

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la
Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité
Biologique



Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de MASTER
En **Biochimie Appliquée**

Présenté par

HASSAINE Khadidja

Thème

**Étude bibliographique sur le pouvoir
antimicrobien d'*Eucalyptus* :
effet antibiofilm**

Soutenu le 27 Juin 2022, devant le jury composé de :

Présidente	Dr. BENARIBA Nabila	MCA	Université de Tlemcen.
Examinatrice	Dr. MEZOUAR Dounia	MCA	Université de Tlemcen.
Encadreur	Dr. ADIDA-CHERIF Houria	MCA	Université d'Oran 1

Année universitaire 2021/2022

مَقَامُ الْمُتَّقِينَ

Remerciement

Je tiens tout d'abord de dire « El-Hamdouli'Allah », merci à DIEU le tout puissant, omnipotent et miséricordieux, de m'avoir donné la volonté, la santé et la patience durant toutes les années d'études.

Je tiens particulièrement à remercier chaleureusement mon encadreur

***Dr. ADIDA-CHERIF Houria**, Maitre de conférences classe « A » à l'Université d'Oran I, pour avoir accepté de m'encadrer et diriger ce travail par excellence. Aussi bien pour ces conseils judicieux, Merci pour sa disponibilité, sa grande patience, ses conseils et ses remarques précieuses. Soyez assuré Madame, de mon estime et de mes profonds respects*

. Son encadrement était plus qu'exemplaire.

Je souhaiterais également à exprimer ma sincère gratitude et mes remerciements aux honorables membres de jury :

***Dr. BENARIBA Nabila**, Maitre de conférence classe « A » à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être présidente de jury.*

***Dr. MEZOUAR Dounia**, Maitre de conférence classe « A » à l'Université de Tlemcen. d'avoir la patience et la bienveillance pour examiner et de juger ce travail.*

Mes vifs et sincères remerciements vont à l'ensemble des enseignants de notre faculté SNV-STU, qui m'ont fourni les connaissances nécessaires pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion Master II option Biochimie appliquée (2021-2022) pour les sympathiques moments qu'on a passés ensemble, et pour toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail trouvé ici l'expression de nos vifs remerciements.

Dédicaces

*L*ouange à Dieu en premier et dernier, et prières et paix soient sur
le bien-aimé Mustafa.

*M*a carrière universitaire s'est arrivée à terminer après épuisement et difficultés...

Et me voilà j'ai en train de conclure mon diplôme de fin d'études avec enthousiasme et vigueur.

*D*ispersante les expressions de gratitude à tous ceux qui ont été crédités dans mon parcours
et m'ont aidé, même si ce n'est qu'un peu à :

*C*elui qui a bu la tasse videment pour me donner une goutte d'amour, celui qui a ramassé des épines
sur mon chemin pour m'ouvrir la voie de la connaissance, à mon « **cher père** ».

*L*a chérie du cœur, Ô toi qui as mis le paradis sous tes pieds, grâce à ton supplication, j'ai été et j'ai
encore inébranlable face aux obstacles de la vie à ma « **cher mère** ».

Que Dieu Tout-Puissant vous protège et fasse pur vous une lumière qui éclaire mon chemin

*B*énédictio de notre vie et à la source des valeurs et du jugement, à ma chère « **grand-mère** »,
je demande à Dieu de te guérir et de prolonger ta vie.

A celui qui j'adopte dans les moindres détails, à la première main qui m'a été tendue dans cette vie.
Ma sœur aînée et deuxième mère « **HOURIA** ». Votre satisfaction est un devoir et je vous lève mon
chapeau pour tous vos sacrifices.

A tous mes « **sœurs** » et « **frères** » pour votre soutien moral et l'amour fraternel qui nous unit

*A*ux mes « **beaux frères** » et mes « **belles sœurs** », sans oublier tous mes « **nièces** » et « **neveux** ».

*J*e vous dédie ces études scientifiques avec une appréciation et un respect sincères, et j'espère qu'il vous
satisfera.

KHADIDJA

أصبحت زيادة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وظهور أمراض معدية جديدة مشكلة صحية عامة خطيرة على نطاق عالمي. الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة عن هذه الأمراض المعدية يمكن أن تكون البكتيريا والفطريات ... أو مجتمع ميكروبي لاطئ (البيوفيلم) الذي يصبح أكثر خطورة وغير حساس للعوامل المضادة للميكروبات. في مواجهة هذا الموقف الحرج ، يصبح البحث لتحديد الجزيئات الحيوية الجديدة ذات النشاط الواسع المضاد للبكتيريا أمرًا ضروريًا. يقدم العلاج بالنباتات الخيار الرئيسي للتغلب على هذه المقاومة لأنه فعال للغاية وغير سام لصحة الإنسان على عكس المنتجات الكيميائية التي يمكن أن يكون لها أحيانًا آثار ضارة وخطيرة.

اتجهت دراستنا نحو إطار دراسة ببيولوجيا نبات طبي موطنه أستراليا " الاوكالبتوس الكروي من عائلة Myrtaceae ، من أجل تحليل نشاطها كمضاد للميكروبات ومضاد حيوي.

تظهر البيانات التي تم تحليلها أن مقتطفات من الاوكالبتوس الكروي ومشتقاتها مثل الزيت العطري (cineol-1.8) تقدم مصدرًا جيدًا للفضائل العلاجية بما في ذلك الفعالية القوية ضد تكوين الأغشية الحيوية ، المواد الفعالة التي تحتوي على تأثيرات من مضادات الجراثيم، الأنتيكوروم، مضادات الأكسدة والتأزر ضد السلالات البكتيرية المختلفة باستخدام طرق مختلفة، مثل طريقة نشر قرص أجار ، CMI ، حركية فقدان الصلاحية في الختام ، كل هذه الخصائص للعوامل المختبرة يمكن أن تمهد الطريق لمنع تطور تكوين البيوفيلم وبالتالي انتشار المقاومة البكتيرية.

الكلمات المفتاحية: الأمراض المعدية ، المجتمع الميكروبي ، الاوكالبتوس الكروي، زيت عطري

Résumé

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques et l'émergence de nouvelles maladies infectieuses est devenue un problème sérieux de santé publique à l'échelle mondiale. Les microorganismes responsables de ces maladies infectieuses peuvent être des bactéries, des champignons... ou une communauté microbienne sessile (biofilm) qui devient plus graves et insensibles aux agents antimicrobiens. Face à cette situation critique, la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antibactérienne devient impérative. La phytothérapie présente le choix clé pour vaincre ces résistances puisqu'elle est une puissante efficacité et non toxique à la santé humaine contrairement aux produits chimiques qui peuvent parfois avoir des effets indésirables graves.

Notre étude s'est penchée vers le cadre d'une étude bibliographique d'une plante médicinale originaire d'Australie « *Eucalyptus globulus Labill* » de la famille des myrtacées, afin d'analyser son activité antimicrobien et antibiofilm.

Les données analysées montrent que les extraits d'*E. globulus* et leur dérivé tel que l'huile essentielle (1.8-cinéol) présente une bonne source de vertus thérapeutiques y compris une puissante efficacité contre la formation de biofilm, des substances actives possédant des effets antibactériennes, antiquorum, antioxydant et synergique très élevés vis-à-vis des souches bactériennes différentes en utilisant diverses méthodes, à savoir la méthode de diffusion sur disque d'agar, microdilution sur milieu liquide afin de déterminer les CMI, cinétique de perte de viabilité, méthode en damier ...

Pour conclure, toutes ces propriétés des agents (huiles essentielles, extraits) testés peuvent ouvrir la voie à la prévention du développement de la formation de biofilm et par la suite à la propagation de résistances bactériens.

Mot clés: Maladies infectieuses, communauté microbienne, *Eucalyptus globulus Labill*, huile essentielle.

Abstract

The increase of bacterial resistance to antibiotics and the emergence of new infectious diseases has become a serious public health problem worldwide. The microorganisms responsible for these infectious diseases can be bacteria, fungi... or a sessile microbial community (biofilm) that becomes more severe and insensitive to antimicrobial agents. Faced with this critical situation, research for the identification of new biomolecules with broad antibacterial activity becomes imperative. Phytotherapy presents the key choice to overcome these resistances since it is a powerful efficacy and non-toxic to human health unlike chemical products that can sometimes have serious adverse effects.

Our study focused on a bibliographic study of a medicinal plant native to Australia "*Eucalyptus globules Labill*" of the myrtaceae family, in order to analyze its antimicrobial and antibiofilm activity.

The analyzed data show that *E. globulus* extracts and their derivative such as essential oil (1.8-cineole) presents a good source of therapeutic virtues including potent efficacy against biofilm formation, active substances possessing very high antibacterial, anti-quorum, antioxidant and synergistic effects against different bacterial strains using various methods, namely agar disk diffusion method, MIC, Loss of viability kinetics, checkerboard method...

In conclusion, all these properties of the tested agents can pave the way to prevent the development of biofilm formation and subsequently the propagation of bacterial resistance.

Key words: Infectious diseases, microbial community, *Eucalyptus globules Labill*, essential oil.

LISTE DES FIGURES

Figure N°01	Cibles des principales familles d'antibiotiques.....	08
Figure N°02	Observations par microscopie électronique du biofilm.....	10
Figure N°03	Les différentes étapes de la formation d'un biofilm.....	11
Figure N°04	Les stratégies de la résistance aux antibiotiques.....	13
Figure N°05	Mécanisme de résistance.....	14
Figure N°06	De la plante aux médicaments.....	15
Figure N°07	Structure de noyau phénol.....	17
Figure N°08	Squelette de base des flavonoïdes.....	17
Figure N°09	Structure d'une unité isoprène.....	20
Figure N°10	Répartition géographique d' <i>Eucalyptus globulus</i> dans l'Algérie.....	23
Figure N°11	Illustration de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	24
Figure N°12	Arbre d' <i>E. globulus</i>	25
Figure N°13	Tronc d' <i>Eucalyptus globulus</i>	25
Figure N°14	Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	26
Figure N°15	Fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i>	27
Figure N°16	Jeune fruit d' <i>Eucalyptus globulus</i>	27
Figure N°17	Structure chimique de quelques composés détectés dans l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	29

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°01	Caractéristique et diversité des agents pathogènes des maladies infectieuses.....	05
Tableau N°02	Mode d'action des principales classes d'antibiotiques.....	07
Tableau N°03	Critères de catégorisation selon les valeurs critiques (CA-SFM).....	09
Tableau N°04	Types d'alcaloïdes avec précurseur en acides aminé.....	19
Tableau N°05	Classification des terpénoïdes basée sur le nombre d'unités d'isoprène.....	20
Tableau N°06	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Eucalyptus globulus</i>	29
Tableau N°07	Indications thérapeutiques.....	30

LISTE DES ABREVIATIONS

E. globuls :	<i>Eucalyptus globulus</i>
ADN :	Acide désoxyribonucléique
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CMB :	Concentration Minimale Bactéricide
CA-SFM :	Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie
UV :	Ultraviolet
OMS :	Organisation mondial de la santé
HPLC :	Chromatographie liquide à ultra haute pression
<i>HPTLC</i>	Chromatographie en couche mince haute performance
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
IR :	Spectroscopie infrarouge
LC-MC :	Chromatographie en phase liquide - spectrométrie de masse
GC-MC :	Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse
HE :	Huile essentielle
AFNOR	Association Française de Normalisation
S. mutans :	<i>Streptococcus mutans</i>
HS-SPME :	Head space- microextraction sur phase solide
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse
GC-FID :	Chromatographie en phase gazeuse – détecteur par ionisation de flamme
DPPH :	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyl
ABTS :	Acide 2,2-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
CUPRAC :	Capacité antioxydant réducteur cuivrique
mg/mL :	Milligramme par millilitre
mm :	Millimètre

Sommaire

Introduction générale.....	01
Partie I : Étude bibliographique	
Chapitre I : Maladies infectieuses et plantes médicinales	03
Chapitre II: Généralité sur l'<i>Eucalyptus globulus</i>.....	22
Partie II : Analyse des articles scientifiques	
Chapitre I: Pouvoir antimicrobien d'<i>Eucalyptus globulus</i>	32
Chapitre II: Discussion générale	41
Conclusion générale.....	43
Références bibliographiques.....	44



INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au début du XX^e siècle, les antibiotiques ont révolutionné la prise en charge des pathologies infectieuses avec une amélioration majeure de la mortalité. Dans les années 1990 les progrès de la recherche ont permis, un développement incessant de nouvelles molécules, de nouvelles mécanismes d'action variés et complémentaires, permettant à répondre de façon adaptée à l'évolution de la résistance. Les années 2000 ont été marquées par une perte de cette sensation d'invulnérabilité stigmatisée par l'apparition des bactéries d'abord multirésistantes puis pan-résistantes à l'origine d'authentiques impasses thérapeutiques. Ce nouveau challenge a donc motivé ces dernières années un regain d'intérêt pour des thérapeutiques considérées comme alternatives (**Kipnis *et al*, 2012**).

Cependant, Les plantes médicinales et aromatiques représentent un large groupe de matériel végétal qui est apprécié essentiellement pour leurs composants chimiques connus sous le nom de métabolites secondaires qui incluent les huiles essentielles. Ces plantes ont été utilisées, depuis l'antiquité, pour restaurer et maintenir la santé humaine, ainsi que pour conserver et améliorer les aliments et pour ajouter de la couleur et de l'arôme à la vie quotidienne [(**Inoue et Craker, 2014**) ; (**Daneshzadeh *et al*, 2020**)].

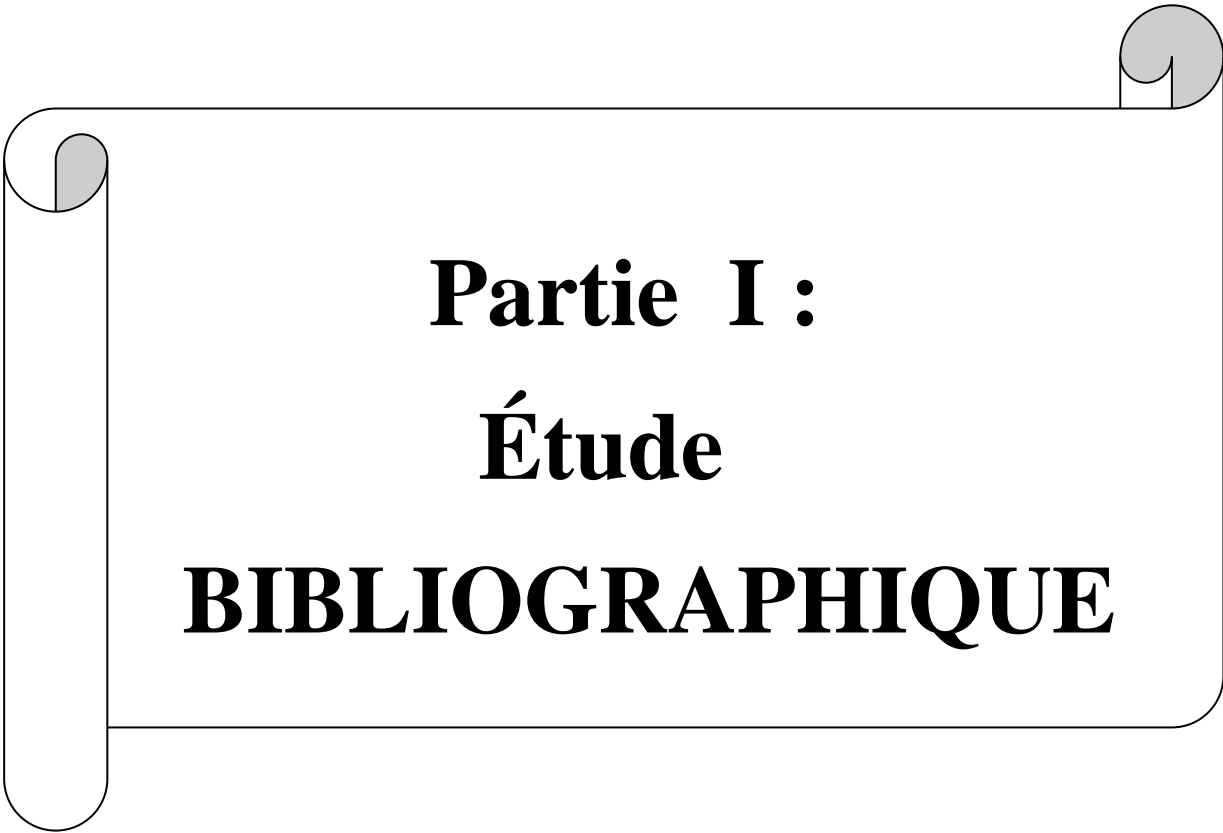
Par ailleurs, Les huiles essentielles (HE) sont reconnues depuis longtemps pour leurs usages médicaux, ils présentent plusieurs activités tel que : l'activités antibactériennes, antifongiques, antibiofilm, antivirales, insecticides, propriétés antioxydantes et leur large spectre pharmacologique [(**El-Yaagoubi *et al*, 2021**) ; (**Küçükaydın *et al*, 2020**)]. De plus, leurs utilisation comme additif aux aliments avec des doses prescrites, les HE sont généralement considérées comme GRAS (Generally Recognized as Safe), qui ont été approuvés par l'Administration des aliments et des médicaments (FDA) (**Burt, 2004**).

L'Algérie, par sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de variations climatiques offrant ainsi une végétation riche et diverse. Un grand nombre y poussent spontanément (**Boukhatem *et al*, 2020**).

C'est dans cette optique, nous avons entrepris notre présente étude sur l'étude bibliographique de l'activité antimicrobienne de la plante *Eucalyptus globulus Labill* qui est utilisée depuis longtemps dans la médecine populaire Algérienne.

