

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Dr. Moulay Tahar de Saïda
Faculté des Sciences
Département De Biologie



Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation
biologique des Plantes

MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : Microbiologie appliquée

Présenté par :
M^{elle}. KIES khaoula

Sur le thème intitulé :

Contribution à l'étude de l'inhibition de l'activité
enzymatique des Métallo-Beta-Lactamases par des extraits
de *Syzygium aromaticum* et *Eucalyptus globulus*

Présenté Devant le jury :

BENREGUIEG Mokhtar	Maître de conférences -A-	U T. M. de Saïda	Président
AMARA Sabrina	Maître de conférences -B-	U T. M. de Saïda	Examineur
HALLA Noureddine	Maître de conférences -B-	U T. M. de Saïda	Encadreur

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Je remercie tout d'abord la grâce de DIEU le tout miséricordieux qui m'a donné la force à achever ce parcours vert le savoir scientifique et qui m'a accordé la patience pour réaliser ce projet.

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères et ma profonde gratitude :

A mon encadreur, **Mr Halla Noureddine** enseignant à l'université de Saida Dr Moulay Tahar pour m'encadrer et pour m'encourager pendant la réalisation de ce travail. Pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du mémoire. Et pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. Qu'il trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité

A notre Maitre et le Président de jury **Mr Benreguieg Mokhtar** enseignant à l'université de Saida Dr Moulay Tahar. Vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités d'homme de science votre modestie votre disponibilité envers vos collègues et vos étudiants ont forcé l'admiration de tous. Veuillez accepter cher maître notre sincère gratitude

A notre Maitre et examinatrice **Mlle Amara Sabrina**, Enseignante À l'université de Saida Dr Moulay Tahar C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme membre de jury. Votre simplicité, votre disponibilité en plus de vos compétences vous ont valu une très grande renommée. Nous savons le sérieux que vous attachez à notre formation et les efforts que vous déployez dans ce sens. Permettez-nous, cher maître, de vous adresser nos sincères remerciements

*Je remercie tous les enseignants de notre spécialité qui ont contribué à
l'acquisition de nos connaissances et tous les enseignants de la faculté
biologie*

*Enfin je remercie tous ce et celle qui m'ont aidé de près ou de loin à
réaliser ce travail.*

Dédicace

A ma mère bien aimée qui joue le rôle de la mère et le père au même temps

Maman ; aujourd'hui c'est à toi que dédie ce travail. De tous les mères tu as été et tu resteras la meilleur, merci pour ta confiance et pour tout ce que tu as fait pour nous trois, nous ne t'en remercierons jamais assez....ta spontanéité, ta joie de vivre et tes éclats de rire. Merci .L'amour, le dévouement le respect que je te port. Sans toi ne n'y serions jamais arrivé....

A ma unique sœur Samra

Mon p'tit mi-choco ! Tu as su te débrouiller tout seul bien avant moi, ton honnêteté et ta franchise et tes conseils avisés font de toi ma confidente la plus fidèle. Je ne te l'ai jamais dit mais mon amour pour toi sans limite.

A mon unique frère Dadi

Merci pour ton écoute et ton aide dans mes choix cornéliens.

A ma famille HADROUG

Merci à votre présence de ma vie.

A mes chères amies malgré tous les chemins divers que nous avons pu suivre, nos relations sont restés intacts et mon amour pour vous n'est que grandissant.

A mon jumeaux Ayoub et Aridj votre présence c'est la cause de ma force et de ma vie.

A mes anges Malak et Yassine

Vous rires sont le secret de ma joie.

Grand bisou. Je vous aime 'khaoula '

Résumé :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est apparue rapidement après leur introduction dans le traitement des maladies infectieuses. L'émergence de cette résistance est accélérée avec un impact croissant sur la santé humaine surtout en milieu hospitalier où la gravité est liée à l'apparition des bactéries multi résistantes.

Parallèlement à l'utilisation massive des β -lactamines dans le but de l'antibiothérapie sélectionnant, les β -lactamases bactériennes ont évolué vers la diversification, l'élargissement de leur spectre d'activité, et leur diffusion vers de nombreuses espèces d'entérobactéries et de bacilles non fermentant.

Un inhibiteur de bêta-lactamase est une molécule ayant pour caractéristique d'inhiber les enzymes de type bêta_lactamase. Cette fonction est utilisée en pharmacologie à fin d'accroître le specter d'activité des antibiotiques de la classe des bêta_lactamines

Les plantes médicinales sont très efficaces dans le traitement de nombreuses maladie ont utilisant soit leur huile essentielle ou leur extrait comme notre cas des deux plantes: *Syzygium aromaticum* et *Eucalyptus globulus*.

Les mots clés : bêta lactamase, résistance bactérienne, inhibiteurs, plantes médicinales

Abstract :

Bacterial resistance to antibiotics appeared quickly after their introduction in the treatment of infectious diseases. The emergence of this resistance is accelerated with a growing impact on human health, especially in hospitals where the severity is linked to the appearance of multi-resistant bacteria.

Along with the massive use of β -lactams for the purpose of selective antibiotic therapy, bacterial β -lactamases have evolved towards diversification, broadening of their spectrum of activity, and their dissemination to many species of enterobacteria and non-fermenting bacilli.

A beta-lactamase inhibitor is a molecule having the characteristic of inhibiting beta-lactamase-type enzymes. This function is used in pharmacology to increase the specter of activity of antibiotics of the beta-lactam class.

Medicinal plants are very effective in the treatment of many diseases using either their essential oil or their plant extract as in our case of the two plants: *Syzygium aromaticum* and *Eucalyptus globulus*.

Key words: beta lactamase, bacterial resistance, medicinal plant inhibitors

ملخص :

ظهرت المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية بسرعة بعد إدخالها في علاج الأمراض المعدية. يتم تسريع ظهور هذه المقاومة بتأثير متزايد على صحة الإنسان ، خاصة في المستشفيات حيث ترتبط شدتها بظهور بكتيريا متعددة المقاومة. إلى جانب الاستخدام المكثف لـ β -lactam لغرض العلاج الانتقائي بالمضادات الحيوية ، تطورت lactamases البكتيرية نحو التنوع ، وتوسيع نطاق نشاطها ، وانتشارها إلى العديد من أنواع البكتيريا المعوية ، والعصيات غير المخمرة. ان مثبط Bêta-lactamase هو جزيء يستخدم من اجل تمييز الانزيمات من نفس نوع المثبط ، هذه الخاصية مستعملة في علم الادوية من اجل زيادة حقل نشاط المضادات الحيوية لفئة Bêta lactamase .

تعتبر النباتات الطبية فعالة للغاية في علاج العديد من الأمراض باستخدام زيوتها الأساسية أو مستخلصها النباتي كما في حالتنا الخاصة بالنبتين : *Syzygium aromaticum* و *Eucalyptus globulus*

الكلمات المفتاحية: بيتا لاكتاماز ، مقاومة البكتيريا ، مثبطات النباتات الطبية

Sommaire:

Remerciements.....	I
Dédicaces	III
Résumé.....	IV
Abstract.....	V
الملخص	VI
Sommaire.....	VII
Liste des figures	IX
Liste des abréviations	X
Introduction.....	01
Chapitre 1 : Aspects généraux sur la résistance des microorganismes aux antibiotiques	03
1. Définition de la résistance aux antibiotiques.....	04
2. Support génétique de la résistance bactérienne.....	05
3 Différents types de la résistance bactérienne.....	05
3.1. Résistance naturelle ou intrinsèque.....	05
3.2 Résistance acquise.....	05
4. Les mécanismes de résistance.....	05
4.1. Les mécanismes génétiques de la résistance acquise.....	05
4.2. Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise.....	07
5. Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.....	08
6. Prévention de la résistance.....	09
6.1 Au niveau individuel.....	09
6.2. Les responsables politiques.....	09
6.3. Les professionnels de santé.....	10
6.4. Le secteur des soins de santé.....	10
6.5. Le secteur agricole.....	10
7. Bactéries pathogènes résistantes.....	11
Chapitre 2 : Généralités sur les Metallo-Bêta-Lactamases	12
1. Aspect général sur les bêta-lactamases.....	13
1.1. Définition	13
1.2. Classification.....	13
1.2.1 Classification d'Amblar.....	14
1.2.2. Classification de Bush, Jacoby et Medeiros.....	15
2. Métallo-β-lactamases ou Carbapenemases de classe B (MBL)	15
2.1. Caractéristiques générales des Métallo-β-lactamases.....	15
2.2. Diversité et classification des Métallo-β-lactamases.....	16
2.3. Structure et fonction.....	16
2.3.1. Structure moléculaire.....	16
2.3.2. Structure du site actif.....	18
2.4. Mécanisme d'action.....	19
2.5. Mécanisme catalytique.....	20
2.6. Détection phénotypique de métallo-bêta-lactamases par le test CDT	21
Chapitre 3 : Les inhibiteurs de bêta lactamases	22
1. Définition.....	23
2. Différents types des inhibiteurs des β-lactamases.....	24
2.1. Inhibiteurs synthétiques	24
2.1.2. Sulbactam.....	24
2.1.3. Tazobactam.....	25
2.2. Inhibiteurs naturels	25

2.2.1. Acide clavulanique.....	25
2.2.2. Les flavonoïdes	27
3. Résistance aux inhibiteurs.....	29
Chapitre 4 : Plantes potentiellement inhibitrices de MBL.....	30
1. <i>Syzygium aromaticum</i> (le giroflier)	31
1.1. Définition.....	31
1.2. Origine.....	32
1.3. Description botanique.....	32
1.4. Taxonomie.....	33
1.5. Utilisations.....	33
1.5.1. Utilisations en médecine traditionnelles.....	33
1.5.2. Données phytochimiques.....	34
1.5.3. Données pharmacologiques.....	34
1.6. Données toxicologiques.....	35
2. <i>Eucalyptus globulus</i>	36
2.1. Définition.....	36
2.2. Historique et origine de la plante.....	36
2.3. Description botanique.....	37
2.4. Taxonomie.....	38
2.5. Utilisation.....	39
2.5.1. Propriétés thérapeutiques d'Eucalyptus.....	39
2.5.2. Usages traditionnels et courants.....	39
2.5.3. Usage Interne.....	39
2.5.4 Usage Externe.....	40
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	43

Liste de figures :

Figure 1: Principe de résistance bactérienne	04
Figure 2 : Différents mécanismes de la résistance bactérienne	08
Figure 3: Architecture of B1, B2, and B3 metallo- β -lactamases	17
Figure 4 : Structure chimique de sulbactam.....	25
Figure 5 : Structure chimique du tazobactam.....	25
Figure 6 : Structure chimique de l'acide clavulanique.....	26
Figure 7: le clou de Giroflier	31
Figure 8: Arbre de <i>Syzygium aromaticum</i>	33
Figure 9: Arbre d' <i>Eucalyptus globulus</i>	37
Figure 10: Différents organes d'Eucalyptus	38

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATB : antibiotique.

