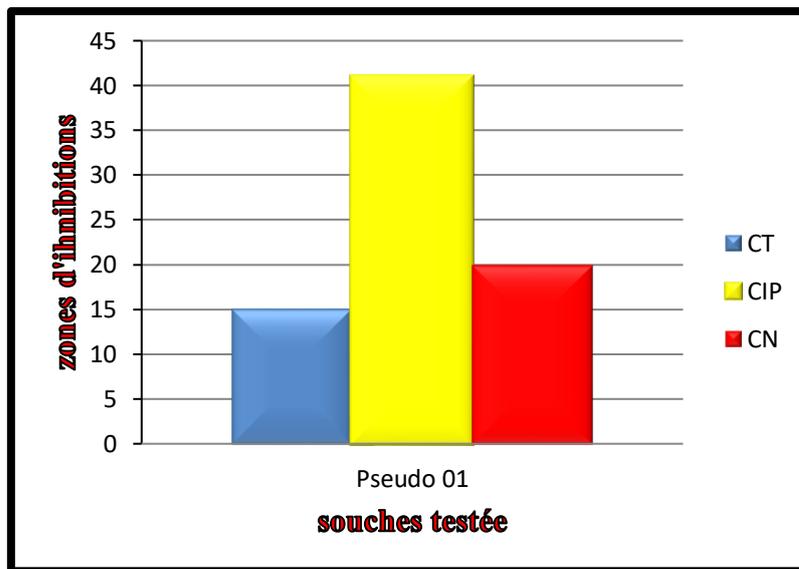


Figure 37: Activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les Entérobactérie (photos personnelles., 2023)

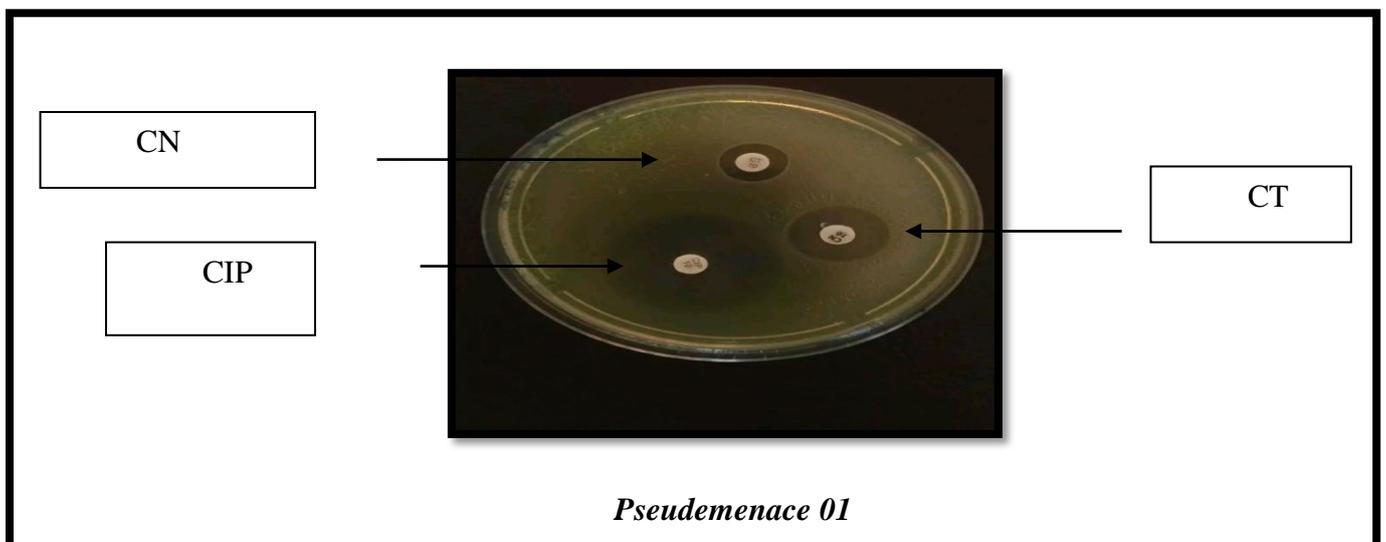
IV.5.2. Résultats de l'étude de l'activité antibactérienne des antibiotiques testée  
 Antibiogramme testée souche (*Pseudomonas. aeruginosa*) (Figure38,39) (Tableau11)