L'objectif de cette étude repose sur deux axes :

- Le premier est consacré aux données bibliographiques comportant dans le premier chapitre des généralités sur maladies infectieuses et plantes médicinales. Quand le deuxième chapitre présente une synthèse bibliographique sur la plante d'étude.
- Le deuxième axe traite l'analyse de quelques articles scientifiques qui consistent à étudier le pouvoir antimicrobien de la plante traité.



Partie I :
Étude
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I :

Maladies infectieuses et

Plantes médicinales

Le mot microbe (ou microorganisme) est employé pour décrire un organisme vivant de petite taille, le plus souvent microscopique. Il est donc utilisé pour désigner les bactéries, les mycètes, les prions, les virus, les protozoaires et même certaines algues (**Monique, 2017**).

La plupart des microorganismes sont utiles et inoffensifs, ils se trouvent déjà dans plusieurs parties de notre corps (bouche, gorge, peau, intestin ...), ils ont même un rôle protecteur, mais dans d'autres cas, certains d'entre eux sont invasifs et pathogènes lorsqu'ils pénètrent dans notre organisme, peuvent perturber le fonctionnement corporel, ils sont alors l'origine de plusieurs maladies infectieuses qui peuvent être virales, bactérienne, fongique et parasitaire (**Patric, 2021**).

Cette diversité des maladies infectieuses (**Tableau N°01**) résulte en fait de la diversité des agents pathogènes qui les causent (**Nicolle, 2013**).

Tableau N°01:Caractéristique et diversité des agents pathogènes des maladies infectieuses [(Lesaffre, 2008) ; (Pebret, 2003)].

Agents	Caractéristique	Maladies infectieuses
Virus	Les virus sont constitués d'un génome (ADN ou ARN) situé dans une capsidie protéique. Pour se multiplier, ils détournent à leur profit la machinerie de la cellule qu'ils infectent. Les virus à ARN sont susceptibles de muter aisément.	Rhinite
		Grippe
		Hépatite
		Rage
		VIH
		Poliomyélite
		Gastro-entérite
Bactéries	Les bactéries sont faites d'une seule cellule sans noyau (procaryote) dont le génome est constitué d'ADN. Elles se reproduisent par simple division cellulaire. Certaines bactéries se développent à l'extérieur des cellules alors que d'autres ont une multiplication strictement intracellulaire.	Angiomatose bacillaire
		Brucellose
		Choléra
		Tuberculose
		La lèpre
		Staphylococcie
		Méningococcie
Champignons	Les champignons possèdent un noyau entouré d'une membrane qui contient plusieurs chromosomes (eucaryotes) ; ils peuvent être sous forme unicellulaire (levures) ou pluricellulaire (moisissures). Ce sont surtout les micromycètes qui provoquent des pathologies chez l'homme (mycoses).	Aspergillose
		Candidose
		Cryptococcose
		Dermaphytose
		Histoplasmosse
		Pityriasis versicolore
Parasites	Les parasites sont unicellulaires (protozoaires) ou pluricellulaire, à développement intra ou extracellulaire. Ils nécessitent le plus souvent le passage entre plusieurs espèces (hôtes intermédiaires) et par l'environnement pour être envahissant et déclencher la maladie	Cryptosporidiose
		Oxyurose
		Filariose
		Distomatose
		Echinococcose
		Leishmaniose

Les maladies infectieuses sont basées sur l'interaction entre l'agent pathogène et l'hôte, qui peut mener à la disparition de l'un ou l'autre ou leur survie. Le passage de l'agent infectieux, définit la transmission qui se classe selon plusieurs modalités : la transmission peut être direct ou indirect, verticale ou horizontale, peut requérir ou non la présence d'un vecteur (**Joli, 2003**). Généralement pour l'homme les agents pathogènes subit une transmission interhumaine, c'est la contagion ou l'infection (**Paillard, 2018**).

Les agents antimicrobiens font simplement référence à tous les types de médicaments qui ont pour rôle l'élimination et la destruction des microorganismes (on le nomme par le suffixe «cide» : microbiocide) ou inhibé leurs croissance (désigné par le suffixe « statique » : microbiostatique). Parmi eux on trouve notamment les antibiotiques, les antiviraux, les antiparasitaires et les antifongiques (**Prescott et al., 2018**).

Selon l'*Institut Pasteur* en 2019, les antibiotiques ont représenté une avance médicale majeure au cours du XX^{ème} siècle, non seulement par leurs capacités d'éliminer les bactéries pathogènes, mais ils permettent de lutter contre un grand nombre d'infections telles que ; pneumonies, bronchites, otites, méningites, infections urinaires, septicémies, maladies sexuellement transmissibles...

Les antibiotiques se réfèrent strictement aux substances d'origine naturelle, sauf trois types d'antibiotiques: les sulfamides, les quinolones (origine synthétique) et les oxazolidinones (origine semi-synthétique) [(**Singh et Barrett , 2006**) ; (**Muylaert et Mainil, 2012**)].

Selon leurs modes d'action, leurs spectres d'activités, leurs structures chimiques, les antibiotiques sont divisés en différentes classes qui sont indiquée dans le (**tableau N°02**).

Tableau N° 02 : Mode d'action des principales classes d'antibiotiques
[(**Demoré, 2018**); (**Singh et Barrett, 2006**)].

Classe	Structures chimiques	Spectre d'activité	Mode d'action	Exemple
Sulfamides		Bactériostatique	-Inhibition de la synthèse de l'acide folique, cofacteur de la synthèse des bases puriques et pyrimidiques -Entraînent une diminution de la production	Sulfaméthoxazole
β lactamases 1 ère génération		Bactéricide	Inhibe la synthèse de peptidoglycane par blocage de la transpeptidation	Pénicilline
β lactamases 2ème génération				Céphalosporine
Aminoglycosides		Bactéricide	Se fixe sur la sous unité 30S des ribosomes bactériens et bloquent une partie de la traduction en engendrant des erreurs de la lecture.	Streptomycine
Tétracyclines		Bactériostatique	Bloque la traduction en se fixant sur la sous-unité 30S du ribosome.	Tétracycline
Macrolides		Bactériostatique	Se fixe sur l'ARN 23S de la sous unités 50S du ribosome ce qui empêche l'élongation de peptide au cours de la traduction.	Erytrpmycine
Phénylpropanoïdes				Chloramphénicol
Quinolones et Fluoroquinolones		Bactéricide	Inhibe la transmission et la réplication de l'ADN par la formation de complexe ADN-gyrase.	Ciprofloxacine

Ces antibiotiques ont des cibles qui sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques et la nature des bactéries (**Figures N°03**).

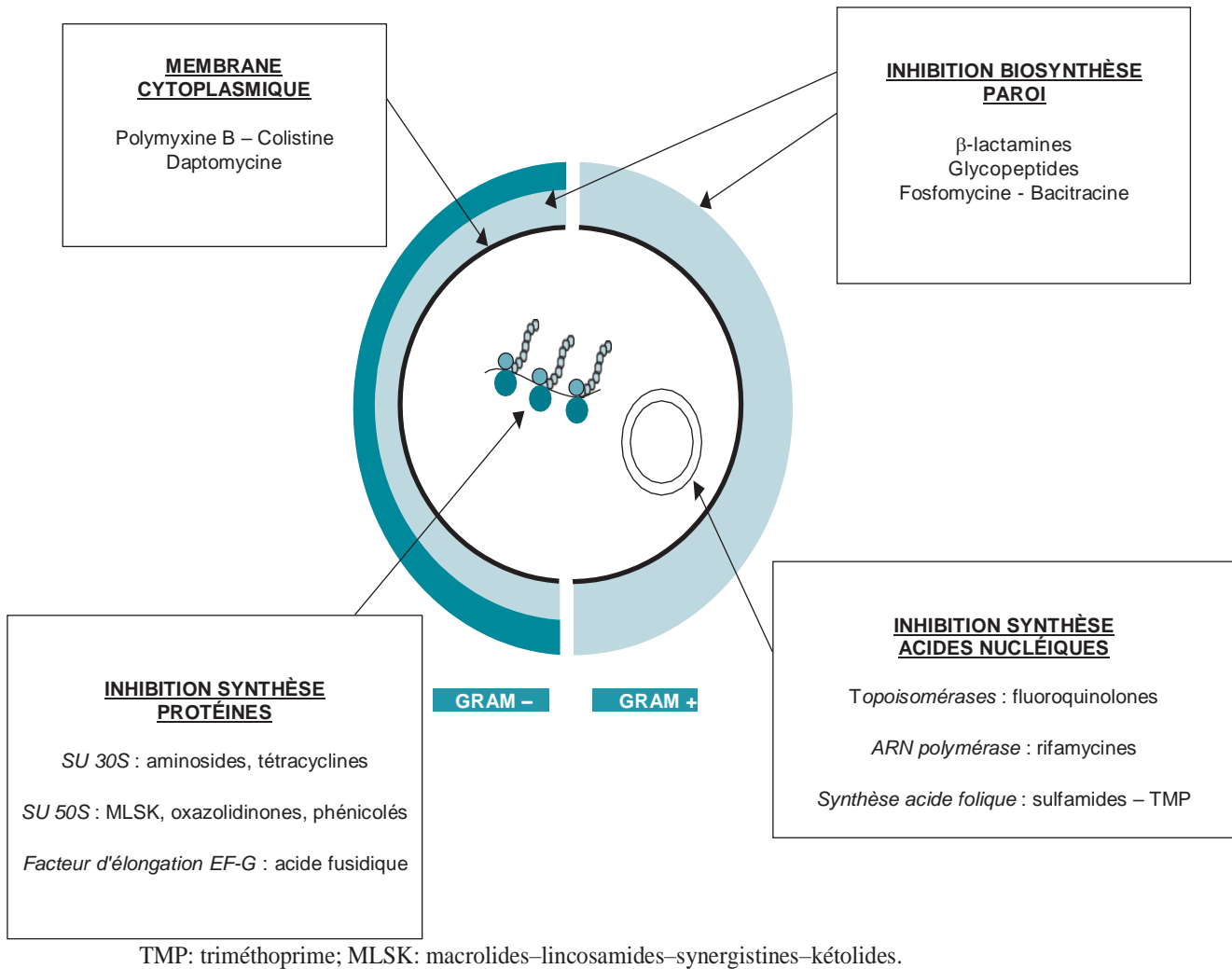


Figure N°01: Cibles des principales familles d'antibiotiques (**Demotré, 2018**).

L'activité antibactérienne évaluée *in vitro* par la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique (**E. Pilly, 2020**). Les antibiotiques sont actifs sur les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif (spectre étroit) ou sur les deux à la fois (spectre large). Les antibiotiques ont une action bactériostatique ou bactéricide, et leur action est dépendante de la durée pendant laquelle la concentration sérique est supérieure à la CMI (temps-dépendants) ou de la concentration sérique au pic (concentration-dépendants). Ces différentes notions permettent de définir le spectre d'activité des antibiotiques ainsi que les profils de sensibilité des bactéries

qu'est réalisée par l'antibiogramme et leur valeur dépendent aux normes de l'European Committee for Antibiotic Susceptibility (EUCAST) sur le site de la Société Française de Microbiologie ou SFM (**Tableau N°03**) (**Demoré *et al.*, 2018**).

- La concentration minimale inhibitrice (CMI) : concentration minimale d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible après 18 heures d'incubation à 35 °C.
- La concentration minimale bactéricide (CMB) : concentration minimale d'antibiotique qui élimine 99,99 % des bactéries d'un inoculum standardisé à $10^5 - 10^6$ bactéries/mL, après 18 heures d'incubation à 35 °C.

Tableau N°03 : Critères de catégorisation selon les valeurs critiques (CA-SFM)
(**Demoré *et al.*, 2018**).

Catégorie	CMI (mg/L)	Diamètre (Ø) (mm)
Sensible	$CMI \leq c$	$D \leq \emptyset$
Intermédiaire	$c < CMI \leq C$	$d \leq \emptyset < D$
Résistant	$C < CMI$	$\emptyset < d$

« c » la concentration critique basse, « C » la concentration critique haute, « d » diamètre critique basse, « D » diamètre critique haut.

Certains des effets les plus fréquemment observés des antibiotiques à des concentrations sous-inhibitrices sont ceux impliquant la modulation de la formation de biofilm (**Townsley et Shank, 2017**). Le biofilm est le mode de vie des microorganismes, des êtres unicellulaires en particulier les bactéries sous la forme de communautés agrégées le plus souvent fixés à un support et ils sont ubiquitaires (**Claire *et al.*, 2020**) (**Figure N°02**). En effet, ces communautés bactériennes sont ancrées sur des surfaces et constitue des populations hétérogènes pouvant contenir jusqu'à 100 millions à 10 milliards cellules par gramme de matière déshydratée, sont intégrées dans une matrice auto-excrétée de substances polymères et qui joue un rôle majeur en assurant la cohésion de l'ensemble, voire la fixation à la surface du substrat [(**Aumeran *et al.*, 2020**) ; (**Costerton *et al.*, 1995**)].

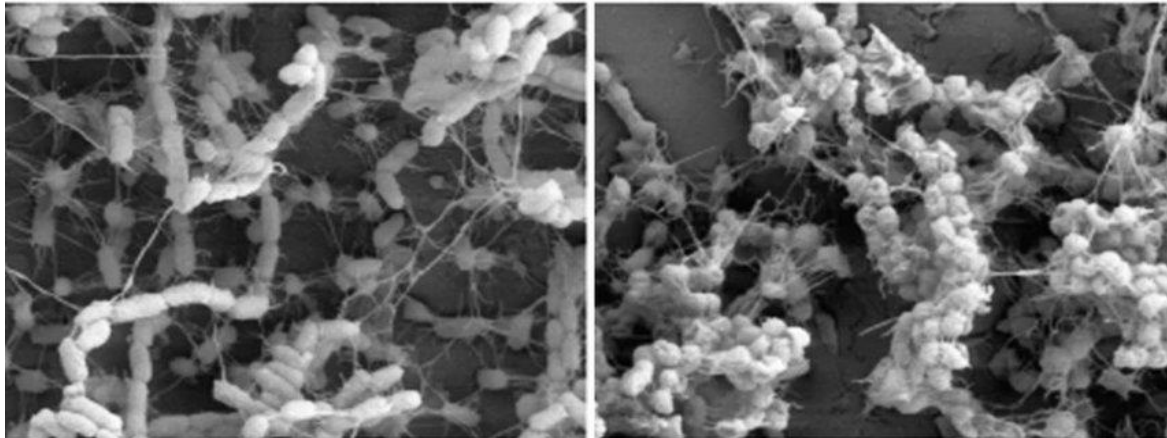


Figure N°02 : Observations au microscope électronique à transmission du biofilm formé par *Alcanivorax borkumensis* SK2 cultivées par l'hexadécane sur des surfaces abiotiques. Les images ont été prises au bout de 10 jours de croissance (**Sabirova et al., 2011**).

Des études montrent que la formation des biofilms dépend de l'accès des bactéries aux nutriments puisque dans des conditions pauvres en nutriments, les bactéries seraient sous forme planctonique afin de se diriger vers des environnements plus favorables (**Stanley et Lazazzera, 2004**). De plus, les biofilms sont généralement constitués de plusieurs espèces de bactéries dont la proximité dans le biofilm facilite les échanges et la mise en place de symbioses entre des bactéries aux besoins métaboliques différents (**Shapiro, 1998**).

La formation des biofilms se fait en quatre étapes essentielles qui permettent la différenciation d'un groupe de cellules planctoniques, individuelles en une communauté microbienne sessile. Ces étapes sont indiquées dans la (**Figure N°03**). Le cycle de vie d'un biofilm commence avec l'adhésion initiale de bactéries planctoniques sur un support, elle est suivie d'une phase de développement dite précoce au cours de laquelle les bactéries se divisent, synthétisent et sécrètent les composants de la matrice puis la phase de maturation permet le développement d'une structure tridimensionnelle avec mise en place d'un environnement hétérogène dans lequel les bactéries évoluent et interagissent, sous la forme de compétition ou de synergie. Enfin, l'étape ultime consiste en une phase de dispersion, avec détachement d'un certain nombre de bactéries du biofilm sous forme isolée ou de microagrégats, susceptibles de coloniser d'autres surfaces (**Claire et al., 2020**).

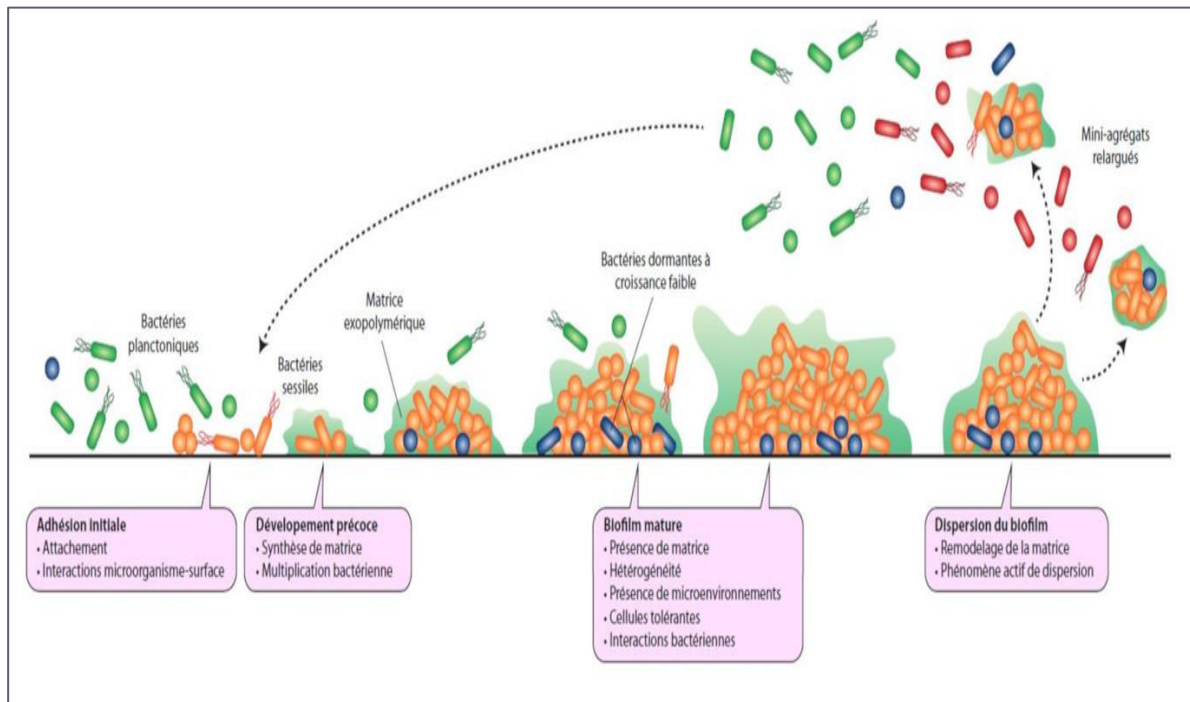


Figure N°03 : Les différentes étapes de la formation d'un biofilm (Claire *et al.*, 2020).