BLSE : béta lactamase à spectre étendu.

CDT : Combined Disk Test Imipenème-EDTA

EDTA : éthylène diamine tetra_acétriqne.

MBL: Metallo béta lactamase.

OMS : Organisation Mondial de la santé.

PAM : plantes aromatiques et médicinales.

Introduction

Les antibiotiques ont longtemps été considérés comme des armes parfaites qui éradiquent toute maladie infectieuse d'origine bactérienne. Toutefois, l'utilisation abusive de ces composés dans le domaine médical a eu pour conséquence l'apparition progressive d'une multitude de résistances chez les microorganismes. Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés en clinique. Chez les bactéries à Gram négatif, la résistance bactérienne aux β -lactamines est due principalement à la production d'enzymes (β -lactamases) capables d'hydrolyser l'anneau β -lactame commun à cette classe d'antibiotiques. Plus de 250 β -lactamases différentes ont été isolées jusqu'à ce jour. Les compagnies pharmaceutiques ont développé de nouveaux antibiotiques résistants aux β -lactamases et des inhibiteurs de β -lactamases pour contrer le problème de la résistance aux β -lactamines sans succès définitif. En effet, de nombreuses β -lactamases résistants aux inhibiteurs ou capables d'hydrolyser les nouvelles molécules, ont été isolées. Dérivant par mutation de pénicillines et appelées pour cette raison TEM résistantes aux inhibiteurs (IRT), ces enzymes se caractérisent par une activité hydrolytique réduite pour les amino-, carboxy- et ureido-pénicillines. Elles ont également une interaction altérée et une faible affinité pour les inhibiteurs compétitifs des β -lactamases, tel l'acide clavulanique

Aujourd'hui, la résistance bactérienne aux antimicrobiens est un grave problème de santé publique mondial qui progresse très rapidement. L'ère post-antibactérienne du 21^{ème} siècle est prévue par l'OMS. Malgré sa mobilisation, le nombre de victimes « mortalité, morbidité » ne cesse d'augmenter, avec des prévisions de plus en plus pessimistes. Elle prévoit qu'en 2050, les maladies infectieuses résistantes aux antimicrobiens seront la première cause de décès par maladie. Il serait question de plus de 10 millions de morts par an dans le monde contre 700 000 actuellement, c'est-à-dire plus que le cancer.

Le manuscrit relatif à ce travail seulement bibliographique, s'organise en quatre chapitres :

- Chapitre 1 : Aspects généraux sur la résistance des microorganismes aux antibiotiques
- Chapitre 2 : Généralités sur les Metallo-Bêta-Lactamases
- Chapitre 3 : Les inhibiteurs de bêta lactamases
- Chapitre 4 : Plantes potentiellement inhibitrices de MBL

*Chapitre 1 : Aspects généraux sur la
résistance des microorganismes aux
antibiotiques*

1. Définition de la résistance aux antibiotiques :

Un micro-organisme est considéré « résistant » lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Les CMI ciblées pour une sensibilité, une sensibilité intermédiaire ou une résistance microbiologique pour chaque espèce de bactéries et pour chacun des antibiotiques sont déterminées par un laboratoire indépendant, le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) est mis à jour régulièrement (Rakki, 2019).

Il est bien connu que cette résistance pourrait être due à des facteurs anthropiques sous forme d'antibiotiques utilisés dans les cliniques et dans le secteur agricole. Compte tenu de cela, le sol était sélectionné pour identifier les bactéries résistantes aux antibiotiques et pour approfondir la transformation (Waghmare et al., 2020).

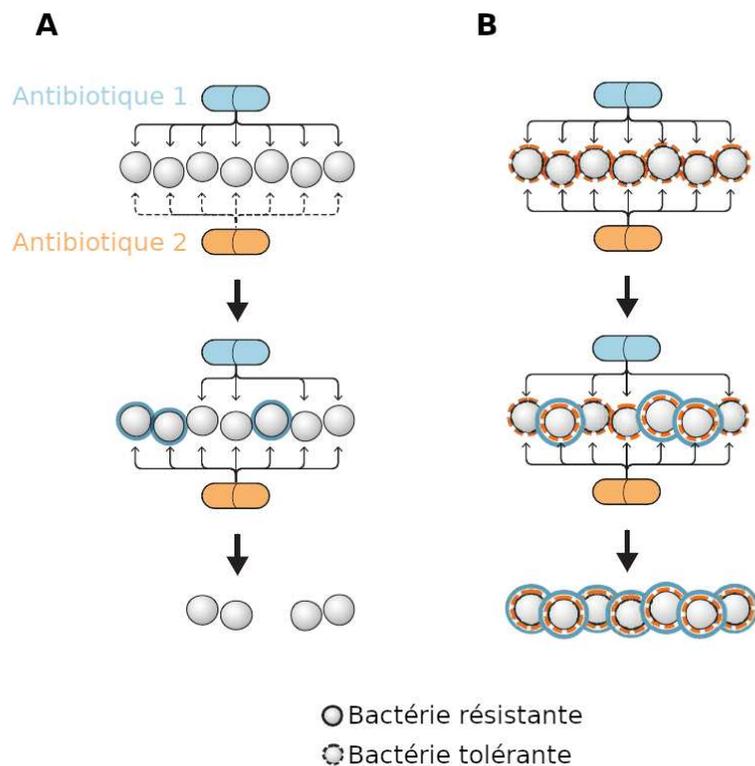


Figure 1: Principe de résistance bactérienne (DJF, 2021)

2. Support génétique de la résistance bactérienne:

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (**Armalyte et al., 2019**).

3. Différents types de la résistance bactérienne:

3.1. Résistance naturelle ou intrinsèque

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant aux mêmes espèces (**Rakki, 2019**). Elle est une caractéristique propre à une espèce bactérienne donnée, liée au « fond génétique : ADN » de l'espèce. On parle alors du caractère normal ou « sauvage » du comportement (ou du phénotype) de l'espèce vis-à-vis des antibiotiques (**Metchaim et al., 2017**). Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (**Batatia et al., 2017**).

3.2. Résistance acquise:

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation, soit acquisition de gènes par un autre micro-organisme (**Rakki, 2019**). Propre à certaines souches ayant, par rapport à l'espèce à laquelle elle appartient, un comportement vis-à-vis des antibiotiques (ou phénotype) « anormal » qui est le résultat de modifications génétiques, Chromosomiques : secondaires à une mutation portant sur le chromosome, ou extra-chromosomiques : par acquisition de gènes le support est un plasmide ou un transposon ou intégrons acquis par conjugaison ou plus rarement par transduction (**Armalyte et al., 2019**).

4. Les mécanismes de résistance :

4.1. Les mécanismes génétiques de la résistance acquise :

Le potentiel génétique d'une bactérie est constitué du chromosome et d'un ou de Plusieurs gonophores facultatifs et extra- chromosomiques, les plasmides. Des gènes

sont également portés par des éléments génétiques transposables et par des intégrons. Une bactérie peut ainsi acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques. L'un a pour support le chromosome et définit une résistance chromosomique, l'autre a pour support les plasmides ou les éléments transposables ou les intégrons et ils définissent une résistance extra-chromosomique (**Armalyte et al., 2019**).

A) La résistance chromosomique

Elle résulte d'une mutation. C'est un phénomène rare, dû au hasard. Il n'est pas provoqué par la présence de l'antibiotique. Mais l'antibiotique révèle la mutation de résistance en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes (ou plus exactement, en détruisant les autres bactéries de l'espèce, celles restées sensibles à l'action de l'antibiotique). C'est un phénomène indépendant : l'apparition d'une mutation ne favorise pas l'apparition d'autres mutations de résistance à d'autres antibiotiques. La probabilité de deux mutations simultanées est donc très faible. Cette indépendance des mutations constitue un des meilleurs arguments pour justifier l'association des antibiotiques. Elle est transmissible ; elle est permanente et a donc un caractère héréditaire (transmission sur un mode vertical de bactérie - mère à bactéries filles). Toutes les mutations ont pour conséquence la perte ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique et une bactérie mutée est souvent contre-sélectionnée en l'absence d'antibiotique (**Batatia et al., 2017**).

B) La résistance extra-chromosomique (plasmides) :

Deux faits expliquent l'importance de la résistance plasmique :

1/ la résistance plasmique est liée à la synthèse de protéines additionnelles et non à une modification des constituants normaux de la bactérie. Les bactéries porteuses de plasmides sont normales alors que les bactéries résistantes par mutation sont souvent fragilisées. Aussi les bactéries porteuses de plasmides ne sont pas ou peu contre-sélectionnées en l'absence d'antibiotique.