**Tableau 11:** Résultats des *Pseudomonas. aeruginosa* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme).

Les antibiotiques	CT	CIP	CN
<i>Pseudomonas 01</i>	15	41	20



**Figure 38:** L'activité antibactérienne des Antibiotiques vis- à-vis les *Pseudomonas aeruginosa*



**Figure 39:** Résultats des *Pseudomonas. aeruginosa* de l'activité antibactérienne observée avec les Antibiotiques (Antibiogramme) (photo personnelle.,2023)

#### IV.6 Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques

La détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques à permis de révéler quatre profils avec les staphylocoques et un seul profils avec les Entérobactéries et un seul profils

avec le pseudomonas (**Tableau20**)

##### 1. Profils déterminés avec les *Staphylocoques*

Profil ( **R** ; **S** ; **S** ; **R** )avec deux souches .

Profil ( **S** ; **S** ; **I** ; **S** ; **S** ) avec trois souches .

Profil ( **R** ; **S** ; **S** ; **S** ; **R** ) avec deux souches.

##### 2. Profils déterminés avec les *Entérobactéries*

Profils ( **R** ; **S** ; **S** ; **S** ; **S** ) avec deux souches .

##### 3. Profils déterminés avec les *Pseudomonas*

Profils ( **R** ; **S** ; **S** )

#### IV.6.1. Résultats de l'activité des extrais et les antibiotiques

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des différentes extrais avec celles des antibiotiques testée à permis d'enregistrer une excellente ; très bonnes et bonnes activités

à l'égard des tous les profils d'antibiorésistance. (**Tableau 12**)

Tableau 12: Résultats de l'activité des extrais et les antibiotiques

Les souches testée	Les antibiotiques utilisé					Extrais utilisé	Acti vité
<i>Staphyloccus aureus 01</i>	(C10)	(CI P 10)	(E30)	(C D2)	(FOX30)		
	R	S	R	I	R	Extrais Acétonique	Très bonne
<i>Staphyloccus aureus 02</i>	R	S	I	I	R	Extrais Acétonique	Exce llente
<i>Staphyloccus aureus 03</i>	S	S	I	S	S	Extrais Méthanolique	Très bonne
<i>Staphyloccus aureus 04</i>	S	S	I	S	S	Extrais Acétonique+ Méthanolique	Très bonne
<i>Staphyloccus aureus 05</i>	S	S	I	S	S	Extrais Acétonique	Exce llente
<i>Staphyloccus aureus 06</i>	R	S	S	S	R	Extrais Acétonique	Exce llente
<i>Staphyloccus Epidermidis 01</i>	R	S	S	S	R	Extrais Acétonique+ Méthanolique	Très bonne
<i>Entérobactérie 01</i>	(AMC30)	(C N10)	(C30)	(C TX30)	(CIP10)		
	R	S	S	S	S	Extrais Acétonique	Très bonne
<i>Entérobactérie 02</i>	R	S	S	S	S	Extrais Méthanolique	Exce llente
<i>Pseudomonas 01</i>	(CT)	(CI P10)	(CN10)				
	R	S	S			Extrais Acétonique+ Méthanolique	Très bonne

# Discussion

## V. Discussion

pour vaincre la résistance microbienne, la recherche mondiale a déployé de nombreux efforts pour proposer de nouvelles molécules antimicrobiennes alternatives aux antibiotiques actuels afin de développer de nouveaux traitements. Les origines naturelles ont été pendant de nombreuses années la meilleure source de nouvelles molécules antimicrobiennes (Souza et al., 2016). Dans notre travail le rendement de l'extraction acétonique (7,57%) était meilleur que l'extraction méthanolique 80% (3,41%). Cette différence de rendement pourrait être causée par les caractéristiques chimiques des solvants utilisés, en particulier leur polarité, ainsi que les protocoles d'extraction et leurs conditions (Mechergui et al., 2016). Conforti et al (2011) ont constaté l'influence des paramètres technologiques, température, proportion entre matière première/solvant et la durée d'extraction sur le rendement et la composition de l'extrait éthanolique des plantes médicinales. De plus a constaté que nos rendements acétoniques et méthanoliques étaient plus faibles que ceux observés avec d'autres protocoles qui ont utilisé l'extraction aqueuse et éthanolique ; les extraits de feuilles de globulus étaient de 13,07% et 17,17%, respectivement (Khare et al ;2021).