De nombreux travaux ont montré que les bactéries du biofilm résistent mieux que leurs équivalents planctoniques à de nombreuses agressions extérieures comme les UV, les changements de pH et d'osmolarité, la prédation et les agents antimicrobiens. Les biofilms tolèrent les antibiotiques à des concentrations 10 à 1000 fois plus élevées que les bactéries planctoniques. De ce fait, les biofilms sont responsables de plus de 75% des infections chez l'Homme et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical (Ceri *et al.*, 1999) ;(Roux et Ghigo, 2006) .

Les infections associées aux biofilms affectent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Costerton *et al.*, 1999). À partir des réservoirs ainsi ces bactéries peuvent se détacher ponctuellement et coloniser d'autres surfaces ou pénétrer plus en aval dans l'organisme. La répétition de ces décharges conduit à des formes infectieuses chroniques, particulièrement difficiles à diagnostiquer et à traiter (Aumeran *et al.*, 2020).

Le traitement des infections liées à la formation de biofilm est particulièrement délicat, et ceci pour de multiples raisons. Outre la présence simultanée de plusieurs espèces bactériennes, la forme de vie biofilm complexifie les traitements car les bactéries ainsi agrégées présentent des mécanismes de résistance extrêmement élevée aux antibiotiques, aux désinfectants et à la

réponse immunitaire de l'hôte. Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.); elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus [(Davies, 2003) ; (Lewis, 2001) ; (Roux et Marc Ghigo, 2006)].

Les antibiotiques sont alors inactifs car leurs cibles cellulaires ne sont pas synthétisées par les bactéries donc les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement fini [(Claire *et al.*, 2020) ; (Roux et Marc Ghigo, 2006)].

Selon les situations, l'objectif pour lutter contre les biofilms consiste à inhiber leur formation (stratégies préventives) ou à désintégrer un biofilm existant (stratégie curative) sans entrainer la dissémination dans l'organisme de bactéries vivantes capables de coloniser d'autres sites (Claire *et al.*, 2020).

En revanche, l'efficacité des antibiotiques est également menacée avec l'émergence dans le monde entier des bactéries présentant des mécanismes de résistance propre (génétique et individuelle) (Institut Pasteur, 2019). Elles peuvent alors provoquer chez l'homme ou l'animal des infections plus difficiles à traiter que celles dues à des bactéries non résistantes à cause de l'usage abusif ou inapproprié de médicaments antimicrobiens (OMS, 2020).

De plus, les bactéries pathogènes grâce à leur flexibilité et plasticité génétique sont capables de mettre en place un programme de résistance spécifique contre un antibiotique particulier ou vis-à-vis de plusieurs antibiotiques à la fois donnant lieu à ce qu'on appelle les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (multi-drugs-resistantes ou MDR) (Bouyahya *et al.*, 2017).

Parmi les bactéries pathogènes qui sont devenues de vrais problèmes pour la santé humaine, on trouve des espèces appartenant aux familles des Entérobactéries, des Pseudomonacés et des bactéries de la famille des Acinetobacter qui sont quasiment résistantes à tous les antibiotiques prescrit (Bouyahya *et al.*, 2017).

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens (Figure N°04), les plus répandus étant : l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antibiotique, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite (passage par diffusion simple ou transport actif) de la molécule (Démontré *et al.*, 2018).

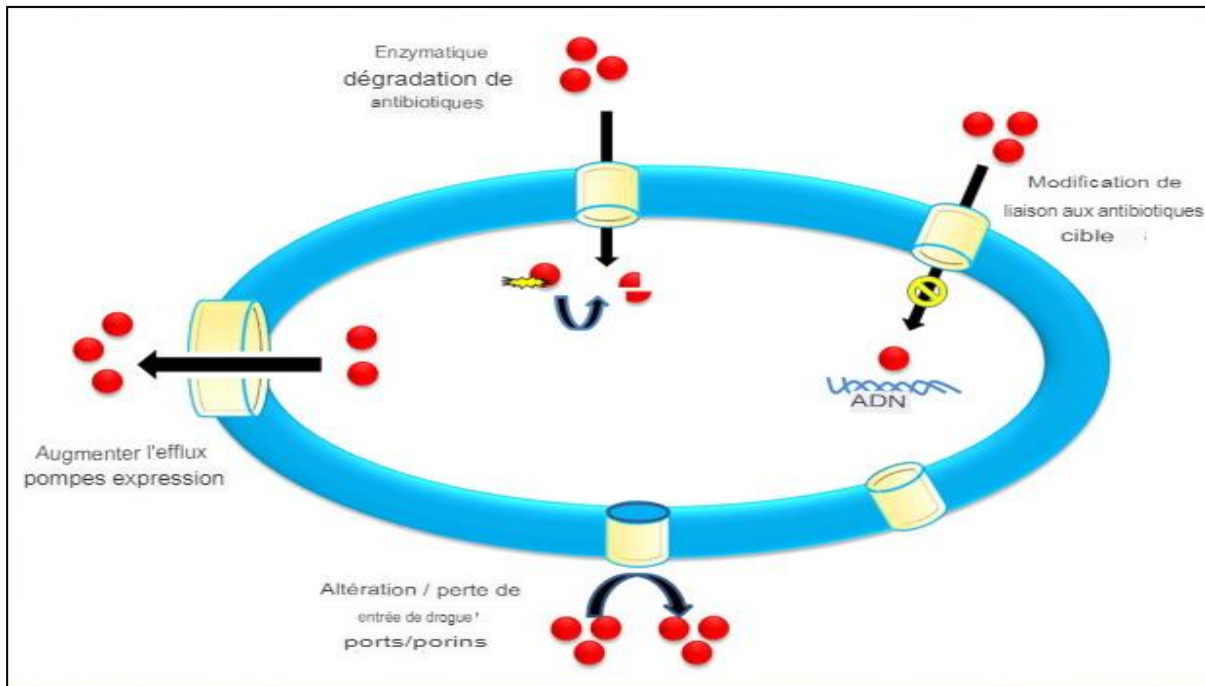


Figure N°04 : Les stratégies de la résistance aux antibiotiques (El-Tarabily *et al.*, 2021).

La résistance bactérienne aux antibiotiques a deux origines essentielles, naturelle et acquise (Figure N°05). La première est une résistance intrinsèque, présente dans toutes les bactéries d'un même genre ou d'une même espèce, programmée au niveau du pool génomique. (Bouyahya *et al.*, 2017).

En revanche, la résistance acquise est développée en fonction des conditions métaboliques, n'est présente que chez quelques souches d'une espèce normalement sensible à l'antibiotique, mais elle est due à des modifications dans le profil d'expression génique via des mutations chromosomiques ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (Bouyahya *et al.*, 2017).

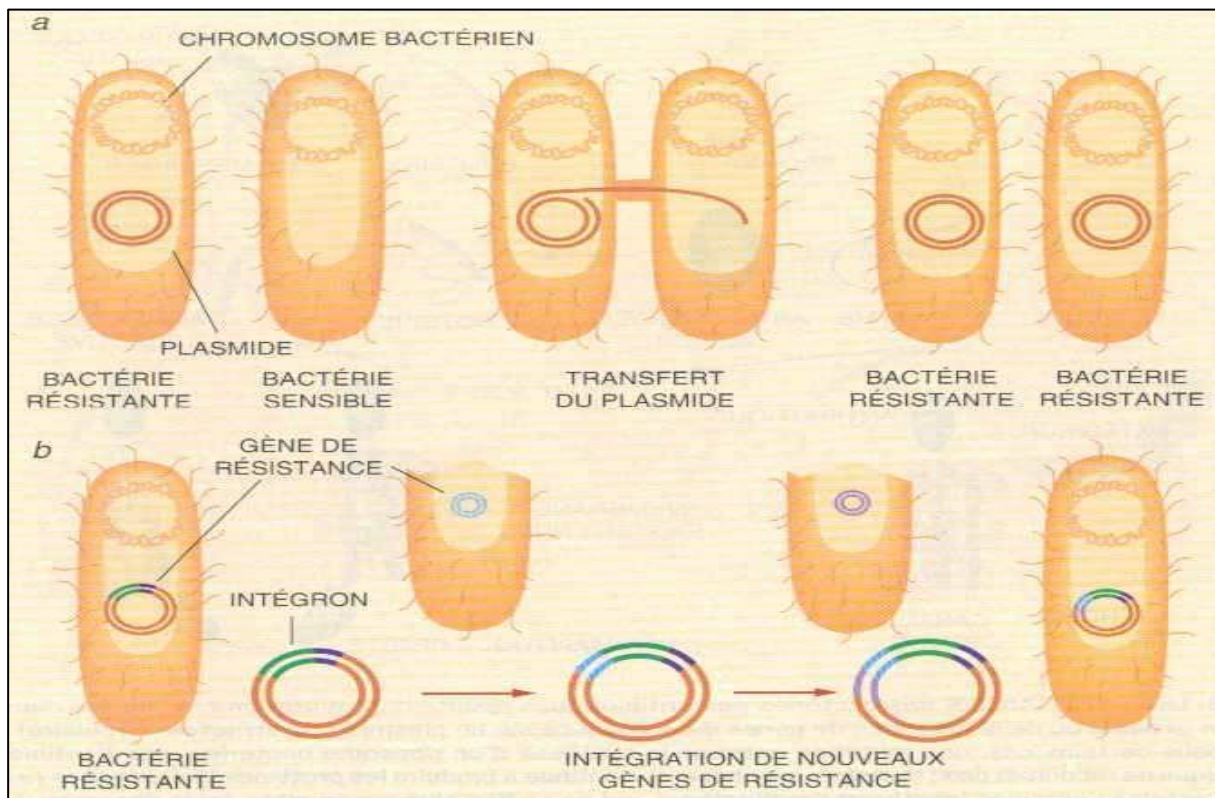


Figure N°05 : Mécanisme de résistance (Torche et Bensegueni, 2019).

Selon l’OMS, l’émergence et le développement rapide des souches résistantes devraient un problème mondial sérieux, tous les médicaments qui ne sont plus efficaces perdent leur valeur et aucune nouvelle grande classe d’antibiotiques n’a été découverte depuis 1987 et trop peu d’agents antibactériens sont en cours de mise au point pour combattre le phénomène de résistance (OMS, 2016).

Face à ce problème, les chercheurs ont orienté leurs recherches pour l’identification de nouvelles biomolécules alternatives et efficaces avec une large activité antimicrobienne (Bouyahya *et al*, 2017). En se basant sur des ressources naturelles, notamment d’origine végétale, qui ont été utilisés depuis l’antiquité par l’homme, d’abord pour se nourrir, puis pour se soigner (Quetin-Leclercq, 2002).

En effet environ 65 à 80 % de la population mondiale à recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaire, en raison de la pauvreté et du manque d’accès à la médecine moderne (Kouider *et al*, 2019). L’inventaire réalisé par l’OMS, à la fin des années 1970 estimaient à environ 21 000 le nombre des espèces ayant des propriétés médicinales dans le monde, cette dernière semble être une approche très prometteuse car elles contiennent une grande variété de métabolites propres servir de base de développement de nouveaux médicaments,

capables de s'adapter à l'organisme et d'inhiber ou de ralentir la croissance des bactéries, ce sont les métabolites secondaires appelés aussi « composés naturels » [(Penso, 1980) ; (Schippmann *et al.*, 2002) ;(Bouyahya *et al.*, 2017)].

Cependant, le premier principe actif extraire avec le progrès de chimie est aux XVIIIe et XIXe siècles, qui a permis la fabrication d'un médicament à base des plantes ou extraits standardisés (Quetin-Leclercq, 2002) (Figure N°06). Actuellement, environ deux tiers des médicaments ont une origine naturelle ; obtenus par hémi-synthèse ou par modification d'un produit naturel, un bon exemple pourrait être l'aspirine (acétylsalicylate) qui dérive du salicylate. Uniquement le tiers des médicaments commercialisés possède donc une origine purement synthétique généralement sous la forme d'un dérivé de l'acétyle (Bourgaud *et al.*, 2001).

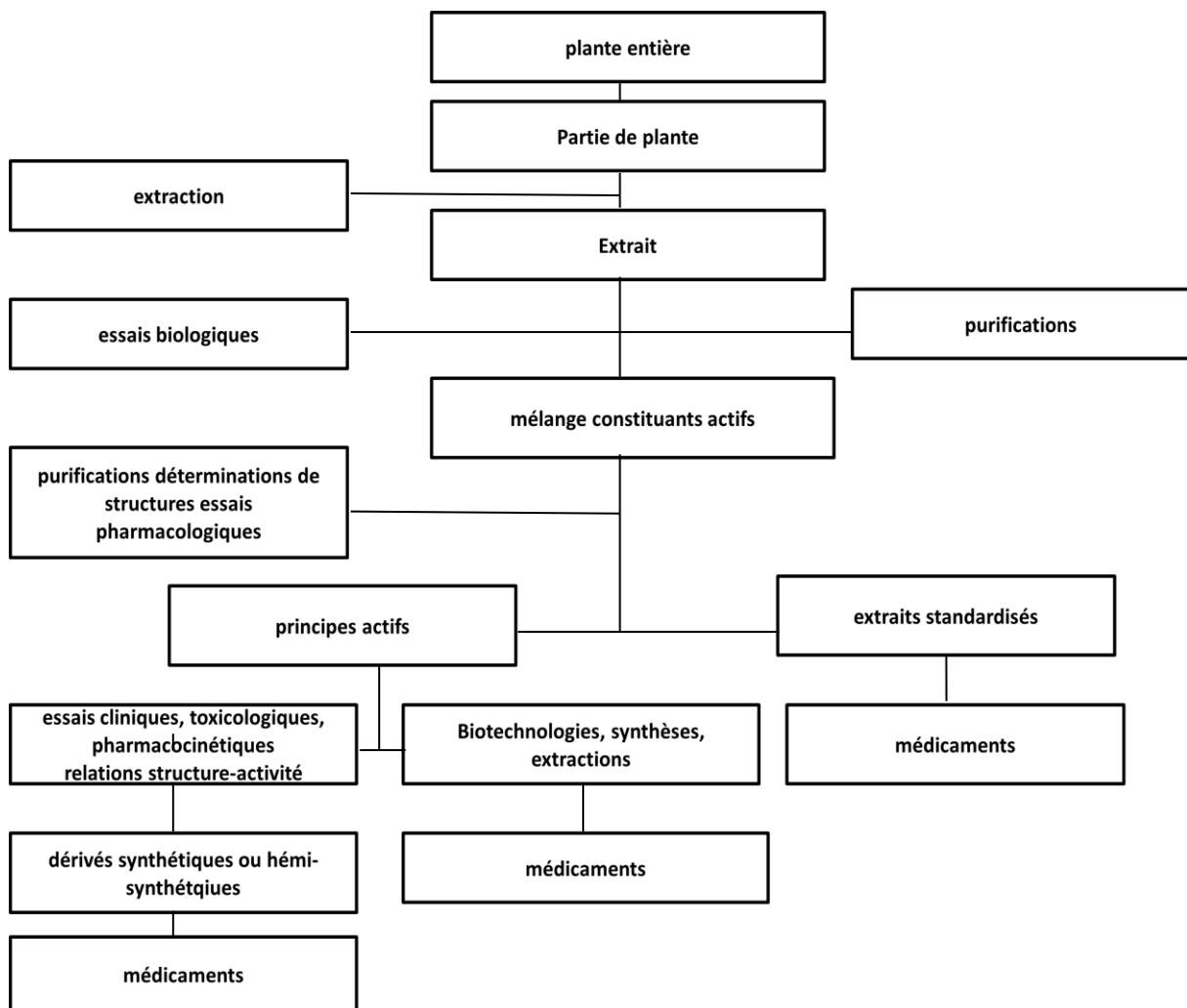


Figure N°06: De la plante aux médicaments (Quetin, 2002).

Les métabolites secondaires sont des substances organiques élaborés naturellement par la plante, le terme métabolite se fait généralement référence à de petites molécules, ont une faible masse moléculaire (<3000daltons). Les plantes produisent une grande diversité de ces petits composés. Certains sont impliqués dans la croissance, le développement et la reproduction de l'organisme, sont appelés métabolites primaire. Mais la grande majorité d'entre eux représentent les métabolites secondaires [(Kinghorn *et al.*, 2009) ; (Theis et Ler dau, 2003)].

Ces métabolites secondaires de plante ont attiré une attention croissante en raison de leur rôle clé dans les plantes, telles que: protéger les plantes contre les infections microbiennes et les herbivores, en tant qu'agents allélopathiques, molécules de signal, protecteurs UV et attractifs des pollinisateurs. Les métabolites secondaires de plante présentent également un intérêt en raison de leur utilisation comme agents aromatisants, colorants, cires, fibres, huiles, colles, médicaments et parfums. En plus ; ont été signalés pour leurs activités anticancéreuses, antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires, immunostimulatrices et cardioprotectrices, ce qui en fait une source potentielle de nouveaux médicaments naturels pour des applications thérapeutiques contre diverses maladies humaines. À ajouter à la liste, le récent virus Covid-19 responsable de la pandémie actuelle en cours et qui est causé par le coronavirus SARS-CoV-2 [(Sharma *et al.*, 2022) ; (Thibault *et al.*, 2020)].