2/ de nombreux plasmides de résistance sont conjuguais ou mobilisables ce qui permet un transfert horizontal ; ces transferts sont à l'origine d'une dissémination très importante de la résistance au sein des populations bactériennes ce qui fait qualifier

la résistance plasmique de "contagieuse ou d'infectieuse". Les plasmides de résistance sont susceptibles d'évoluer par acquisition ou pertes successives de déterminants de résistance portés par des éléments génétiques transposables. Les éléments génétiques transposables permettent la dissémination de gènes entre des bactéries phylogéniquement éloignées en permettant l'implantation d'un gène là où celle d'un plasmide échoue. Comme pour la résistance chromosomique, les gènes de la résistance extra-chromosomique ne sont pas induits par l'utilisation des antibiotiques qui se contentent de sélectionner les bactéries porteuses de tels gènes. Il est important de noter que la résistance extra-chromosomique étant souvent une multi résistance, l'utilisation d'un seul antibiotique va sélectionner des bactéries multi résistantes qui ne sont pas contre sélectionnées en l'absence d'antibiotique (**Rakki, 2019**).

4.2. Les mécanismes biochimiques de la résistance acquise :

Ils peuvent être regroupés en trois grands types de mécanismes :

1/ diminution de la perméabilité (mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie) et efflux actif : l'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane et capable d'éjecter l'antibiotique hors de la bactérie grâce un canal ; cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique

2/ modification de la cible des antibiotiques : ex. : modification des PLP : les PLP ou "protéines liant les pénicillines" sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane (paroi bactérienne) et qui sont la cible des bêta-lactamines (en se fixant aux PLP les bêta-lactamines les empêchent de jouer leur rôle ; la synthèse du peptidoglycane est donc entravée

3/ Production d'enzymes inactivant les antibiotiques. Ex. : production de bêta-lactamases codées par des plasmides ou des éléments génétiques transposables (**Batatia et al., 2017**).

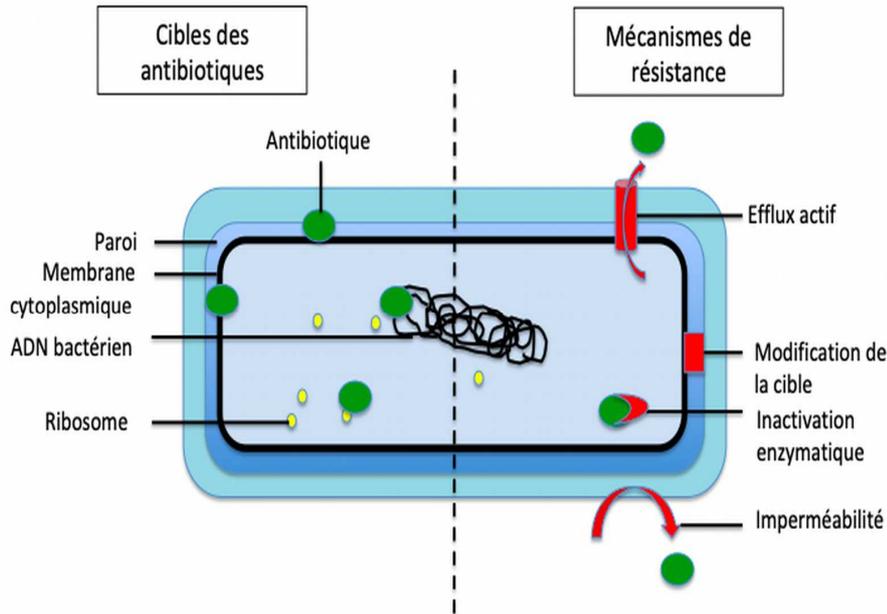


Figure 2 : Différents mécanismes de la résistance bactérienne (**Rakki, 2019**)

5. Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques :

- 1/ Pression sélective exercée par l'utilisation d'antibiotiques.
- 2/ Sur utilisation ou utilisation inappropriée des antibiotiques.
- 3/ Utilisation massive des antibiotiques en milieu hospitalier.
- 4/ Dissémination internationale de clones épidémiques résistants .
- 5/ Utilisation des antibiotiques dans l'industrie agroalimentaire.

D'abord, les bactéries se caractérisent par une capacité d'adaptation à leur environnement, notamment par leur reproduction rapide, la fréquence de mutation génétique aléatoire et leur capacité à s'échanger du matériel génétique entre elles. L'utilisation d'antibiotiques exerce une pression de sélection sur les populations bactériennes en favorisant la survie des bactéries résistantes. Celles-ci continuent à se reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance, produisant rapidement une génération de bactéries majoritairement résistantes (**Armalyte et al., 2019**).

6. Prévention de la résistance :

L'usage abusif ou excessif des antibiotiques accélère le phénomène de la résistance, de même que de mauvaises pratiques de prévention et de lutte contre l'infection. On peut prendre des mesures à tous les niveaux de la société pour réduire l'impact et limiter la propagation des résistances (OMS, 2020).

6.1 Au niveau individuel :

Pour prévenir et combattre la propagation de la résistance aux antibiotiques, vous pouvez:

- n'utiliser ces médicaments que s'ils sont prescrits par un professionnel de santé qualifié;
- ne jamais exiger d'antibiotiques si votre agent de santé vous dit que vous n'en avez pas besoin;
- toujours respecter les conseils du soignant lorsque vous utilisez des antibiotiques;
- ne jamais partager vos antibiotiques avec d'autres personnes ou utiliser les médicaments qui vous restent;
- prévenir les infections en vous lavent régulièrement les mains, en suivant les règles d'hygiène pour la préparation de la nourriture, en évitant les contacts proches avec des malades, en ayant des rapports sexuels protégés et en tenant vos vaccinations à jour;
- Préparer les aliments de façon hygiénique en respectant les Cinq clés pour des aliments plus sains (les garder propres, séparer les aliments crus et cuits, bien les cuire, les conserver aliments à une température adaptée) et choisir des aliments, notamment les produits d'élevage sans antibiotiques (OMS, 2020).

6.2. Les responsables politiques :

Pour éviter et combattre la propagation de la résistance aux antibiotiques, ils peuvent:

- Veiller à mettre en place un plan d'action national robuste pour endiguer la résistance aux antibiotiques.
- Améliorer la surveillance des infections résistantes aux antibiotiques;
- Renforcer les politiques, les programmes et la mise en œuvre des mesures de prévention et de lutte contre les infections.

- réglementer et favoriser l'usage rationnel et la mise à disposition de médicaments de qualité;
- Diffuser les informations sur l'impact de la résistance aux antibiotiques (OMS, 2020).

6.3. Les professionnels de santé:

Pour prévenir et combattre la propagation de la résistance aux antibiotiques, ils peuvent:

- Faire de la prévention en veillant à la propreté des mains, des instruments et de leur environnement.
- Ne prescrire et délivrer des antibiotiques que quand ils sont nécessaires, en application des directives en vigueur.
- signaler les infections résistantes aux antibiotiques aux équipes de surveillance;
- parler à leurs patients de la prise correcte des antibiotiques, des résistances et des dangers d'un usage abusif;
- Parler à leurs patients de la prévention des infections (par exemple, par la vaccination, le lavage des mains, les rapports sexuels à moindre risque ou en se couvrant la bouche et le nez pour éternuer) (OMS, 2020).

6.4. Le secteur des soins de santé:

Pour prévenir et combattre la propagation de la résistance aux antibiotiques, il peut investir dans la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques, vaccins, produits de diagnostic et autres outils (OMS, 2020).

6.5. Le secteur agricole:

Pour prévenir et combattre la propagation de la résistance aux antibiotiques, il peut:

- ne donner des antibiotiques aux animaux que sous contrôle vétérinaire;
- ne pas utiliser les antibiotiques comme facteurs de croissance ou pour prévenir les maladies chez les animaux;
- vacciner les animaux pour réduire le besoin d'antibiotiques et utiliser des solutions de remplacement à ces médicaments s'il en existe;

- promouvoir et appliquer les bonnes pratiques à chaque étape de la production et de la transformation des aliments d'origine animale et végétale;
- Augmenter la sécurité biologique dans les exploitations agricoles pour éviter les infections en améliorant l'hygiène et le bien-être des animaux (OMS, 2020).

7. Bactéries pathogènes résistantes :

En février 2017, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a publié une liste mondiale «d'agents pathogènes prioritaires» résistants aux antibiotiques, énumérant les 12 familles de bactéries les plus menaçantes pour la santé humaine. La liste de l'OMS comporte trois catégories selon l'urgence du besoin de nouveaux antibiotiques: critique, élevée ou moyenne (Navon et al., 2017).

Le groupe le plus critique comporte des bactéries multirésistantes qui représentent une menace particulière dans les hôpitaux, les maisons de retraite ou pour les patients dont les soins imposent d'utiliser des dispositifs comme des respirateurs ou des cathéters sanguins. Il comporte *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et diverses entérobactéries (dont *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia*, et *Proteus*). Elles peuvent provoquer des infections sévères, souvent mortelles, telles que des infections sanguines et des pneumonies. Ces bactéries sont devenues résistantes à un grand nombre d'antibiotiques, y compris les carbapénèmes et les céphalosporines de troisième génération, les meilleurs produits disponibles pour traiter les bactéries multirésistantes. Le deuxième et le troisième groupe de la liste – les catégories de priorité élevée et moyenne – comportent d'autres bactéries de plus en plus résistantes provoquant des maladies plus courantes telles que la gonorrhée ou les intoxications alimentaires par les salmonelles (Gygliet al., 2017).