Les résultats obtenus ont révélé une excellente ; très bonne et bonne activité des trois extraits avec des intervalles de diamètres (>20mm) (>15 ; ≤ 20mm) et (>10 ; ≤ 15mm) respectivement vis-à-vis de tous les isolats des Staphylocoques, des Enterobactéries et des Psedomonas testés. Nos résultats sont comparables à celles enregistrées avec Koshovyi et al (2023) qui ont étudié l'activité de l'extrait éthanolique absolu d'*Eucalyptus viminalis* L

; ou les diamètres des zones d'inhibition étaient similaires à notre étude avec les trois catégories des souches testées.

L'étude comparative de l'activité antibactérienne des différents extraits avec celles des antibiotiques testés a permis d'enregistrer une excellente, très bonne et bonne activité à l'égard de tous les profils d'antibiorésistance. Nos résultats concordent avec ceux de Kyambadde et al (2022) qui ont enregistré une activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Grandis* contre le *Staphylococcus Aureus* résistant à la ciprofloxacine et l'*Escherichia Coli* résistant à la Ceftriaxone.

# **Conclusion**

## **Et**

# **Perspectives**

## Conclusion et perspectives

---

### Conclusion et perspectives

L'utilisation intensive et abusive des antibiotiques synthétique conventionnelles vise à vis des infections bactériennes a entraîné divers problèmes d'antibiorésistance et par conséquent un échec thérapeutique. A travers notre étude de l'activité antibactérienne des substances bioactives d'origine végétale représenté par le genre, d' *Eucalyptus* on a pu conclure le suivant :

Le rendement de l'extraction Acétonique était meilleur que le rendement : Méthanolique.

Les meilleures activités antibactériennes des extraits ont été enregistrés vis à vis des Staphylocoques suivi les *Entérobactéries* avec l'extrait Acétonique et enfin des *Pseudomonas*, avec l'extrait Méthanolique.

Une efficacité enregistrée de l'activité antibactérienne des différents extraits à l'égard des tous les profils d'antibiorésistance.

Les extraits alcooliques et Acétoniques de notre plante genre *d'Eucalybtus* peuvent être des sources prometteuses des substances bioactives inhibitrices des bactéries de trois genres avec ces différents profils antibiorésistances.

Il serait intéressant de compléter notre étude par :

Une caractérisation chimique de nos extraits par différentes techniques.

Étude de l'activité antibactérienne en déterminant la CMI et la CMB.

Étude de l'efficacité des composés majoritaires sur les souches testes.

**Les références**

**Bibliographique**

## Références Bibliographiques

---

### Les références bibliographiques

#### A

1. **Akin-Osanaiye BC, Agbaji AS, Dakare MA(2007)**, Antimicrobial activity of oils and extracts of *Cymbopogon citrates*, *Eucalyptus citriodora* and *Eucalyptus camaldulensis*, *J. Med. Sci.*, 7, , 694-697.
2. **Alós JI(2005 )**. Epidemiología y etiología de la infección Urinaria comunitaria. Sensibilidad antimicrobiana De los principales patógenos y significado clínico De la resistencia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 23 : 3–8.
3. **Asteriscus maritimus ET Chrysanthemum trifurcatum (Asterarceae)**. Thèse doctorat. U.B.M., ANNABA, 197p.