Selon la base de la structure chimique, de la composition ou de la voie par laquelle ils sont synthétisés. Les métabolites secondaires de plante peuvent classés en quatre grandes familles de molécules: les terpènes et leur dérivé, les composés azotés, les composés phénoliques (polyphénols) et les composés soufrés (Uivarosi *et al.*, 2022).

Nous commençons par les composés phénoliques et polyphénoliques qui sont des composés naturels omniprésents dans le règne végétal, On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ceux-ci ont reçu une énorme attention des consommateurs, des biologistes, des nutritionnistes, des chimistes et des scientifiques en raison de leur rôle dans la prévention de diverses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, et en particulier les cancers (Sharma *et al.*, 2022). Les composés phénoliques sont des molécules caractérisées par la présence d'au moins un noyau aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyle attachés, OÙ sont synthétisés dans les plantes principalement par la voie de l'acide shikimique et la voie polyacétate (Chira *et al.*, 2008).

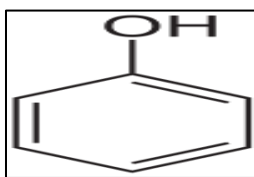


Figure N°07 : Structure de noyau phénol (Bonnard *et al*, 2021)

Les composés polyphénoliques peuvent être facilement classés en deux groupes : les non-flavonoïdes et les flavonoïdes. Le groupe des composés non flavonoïdes comprend les acides phénoliques (acide hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques), les lignanes, les stilbènes et les tanins (De Silva et Alcorn, 2019).

Les flavonoïdes constituent la classe prédominante environ 60% et méticuleusement étudiée des composés polyphénoliques en raison de leurs activités biologiques impressionnantes et de leur importance thérapeutique en tant qu'antioxydantes, anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, immunomodulatrices, vasodilatatrices, de type prébiotique... [(Batra et Sharma 2013) ;(González-Vallinas *et al*, 2013); (Sharma *et al*, 2019)].

Les flavonoïdes sont composés du squelette carboné diphenylpropane de base (C6-C3-C6), ce dernier possédant : (1) un noyau flavan, (2) deux cycles benzéniques (A et B), (3) un cycle pyrène hétérocyclique (C) reliant les deux cycles benzéniques (Figure N°08). Il existe différents sous-groupes de flavonoïdes trouvés dans la principale sont les flavanones, les flavanonols, les flavanols/catéchines, les flavonols, les flavones, les anthocyanes, les chalcones, etc., différant les uns des autres par le degré de l'oxydation et les groupes substituants dans le cycle benzénique [(Gupta *et al*, 2022) ;(Panche *et al*, 2016)].

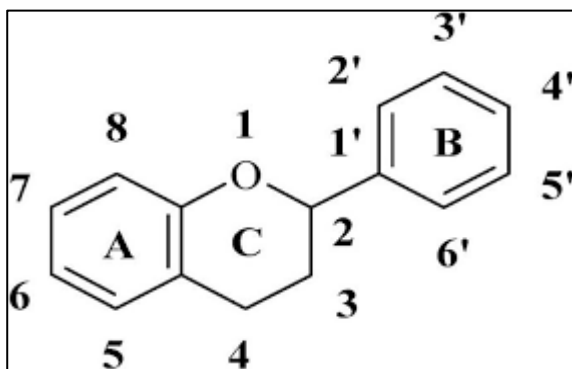


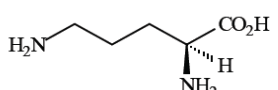
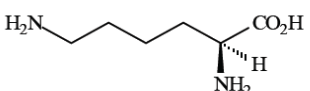
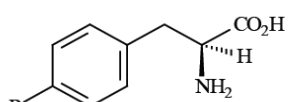
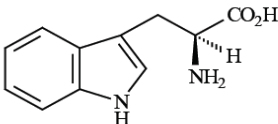
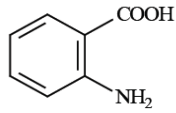
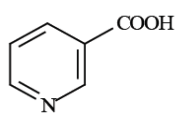
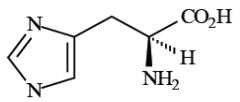
Figure N°08: Squelette de base des flavonoïdes (Panche *et al*, 2016).

En ce qui concerne les composés contenant de l'azote, ils constituent une autre classe importante de métabolites secondaires végétaux comprenant principalement des alcaloïdes, des glycosides cyanogènes, des glucosinolates. Les différentes caractéristiques structurelles de ces composés sont responsables de leurs effets biologiques ainsi que des rôles dans le système de défense des plantes (**Guggisberg et Hesse, 2003**).

Les alcaloïdes sont l'une des plus grandes classes de métabolites secondaires qui se composent au préalable d'au moins d'un atome d'azote hétérocycliques qui sont biologiquement actifs et sont plus fréquents chez les dicotylédones. Biosynthétiquement, ils sont dérivés de l'un des rares acides aminés courants comme la lysine, le tryptophane, la tyrosine, ornithine ou tryptophane. Ils peuvent également être divisés en fonction de leur structure chimique en vrais alcaloïdes, proto-alcaloïdes et pseudo-alcaloïdes. [(**Sharma et al, 2022**) ; (**Chaudhary, 2022**)].

Plus de 12 000 alcaloïdes ont été identifiés dans les plantes et largement distribués dans les tissus végétaux sous forme de sels hydrosolubles d'acides organiques, d'esters et de glycosides de sucre et sous forme combinée avec les tanins (**Sharma et al., 2022**). Le **tableau N°04**, ci-dessous présente quelques types d'alcaloïdes et leur précurseur en acide aminé.

Tableau N°04 : Types d'alcaloïdes avec précurseur en acides aminé (Mauro N, 2006).

Acide aminé	Type d'alcaloïde
 Ornithine	Pyrrolidines, pyrrolizidines, tropanes
 Lysine	Pipéridines, quinolizidines, indolizidines
 R = H, Phénylalanine R = OH, Tyrosine	Alcaloïdes du type éphédrine, isoquinoléines
 Tryptophane	Indoles
 Acide anthranilique	Quinoléines, quinazolines, acridines
 Acide nicotinique	Pyridines
 Histidine	Imidazoles
Via aminations	Alcaloïdes terpéniques et stéroïdiens

Parmi les groupes de produits naturels les plus répandus et les plus diversifiés on trouve les terpènes, qui consistent en une famille bien plus de 30 000 de produits naturels à base d'hydrocarbures insaturée ; leurs structures chimiques sont basées sur de multiples jonctions d'unités d'isoprène (**Figure N° 09**). Les terpènes sont classés selon le nombre de carbones (**Tableau N°05**) dont : les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes....

La synthèse des terpénoïdes se produit via deux voies principales : la voie de l'acide mévalonique et la voie du phosphate de méthylérythritol (Davis et Croteau, 2000).

Les terpènes sont liés à la prévention et au traitement du cancer avec d'autres utilisations thérapeutiques et pharmaceutique importantes (antioxydants, antimicrobiens, antifongiques, antiviraux, anti-hyperglycémiant, antiparasitaires anti-inflammatoires, immunomodulatrices, activateurs de pénétration cutanée) (Paduch *et al*, 2007)].

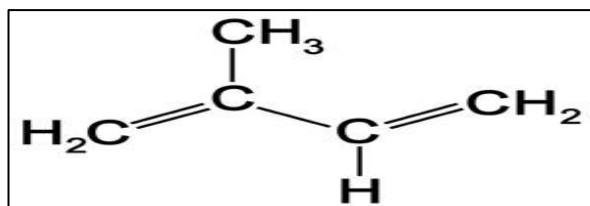


Figure N°09: Structure d'une unité isoprène (Almarie, 2020)

Tableau N°05 : Classification des terpénoïdes basée sur le nombre d'unités d'isoprène (Almarie, 2020)

	Type de classement	Nombre d'unités d'isoprène	Formule structurelle	Exemple
1	Hémiterpènes	Seul	C ₅ H ₈	Prénol et acide isovalérique
2	Monoterpénoïdes	Deux	C ₁₀ H ₁₆	Géranol, limonène, terpinéol et myrcène
3	Sesquiterpénoïdes	Trois	C ₁₅ H ₂₄	Humulène, caryophyllène et farnésol
4	Diterpénoïdes	Quatre	C ₂₀ H ₃₂	Cafestol, kahweol, cembrene et taxadiene et phytol
5	Sesterterpénoïdes	Cinq	C ₂₅ H ₄₀	Géranylfarnésol
6	Triterpénoïdes	Six	C ₃₀ H ₄₈	Stérols
7	Sesquartpénoïdes	Sept	C ₃₅ H ₅₆	Ferrugicadiol et tétraprénylcurcumène
8	Tétraterpénoïdes	Huit	C ₄₀ H ₆₄	Lycopène cyclique, caroténoïdes
9	Polyterpènes	Plus de huit	_____	Caoutchouc naturel

Concernant les composés soufrés, ils constituent une autre classe importante de petits groupes de métabolites secondaires de la plante qui souvent caractérisé par une odeur (**Sharma *et al.*, 2022**), qui jouent divers rôles en tant que molécules de signalisation et de défense dans les familles des astéracées, des alliées et des brassicacées. Des études concernant les activités biologiques l'ont liées à leurs propriétés antimicrobiennes, anticancéreuses, anti-inflammatoires, neuroprotectrices... (**Abdalla et Mühlhing, 2019**).

Ces propriétés pharmacologiques remarquables des différents métabolites secondaires ont poussées les sociétés pharmaceutiques et les institutions universitaires à la découverte de médicaments à base de produits naturels.

Par ailleurs, l'identification et la recherche de nouvelle molécule présente dans la plante médicinale nécessite deux étapes importantes, la validation scientifique, est effectué à l'aide de divers outils spectroscopiques et chromatographiques tels que HPLC, HPTLC, RMN, IR, LC-MS et GC-MS. Et d'autre part le stade de récolte de diverse plantes médicinales (**Sharma *et al.*, 2022**).

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude, qui vise à étudier le pouvoir antimicrobien et antibiofilm d'une plante aromatique aux multiples vertus médicinales, qui appartienne à la famille des Myrtacées, il s'agit d'*Eucalyptus globulus*.

Chapitre II:
Généralité sur
l'Eucalyptus globulus

Eucalyptus globulus est une plante arbustive ou un arbre à fleurs qui appartient à la famille des myrtes (Myrtaceae). Il a été utilisé pendant des milliers d'années tout au long de l'histoire humaine. Le genre eucalyptus contient plus de 700 espèces et variétés et elles ont été introduites avec succès dans le monde entier, en raison de sa facilité d'adaptation aux conditions environnementales, de sa facilité de culture, de son taux de croissance rapide et de l'augmentation de la biomasse ligneuse [(Shala et Gugurani, 2021) ; (Hayat *et al.*, 2015)].

Cette espèce est originaire de Tasmanie en Australie, elle a été introduite en France en 1804 à la commune de Malmaison. Elle pousse surtout dans les régions chaude mais, ainsi acclimatée remarquable dans les régions au climat méditerranéen ou subtropical notamment les pays du Maghreb (surtout le Maroc), en France méridionale, en Espagne, au Portugal, en Italie et en Amérique [(Boukhatam *et al.*, 2018) ; (Tassin, 2012)].

En Algérie, il a été introduit pour la première fois en 1850, par le botaniste français **LOUIS TRABUT**, pour faire disparaître les anophèles et de supprimer le paludisme. Au bout de peu de temps il est utilisé autant qu'une source du bois d'œuvre et de feu, des traverses Chemin de fer, etc...(Chevalier, 1952). Dans les années qui suivirent, ce ravageur a connu une propagation foudroyante dans toute l'Algérie du nord (**Khemici, 1987**) (**Figure N°10**).



Figure N°10 : Répartition géographique d'*Eucalyptus globulus* dans l'Algérie (**Khemici, 1987**).

Le nom « eucalyptus » vient du grec « eu » qui signifie « bon » ou « bien » et de « kalypto » qui signifie « couvrir », car les pétales et sépales sont soudés. Le nom commun de « gommier » fait allusion à la gomme résineuse rouge qu'ils exsudent quand ils sont blessés [(Lis-Balchin, 2006) ; (Loup, 2008)]. Diverses appellations ont été attribuées à l'*Eucalyptus globulus*. Nous en citerons quelques-unes :

- ✓ En français : gommier bleu ; arbre à la fièvre ; arbre au koala (Cardenas, 2017)
- ✓ Allemand : Eukalyptus blätter, Blauer Eukalyptus, Fieberbaum
- ✓ En anglais : blue gum tree ,tasmanian blue gum, fevertree, Southern blue-gum
- ✓ Espagnol : eucalipto, eucaliptus.
- ✓ En arabe : kalibtous, kritus, kalitus, kalatus, كلاتوس (Goetz et Ghedira ,2012).

Eucalyptus globulus est une espèce complexe composée de quatre autres sous-espèces qui sont *Eucalyptus bicostata*, *Eucalyptus pseudoglobulus*, *Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus maidenii* (Hayat et al., 2015).

La systématique d'*Eucalyptus globulus* représentée comme suit (Goetz et Ghedira ,2012) :

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

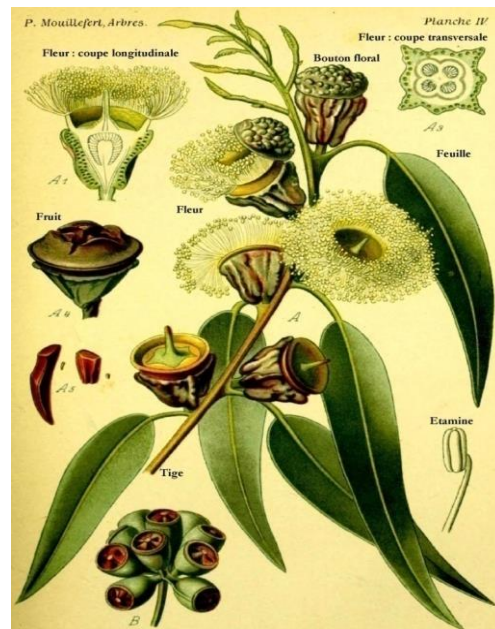


Figure N°11: Illustration d'*Eucalyptus globulus* (Loupe, 2008).

Les *Eucalyptus globulus* sont des arbres qui poussent très rapidement. Cet arbre mesure 30 à 60 mètres de haut mais peut parfois atteindre 100 mètres dans son milieu naturel (Lobtein *et al*, 2018) (Figure N°12). Le tronc comprend une écorce à la base foncé et rugueuse et en hauteur, lisse, gris (couleur varie du blanc au gris) cendré laissant s'exfolier son épiderme en longs lambeaux souples et odorants (Figure N°13), il possède également des lenticelles gorgées de gomme balsamique et un bois rouge (Ghedira *et al*, 2008).



Figure N°12 : Arbre d'*E. Globulus* (Fleurentin, 2019).

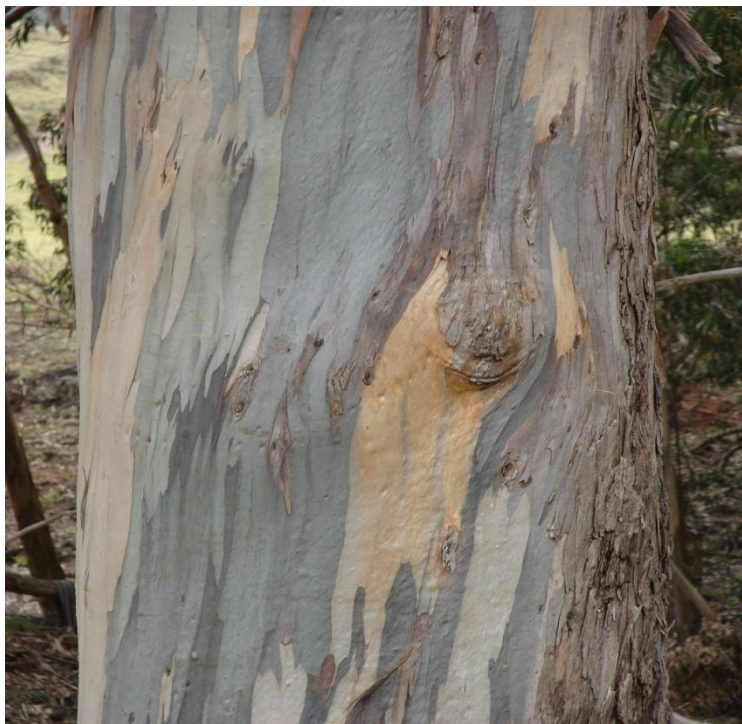


Figure N°13: Tronc d'*Eucalyptus globulus* (Louppe, 2008).

Les eucalyptus portent des feuilles persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux: sur les jeunes rameaux, les feuilles sont larges, courtes, opposées, sessiles, ovales, bleu-blanc et cireuses, avec un vrai limbe nervuré (vignette).

Sur les rameaux plus âgés, sont des feuilles aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30 cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement (Ghedira *et al.*, 2008).



Figure N°14 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus*

<https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/>

Les fleurs naissent à l'aisselle des feuilles et sont de couleur blanc crème (en bouton de couleur blanc-bleu), solitaires, mellifères, relativement larges. La base des sépales adhère à l'ovaire infère ; le calice et la corolle sont soudés : les sépales forment les quatre bordes d'une urne (ou toupie) coriace à quatre pans dont le couvercle caduc (ou coiffe) est formé de quatre pétales concrescents (opercule). L'ovaire a trois, quatre ou cinq loges et est prolongé par un style unique et un stigmate en bouton ; il est tapissé d'un tissu nectarifère brun rougeâtre, et sa paroi renferme des poches d'essence aromatique [(Bruneton, 2009) ; (Wichtl et Anton, 2003)] (Figure N°15).