***Chapitre 2 : Généralités sur
les Metallo-Bêta-Lactamases***

1. Aspect général sur les bêta-lactamases :

1.1. Définition :

Les bêta-lactamases (β -lactamases) sont des enzymes capables d'hydrolyser la liaison amide du noyau β -lactame, cette réaction rend l'antibiotique inactif. C'est le mécanisme de résistance le plus courant chez les bactéries Gram-négatives (**Poole, 2004**). Les bêta-lactamases sont des hydrolases, appartenant à la famille d'enzymes EC 3.5.2.6 plus précisément des amidases bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle bêta-lactame des antibiotiques bêta-lactamines pour générer des produits inefficaces sur les bactéries. Leur biosynthèse est codée par des gènes chromosomiques et par des gènes plasmidiques donc transmissibles d'une bactérie à une autre et une fois biosynthétisées, elles sont secrétées dans l'espace extracellulaire chez les bactéries Gram positif et dans l'espace périplasmique chez les bactéries Gram-négatif. Chez certaines espèces bactériennes, l'exposition à un antibiotique bêta-lactame peut provoquer l'induction de leur production, entraînant des concentrations élevées de ces bêta-lactamases ce qui conduit à une résistance clinique (**Palzakill, 2013**).

Les β -lactamases sont des enzymes d'inactivation de type sérine (SBL) (classes A, C et D) ou métallo enzymes (classe B) dont les substrats sont des β -lactamines, constituant la principale et la plus importante famille d'antibiotiques, pouvant être classée en sous-groupes selon la structure du noyau de base (pénème, oxapénème, pénème, céphème, oxacéphème, azétidone). Les métallo-bêta-lactamases (MBLs) appelées également bêta-lactamases de classe bêta-lactamases de groupe 3 ou Zn-bêta-lactamases, sont des enzymes qui requièrent un ou deux ions zinc pour hydrolyser le cycle bêta-lactame des bêta-lactamines. Elles ne présentent aucune homologie structurale avec les SBLs mais possèdent par contre un profil substrats large. A l'exception des monobactames, elles hydrolysent une vaste gamme d'antibiotiques bêta-lactamines incluant les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les céphamycines, constituant ainsi une menace clinique énorme pour l'antibiothérapie (**Messama, 2019**).

1.2. Classification :

Depuis la découverte des β -lactamases, plusieurs classifications ont été proposées. La première classification, établie par **Sawai et al. (1968)**, permettait de décrire les pénicillinases

et les céphalosporinases. D'autres classifications sont basées sur des paramètres biochimiques tel que le profil de substrat (**Richmond et al., 1973**), le point isoélectrique (**Sykes et al., 1976 ; Bush et al., 1995**). Actuellement, deux classifications sont adoptées.

La première, proposée par Ambler en 1980, est structurale et est basée sur l'identité et la structure moléculaire du site actif de l'enzyme. La deuxième, fonctionnelle, a été initialement décrite par Jack et Richmond en 1970 pour ensuite être modifiée par Bush en 1995. La version récente propose de classer ces enzymes en fonction de la spécificité de substrat et le profil d'inhibition par le clavulanate. Cette classification phénotypique des β lactamases pose cependant un problème puisque différentes mutations ponctuelles peuvent influencer leurs susceptibilités aux substrats et inhibiteurs (**Thomson et al., 2000**).

1.2.1 Classification d'Ambler :

C'est une classification moléculaire basée sur l'homologie des séquences peptidiques des β -lactamases. Elle est divisée en 4 classes : A, B, C et D. Les classes A, C et D possèdent un résidu sérine au niveau de leur site actif alors que la classe B est une métallo- β -lactamase qui a un ion zinc dans le site actif (**Jacoby et al., 2005**).

La classe A comporte des enzymes qui sont des pénicillinases et des céphalosporinases fréquemment codées par des plasmides et des transposons (**Bonomo et al., 1999**) et sont fortement inhibées par l'acide clavulanique (**Monnaie et al., 1993**). La classe B comporte des enzymes de poids moléculaire entre 25 et 118 KDa avec des pI entre 2,5 et 10,5 (**Philippon et al., 1998**). Ce sont des pénicillinases, des céphalosporinases, des Oxacillinases et des carbapénemases chromosomiques et plasmidiques. Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique mais plutôt par des agents chélateurs comme l'EDTA, les O-phenanthrolines et l'acide dipicolonique (**Hernandez-Valladares et al., 2000**). La classe C comporte des enzymes de poids moléculaire compris entre 29 et 43 KDa avec un pI entre 6,8 et 10 (**Matagne et al., 1999**). Ce sont des enzymes qui dégradent les céphalosporines. Elles sont codées par des chromosomes et ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique (**Monnaie et Frère, 1993**). La classe D représente des enzymes de poids moléculaire entre 23 et 44 KDa avec un pI de 8,2 à 8,6. Ce sont des enzymes chromosomiques et plasmidiques (**Buynak, 2006**) qui hydrolysent l'oxacilline (**Babic et al., 2006**). Elles ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, mais sensibles au NaCl. Les OXA β lactamases de l'*Acinetobacter baumannii* et

Pseudomonas aeruginosa représentent le groupe le plus répandu qui se propage de manière rapide (Walther-Rasmussen et al., 2006).

1.2.2. Classification de Bush, Jacoby et Medeiros :

La classification biochimique la plus complète et la plus récente est celle de **Bush et al. (1995)**. Elle divise les β -lactamases en 4 groupes en se basant sur le profil hydrolytique (profils du substrat et de l'inhibiteur) d'une part et la structure primaire en acides aminés d'autre part. C'est une réorganisation des classes proposées par Ambler. Le groupe 1 regroupe les enzymes qui hydrolysent les céphalosporines non inhibées par l'acide clavulanique. Il correspond à la classe C d'Ambler. Le groupe 2 est constitué de pénicillinases, de céphalosporinases, de β -lactamases à spectre large, d'Oxacillinases et de carbapenemases. Ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique et correspondent aux enzymes appartenant aux classes A et D d'Ambler. Le groupe 2 contient le plus grand nombre d'enzymes et est subdivisé en sous-groupes en fonction du profil des substrats (**Bonomo et Rice, 1999**). Le groupe 3 comporte des métallo-enzymes qui ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique. Elles correspondent à la classe B d'Ambler. La plus remarquable propriété de ces enzymes est leur capacité à hydrolyser les carbapénèmes. Le groupe 4 regroupe des enzymes qui ne sont pas encore caractérisées surtout sur le plan structural (**Bush, 2001**).

2. Métallo- β -lactamases ou Carbapenemases de classe B (MBL) :

2.1. Caractéristiques générales des Métallo- β -lactamases :

Une des stratégies employées par des souches bactériennes pour résister au β -lactamines est l'expression des Métallo- β -lactamases exigeant Zn^{2+} pour l'activité. Dans les dernières années, de nombreux nouveaux β -lactamases de zinc ont été décrits et plusieurs pathogènes sont maintenant connus pour synthétiser les membres de cette classe. Outre l'inactivation par des chélateurs de métaux, tous les Métallo- β -lactamases à des caractéristiques fonctionnelles supplémentaires, y compris l'activité carbapénémase puissant, résistance aux inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique et sulfones), et absence d'activité contre monobactames. L'activité contre d'autres β lactamines différents entre les Métallo- β -lactamases, et une spécificité substrat pourrait varier d'une gamme étroite (par exemple, CphA Métallo- β -lactamase de *Aeromonas hydrophila*), à une gamme étendue (Par exemple, le VIM de type Métallo- β lactamases, ce qui peut dégrader presque toutes les classes des β -lactamines en dehors de la monobactames). Activité carbapénémase, résistance aux inhibiteurs et le

potentiel de transfert horizontal sont cliniquement les caractéristiques les plus inquiétantes des Métallo- β lactamases (Rakki, 2019).

2.2. Diversité et classification des Métallo- β -lactamases :

Selon la classification structurale des β -lactamases les Métallo- β -lactamases fait partie de la classe B, avec trois grandes sous-classes, ces enzymes ont une importante diversité interne. Les membres des différents sous-classes diffèrent non seulement dans leur haut degré de diversité de séquence, mais aussi dans la structure de leurs sites actifs. Dans les enzymes des sous-classes B1 et B3, le site actif contient deux ions de zinc; chez les membres de la sous-catégorie B2, il ne contient qu'un seul, ce qui explique la spécificité étroite de cette sous-classe. Chaque sous-classe a plusieurs différents types de Métallo- β -lactamase, dont beaucoup ont plusieurs allèles de plusieurs variantes. Une valeur de la diversité d'acides aminés d'au moins 30% est utilisée comme une coupure pour la classification d'une nouvelle Métallo- β -lactamase. Les métallo- β -lactamases sont codées par des gènes qui font partie du cadre chromosomique dans certaines espèces de bactéries (résidents métallo- β -lactamases), ou par des gènes hétérologues acquis par transfert horizontal de gènes (acquis métallo- β -lactamases). Seuls quelques résidents métallo- β -lactamases sont trouvés chez des espèces d'importance clinique, comme dans *Bacillus spp*, *Stenotrophomonas maltophilia*, plusieurs espèces *Aeromonas*, *Bacteroides fragilis*, diverses *flavobacteria*, et *Pseudomonas otitidis*, dans lequel ils peuvent contribuer aux profils intrinsèques de résistance aux β -lactamines. Les Métallo- β -lactamases ont été détectés dans les souches d'entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, et d'autres à Gram négatif non fermentent. Presque tous les types acquis appartiennent à la sous-catégorie B1, ce qui indique une propension générale plus élevée pour les membres de cette sous-classe d'être capturés et la propagation avec des éléments génétiques mobiles que pour les membres de sous-classes B2 et B3 (Rakki, 2019).