#### B

4. **BelhadjalRequires Ki H, Amri M, Chouchene S, Chouchene C, Khorchani H, Seket B, et al(2006)**. Ecthyngangréneux : 3 cas. *Ann Dermatol Venereol* ;133(6–7) :607–8.
5. **BelhadjalRequires Ki H, Amri M, Chouchene S, Chouchene C, Khorchani H, Seket B, et al(2006 )**. Ecthyngangréneux : 3 cas. *Ann Dermatol Venereol*;133(6–7) :607–8.
6. **Bloom, G., Merrett, G.B., Wilkinson, A., Lin, V., Paulin, S., (2017)**. Antimicrobial resistance And universal health coverage. *BMJ Glob.Health* 2, e000518

#### C

7. **Carsuzaa F, Gisserot O, Boye T, Terrier JP, Fournier B(2002)**, Guennoc B.L'ecthyma gangréneux : un marqueur précoce des septicémies à *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Med Interne* ;23(Suppl. 1) :159.
8. **Carsuzaa F, Gisserot O, Boye T, Terrier JP, Fournier B, Guennoc B(2002)**.L'ecthyma gangréneux : un marqueur précoce des septicémies à *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Med Interne* ;23(Suppl. 1) :159.
9. **Cheesbrough M(2004)**, *Tropical Health Technology*. Cambridge University Press, U.K. 1984 541, Kolo I, Okogun JI, Ijah UJJ, The Antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* Against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*, 16 , 106-111.

#### D

10. **Daroui M H.(2012)**. ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES ESPECES *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrnum olusatrum* (Apiaceae),
11. **Davies, J., Davies, D., (2010)**. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 417–433
12. **Desenclos, J. C., & De Valk, H. (2005)**. Les maladies infectieuses émergentes : importance en santé publique, aspects épidémiologiques, déterminants et prévention. *Médecine et maladies infectieuses*, 35(2), 49-61.

#### E

13. **Fabre ,M.C., Genin, A., Merigoux, J., et Moget, E. (1992)**. *Herboristerie Familiale*, Des

## Références Bibliographiques

---

Recettes Simples Avec Des Plantes Simples Pour Résoudre Les Problèmes Simples.

### G

14. **Gales AC, Jones RN, Pfaller MA, Gordon KA, Sader HS(2000 )**. Two-year Assessment of the pathogen frequency and microbial resistance Patterns among organisms isolated from skin and soft tissue Infections in Latin American Hospitals : results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997—1998. *Int J Infect Dis*;4 :75—84

### H

15. **Hahn HP(1997)** . The type-4 pilus is the major virulence-associated adhesin Of *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene*; 192 : 99-108.
16. **Hahn HP(1997)**. The type-4 pilus is the major virulence-associated adhesin Of *Pseudomonas aeruginosa*. *Gene* ; 192 : 99-108.
17. <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-h;;u;;aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques#:~:text=La%20r%C3%A9sistance%20aux%20antibiotiques%2C%20qu,sur%20l'infection%20bact%C3%A9rienne%20cibl%C3%A9e>

### I

18. **Imam, T. H. (2023)**. Infections bactériennes des voies urinaires. Édition Professionnelle Du Manuel MSD

### J

19. **Jahan, M., Warsi, M. K., & Khatoon, F. (2011)**. Studies on antibacterial property of eucalyptus-the aromatic plant. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 7(2), 86-8.

### K

20. **Katzenell, U., Shemer, J., & Bar-Dayyan, Y. (2001)**. Streptococcal contamination of food: an unusual cause of epidemic pharyngitis. *Epidemiology and Infection*, 127(2)
21. **Khalifa, A. B. H., Moissenet, D., Thien, H. V., & Khedher, M. (2011)**. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 69, No. 4, pp. 393-403).
22. **Kohler T, Curty LK, Barja F, Van Delden C, Pechere JC (2000)**. Swarming Of *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and signaling and requires flagella and pili. *J Bacteriol*; 182 : 5990-6.

### L

23. **Lesieur C, Vecsey-Semjen B, Abrami L, Fivaz M(1997)**, van der Goot FG. Membrane insertion : the strategies of toxins. *Mol Membr Biol* ;14 :45-64.
24. **Lim T, Mwiripatayi B, Murray R, Sieunarine K, Abbas M (2006 )**, Angel D. Microbiological profile of chronic ulcers of the lower limb : a prospective Observational cohort study. *ANZ J Surg*;76(8) :688–92.

## Références Bibliographiques

---

### M

25. **Malachowa, N., DeLeo, F.R., (2010).** Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*. *Cell. Mol. Life Sci.* 67, 3057–3071 Live more, D.M., 2021. Antibiotic resistance during and beyond COVID-19. *JAC Antimicrobe. Resistance* 3 i5-i16.
26. **Metro A.(2009).** Les eucalyptus dans le monde méditerranéen Ed.masson et cie. Paris, p513.
27. **Morand, A., & Morand, J. J. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* en dermatologie. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 144, No. 11, pp. 666-675). Elsevier Masson.