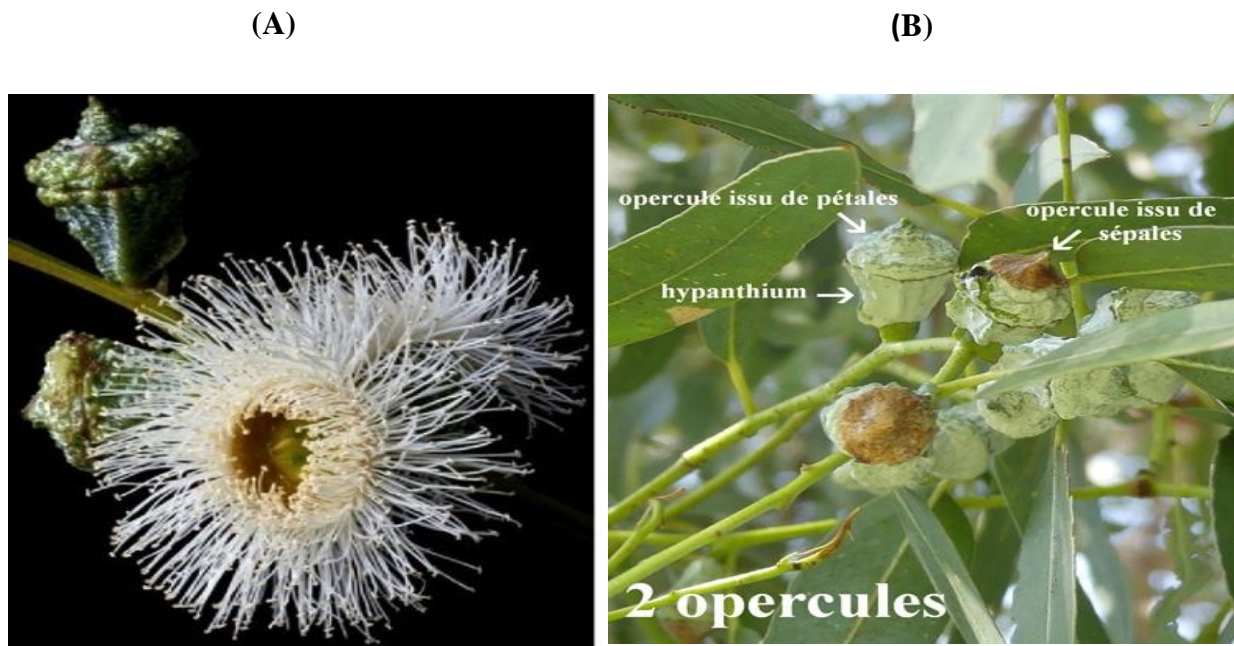


Figure N°15: A : Fleur d'*Eucalyptus globulus*; **B :** Les bourgeons floraux (Loupe, 2008).

Les fruits ligneux mesurent 1,5 à 2,5 cm de diamètre et ont une capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) (Figure N° 16) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules[(Boukhatam et, 2018) ; (Ghedira *et al.*, 2008)].



Figure N°16: Jeune fruit d'*Eucalyptus globulus* (Loupe, 2008).

Eucalyptus globulus pousse également dans des climats doux et tropicaux ayant une température annuelle moyenne allant de 3-22 à 21-40°C, mais il ne supporte pas les températures au-dessous de -5°C et des précipitations annuelles moyennes allant de 250 à 2500 mm. Habituellement, les jeunes plantes sont plantées au printemps ou à la fin de l'été. Par conséquent, il doit être cultivé dans un climat à forte humidité, sinon il subit une brûlure de la bordure des feuilles. Il peut pousser dans une large gamme de sols profonds, limoneux ou limoneux et avec un approvisionnement en eau limité (Hayat *et al.*, 2015).

Pour atteindre aux composés chimiques de cette plante on utilise les feuilles adultes sans pétiole, sont tolérés quelques boutons floraux et les jeunes fruits. Parmi les Principaux constituants on trouve les huiles essentielles, les acides, les flavonoïdes et d'autres divers (Ghedira *et al.*, 2008).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus spp* fait partie des 18 huiles essentielles les plus échangées dans le monde. Pour cette raison, une attention croissante est portée à leurs avantages en tant que matières premières, qui peuvent être utilisées dans les aliments, les produits pharmaceutiques et les cosmétiques, à la fois dans la recherche scientifique et industrielle. Parmi eux *Eucalyptus globulus* Labill est la principale source d'huile de feuilles d'eucalyptus utilisée dans le monde (Shala et Gugurani, 2021).

L'huile essentielle d'eucalyptus est extraite par distillation à la vapeur d'eau des feuilles sèches (adultes plus riches en huile) ou encore des tiges terminales fraîches, leurs Caractéristiques organoleptiques est illustré dans (Tableau N°06). Le rendement d'extraction de l'huile essentielle varie de 1 à 3 %.Le 1,8-cinéole ou eucalyptol c'est le composant chimique majoritaire (70 à 80 %) et le plus fréquent chez tout variétés d'eucalyptus [(Batish *et al.*, 2008) ; (Loupe, 2008)]. Les autres constituants de cette huile essentielle sont très divers, nombreux et minoritaires (Leicach *et al.*, 2012) (Figure N°17).

Tableau N° 06: Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* selon la norme (AFNOR, 2000)

Caractéristiques organoleptiques	Spécifications
Aspect	Liquide mobile limpide fluide
Couleur	transparent à jaune très pale
Odeur	Fraiche camphrée

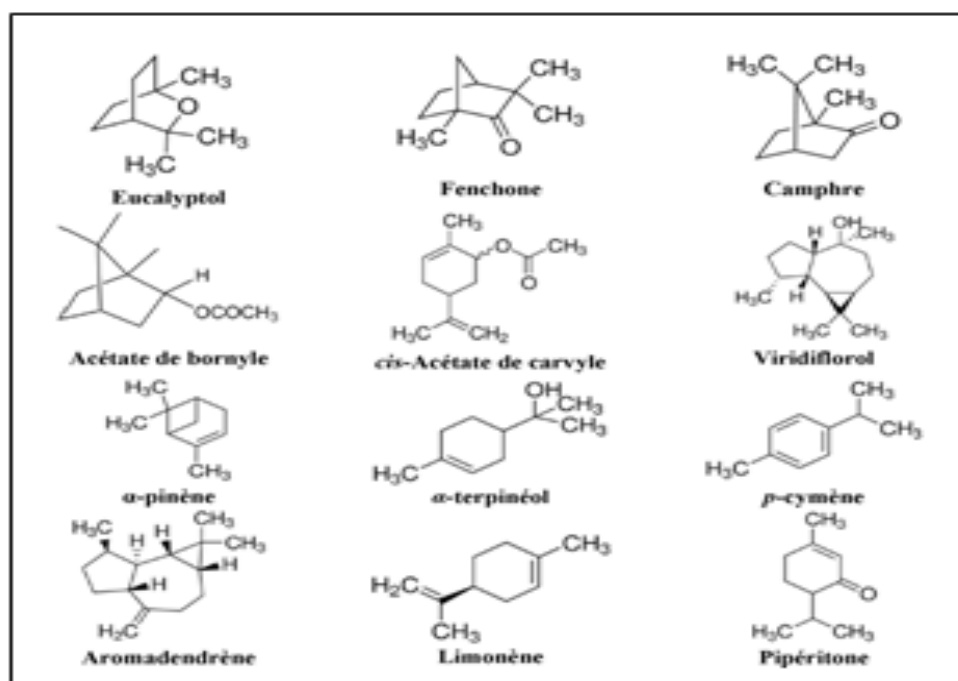


Figure N°17 : Structure chimique de quelques composés détectés dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem *et al.*, 2018).

Les propriétés de l'eucalyptus sont principalement dues à la présence un éther-oxyde terpénique dans l'huile essentielle produite par les feuilles. Anciennement appelée eucalyptol, cette substance porte désormais le nom de 1,8-cinéole (Louppe, 2008).

L'huile d'*Eucalyptus globulus* est utilisée comme stimulant antiseptique et antispasmodique dans la bronchite, l'asthme et les affections respiratoires mineures. En utilisation externe, il a

des effets croissants sur le flux sanguin et la température de la peau (Hayat *et al.*, 2015). Par conséquent, il a été utilisé sous diverse formes galéniques (Tableau N°07).

Tableau N°07 : Indications thérapeutiques d'*Eucalyptus globulus* (Ghedira *et al.*, 2008).

Zones pathologiques d'utilisation	Affections	Forme d'utilisation	Mode
Arbre respiratoire	Bronchite chronique	Feuille sèche, huile essentielle, divers extraits.	Tisane de feuille Gélules, suppositoires ou gouttes à l'huile essentielle.
	Pathologie infectieuse, ORL Amygdalites, laryngite, pharyngite, trachéites, bronchite infectieuse aigue, grippe, sinusite	Feuille sèche, huile essentielle, divers extraits.	Tisane de feuille Gélules, suppositoires ou gouttes à l'huile essentielle, Baume pectoral percutané, Solution pour gargarisme.
Infections diverses Dont les infections urinaires	Monothérapie, ou complémentaire à l'antibiothérapie	Huile essentielle	Tisane, Gélules, suppositoires ou gouttes à l'huile essentielle.
Pathologie métabolique	Diabète	Feuille sèche, divers extraits.	
Pathologie ostéo-articulaire	Arthrose, rhumatologie, Tendinite.	Huile essentielle	En usage externe

En revanche, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est contre-indiquée pour les personnes souffrant d'**asthme** (à éviter sur des bronches encombrées), les femmes **enceintes** et **allaitantes** et les jeunes **enfants** de moins de 7 ans. L'*Eucalyptus globulus* peut parfois provoquer un assèchement des muqueuses et un symptôme asthmatiforme, il faut donc l'employer avec précaution (**Folliard, 2019**).

L'activité antimicrobienne de la fraction aromatique d'*Eucalyptus globulus* est due principalement à son profil chromatographique. En comparaison, l'huile brute d'*Eucalyptus globulus* semble être plus efficace contre les micro-organismes cultivés dans des suspensions et des biofilms que le 1,8-cinéole pur [(**Sartoroli et al., 2007**) ; (**Schmidt et Rose, 2017**)].

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the top and left edges, framing the text.

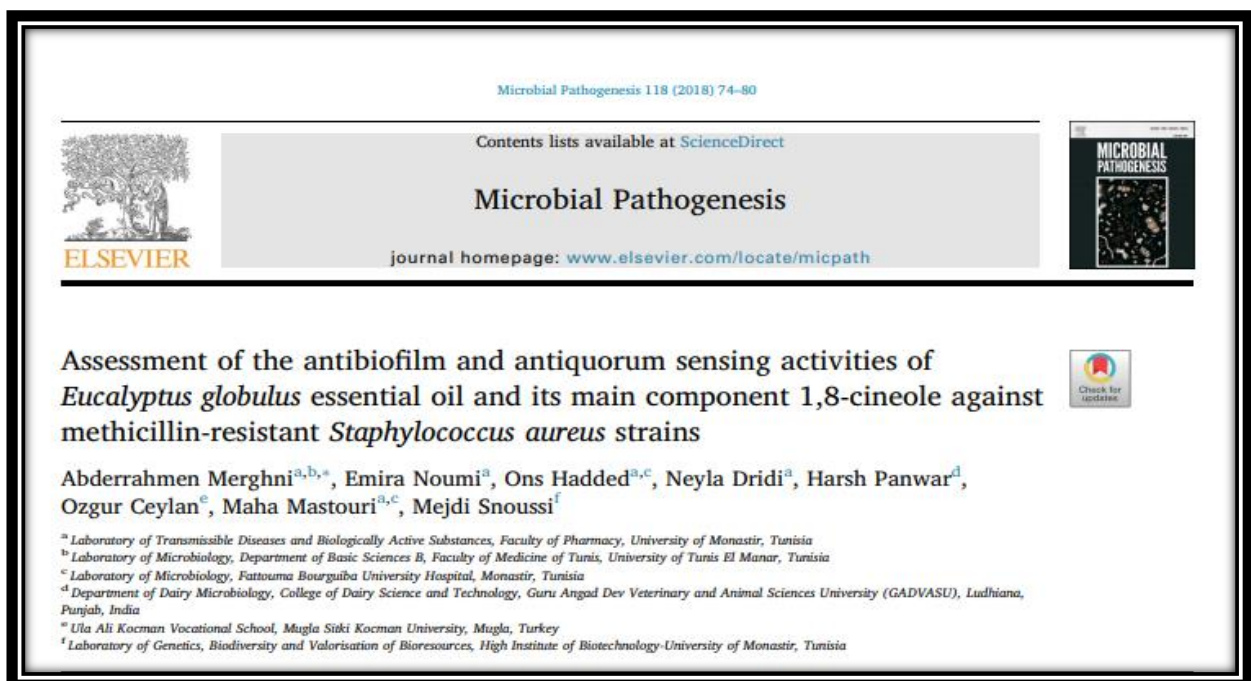
Partie II :
ANALYSE
DES ARTICLES SCIENTIFIQUES

Chapitre I:
Pouvoir antimicrobien
d'*Eucalyptus globulus*

Dans les dernières décennies, il ya une demande croissante de sources naturelles alternatives de médicaments. L'huile d'eucalyptus possède un puissant effet antimicrobien et antibiofilm en raison de la présence de composants actifs tels que le monoterpinoïde et l'eucalyptol (1, 8 - cinéole) (Shala et Gugurani, 2021).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude bibliographique de certaines des activités biologiques d'*Eucalyptus globulus*. Qui est l'activité antimicrobienne, par l'analyse de quelques articles scientifiques.

✚ **Article01 : Évaluation des activités d'antibiofilm et de détection antiquorum de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et de son principal composant le 1,8-cinéole contre des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (Merghni *et al.*, 2018)**



✓ **Objectif :**

Cette étude examine la capacité de formation de biofilm ainsi que les effets antibactériens, antibiofilm, anti-staphylococcique et antiquorum de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et son principal composant 1,8-cinéole, contre les souches nosocomiales (*Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium violaceum*, *Pseudomonas aeruginosa*) résistants à la méthicilline (SARM).

Expérimentation :

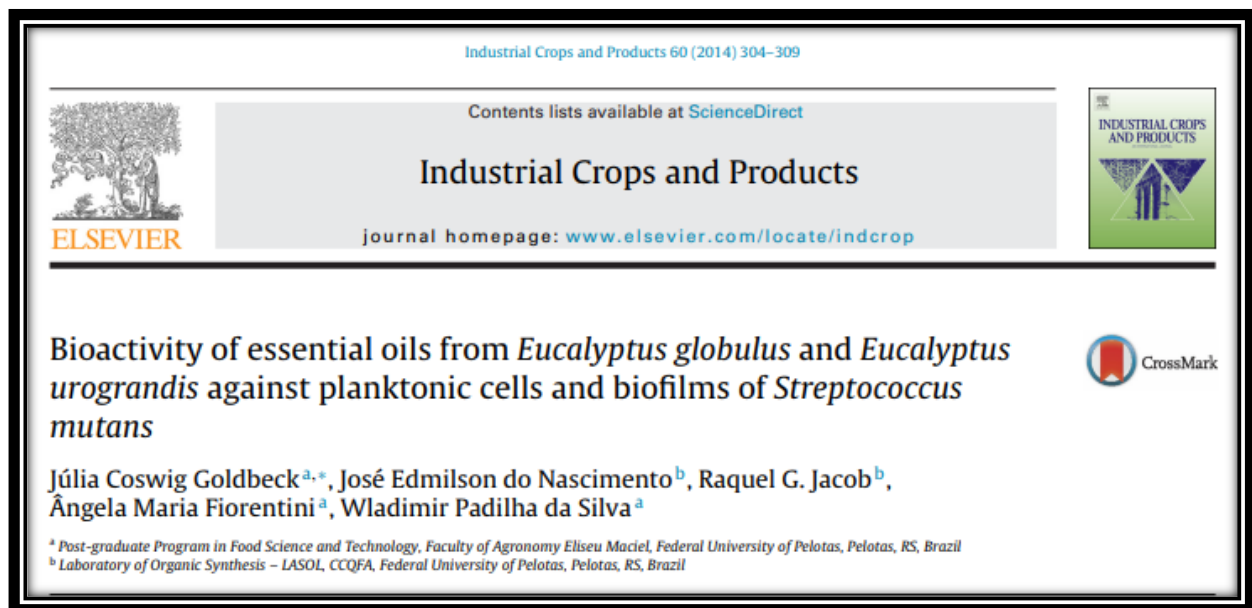
- Ce travail est réalisé sur l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* et son principal composant 1,8 cinéole.
- L'identification et la confirmation moléculaire ça été faite par l'utilisation des souches de référence de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) et SARM, qui ont été réalisé à l'aide d'amorces PCR spécifiques à l'espèce (Sa442-1 et Sa442-2).
- Le test Gélose au rouge Congo (CRA) et la méthode Safranine sont utilisés pour détecter les phénotypes positifs des souches productrices de mucus et leur dosage sur les surfaces de verre.
- La production de biofilm par *Staphylococcus aureus* cultivées en BHIB (Brain Heart Infusion Broth) est évaluée par l'utilisation d'un test de coloration au cristal violet sur des microplaques à 96 puits, puis quantifier à 570 nm avec le lecteur de microplaques.
- Le potentiel d'inhibition de la détection du quorum est déterminé contre la souche biomoniteur *Chromobacterium violaceum* ATCC12472, en évaluant le pigment de violacéine en absence et présence d'*E. glubulus* et son composé principal à différentes concentrations.
- L'évaluation de l'effet antiagglomérant (anti-accumulation) se réalisé pour la souche *Pseudomona aeruginosa* (PAO1) en basant sur le pourcentage de niveau d'inhibition dans la migration de PAO1.