2.3. Structure et fonction:

2.3.1. Structure moléculaire :

Les métallo-bêta-lactamases monomériques sont constituées en moyenne de 230 résidus d'acides aminés. Leurs poids moléculaires varient entre 25 et 118 kDa, leurs points isoélectriques varient entre 2.5 et 10.5. La L1 est la seule métallo-bêta-lactamase tétramérique. La masse moléculaire de chaque monomère est de 28.8 kDa d'où une masse moléculaire de 115 kDa. Son point isoélectrique est de l'ordre de 6. Les structures secondaires

de toutes les MBLs y compris la seule MBL tétramérique (L1) comprennent cinq structures α (5 hélices), douze structures β (12 feuillets) et une seule boucle. Malgré une faible similarité de séquences entre les diverses métallo-bêta-lactamases, la structure tertiaire générale de ces enzymes est très similaire. Il s'agit d'une structure en sandwich ($\alpha\beta\alpha$) avec des feuillets β antiparallèles au centre, flanqués par des hélices- α . Le site actif se trouve enchâssé au centre de cette structure. La structure quaternaire est monomérique sauf dans le cas de la MBL L1 qui est homotétramérique. La tétramérisation est le résultat d'interactions principalement de nature hydrophobe permettant à chaque sous-unité ou monomère de se lier à chacune des trois autres (Heinz et al., 2004).

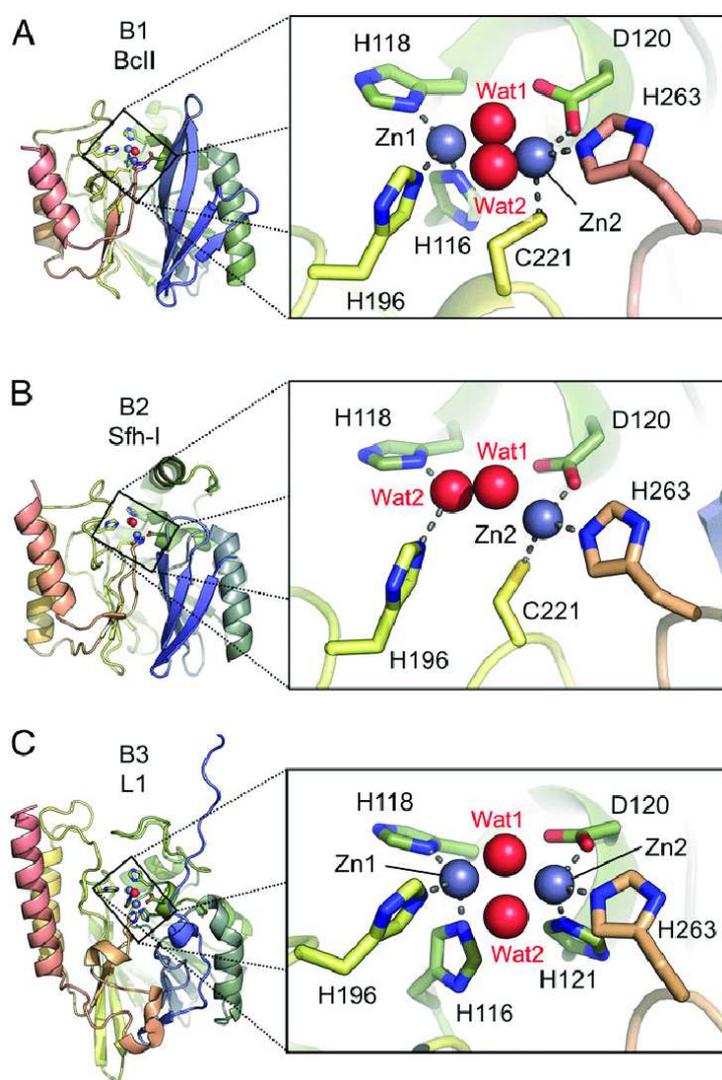


Figure 3: Architecture of B1, B2, and B3 metallo- β -lactamases (RCH, 2021)

La détermination des structures tridimensionnelles des β -lactamases par cristallographie aux rayons X a permis de comprendre les mécanismes de résistance, d'expliquer les mécanismes

d'inhibition et de montrer les similitudes structurales de ces enzymes). En se basant sur le site actif, nous pouvons regrouper les β -lactamases en deux groupes :

(1) Les β -lactamases à sérine active qui sont des enzymes ayant un résidu serin au site actif (classes A, C et D) sont constituées de deux domaines : un domaine tout en hélices α et un domaine hybride en hélices α et feuillets β

(2) Les métallo-enzymes sont des β -lactamases qui utilisent 1 ou 2 atomes de zinc pour inactiver les β -lactames à l'exception des monobactames. Cette classe est subdivisée en 3 groupes B1, B2 et B3 en se basant sur la structure primaire. Cette classification présente des complications à cause du faible degré de similarité entre les sous classes. Toutefois, grâce à l'identification de la structure secondaire par diffraction aux rayons X, il apparaît que les métallo-enzymes ont des éléments structuraux secondaires semblables (**Bebrone, 2007**). Les structures tertiaires de ces enzymes montrent qu'elles sont constituées de 5 hélices α et 12 feuillets β organisés en 2 domaines : le premier domaine, du côté de l'extrémité N-terminale, comporte 7 feuillets β et 3 hélices α ; le second domaine est constitué de 5 feuillets β et de 2 hélices α . Ces deux domaines sont liés par une chaîne de 8 résidus d'acides aminés (121 à 128) (**Heinz et al., 2004**).

2.3.2. Structure du site actif :

Le site actif des MBLs est situé au fond d'une large rainure peu profonde entre deux feuillets β et possède deux sites potentiels de liaison aux ions zinc, souvent appelés site 1 et site 2. Les résidus d'acides aminés ligands de zinc dans les deux sites ne sont pas identiques et ne sont pas entièrement conservés entre les différentes MBLs (**Bebrone, 2007**).

Cas des MBLs B1 : Dans cette sous-classe, le site actif peut être mononucléaire, autrement dit les acides aminés établissent des liaisons avec un seul ion de zinc. Ces acides aminés sont trois histidines : His116, His118 et His196. Le site actif B1 peut être également binucléaire possédant en d'autres termes deux sites de fixation de Zn appelés site 1 et site 2 liant chacun un Zn. Au niveau du site 1, l'ion Zinc est lié à trois résidus histidine (His116, His118 et His196) ; au niveau du site 2, l'ion Zinc est coordonné avec trois résidus différents, souvent ASP 120, Cys221 et His263

Cas des MBLs B2 : Dans cette sous-classe, le site actif est toujours du type mononucléaire. Les acides aminés qui établissent des liaisons avec le seul ion zinc sont Asn 116 au lieu d'un His, Cys221 et His263 (**Messaasma, 2019**).

Cas des MBLs B3 : Chez cette sous-classe, le site actif peut être mononucléaire, les acides aminés établissant des liaisons avec le seul ion zinc sont au nombre de trois et sont tous des résidus histidines (His116, His118 et His196). Il peut être également binucléaire. Dans le site 1, l'ion métallique est coordonné avec les mêmes résidus rapportés dans le cas des enzymes de la sous-classe B1, à savoir His116, His118 et His196. Quant au site 2, celui-ci est légèrement différent en ce qui concerne les acides aminés liant l'ion Zn par comparaison au site 2 des MBLs B1. Ces aminoacides sont Asp120, His121 au lieu d'un Cys et His263 88 (Messaasma, 2019)

2.4. Mécanisme d'action :

Bien que l'exigence des ions métalliques dans l'hydrolyse des antibiotiques bêtalactamines par les MBLs soit encore un sujet de débat, plusieurs mécanismes catalytiques ont été proposés pour les MBLs de site actif mono et binucléaire. Dans ce qui suit nous nous limiterons au mécanisme catalytique d'une MBL de classe B1, la BCII, une MBL d'un site actif qui peut être mono ou binucléaire (Karsisiotis, 2014).

Dans le cas du site actif mononucléaire, les principales étapes du mécanisme catalytique sont :

- (1) La formation du complexe de Michaëlis: le OH d'une molécule d'eau déprotoné par le résidu asparagine 120, établie une liaison avec l'ion Zn et attaque le carbone du carbonyle du cycle β -lactame. Ceci entraîne la formation d'un complexe intermédiaire tétrahédrique chargé négativement. Les quatre liaisons établies par l'ion zinc servent de stabilisateur de cet intermédiaire.
- (2) La catalyse: Le résidu Asp120 cède un proton à l'azote du cycle β -lactame entraînant le clivage de la liaison amide C-N de ce cycle et son ouverture
- (3) Libération du produit : le clivage de liaison C-N du cycle beta-lactame ionise le carbone du carbonyle du même cycle lui permettant d'établir une double liaison avec l'oxygène chargé du complexe intermédiaire formé à la suite de la première étape. Ceci est soldé par la libération du produit et du site actif de l'enzyme (Karsisiotis, 2014).

Dans le cas du site actif binucléaire, les principales étapes du mécanisme catalytique sont toujours les mêmes :

- (1) La formation du complexe de Michaelis : l'ion hydroxyle provenant d'une première molécule d'eau de pontage Zn1-Zn2 est responsable de l'attaque nucléophile du carbone du carbonyle du cycle bêta-lactame, qui aboutit à un intermédiaire chargé négativement.
- (2) La catalyse : La deuxième molécule d'eau apicale liée au zinc est positionnée de manière optimale à donner un proton à l'azote entraînant le clivage de la liaison C-N de cycle bêta-lactame et son ouverture
- (3) Libération du produit: le clivage de liaison C-N du cycle bêta-lactame ionise le carbone du carbonyle du même cycle lui permettant d'établir une double liaison avec l'oxygène chargé du complexe intermédiaire formé à la suite de la première étape. L'ion hydroxyle nouvellement formé du Zn2 laisse la place à une molécule d'eau pour se lier au Zn1 suivie de la dissociation du produit à partir du site actif de l'enzyme (**Karsisiotis, 2014**).