### N

28. **Ng SY, Jarrell KF(2003).** Prokaryotic motility structures. *Microbiology* ; 149 : 295-304.
29. **Nicole Jawerth (2020),** La contribution de la science nucléaire face aux maladies infectieuses. AIEA. Consulté sur : <https://www.iaea.org/fr/bulletin/la-contribution-de-la-science-nucleaire-face-aux-maladies-infectieuses>

### P

30. **Penz, S., Puzenat, E., Saccomani, C., Mermet, I., Blanc, D., Humbert, P., & Aubin, F. (2010).** Infection cutanée polymorphe locorégionale à *Pseudomonas aeruginosa*. *Médecine et maladies infectieuses*, 40(10), 593-595

### Q

31. **Quézel, P et Santa, S. (1963).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2, p 637.

### R

32. **Rocchetta HL, Burrows LL, Lam JS(1999).** Genetics of O-antigen Biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Mol Biol Rev* ; 63 : 523-53.

### S

33. **Sethi, S. (2023).** Présentation de la pneumonie. *Manuels MSD Pour Le Grand Public* Nouveau facteur de virulence pour *Pseudomonas aeruginosa* · Inserm, La science pour la santé. (n.d.). Inserm. <https://www.inserm.fr/actualite/nouveau-facteur-virulence-pour-pseudomonas-aeruginosa/#:~:text=%C2%AB%20Le%20pouvoir%20pathog%C3%A8ne%20de%20la,Sylvie%20Elsen%2C%20coauteur%20de%20cette>
34. **Stern JL, Hagerman AE, Steinberg PD, Mason PK(1996),** Phloro tannin-pro tein interactions, *J. Chem. Ecol.*, 22, , 1887-1899.

### T

35. **Tesche, S., et Metternich, F. (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of

## Références Bibliographiques

---

acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Arch. Otorhinolaryngo.

V

- 36. Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A(2001).** The chaperone/usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa* : identification of Fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. Proc Natl Acad Sci USA ; 98 : 6911-6.
- 37. Van Boeckel TP, Gandra S, Ashok A, Caudron Q, Grenfell BT, Levin SA, et al(2014).** Global antibiotic consumption 2000 to 2010: An analysis of national pharmaceutical sales data. Lancet Infect Dis ;14 :742–50.

W

- 38. Wall D, Kaiser D(1999) .** Type IV pili, cell motility. Mol Microbiol; 32 : 1-10.

# **Annexes**

## Annexes

---

### Annexes

**Annexe 01** : Composition des milieux de culture utilisées

#### Gélose nutritive

**Formule en g/l d'eau distillée**

Tryptone	5g
-Extrait de viande	3g
Agar bactériologique1	5g
PH	7.0+0.2

#### Gélose Hektoën

**Formule en g/l d'eau distillée**

Digestif peptique de viande	12.0g
Extrait de levure	3.0g
Lactose	12.0g
Saccharose	12.0g
Salicin	2.0g
Sels biliaries.	9.0g
Chlorure de sodium	5.0g
Thiosulfate de sodium	5.0g
Citrate d'ammonium ferrique	1.5g
Blue de bromothymol	0.065g
Fuchin acide.	0.10g
Agar bactériologique	15g
PH	7.5+0.2
150ML 2-8°C	

## Annexes

---

### Gélose Chapman :

Formule en g/l d'eau distillée

Digestif pancréatique de caséine	5 .0g
Extrait de viande.	1 .0g
Digestif protéique de tissu animale	5 .0g
D-Mannitol	1 0.0g
Chlorure de sodium	7 5.0g
Rouge de phénol	0 .025 g

Agar bactériologique	15.0g
PH	7+0.2g
180ml 2-8°C	

### Gélose Mueller Hinton

Formule en g/l d'eau distillée

Acide caséine peptone	17.5g
Infusion de bœuf	2.0g
Amidon	1.5g
Agar bactériologique	17.0g
PH	7.3+0.2
180ml 2-8°	