✓ Résultats trouvés :

- Les résultats obtenus par la caractérisation de biofilm ont montré que 67,8 % des souches de SARM présentent un phénotype positif pour la production de biofilm et 50% sont fortement adhésifs sur la plaque en verre.
- L'HE d'eucalyptus a présenté un effet inhibiteur contre les souches testées avec des zones inhibitions allant jusqu'à 29 mm vis-à-vis les souches Sa15 et Sa21.
- L'évaluation de l'effet anti-biofilm révèle à une concentration de $1/16 \times \text{CMI}$ (0,003–0,095 mg/mL) un effet anti-attachement plus significatif ($P < 0,05$) contre *S. aureus* 6538, ce qui signifié que la souche est hautement formatrice de biofilm.
- Le pourcentage de réduction du biofilm montre des valeurs de $74,74 \pm 2,05$ % à $90,81 \pm 4,05$ % ce qui signifiant divers effets de l'huile essentielle et son composé principal sur le développement de biofilms.

- La détection de l'anti-quorum présente une potentielle d'inhibition trois fois plus élevée de l'huile essentielle par rapport à son composé principal le 1,8-cinéole, ce qui a permis de signaler une grande activité d'anti-quorum dépendante de la concentration.
- Le 1,8-cinéole montre un grand effet anti-agglomérant avec un niveau majeur d'inhibition de la migration de *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1) allant jusqu'à $29,17 \pm 4,17\%$.

✚ Article02: Bioactivité des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus urograndis* contre les cellules planctoniques et les biofilms de *Streptococcus mutans* (Goldbecka *et al.*,2014).



✓ **Objectif :**

Cette étude s'intéresse à l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus urograndis* contre les cellules planctoniques et biofilm de *Streptococcus mutans*.

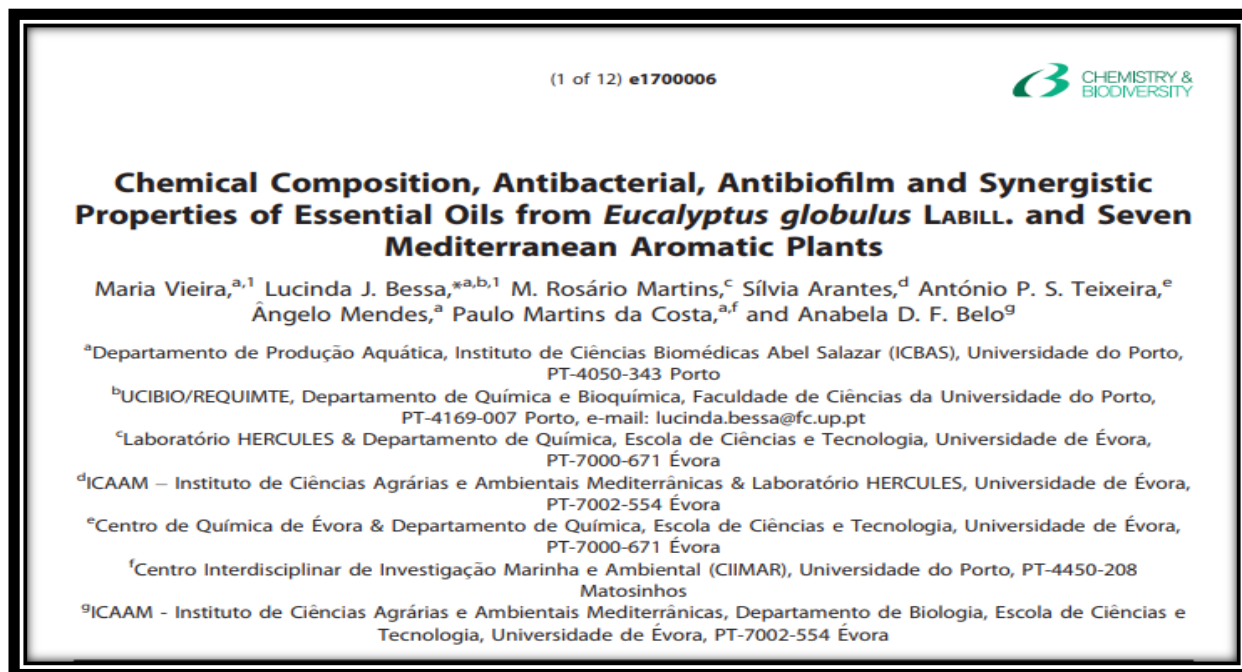
✓ **Expérimentation :**

- 500 g de feuilles d'eucalyptus sont séchées avec un déshydratant à 25C°, finement tranchées, puis sont distillées à la vapeur pour extraire l'HE à l'aide de dichlorométhane sur sulfate de sodium anhydre, ensuite le solvant est évaporé à 30C°, à basse pression.
- L'HE obtenue est alors analysé pour évaluer leur bio-activité contre le *Streptococcus mutans*, en se basant sur le test de diffusion sur gélose et en déterminant les concentrations minimales inhibitrices, cinétique d'action et capacité à inhiber la formation de biofilm, ainsi que le test de l'effet synergique des huiles combinées.

✓ **Résultats trouvés :**

- Le test de diffusion sur gélose montre l'efficacité d'HE d'eucalyptus contre la souche *Streptococcus mutans* avec des diamètres des zones d'inhibition compris entre $14,7 \pm 1,2$ mm et $35,3 \pm 0,34$ mm.
- Le test d'effet synergique estime une bioactivité élevé d'HE des deux espèces d'Eucalyptus combinés avec une valeur de CMI de 0,0065 mg/mL vis-à-vis *S. mutans*, tandis que la CMI d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus urograndis* est de 0,013 mg /mL, 0,025 mg/mL respectivement.
- La cinétique de la mort microbienne des HE est enregistrée un meilleur résultat de 15 min de contact pour l'*E. globulus* alors que l'*E. urograndis* est environ 50 min, ce qui peut s'expliquer par le fait que l'E globulus contient la concentration la plus élevée de 1,8-cinéole (53,7 %) qui responsable de leur bio-activité.
- L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est le plus efficace dans l'inhibition et le contrôle de formation de biofilm de *S. mutans* par rapport au fluorure de sodium commercial à 0,1 %.

✚ **Article03: Composition Chimique, Propriétés Antibactériennes, Antibiofilm et Synergiques des Huiles Essentielles d'*Eucalyptus globulus* LABILL et Sept Plantes Aromatiques Méditerranéennes (Vieira *et al.*, 2017).**



✓ **Objectif :**

Le but de cette recherche est de tester efficacement l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* LABILL et Sept plantes aromatiques sauvages et leur possibilités d'utilisation ultérieure dans l'industrie pharmaceutiques et alimentaire.

✓ **Expérimentation :**

- Les plantes utilisées dans cette étude sont (*Eucalyptus globulus* LABILL. Ssp.Globulus., *Thymus mastichina* L., *Mentha pulegium* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Calamintha nepeta* L, *SAVI ssp. nepeta*, *Cistus ladanifer* L., *Foeniculum vulgare* L., *Dittrichia viscosa* L, *Greuterssp. Viscosa*.) séchées, coupées en petits morceaux, puis extraire l'HE à partir des feuilles à l'exception *F. vulgare* ou extraire à partir des grains et des feuilles.
- Les analyses chimiques des HE sont effectuées par divers méthodes:
 1. La méthode de diffusion sur disque d'agar, la microdilution, le dosage du cristal violet et la coloration Live/Dead sont manipulés pour évaluer la formation de biofilms.
 2. La méthode de damier est mise en œuvre sur la base des résultats obtenus sur la méthode de diffusion sur disque de gélose, pour évaluer l'effet synergique entre deux HE.

✓ Résultats trouvés :

- Le test des composants des HE montre un pourcentage prédominant (> 60 %) en hydrocarbures monoterpéniques chez les HE de *R. officinalis* et *C. ladanifer* et un pourcentage élevé (62 – 96 %) de monoterpènes oxygénés dans chacune des HE de *C. nepeta*, *M. pulegium*, *T. mastichina*, *E. globulus* et *F. vulgare*, ainsi qu'un teneur principal de composés sesquiterpènes oxygénés (54 %) chez l'HE de *D. viscosa*.
- Les résultats obtenus à partir de la méthode de diffusion sur gélose montrent une bonne activité antibactérienne avec des zones d'inhibition allant de 6 à 16 mg/mL et de 6 à 20 mg/mL pour les HE de *M. pulegium* et *E. globulus* respectivement.
- Tous les plantes testés présentent un potentiel actif dans l'inhibition de la formation de biofilms contre des souches différentes de chacune avec une prédominante remarquée chez *C. nepeta* et pour notre plante est marquée par une entravassions de la formation de biofilms contre les souches *S. aureus* et *Pseudomona aeruginosa*.
- La méthode en damier montre des résultats d'indice de concentration inhibitrice fractionnaire (Σ FIC) inférieur ou égaux à 0,5 (0,313- 0,500) confirmant l'effet synergiques entre *D. viscosa*/*C. nepeta* et *E. globulus*/*T. mastichina* contre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.








📌 **Article04: Profil de composés volatils et composition d'huiles essentielles de trois plantes aromatiques sauvages d'Algérie avec leurs activités antioxydantes et antibiofilms (Djebili et al., 2022).**

Journal of Food Measurement and Characterization (2022) 16:987–999
<https://doi.org/10.1007/s11694-021-01220-1>

ORIGINAL PAPER

Check for updates

Volatile compound profile and essential oil composition of three wild Algerian aromatic plants with their antioxidant and antibiofilm activities

Samah Djebili¹  · Meltem Taş²  · Ali Bouguerra¹  · Selcuk Kucukaydin³  · Ozgur Ceylan⁴  · Mehmet Emin Duru²  · Malika Barkat¹ 

Received: 18 August 2021 / Accepted: 5 November 2021 / Published online: 20 November 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

- ✓ **Objectif :** La présente étude vis à analyser le potentiel antioxydant et antibiofilm de trois plantes aromatiques algériennes, en plus l'évaluation de leurs composés volatiles et la caractérisation chimique des huiles essentielles.
- ✓ **Expérimentation :**
 - Ce travail est réalisé sur les parties aériennes de *Thymus algeriensis*, *Origanum glandulosum* et *Eucalyptus globulus*.
 - 5g d'échantillon de la partie aérienne des plantes ont coupées en petite parties, dilués avec 10 ml d'eau pure et ajouté 1 g de NaCl et homogénéise, puis le mélange est placé dans l'agitateur magnétique pendant 30 minutes pour obtenir les composés volatiles qui sont ensuite analysé par la méthode HS-SPME (Head space- microextraction sur phase solide)-GC/MS.
 - Pour l'obtention des huiles essentielles ; 100g de parties aériennes séchées de *T. algeriensis*, *O. glandulosum* et les feuilles de *E. globulus* ont hydro-distillées à l'aide d'un appareil Clevenger pendant 4 heures, les analyses des HE réalisées par les méthodes GC-FID et GC-MS.
 - L'évaluation de l'activité antioxydante des HE étudiées par l'ensemble des méthodes suivantes : DPPH, dosage de β -carotène/acide linoléique, ABTS, le test de chélation des métaux et le CUPRAC.
 - La détermination des CMI et l'activité antibiofilm est évalué par la méthode de microdilution et le test sur microplaque respectivement.
- ✓ **Résultats trouvés :**
 - Les principaux composés organiques présentent dans les Composés volatils et les HE des plantes sont identifiés comme suite :

composé plante	Composés volatils	Huile essentiel
<i>T. algeriensis</i>	Thymol (50,15%)	Thymol (70,58%)
<i>O. glandulosum</i>	Carvacrol (35,60%)	Carvacrol (33,97%)
<i>E. globulus</i>	α -Pinene (26,21%) p-Cymène (24,45%) 1,8-Cineole (22,80%)	1,8-Cineole (17,93%)

- La meilleure activité antioxydante est présentée chez *T. algeriensis* avec un $IC_{50} = 9,95 \pm 0,17$ (test ABTS) et $IC_{50} = 29,21 \pm 0,74$ (test CUPRAC).
- Les HE des trois plantes présentent une bonne activité antibiofilm avec un potentiel plus élevée chez *T. algeriensis* avec une CMI allant de 0,078 à 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, suivi par *O. glandulosum* et ensuite *E. globulus* qui ont la même CMI (0,25 à 2,4 $\mu\text{L}/\text{mL}$) mais avec des impulsions variable selon les souches.

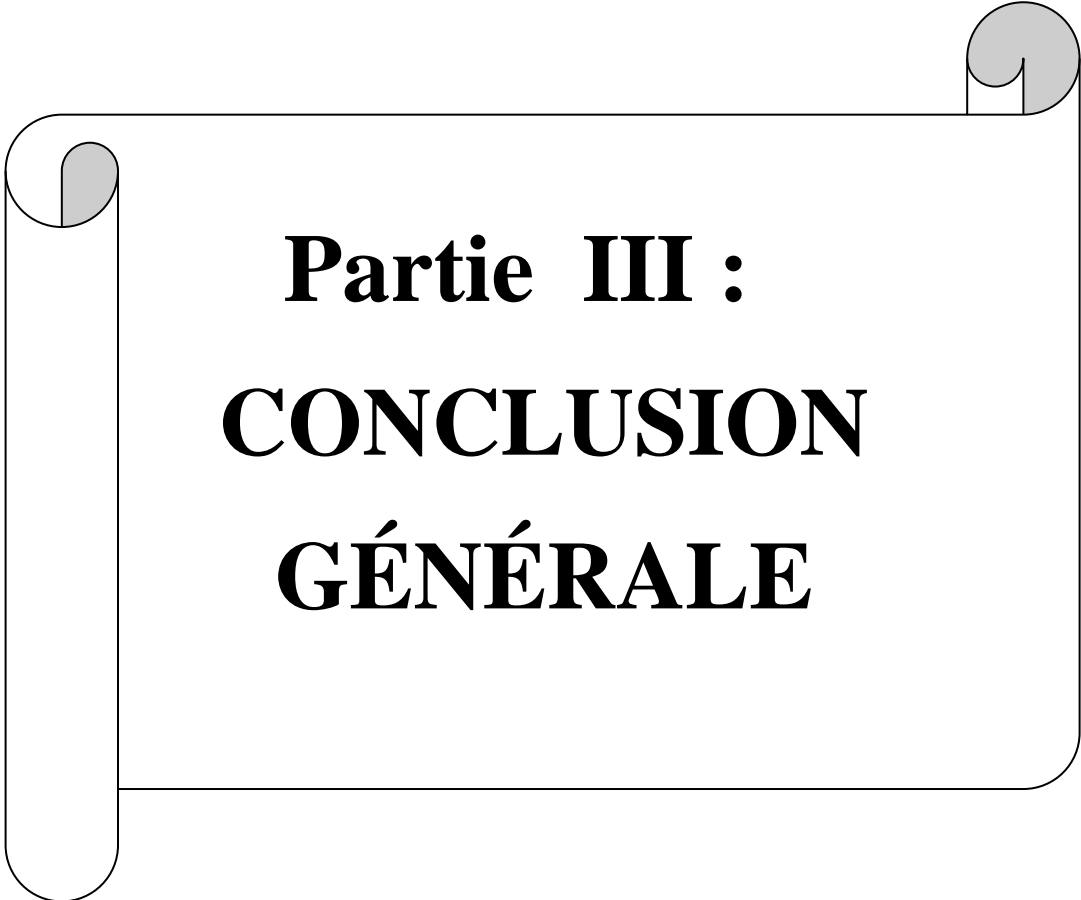
Chapitre II:

Discussion générale

D'après l'analyse des articles précédents, nous pouvons déduire qu'actuellement, la capacité à former des biofilms est considérée comme une propre caractéristique de nombreux micro-organismes. La capacité des bactéries pathogènes à former des biofilms est l'un des facteurs de virulence assez dangereux qui les rend très résistantes aux agents antimicrobiens qui s'est avérée inefficace contre diverses infections. En raison de cette mauvaise situation ont créé un besoin de recherche de nouvelle alternative thérapeutique parmi eux les extraits et les huiles essentielles des plantes médicinales qui ont de puissantes propriétés antibactériennes. Les résultats obtenus, révèlent que l'huile essentielle d'*E. globulus* représente une source intéressante de teneur en molécule volatile aromatique en particulier le 1,8-cinéole, où il montre une puissante efficacité contre le développement des cellules planctoniques et la formation de biofilm, il est également défini comme une source importante de potentiel antibiofilm, antiquorum, antibactérien, antiagglomérant et antioxydant, vis-à-vis plusieurs souches (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E. coli*), ainsi, il présente un meilleur effet synergique avec d'autres espèces qui lui permettant d'avoir une large bio-activité. De plus, peut provoquer la morte microbienne en seulement 15 min de contacte et avec des concentrations intéressantes. Ces propriétés antimicrobiennes peuvent être appliquées :

- Contre les infections nosocomiales et la fièvre ;
- Efficace pour soigner rhumes, gripes et maux de gorge ;
- Puissant expectorant utilisé dans le traitement des infections pulmonaires, y compris les bronchites et les pneumonies ;
- Effet révulsif et anesthésique qui contribue à soulager les infections respiratoires ;
- Soulage les rhumatismes et les infections digestives ;
- Ainsi que, dans d'autre domaine alimentaire, biotechnologique, cosmétique...