2.5. Mécanisme catalytique :

Toutes les β -lactamases inactivent les β -lactamines en coupant l'anneau β -lactame rendant ainsi l'antibiotique inactif. L'hydrolyse des β -lactamines par les β -lactamases à sérine active se fait par un mécanisme en trois étapes :

1. La première étape est la formation d'un complexe réversible. Le substrat entre dans le site actif de l'enzyme où il est retenu par des liaisons hydrogène.
2. La deuxième étape est la formation d'un complexe irréversible, l'acyle-enzyme. L'acylation se produit lors de l'attaque nucléophile du groupement carbonyle de l'anneau β -lactame par le groupement hydroxyle d'une sérine du site actif.
3. La troisième étape est la libération du substrat devenu un produit inactif, un acide pénicylloïque. L'enzyme est ensuite prête à hydrolyser une autre molécule de β -Généralités : β -lactamase, inhibiteurs & flavonoïdes 18 lactamines. La désacylation nécessite une molécule d'eau comme accepteur final d'électrons (**Minasov et al., 2003**) ; (**Matagne et al.,1995**) ; (**Chen et al., 2001**).

2.6. Détection phénotypique de métallo-bêta-lactamases par le test CDT

Les métallo-bêta-lactamases sont des carbapénemases qui nécessitent un ou deux ions de zinc pour leur fonctionnement catalytique d'où l'inhibition de celles-ci par l'EDTA (chélateur des cations divalents) ; cette propriété est mise à profit dans des tests de synergie. L'EDTA, mis en présence de l'imipénème, chélate le Zn indispensable à l'activité de ces enzymes les rendant inactive, et restaure ainsi l'activité de cet antibiotique. En pratique, le test CDT (Combined Disk Test Imipénème-EDTA) consiste à transférer des colonies bactériennes en phase de croissance dans des tubes contenant de l'eau physiologique pour l'obtention de suspensions bactériennes d'une turbidité voisine à celle de Mc Farland 0.5. Par la suite, des surfaces entières de la gélose Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri ont étéensemencées par ces suspensions par la technique d'écouvillonnage. Deux disques espacés de 25 mm contenant chacun 10 µg d'imipénème ont été appliqués sur le milieu, et une quantité de 1900 µg d'EDTA (0.5 M, pH 8) a été ajouté par la suite à l'un d'eux. Après 16 à 18 h d'incubation à 35 °C, les diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne sont notés en millimètre (mm) (**Messaasma, 2019**).

Chapitre 3 : Les inhibiteurs de béta lactamases

Afin de prévenir l'hydrolyse des β -lactamines, deux approches ont été utilisées. La première utilise la modification de l'antibiotique le rendant insensible à l'action des β -lactamases. La deuxième approche a été l'utilisation d'une combinaison d'un inhibiteur de β -lactamases avec une β -lactamine. Une thérapie avec ce type de combinaison est basée sur l'effet synergique des deux molécules : l'inhibiteur supprime l'activité de la β -lactamase et protège les β -lactamines qui peuvent alors se lier aux PLPs (**Sandanayaka et al., 2002**). L'inhibition la plus efficace et la plus spécifique est causée par des molécules ayant des structures analogues aux β -lactamines et dépourvues d'une activité antibactérienne (**Chaïbi et al., 1999**).

1. Définition :

Un inhibiteur de bêta-lactamase est une molécule ayant pour caractéristique d'inhiber les enzymes de type bêta_lactamase. Cette fonction est utilisée en pharmacologie à fin d'accroître le spectre d'activité des antibiotiques de la classe des bêta_lactamines. Les inhibiteurs des β -lactamases se caractérisent par leur mécanisme d'action. Ces analogues structuraux subissent l'étape d'acylation, et en l'absence d'étape de désacylation, ils restent accrochés à l'enzyme formant des complexes très stables. Il existe trois inhibiteurs utilisés en clinique : l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam. Ces inhibiteurs sont des dérivés de la pénicilline et possèdent un anneau β -lactame avec une chaîne latérale modifiée (**Maiti et al., 2006**).

Les inhibiteurs des bêta-lactamases ont une faible activité intrinsèque. Ils sont très actifs sur les pénicillinases et les bêta-lactamases à large spectre, chromosomiques et plasmidiques. Ils sont généralement peu actifs sur les céphalosporinases. Leur efficacité est fonction de leur pouvoir inhibiteur sur les différentes bêta-lactamases, de l'activité intrinsèque des molécules auxquelles ils sont associés, de la quantité d'enzymes présente dans la souche, de l'espèce en cause et de leur concentration au site de l'infection (**Applbaum et al., 1988**).

Tous les inhibiteurs connus des SBLs appelés parfois inactivateurs (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam...) sont inefficaces vis-à-vis des MBLs. Les inhibiteurs de ces dernières mis en évidence jusqu'à présent sont tous des chélateurs de métaux (EDTA, 10-phénanthroline, dipicolinic acid...) et n'ont aucun intérêt clinique. Plus récemment, des revues bibliographiques ont rapporté les inhibiteurs expérimentaux mis en évidence jusqu'à présent qui sont entre autres des dérivés thioesters, des alcools et des cétones trifluorométhyliques, des sulfonylhydrazones, des produits naturels tricycliques, des dérivés

d'acide succinique, des biphényltétrazoles, des cystéinylpeptides, des carbapénèmes, des dérivés de pénicilline parmi lesquels un intéressant inhibiteur thiolsubstitué de la pénicilline, des produits de dégradation des céphalosporines, des composés thiols tels que l'acide mercaptoacétique et les thioesters, l'acide thiomandélique, le captopril, les dérivés de l'acide benzoxyhydroxamique et les carboxylates de pyridine. La propagation des MBLs parmi les souches bactériennes nosocomiales justifie la recherche de composés pouvant contrarier l'activité de ces enzymes (Messasma, 2019).

2. Différents types des inhibiteurs des β -lactamases:

2.1. Inhibiteurs synthétiques :

2.1.2. Sulbactam :

Le sulbactam est un inhibiteur semi-synthétique. Il appartient à la classe des sulfopénicillines possédant un noyau pénème. C'est un inhibiteur irréversible chez plusieurs β -lactamases avec une très faible activité antibactérienne (Maiti et al., 2006). Ce composé possède une activité inhibitrice contre les β -lactamases de la classe A ($IC_{50} = 1,7 \mu M$) et une activité plus élevée que celle du clavulanate contre les enzymes de la classe C ($IC_{50} = 5 \mu M$) (Coleman, 2006).

En examinant sa structure, nous retrouvons un élément commun chez les β -lactamines, l'anneau β -actame. La β -lactamase ayant une affinité à cette structure, va initier la réaction comme si c'était une β -lactamine. Cependant, ce sont les chaînes latérales du sulbactam qui vont jouer un rôle dans l'inactivation. Des études ont démontré que le groupe sulfone se retrouve dans l'ouverture du site actif en n'ayant aucune interaction avec les résidus du site actif (Imtiaz et al., 1994). D'autre part, le carboxylate sur le C3 de l'anneau contenant le groupe sulfone joue un rôle important dans le positionnement du sulbactam dans le site catalytique de la β -lactamase.

Le sulbactam est commercialisé en combinaison avec l'ampicilline sous le nom d'Unasyn® et dans certains pays avec la céfoperazone sous le nom de Sulperazone®. Son activité antibactérienne est modeste contre la plupart des bactéries mais l'Unasyn® est actif contre les souches productrices de β -lactamases telles que *S. aureus*, *H. Influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *Bacteroides* spp. (Buynak, 2006).

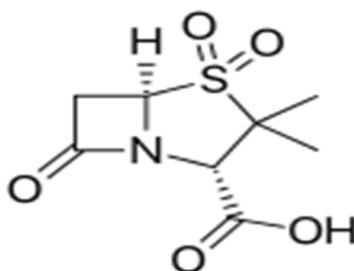


Figure 4 : Structure chimique de sulbactam

2.1.3. Tazobactam :

Le tazobactam est un inactivateur synthétique de β -lactamase possédant une bonne affinité pour les β -lactamases de la classe A ($IC_{50} = 0,03 \mu M$) et la classe C ($IC_{50} = 0,92 \mu M$). Son spectre d'activité inhibitrice est plus large que celui du clavulanate et du sulbactam. Cet inactivateur se retrouve dans la même classe que le sulbactam, les sulfopénicillines. Le tazobactam contient un noyau péname possédant un anneau triazole. En dépit d'une grande similarité structurale avec le tazobactam, le sulbactam possède une activité inhibitrice supérieure. Ceci serait dû à la présence de triazole. Il est actuellement utilisé en association avec la pipéracilline sous le nom commercial de Tazocin® (Buynak, 2006) ; (Coleman, 2006).

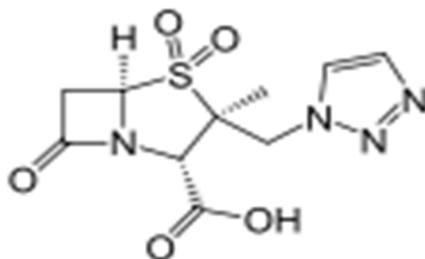


Figure 5 : Structure chimique du tazobactam

2.2. Inhibiteurs naturels :

2.2.1. Acide clavulanique :

L'acide clavulanique ou le clavulanate, seul inhibiteur naturel, produit par *Streptomyces clavugerus*. C'est une β -lactamine qui inactive les β -lactamases d'une grande variété de bactéries à Gram négatif et à Gram positif, in vitro et in vivo (*Staphylococcus*, *Hemophilus*, *E.*

coli et Klebsiella) (Li et Townsend, 2006). C'est un inhibiteur irréversible agissant sur les β -lactamases intra- et extracellulaires (Finlay et al., 2003).