Cette analyse explique la richesse de cette huile en composés bénéfiques qui ont un avenir prometteur [(Djebili *et al.*, 2022) ;(Goldbecka *et al.*, 2014) ; (Merghni *et al.*, 2018); (Vieira *et al.*, 2017)]

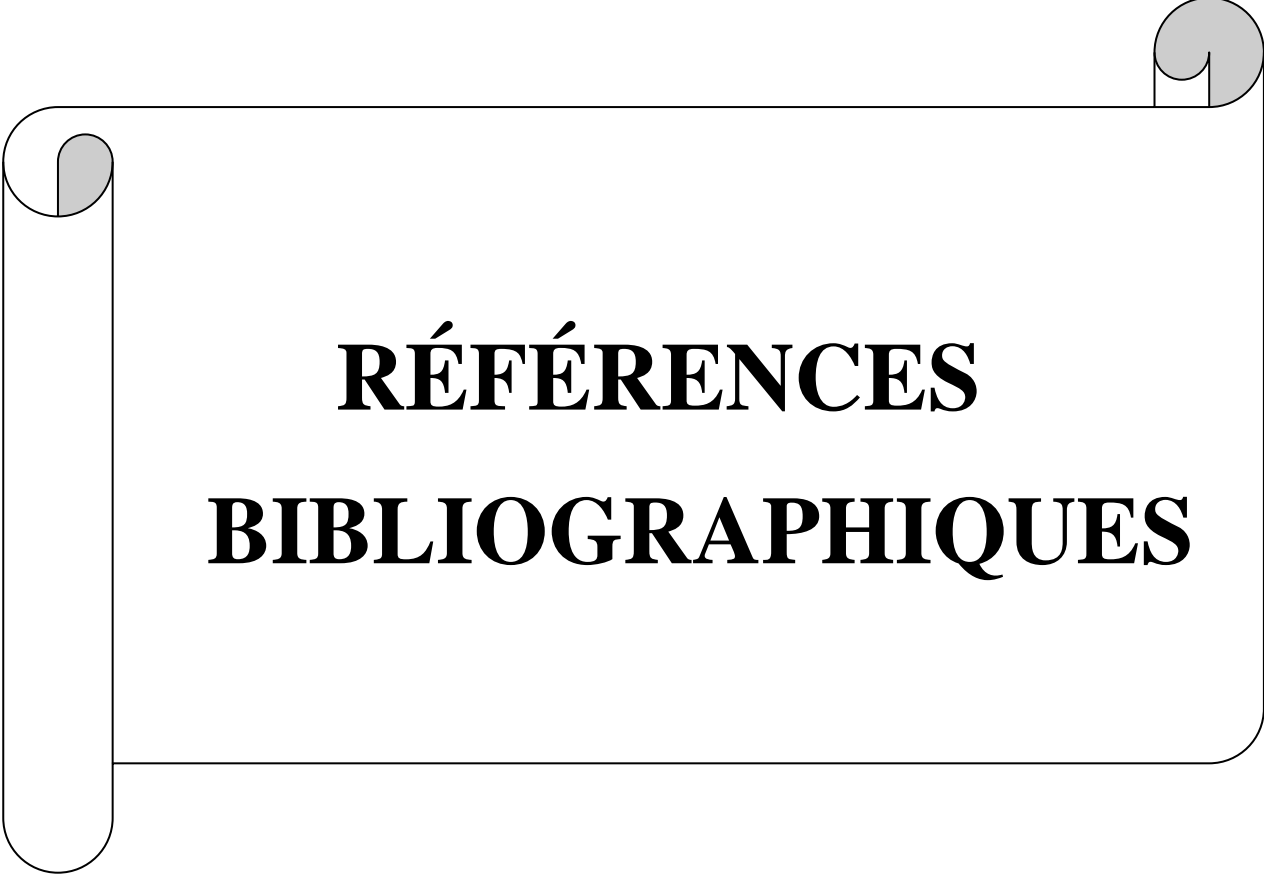


Partie III :
CONCLUSION
GÉNÉRALE

Au terme de cette étude et à travers l'analyse des articles scientifiques, il apparaît que les activités biologiques de la plante aromatique *Eucalyptus globulus* est caractérisé par un fort pouvoir antibi-film et antimicrobien vis-à-vis plusieurs souches cliniques et de références testés. Il s'avère également que l'*Eucalyptus globulus* est riche en molécules actifs dont l'huile essentielle et son composé principal le 1,8 cinéol sans doute comme un moyen de lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques où ils exercent son bio-activité en court temps et à faible concentration. Ce qui explique son utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses maladies infectieuses. Par ailleurs, selon la synthèse verte des nanoparticules par les huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* devenu possible utilisés les antibiotiques à base naturelle avec toute efficacité et de façon plus sûre. Ces propriétés intéressantes nous a permis de conclure que les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* sont une thérapie alternative et respectueuse pour contrôler les agents pathogènes.

L'essentiel à retenir est que, les plantes médicinales et aromatiques restent encore le principal dépositaire de nouvelles drogues. Elles sont considérées comme une source de matières premières nécessaires pour la découverte de nouvelles molécules essentielles à la mise au point de futurs médicaments.

En perspective, il serait encouragé des études futures et plus approfondies afin d'identifier les composants exacts de ces huiles essentielles qui ont un potentiel antimicrobien et de l'appliquer *in vivo*.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and horizontal strips at the top and bottom. The scroll is outlined in black, and the top and bottom edges are rounded. The left vertical strip is also rounded at the top and bottom. The top and bottom horizontal strips have a small, shaded, circular element at their right ends, suggesting the scroll is unrolled.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdalla, M. A., Mühling, K. H. (2019).** Plant-derived sulfur containing natural products produced as a response to biotic and abiotic stresses: A review of their structural diversity and medicinal importance. *J. Appl. Bot. Food Qual*, 92, 204-215.
2. **AFNOR. (2000).** Huiles essentielles : Monographies relatives aux huiles essentielles, Ed 6, Tome 2, Paris. France
3. **Almarie, A. A. A. (2020).** Roles of Terpenoids in Essential Oils and Its Potential as Natural Weed Killers: Recent Developments. *Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications*.
4. **Aumeran, C., Balestrino, D., Forestier, C. (2020).** Biofilms bactériens et santé. *Encyclopédie de l'environnement*, 1-7.
5. **Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., Kaur, S. (2008).** *Eucalyptus essential* oil as a natural pesticide. *Forest ecology and management*, 256(12), 2166-2174.
6. **Batra, P., Sharma, A. K. (2013).** Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*, 3(6), 439-459.
7. **Bonnard, N. M., T. Brondeau., D. Jargot., D. Lafon., F. Marc., S. Miraval., N. Nikolova-Pavageau., S. Robert., O. Schneider (2021).** Phénol – INRS. Disponible sur le site : www.inrs.fr/fichetox.
8. **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Benassel, N., Kameli, A. (2020).** Lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.): Une plante à parfum aux multiples vertus. *Phytothérapie*, 18(1), 30-44.
9. **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Mekarnia, M. (2018).** *Eucalyptus globulus* (Labill.): un arbre à essence aux mille vertus.
10. **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in food food review. *Int. J. Food Microbiol*, 94, 223-253.
11. **Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E. (2001).** Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, 161(5), 839-851.
12. **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
13. **Ceri, H., Olson, M. E., Stremick, C., Read, R. R., Morck, D., Buret, A. (1999).** The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *Journal of clinical microbiology*, 37(6), 1771-1776.

Références bibliographiques

14. **Chaudhary, A. S. (2016).** Un examen des initiatives mondiales pour lutter contre la résistance aux antibiotiques et la découverte récente d'antibiotiques. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6 (6), 552-556.
15. **Chaudhary, M. (2022).** Role of Plant Secondary Metabolites as Modulators of Multidrug Resistance in Cancer Therapy. In *Plant Secondary Metabolites* (pp. 415-435). Springer, Singapore.
16. **Chevalier, A. (1952).** Travaux français sur le genre Eucalyptus. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 32(353), 105-112.
17. **Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissède, P. L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
18. **Costerton, J. W. (1995).** Le WandoWSki z. *CaLd WeLL de, kor Berdr, La PPin-SCoTT H. M microbial biofilms. annu. rev. microbiol*, 49, 711.
19. **Costerton, J. W., Stewart, P. S., Greenberg, E. P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.
20. **Daneshzadeh, M. S., Abbaspour, H., Amjad, L., Nafchi, A. M. (2020).** An investigation on phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of extract from *Eryngium billardieri* F. Delaroché. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 708-715.
21. **Davies, D. (2003).** Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature reviews Drug discovery*, 2(2), 114-122.
22. **Davis, E. M., Croteau, R. (2000).** Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes, and diterpenes. *Biosynthesis*, 53-95.
23. **De Silva, S. F., Alcorn, J. (2019).** Flaxseed lignans as important dietary polyphenols for cancer prevention and treatment: Chemistry, pharmacokinetics, and molecular targets. *Pharmaceuticals*, 12(2), 68.
24. **Demoré, B., Grare, M., Duval, R. E. (2018).** Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation.
25. **Djebili, S., Taş, M., Bouguerra, A., Kucukaydin, S., Ceylan, O., Duru, M. E., Barkat, M. (2022).** Volatile compound profile and essential oil composition of three wild Algerian aromatic plants with their antioxidant and antibiofilm activities. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(2), 987-999.
26. **Pilly, E. (2019).** Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales. (France). *ECN. Pilly 2020: maladies infectieuses et tropicales: prépa. ECN, tous les items d'infectiologie.* Édition Alinéa Plus. 269p.

Références bibliographiques

27. **El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Abd El-Hack, M. E. (2021).** Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(9), 5145-5156.
28. **El Yaagoubi, M., Mechqoq, H., El Hamdaoui, A., Mukku, V. J., El Mousadik, A., Msanda, F., El Aouad, N. (2021).** A review on Moroccan Thymus species: Traditional uses, essential oils chemical composition and biological effects. *Journal of Ethno pharmacology*, 278, 114205.
29. **Foliard, T. (2019).** Huile essentielle d'Eucalyptus globuleux: propriétés et utilisation. Disponible sur : <https://doctonat.com/huile-essentielle-eucalyptus-globuleux/>.
30. **Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2008).** Eucalyptus globulus Labill. *Phytothérapie*, 6(3), 197-200.
31. **Goetz, P., Ghedira, K. (2012).** *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae): Eucalyptus. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 271-279). Springer, Paris.
32. **Goldbeck, J. C., do Nascimento, J. E., Jacob, R. G., Fiorentini, Â. M., Da Silva, W. P. (2014).** Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. *Industrial Crops and Products*, 60, 304-309.
33. **González- Vallinas, M., González- Castejón, M., Rodríguez- Casado, A., Ramirez de Molina, A. (2013).** Dietary phytochemicals in cancer prevention and therapy: a complementary approach with promising perspectives. *Nutrition reviews*, 71(9), 585-599.
34. **Guggisberg, A. Hesse, M. (2003).** Alkaloids. In: *Encyclopedia of Physical Science and Technology* (pp. 477-493). Academic Press.
35. **Hadjadj, K., Daoudi, B. B., Guerine, L. (2020).** Importance thérapeutique de la plante ephedra alata sub sp. Alenda dans la médecine traditionnelle pour la population de la région de Guettara (Djelfa, Algérie). *Le jeunia, Revue de Botanique*.
36. **Gupta Gupta, P., Kour, J., Bakshi, M., Kalsi, R. (2022).** Flavonoids. In *Nutraceuticals and Health Care* (pp. 105-113). Academic Press
37. **Hayat, U., Jilani, M. I., Rehman, R., Nadeem, F. (2015).** A review on *Eucalyptus globulus*: a new perspective in therapeutics. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 8, 85-91.
38. **Inoue, M., Craker, L. E. (2014).** Medicinal and aromatic plants-Uses and functions. In *Horticulture: Plants for People and Places, Volume 2* (pp. 645-669). Springer, Dordrecht.

Références bibliographiques

39. **Institut Pasteur (26 SEPTEMBRE 2019)**. La résistance aux agents antimicrobiens. Disponible sur: <https://www.dp.institut-pasteur.fr/antibioresistance/0.pdf>.
40. **Jacques fleurentin. (2019)**. *Eucalyptus globulus* : l'arbre à fièvre Disponible sur : <https://www.lequotidiendupharmacien.fr/archives/eucalyptus-globulus-larbre-fievre>
41. **Jean, Bruneton . (2009)**. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.)*. Lavoisier. p. 661-4.
42. **Jesus Cardenas. (2017)**. Eucaluptus. Disponible sur : <https://www.doctissimo.fr/>
43. **Joly, J., Gérin, M., Gosselin, P., Cordier, S., Viau, C., Quénel, P. Jean Joly. Jean Joly. (2003)**. infectiologie. En : Environnement et santé publique- Fondement et pratique. pp.145-162. GérinM, Gosselin P, Cordier S, Viau C, Quénel P, Dewailly E, rédacteurs. Edisen/TEC et doc, Acton vol/ paris.
44. **Khemici, M. (1987)**. Recherche sur le Phora cantha semi punctata Fab. en forêt de Bâinem: Écologie de l'insecte et perspectives de lutte phytosanitaire.. Doc. interne I.N.R.F. 12 pp.
45. **Kipnis, É., Dessein, R., Faure, K., Guery, B. (2012)**. Les thérapeutiques anti-infectieuses non antibiotiques. *Réanimation*, 21(3), 303-316.
46. **Kinghorn, A. D., Chin, Y. W., Swanson, S. M. (2009)**. Discovery of natural product anticancer agents from biodiverse organisms. *Current opinion in drug discovery & development*, 12(2), 189.
47. **Kouider, H. A. D. J. A. D. J., Mohammed, B., Mohammed, M., Abdelkader, O., Abdelkarim, R. A. H. M. O. U. N. E. (2019)**. Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud ouest algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique*.
48. **Lebeaux, D., Ghigo, J. M., Beloin, C. (2014)**. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(3), 510-543.
49. **Leicach, S. R., Grass, M. Y., Chludil, H. D., Garau, A. M., Guarnaschelli, A. B., & Fernandez, P. C. (2012)**. Chemical defenses in Eucalyptus species: A sustainable strategy based on antique knowledge to diminish agrochemical dependency. In *New advances and contributions to Forestry Research*. IntechOpen.
50. **Lesaffre, B. (2008)**. Les maladies infectieuses émergentes, un défi «global». In *Annales des Mines-Responsabilite et environnement* (No. 3, pp. 7-14). ESKA.
51. **Lis-Balchin, M. (2006)**. *Aromatherapy science: a guide for healthcare professionals*. Pharmaceutical press.

Références bibliographiques

52. **Lobstein, A., Couic-Marinier, F., Koziol, N. (2018).** Huile essentielle d'Eucalyptus globulus. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(573), 59-61.
53. **Loupe, D. (2008).** PROTA: Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Disponible sur : <http://www.prota4u.org/>.
54. **Lewis, K. (2001).** Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(4), 999-1007.
55. **Mauro Neves Muniz .(2006).** Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±) - camptothécine. Thèse de Doctorat. Université Joseph fourier – Grenoble I. Français. tel-00129103f. 16p.
56. **Merghni, A., Noumi, E., Hadded, O., Dridi, N., Panwar, H., Ceylan, O., Snoussi, M. (2018).** Assessment of the antibiofilm and antiquorum sensing activities of Eucalyptus globulus essential oil and its main component 1, 8-cineole against methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains. *Microbial pathogenesis*, 118, 74-80.
57. **Muylaert, A., Mainil, J. (2013).** Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". In *Annales de Médecine vétérinaire* (Vol. 156, pp. 109-123). ULg-Université de Liège.
58. **Nicolle, C. (2013).** *Destin des maladies infectieuses*. Presses Électroniques de France.
59. **Organisation Mondiale de la Santé. (2016).** Plan d'action mondial pour combattre la résistance aux antimicrobiens.
60. **Organisation Mondiale de la Santé. (2020).** Résistance aux antibiotiques. Disponible sur : <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> .
61. **Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007).** Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae ET therapiae experimentalis*, 55(5), 315-327.
62. **Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R. (2016).** Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, 5.
63. **Patric Trefois. (2021).** Infections (viral, bactériennes,etc) et immunité. disponible sur :<https://www.mongeneraliste.be/nos-dossiers-section/les-infections-virales-bacteriennes/?print=pdf>
64. **Pebret, F. (2003).** *Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*. Heures de France.
65. **Penso, G. (1978).** *Inventory of medicinal plants used in the different countries*. Organisation Mondiale de la Santé.

Références bibliographiques

66. **Quetin-Leclercq, J. (2002).** Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de pharmacie de Belgique*, 57, 11-20.
67. **Roux, A., & Ghigo, J. M. (2006).** Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, 159(3), 261-268.
68. **Sabirova, J. S., Becker, A., Lünsdorf, H., Nicaud, J. M., Timmis, K. N., Golyshin, P. N. (2011).** Transcriptional profiling of the marine oil-degrading bacterium *Alcanivorax borkumensis* during growth on n-alkanes. *FEMS microbiology letters*, 319(2), 160-168.
69. **Sartorelli, P., Marquioreto, A. D., Amaral-Baroli, A., Lima, M. E. L., Moreno, P. R. H. (2007).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of Eucalyptus. *Phytotherapy Research*, 21(3), 231-233.
70. **Schippmann, U., Leaman, D. J., Cunningham, A. B. (2002).** Impact of cultivation and gathering of medicinal plants on biodiversity: global trends and issues. *Biodiversity and the ecosystem approach in agriculture, forestry and fisheries*.
71. **Schmidt, C., J. Rose. (2017).** Changements environnementaux et culturels sous le néolibéralisme chilien: une ethnographie de la foresterie et des Mapuche à Valle Elicura. *Environnement local*.22(8): 1019-1034.
72. **Shala, A. Y.,Gururani, M. A. (2021).** Phytochemical Properties and Diverse Beneficial Roles of *Eucalyptus globules* Labill: A Review. *Horticulturae*, 7(11), 450.
73. **Shapiro, J. A. (1998).** Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annualreview of microbiology*, 52(1), 81-104.
74. **Sharma, A., Sharma, S., Kumar, A., Kumar, V., Sharma, A. K. (2022).** Plant Secondary Metabolites: An Introduction of Their Chemistry and Biological Significance with Physicochemical Aspect. In *Plant Secondary Metabolites* (pp. 1-45). Springer, Singapore
75. **Sharma, A., Singh Tuli, H., Sharma, A. K. (2019).** Chemistry and Synthetic Overview of Flavonoids. *Current Aspects of Flavonoids: Their Role in Cancer Treatment*, 23-38.
76. **Singh, S. B., Barrett, J. F. (2006).** Empirical antibacterial drug discovery—foundation in natural products. *Biochemical pharmacology*, 71(7), 1006-1015.
77. **Stanley, N. R., Lazazzera, B. A. (2004).** Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Molecular microbiology*, 52(4), 917-924.
78. **Theis, N., Lerdau, M. (2003).** The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, 164(S3), S93-S102.