L'acide clavulanique, découvert en 1976 (Reading et al., 1977), possède un anneau oxapénème avec un oxygène en position 1 et une double liaison en position 2. Il ressemble au noyau de la pénicilline mais diffère par l'absence de la chaîne latérale aminoacyle et par la substitution d'un atome de soufre par l'oxygène en position C1 (Livermore, 1998). L'acide clavulanique inhibe fortement et de manière irréversible les β -lactamases de la classe A et D ($IC_{50} = 0,06$ à $0,71 \mu M$), mais il n'a pas d'effet sur les enzymes de la classe C ($IC_{50} > 50 \mu M$). Il est utilisé en clinique en association avec l'amoxicilline (Augmentin®) et avec la ticarcilline (Timentin®) (Coleman, 2006) ; (Baynak, 2006).

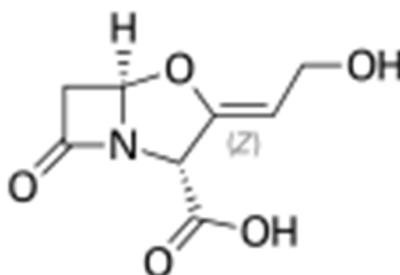


Figure 6 : Structure chimique de l'acide clavulanique

Mécanisme d'inhibition :

Plusieurs étapes d'inhibition ont été proposées pour l'inactivation d'une β -lactamase par les inhibiteurs suicides. La formation des intermédiaires dans le site actif avec un inhibiteur suicide que ce soit le tazobactam, le sulbactam ou l'acide clavulanique, implique les mêmes mécanismes de protonation et de déprotonation pour effectuer les attaques nucléophiles que ceux utilisés avec les β -lactamines (Sandanayaka et al., 2002).

L'acide clavulanique est reconnu comme un substrat par l'enzyme d'où il est relargué. Cependant une déviation de ce processus mène à l'inactivation irréversible de la β -lactamase. Il y a d'abord formation du premier intermédiaire tétrahédrique non-covalent, suivie de la seconde étape qui consiste en la formation d'un acylenzyme. La divergence au niveau des mécanismes d'inactivation par les inhibiteurs et d'hydrolyse des β -lactamines s'effectue à partir de l'acylenzyme. La différence majeure qui caractérise une inhibition par un inhibiteur suicide est l'ouverture de l'anneau cyclique adjacent à l'anneau β -lactame à l'intérieur du site actif. L'ouverture de cet anneau empêche l'étape de la désacylation (Yang et al., 1999).

Suite à la formation de l'acylenzyme par l'attaque nucléophile du groupement hydroxyle de Ser-70 provoquant l'ouverture de l'anneau β -lactame, il y a ouverture de l'anneau clavame qui permet la formation d'un complexe de transition dans un équilibre tautomérique entre la forme imine et énamine. L'énamine est un cis-isomère de l'imine au niveau de la double liaison entre les carbones 5 et 6. Cette tautomérisation est responsable d'une inhibition transitoire de l'enzyme. Par contre, une isomérisation cis-trans de l'énamine peut se produire permettant la formation d'un complexe plus stable (**Sandanayaka et Prashad, 2002**) ; (**Padayatti et al., 2005**). L'imine peut provoquer l'acylation de l'hydroxyle de la Ser-130 et se fixer à l'enzyme, ce qui conduit à une inhibition irréversible (**Therrien et al., 2000**).

2.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques naturels. Ce sont des pigments, souvent hydrosolubles largement distribués dans le règne végétal. Plus de 6500 flavonoïdes ont été identifiés dont plusieurs sont responsables des couleurs vives des fleurs et des fruits (**Hendrich, 2006**).

a. Structure et classification Les flavonoïdes :

Sont des dérivés benzo- γ -pyrone (anneaux A et C)). Les flavonoïdes sont subdivisés en 14 classes différentes dont 6 sont les plus répandues et les mieux caractérisés. Ce sont les flavanones, les flavones, les flavanonols, les flavonols, les flavanols et les isoflavones (**Heim et al., 2002**) ; (**Hendrich, 2006**). La structure de base de ces molécules est caractérisée par 15 atomes de carbone arrangés en trois cycles (Fig. 10). A l'exception des chalcones, ces métabolites secondaires sont toujours tricycliques : deux cycles benzoïques A et B et un hétérocycle C (squelette carboné C6-C3-C6). L'ouverture du cycle oxygéné B caractérise les chalcones) (**Pietta, 2000** ; **Yao et al., 2004** ; **Havsteen, 2002**).

Dans les flavonoïdes, le deuxième cycle benzène (B) se lie à l'hétérocycle (C) en position 2. Lorsque la liaison s'effectue en position 3, les composés résultants sont appelés iso Flavonoïdes. Les flavonoïdes se distinguent entre eux par les substituants hydroxyles, méthoxyles ou glucidiques sur leurs cycles (**Das et al., 2006**).

La fixation d'un groupement hydroxyle (OH) sur le carbone 3 dans les deux cas précédents constitue respectivement les flavonols et les flavanonols (Bravo et coll., 1998). - La

substitution de l'un des groupements hydroxyles par un sucre ou un groupement méthyle donne naissance aux flavonoïdes glycosylés et flavonoïdes méthyles (Yao et al., 2004).

b. Activités biologiques des flavonoïdes :

La présence d'un groupement oxyde en position 4, d'une double liaison entre C2-C3 et d'un groupement hydroxyle en position 3 dans l'hétérocycle C sont nécessaires pour une meilleure activité anti-oxydante et antiproliférative des flavonoïdes (Middleton et al., 2000). De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antimicrobiennes, anti-tumorales, anti inflammatoires, antiallergiques et anti-cancéreuses (Di carlo, 1999).

Effets antioxydants : Les flavonoïdes ont une activité antioxydante. Ils sont de bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase, la cyclo oxygénase et la lipooxygénase (Cos et al., 1998) ; (Manthey et al., 2000) ; (Midleton et al., 2000). Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs d'ions métalliques comme les ions Fe²⁺ et Cu⁺ qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène (Hendrich, 2006) ; (Heim et al., 2002). Les flavonoïdes hydroxylés sont capables de réduire les radicaux libres oxydants comme le super oxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle par transfert d'hydrogène (Piettra, 2000) ; (Yao, 2004).

Effet antiallergique : Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent des enzymes telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺-dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes à l'origine de l'asthme (Di Carlo, 1999) ; (Midleton et al., 2000).

Effets anti-inflammatoires : Sous l'action de la cyclo oxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Landolfi et son groupe ont montré que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (Landolfi et al., 1984).

Effets antiulcéreux : Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques. La quercétine exercerait son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition de la production des leucotriènes (**Di Carlo, 1999**).

Effets anticancéreux : Présente pratiquement dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale. La quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire (**Yao, 2004**).

Effets antimicrobiens : Certains flavonoïdes ont un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire de métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries (**Harbonne et al., 2000**). Ont démontré que la quercétine inhibe la synthèse de l'ADN en inactivant l'ADN gyrase. D'autre flavonoïdes sophoraflavone G et l'epigallocatechin gallate inhibe la synthèse de la membrane cytoplasmique, et que les licochalcones A et C empêchent le métabolisme énergétique de certaines bactéries (**Cushnie et al., 2005**).

3. Résistance aux inhibiteurs :

Etant donné l'administration clinique des combinaisons antibiotique/inhibiteur et la fréquence des mutations chez les bactéries, il n'est pas surprenant que la résistance aux inhibiteurs ait apparue (**Buynak, 2006**). Cliniquement, le premier cas de résistance à la combinaison inhibiteur-antibiotique a été isolé en 1989 en France chez des souches d'E. Coli (**Therrien et al., 2000**).

La résistance est due à une ou plusieurs mutations en de nouvelles positions du gène bla entraînant une ou plusieurs substitutions d'acides aminés (**Thomson et al., 1992**) ; (**Vedel et al., 1992**) Les principales mutations sont celles des résidus Met69 et Arg244. Certaines enzymes ont évolué à partir de TEM-1 par deux substitutions simultanées. C'est le cas des TEM-35 (Asn276Asp/Met69Leu), TEM-36 (Asn276Asp/Met69Val), TEM-32 (Met182Thr/Met69Ile) et TEM-45 (Met69Leu/Arg275Gln). La combinaison de 2 substitutions se traduit par l'augmentation de l'IC50 en comparaison avec la substitution Met69 seule (**Bonomo et al., 1999**) (. La conséquence phénotypique de ces modifications entraîne une résistance aux associations β -lactamine-inhibiteur (**Buynak, 2006**).

***Chapitre 4 : Plantes potentiellement
inhibitrices de MBL***

1. *Syzygium aromaticum* (le giroflier) :

1.1. Définition :

Syzygium aromaticum, également connu sous le nom de clou de girofle, est un bouton floral séché appartenant aux Myrtaceae famille indigène des îles Moluques en Indonésie, mais qui a récemment été élevée dans différents. Endroits dans le monde. Le giroflier est composé de feuilles et de bourgeons (la partie commerciale de l'arbre) et la production de boutons floraux commence quatre ans après la plantation. De façon intéressante, ils sont utilisés commercialement à de nombreuses fins médicinales et dans l'industrie de la parfumerie, et le clou de girofle est considéré comme l'une des épices pouvant être potentiellement utilisées comme conservateurs dans de nombreux aliments, en particulier dans la transformation de la viande, pour remplacer les conservateurs chimiques en raison de leurs propriétés anti oxydantes et antimicrobiennes (Batiha et al., 2020).