Références bibliographiques

79. **Thibault, R., Quilliot, D., Seguin, P., Tamion, F., Schneider, S., Déchelotte, P. (2020).** Stratégie de prise en charge nutritionnelle à l'hôpital au cours de l'épidémie virale Covid-19: Avis d'experts de la société francophone de nutrition clinique et métabolisme (SFNCM). *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 34(2), 97-104.
80. **Torche S, Bensegueni, L. (2019).** *cours de Pharmacologie spéciale. Les antibiotiques.* Disponible sur : https://fac.umc.edu.dz/vet/Cours_Ligne/cours_20_21/Pharmaco_A3/Antibiotique.pdf.
81. **Townsley, L., Shank, E. A. (2017).** Natural-product antibiotics: cues for modulating bacterial biofilm formation. *Trends in microbiology*, 25(12), 1016-1026.
82. **Uivarosi, V., Munteanu, A. C., Badea, M., Olar, R. (2022).** Metal Complexes of Plant Secondary Metabolites with Therapeutic Potential. In *Plant Secondary Metabolites* (pp. 281-327). Springer, Singapore.
83. **Vieira, M., Bessa, L. J., Martins, M. R., Arantes, S., Teixeira, A. P., Mendes, Â., Belo, A. D. (2017).** Chemical composition, antibacterial, antibiofilm and synergistic properties of essential oils from *Eucalyptus globules* Labill and seven Mediterranean aromatic plants. *Chemistry & biodiversity*, 14(6), e1700006.
84. **Wichtl, M., Anton, R. (2003).** Plantes thérapeutiques Tec et Doc. *Lavoisier EMI Paris*. p. 200-2.

A decorative scroll graphic with a central text area. The scroll is white with a black outline and features three grey, semi-circular elements representing rolled-up sections of the scroll: one at the top left, one at the top right, and a larger one on the left side. The word "Annexe" is centered within the scroll.

Annexe



Contents lists available at ScienceDirect

Microbial Pathogenesis

journal homepage: www.elsevier.com/locate/micpath

Assessment of the antibiofilm and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1,8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains



Abderrahmen Merghni^{a,b,c,*}, Emira Noumi^a, Ons Haddad^{b,c}, Neyla Dridi^a, Harsh Panwar^d, Ozgur Ceylan^e, Maha Mastouri^{b,c}, Mejdi Snoussi^f

^a Laboratory of Transmissible Diseases and Biologically Active Substances, Faculty of Pharmacy, University of Monastir, Tunisia

^b Laboratory of Microbiology, Department of Basic Sciences B, Faculty of Medicine of Tunis, University of Tunis El Manar, Tunisia

^c Laboratory of Microbiology, Pasteur Institute Hospital, Monastir, Tunisia

^d Department of Dairy Microbiology, College of Dairy Science and Technology, Guru Angad Dev Veterinary and Animal Sciences University (GADVASU), Ludhiana,

Punjab, India

^e The Ali Kucuker Vocational School, Mugli Siki Kocman University, Mugli, Turkey

^f Laboratory of Genetics, Biodiversity and Valorization of Biorecources, High Institute of Biotechnology-University of Monastir, Tunisia

ARTICLE INFO

Keywords:

MRSA

Biofilm

Eucalyptus globulus

1,8-Cineole

Antibacterial

Anti-quorum sensing

ABSTRACT

Antibacterial resistance is an increasingly serious threat to global public health. The search for new anti-infection agents from natural resources, with different mode of actions and competitive effects became a necessity. In this study, seventy eight methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains were investigated for their biofilm formation ability. Subsequently, the antibiofilm effects of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1,8-cineole, against MRSA, as well as their anti-quorum sensing potential, were evaluated. Our results displayed the potent efficacy of both *E. globulus* essential oil and 1,8-cineole against the development of biofilms formed by the methicillin-resistant strains. Additionally, *E. globulus* essential oil showed more potent of anti-QS activity, even at a low concentration, when compared to 1,8-cineole. All these property of tested agents may pave the way to prevent the development of biofilm formation by MRSA and subsequently the spreading of nosocomial infection.

1. Introduction

Staphylococcus aureus is accredited as an opportunistic pathogen, responsible for nosocomial infections and, high mortality and morbidity rates [17]. Several inherent capabilities viz. secretion of multiple toxins and exoenzymes [40], adhesion and biofilm formation on biomaterials and medical devices [24], along with multidrug resistant phenotype [25] attributes to high pathogenicity of this micro-organism. Posing resistance towards multiple antibiotics has been identified as a global threat. Biofilm formation adds to the resistance phenotype of the microbial pathogens towards host defenses and conventional drug therapy, often resulting in serious and persistent infections [9]. Multidrug resistance by *S. aureus* represents a rapidly growing public health concern, particularly pressing in developing world. Appearance and spread of multidrug resistance results in increased morbidity, mortality, and whopping cost of health care. Hence, a multifaceted approach is needed to combat this problem, warranting the discovery of novel

antimicrobial agents and/or new methodological concepts [4].

Several pathogenic bacterial strains use signal molecules, like N-acyl homoserine lactones (AHLs) to monitor their own population density [44]. At a threshold population density, AHLs interact with the cellular receptors and trigger the expression of a set of target genes, including virulence, antibiotic production, biofilm formation, bioluminescence, motility and swarming, in a process called quorum sensing (QS) [44]. Quorum sensing has been identified as one of the alternate approach for combating multidrug-resistant pathogens [26].

The interest in medicinal and aromatic plants and their components, chiefly bioactive compounds has increased remarkably over the last decade [16]. Essential oils (EOs) from medicinal and aromatic plants have been reported to possess potent antimicrobial activities [3]. Such recent reports have attracted an increased interest in the compositions and biochemical properties of the plant EOs for their potential exploitations [32]. Essential oil from leaves of *Eucalyptus globulus* is among the various types of oils targeted for their biological activities

* Corresponding author. Laboratory of Transmissible Diseases and Biologically Active Substances (LR998527), Faculty of Pharmacy, University of Monastir, Tunisia.
E-mail address: aberrahmen.merghni@univ-monastir.tn (A. Merghni).

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.004>

Received 29 January 2018; Received in revised form 2 March 2018; Accepted 5 March 2018

Available online 06 March 2018

0882-4002/ © 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*



Júlia Coswig Goldbeck^{a,*}, José Edmilson do Nascimento^b, Raquel G. Jacob^b,
Ângela Maria Fiorentini^a, Wladimir Padilha da Silva^a

^a Post-graduate Program in Food Science and Technology, Faculty of Agronomy Eliseu Maciel, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

^b Laboratory of Organic Synthesis – LAGOS, COQFA, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 3 February 2014

Received in revised form 19 May 2014

Accepted 20 May 2014

Available online 6 July 2014

Keywords:

S. mutans

Essential oil

Dental plaque

Eucalyptus

Synergism

Antimicrobial films

ABSTRACT

Streptococcus mutans is the primary bacteria involved in caries. To prevent this disease, fluoride compounds are used; however, these compounds can become toxic at certain concentrations. The purpose of this study was to evaluate the antimicrobial activity of essential oils (EOs) from two eucalyptus species (*Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis*) against planktonic and biofilm cells of *S. mutans* using the agar diffusion assay and by determining the minimum inhibitory concentrations, kinetic of action and ability to inhibit biofilm formation. The synergistic effect of the combined oils was also tested (1:1). Films constructed of biodegradable starch with the EOs were prepared, and their bioactivity was tested using the macrodilution technique. These essential oils were active against *S. mutans*, and they presented inhibition zones between 14.7 ± 1.2 mm and 35.3 ± 0.34 mm in diameter. It was observed that when the oils were used together, there was an increase in bioactivity. The kinetics of loss of cell viability test showed a reduction of 1 log cycle in the microorganism counts within less than 5 min of contact time. The essential oil from *E. globulus* gave the best results, requiring only 15 min of contact to cause microbial death; *E. urograndis* oil required 30 min to induce the same bactericidal effect. These results can be explained by the larger concentration of 1,8-cineole in the EO of *E. globulus*. Biofilm formation by *S. mutans* was also inhibited in the presence of the tested oils, which yielded more effective results when compared to 0.1% commercial NaF (sodium fluoride). The increased bioactivity of these oils suggests their technological potential.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Dental caries can be considered a slowly evolving chronic disease that affects the hard tissue of teeth (De Paula et al., 1977; Matsumoto et al., 1999; Lobo et al., 2008). Among the microorganisms involved in this disease, *S. mutans* is considered to be the most important pathogen for caries development (Costa et al., 2001; Carvalho et al., 2003; Wang et al., 2007; Ameen et al., 2012).

S. mutans adheres to the tooth surface to colonize it and metabolizes the carbohydrates contained in foods, producing organic acids that de-mineralize the tooth surface, which results in caries (Köhler et al., 1988; Water et al., 1999; Abdus Salam et al., 2004).

Although fluoride compounds such as NaF are frequently used to inhibit the formation of dental plaque, they are potentially cytotoxic depending on the concentration used and the time period over which they are used (Filoche et al., 2005; Lemos et al., 2005). As a result, many antimicrobial agents have been investigated as alternative preventive treatments against dental plaque formation (Pan et al., 1999; Amin et al., 2004; Zhan et al., 2006; Lobo et al., 2011). Therefore, there is increasing interest in using essential oils (EOs) and their derivatives as antimicrobials to inhibit or eliminate the microorganisms responsible for the formation of dental plaque (Brooker and Kleing, 2006; Almeida et al., 2006; Khan et al., 2009; Da-Hong et al., 2011).

Among the essential oils with antibacterial activity are the EOs of *Eucalyptus* spp. These plants are native to Australia, belong to the Myrtaceae family and are commonly known as eucalyptus, a name that represents more than 700 species around the world. One of the main components of the essential oil from this plant

* Corresponding author. Tel.: +55 05301827232.

E-mail addresses: juliasg@yaboo.com.br (J.C. Goldbeck), wladimir.padilha2011@gmail.com (W.P. da Silva).

Chemical Composition, Antibacterial, Antibiofilm and Synergistic Properties of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* LABILL. and Seven Mediterranean Aromatic Plants

Maria Vieira,^{a,1} Lucinda J. Bessa,^{a,b,1} M. Rosário Martins,^c Sílvia Arantes,^d António P. S. Teixeira,^a Ângelo Mendes,^a Paulo Martins da Costa,^{a,f} and Anabela D. F. Belo^g

^aDepartamento de Produção Aquática, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto, PT-4050-343 Porto

^bUCIBIO/REQUIMTE, Departamento de Química e Bioquímica, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, PT-4169-007 Porto, e-mail: lucinda.bessa@fc.up.pt

^cLaboratório HERCULES & Departamento de Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, PT-7000-671 Évora

^dICAAM – Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas & Laboratório HERCULES, Universidade de Évora, PT-7002-554 Évora

^eCentro de Química de Évora & Departamento de Química, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, PT-7000-671 Évora

^fCentro Interdisciplinar de Investigação Marinha e Ambiental (CIIMAR), Universidade do Porto, PT-4450-208 Matosinhos

^gICAAM - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Departamento de Biologia, Escola de Ciências e Tecnologia, Universidade de Évora, PT-7002-554 Évora

Essential oils (EOs) from *Eucalyptus globulus* LABILL. ssp. *globulus* and from Mediterranean autochthonous aromatic plants – *Thymus mastichina* L., *Mentha pulegium* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Calamintha nepeta* (L.) SAVI ssp. *nepeta*, *Cistus ladanifer* L., *Foeniculum vulgare* L., *Dittrichia viscosa* (L.) GRAMA ssp. *viscosa* – were extracted by hydrodistillation and characterized by GC-MS and NMR spectroscopy. EOs were evaluated for antimicrobial properties against several bacterial strains, using diverse methods, namely, the agar disc-diffusion method, the microdilution method, the crystal violet assay and the Live/Dead staining for assessment of biofilm formation. Potential synergy was assessed by a checkerboard method. EOs of *R. officinalis* and *C. ladanifer* showed a predominance in monoterpene hydrocarbons (> 60%); EOs of *C. nepeta*, *M. pulegium*, *T. mastichina*, *E. globulus* and *F. vulgare* were rich in oxygenated monoterpenes (62 – 96%) whereas EO of *D. viscosa* was mainly composed of oxygenated sesquiterpenes (54%). All EOs showed antimicrobial activity; *M. pulegium* and *E. globulus* generally had the strongest antimicrobial activity. EO of *C. nepeta* was the most promising in hampering the biofilm formation. The combinations *D. viscosa*/*C. nepeta* and *E. globulus*/*T. mastichina* were synergistic against *Staphylococcus aureus*. These results support the notion that EOs from the aromatic plants herein reported should be further explored as potential pharmaceuticals and/or food preservatives.

Keywords: Wild-grown aromatic plants, Essential oils, Antibacterial activity, Antibiofilm, Synergistic effects.

Introduction

Recent years have seen an increased interest in the bioactive compounds produced by organisms such as plants, fungi and bacteria, since they are very likely to possess pharmacological and biotechnological potential. Bacteria resistant to common antibiotics have

reached alarming levels in many parts of the world indicating that many of the available treatment options for ordinary infections are becoming ineffective, which is causing prolonged illness, longer stays in hospitals and increased mortality.^[1] It is of consensus that the development of new antimicrobial drugs and alternative therapies is crucial and urgent.

Medicinal plants are an important source of research for the pharmaceutical and food industries.^[2] Particularly, in the past few decades, medicinal and

¹ These authors contributed equally to this work.

Annexe N°04 :

Journal of Food Measurement and Characterization (2022) 16:987–999
https://doi.org/10.1007/s11694-021-01220-1

ORIGINAL PAPER



Volatile compound profile and essential oil composition of three wild Algerian aromatic plants with their antioxidant and antibiofilm activities

Samah Djebili¹ · Meltem Taş² · Ali Bouguerra¹ · Selcuk Kucukaydin³ · Ozgur Coylan⁴ · Mehmet Emin Duru² · Malika Barkat¹

Received: 18 August 2021 / Accepted: 5 November 2021 / Published online: 20 November 2021
© The Author(s), under exclusive license to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2021

Abstract

Aromatic plants represent a natural source of bioactive compounds. Even their essential oils attracted the interesting of many researchers for their biological activities. Therefore, the aims of this work were to analyze the volatile (aroma) compounds of three wild Algerian plants (*Thymus algeriensis*, *Origanum glandulosum* and *Eucalyptus globulus*) and determinate the composition of their essential oils (EO) by HS-SPME-GC/MS and GC-FID/GC-MS techniques, respectively. Followed by evaluation of the antioxidant activity of the studied essential oils by five complementary methods. MICs determination and antibiofilm activity of these essential oils were determined against six pathogenic microorganisms. The main compound for *T. algeriensis* aroma and EO was thymol with 50.15% and 70.58%, respectively. Whereas carvacrol with percentage of 35.60% and 33.97% was the major component in *O. glandulosum* aroma and EO, respectively. In the case of *E. globulus* aroma, α -pinene (26.21%), *p*-cymene (24.45%), 1,8-cineole (22.80%) were the major compounds, but 1,8-cineole (17.93%), *p*-cymene (16.08%) and *p*-cymen-8-ol (15.55%) were the dominated constituents in EO. Essential oil of *T. algeriensis* exhibited highest antioxidant activities in ABTS⁺ and CUPRAC assays with IC₅₀ values of 9.95 ± 0.17 and 29.21 ± 0.74 μ g/mL, respectively. Essential oils allowed antibiofilm effects against all tested strains with low MICs. Particularly, essential oil of *T. algeriensis* showed the lowest MICs (0.078–1.25 μ L/mL) for all tested microorganisms. According to these results, *T. algeriensis* and *O. glandulosum* could be used as bioresource of thymol and carvacrol respectively by pharmaceutical industry. Also, the studied essential oils can be exploited as natural antipathogenic and antioxidant agents alone or like additives.

Keywords *Thymus algeriensis* · *Origanum glandulosum* · *Eucalyptus globulus* · Volatile compounds · Biological activity · SPME

Introduction

Medicinal and aromatic plants represent a wide group of plant material that is mainly valued for their chemical components known as secondary metabolites which include essential oils. These plants have been used, since antiquity, to restore and maintain human health, also to preserve and flavor foods and to add daily life color and aroma [1, 2]. Algeria, its varied topography and changing climatic conditions allow to it to be a very rich country in indigenous herbal resources with the growth of almost 3000 plant species [3].

Essential oils (EOs) have been long recognized for their medicinal uses: antibacterial, antifungal, antiviral, insecticidal activities, antioxidant properties and their wide spectrum pharmacological [4–8]. Furthermore, at dosages commonly used in foods, EOs are usually regarded

✉ Mehmet Emin Duru
eminduru@mu.edu.tr

¹ Laboratory of BIOQUAL, Institute of the Nutrition, Food, and Agri-Food Technologies (INATAA), University of Mentouri Brothers - Constantine1, Ain El Bey, 25000 Constantine, Algeria

² Department of Chemistry, Faculty of Science, Mugla Sıtkı Koçman University, 48000 Mugla, Turkey

³ Department of Medical Services and Techniques, Kocogir Vocational School of Health Services, Mugla Sıtkı Koçman University, 48000 Mugla, Turkey

⁴ Food Quality Control and Analysis Program, Ula Ali Koçman Vocational School, Mugla Sıtkı Koçman University, 48147 Mugla, Turkey