Figure 7: le clou de Giroflier (MJM, 2021)

1.2. Origine:

Le Giroflier, est un arbre tropical appartenant à la grande famille des Myrtacées, originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et d'Amérique de Sud (Madagascar, Brésil, Zanzibar), principalement dans des pays tropicaux (**Orahman et al., 2018**).

1.3. Description botanique:

C'est un grand arbre fruitier, élancé, de forme conique, d'une hauteur moyenne de 10 à 12 mètres, qui peut atteindre jusqu'à 20 mètres de haut, à port pyramidal et au tronc gris Clair ride .)De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette. Ces Feuillet, de 8 à 10 cm de long, sont coriaces, persistantes, opposées, pétiolées, ovales, aux limbes lancéolés, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, légèrement ponctué. Elles sont aromatiques et dégageant une forte odeur de clou de girofle au froissement. Le pétiole portant le limbe mesure entre 0,5 et 1cm de long. Les nervures sont nombreuses mais ne se voient pas beaucoup et la marge de la feuille est lisse. A l'état adultes, les feuilles sont vert foncé luisant, mais lors qu'elles se développent elles sont de couleur rose et comme saupoudrées d'or de couleur verte du L'inflorescence comprend de petites cymes (4–5 cm) compactes et ramifiées, regroupes en panicules de trois à Cinq petites fleurs parfumes, au calice tubulaire blanc cassé, puis rouge (quatre Sépales rouges charnus et persistants) et à la corolle blanc rosé (quatre dialypétales blancs , ce sont en fait les pédicelles floraux. ILS sont nommés « griffes » car ces pédicelles se terminent par une série de petites bractées en forme de griffe Les fruits sont nommés « antofles » dans le commerce. Ce sont des petites baies elliptiques : environ 2,5cm de long pour 1cm de large. Ils sont de couleur pourpre, généralement uniloculaire, et ont une ou parfois deux graines à enveloppe rouge (**Barbelet, 2015**).



Figure 8: Arbre de *Syzygium aromaticum* (TPF, 2015)

1.4. Taxonomie :

Taxonomie de *Syzygium aromaticum* (Barbelet, 2015) :

Embranchment	Magnoliophyta
Sous embranchment	Magnoliophytina
Classe	Angiosperme
Sous classe	Tiporees
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Sous famille	Myrtoideae
Genre	Syzygium
Espèces	<i>Syzygium aromaticum</i>

1.5. Utilisations :

1.5.1. Utilisations en médecine traditionnelles :

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine en

usage externe contre le rhumatisme, les myalgies (douleurs musculaires), la sciottée anesthésiant local dans les soins des plaies (**Benzeggouta, 2015**). Par voie orale, les clous de girofle sont utilisés dans le traitement des troubles digestifs : ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations et flatulences (**Ghedira et al., 2010**). Il serait aussi efficace dans le traitement de l'hyperglycémie (**Ghedira et al., 2010**). L'huile essentiel du clou girofle aide à l'accouchement a l'assouplissement du périnée. Autres utilisations Les clous de girofle étaient utilisées comme une épice très prisée pour parfumer viandes, vins chauds et pains d'épices (**kathe, 2007**).

1.5.2. Données phytochimiques :

En 2017, **Medfouni et al.** ont mis en évidence la présence de : saponifies, tanins, flavonoïdes, Anthocyanes, Leuco anthocyanes, les Terpènes et Stérols et l'absence d'alcaloïde, coumarines et Cardioïdes. Les clous de girofle renferment des hétérosides de chromons, glucosides des stérols (sitostérol, stigmastérol et campe stérol), acide oléanolique, camphérol, 6 % protéines, 20 % lipides, 61 % carbohydrates, vitamines et entre 15 à 18% d'huile volatile, les tiges entre 4 à 6% (Leung, 1980). L'huile essentielle contient, selon une étude récente, 28 composés avec l'eugénol comme composé majoritaire à 80.95%, eugényl acétate 5.01%, β -caryophyllène 3.14%, Myrcène 1.84%, α -terpinène 1.65%, comme principaux constituants.

1.5.3. Données pharmacologiques

Plusieurs rapports ont documenté les propriétés antibactériennes, antivirales, anti cancérigènes et activités antifongiques de certaines herbes aromatiques, notamment la cannelle, l'origan, le clou de girofle, le thym et la menthe. Cependant, le clou de girofle a attiré beaucoup d'attention parmi d'autres épices en raison de son puissant antimicrobien et activités anti oxydantes, Le rôle efficace du clou de girofle dans l'inhibition de différentes maladies dégénératives est attribuée à la présence de divers constituants chimiques en concentrations élevées avec des antioxydants activité. L'huile essentielle de clou de girofle est traditionnellement utilisée dans le traitement des brûlures et des plaies, et comme analgésique dans les soins dentaires ainsi que dans le traitement des infections dentaires et des maux de dents. En plus de que, son utilisation a été documentée dans diverses applications industrielles et est largement utilisé dans Parfums, savons et comme véhicule de nettoyage dans le travail histologique (**Batiha et al., 2020**).

Activités antioxydants: L'extrait obtenu par ultrasons possède un effet antioxydant important et une grande quantité de composés phénoliques par rapport à l'extraction hydro éthanoïque classique. L'huile essentielle obtenue par hydro distillation classique et les polyphénols présentent un bon effet antioxydant par rapport aux témoins (**Gülçin et al., 2012**).

Activités antibiotiques: L'extrait aqueux du bouton floral possède un effet antibactérien important en le comparant avec celui de cannelle (**Al-dhaher, 2008**).

Activités anti-nociceptive: Lors d'un test réalisé sur les extraits l'éthanol de bourgeon floral de *Syzygium aromaticum*, on a induit chez les souris des contractions abdominales en utilisant de l'acide acétique. Trois doses d'extraits d'éthanol (50, 100 et 200mg/kg de poids corporel IP) ont été utilisées. L'extrait avait une dose DL50 de 565,7 mg de poids corporel par voie intra péritonéal chez la souris. Ils ont produit un effet significatif (P inférieur a 0,05) aux trois doses ce qui soutient l'utilisation de la plante dans des conditions douloureuses (**Tanko et al., 2008**).

Activités anti-inflammatoires : Au cours du même test réalise par Tanko et al en 2008 on a induit chez les rats wistar un œdème de la patte arrière par le formol. Les extraits ont produit un effet significatif (P inférieur a 0,05) aux trois doses soutenant ainsi, l'utilisation de la plante dans des conditions inflammatoires (**Gülçin et al., 2012**).

Activité aphrodisiaque : Une étude sur le comportement sexuel des rats males normaux présenté des résultats qui indiquent que l'extrait éthanolique a 50% de clou de girofle possède une activité aphrodisiaque puissante (**Shamshad et al., 2004**).

1.6. Données toxicologiques:

La toxicité du clou de girofle a fait l'objet de plusieurs études. Il a été montré que le taux minimal d'application de poudre de clou de girofle (0,3 mg/ cm²) tue avec succès 74% des fourmis rouges, montrant ainsi que le clou de girofle possède des composés bioactifs toxiques pour des fourmis (**Lekhnath et al., 2013**). Il s'est révélé que l'extrait de la poudre du bouton florale de clou girofle était toxique pour l'escargot *Lymnaea acuminata*. Une autre étude menant l'activité pédiculaire avec l'extrait d'hexane de bouton floral de *Syzygium aromaticum* s'est avère toxique pour *Pediculus humanus capitis* de Geer (**Asokan et al., 2011**). Ils ont rapporté que les épices produisent une augmentation de la sécrétion d'acide gastrique par un mécanisme cholinergique

(Vasudevan et al., 2000). Et ainsi, leur utilisation pour la revigoration sexuelle peut provoquer une ulcération gastrique et d'autres effets indésirables. Par conséquent, les effets ulcérogènes et autres effets indésirables de l'extrait de clou de girofle ont été également évalués. Les résultats de cette évaluation ont été négatifs. Cela suggère que l'utilisation à court terme de clou de girofle à cette fin est apparemment sans danger (Shamshadet al., 2004).

2. *Eucalyptus globulus* :

2.1. Définition :

Eucalyptus, dont plus de 500 espèces sont dénombrées, sont, pour la plupart, de très grands arbres de la famille des Myrtacées. Ils sont originaires d'Australie mais sont également implantés en Amérique du Sud, en Afrique et en Europe, où ils ont fini par s'acclimater. Les huiles essentielles (HE) d'*Eucalyptus* entrent dans la composition de nombreux produits. Celle d'*Eucalyptus globulus* est couramment utilisée dans les pathologies ORL. Les noms vernaculaires d'*Eucalyptus globulus* sont : *Eucalyptus globulus* (nom botanique), gommier bleu (nom commun), Calibtos (nom vernaculaire Arabe) et Calitous (nom targui) (Beloued, 2009).

2.2. Historique et origine de la plante :

L'*Eucalyptus globulus*, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert en 1792 par le botaniste français Jacques-Julien Houhou de La Billardier . Ferdinand Von Mueller (1825-1896), directeur du jardin botanique de Melbourne, en Australie, a été le premier à le décrire. Aujourd'hui, l'*Eucalyptus globulus* est cultivé dans le bassin méditerranéen et en Chine où il est utilisé pour fabriquer de la pâte à remède traditionnel aborigène. L'eucalyptus est un antiseptique puissant, utilisé dans le monde entier dans le traitement des toux, rhumes, maux de gorge et autres infections. Révulsif et stimulant, il a été longtemps appliqué sur la poitrine en cataplasme ou en friction, mélangé à d'autres huiles. L'eucalyptus entre fréquemment dans la composition de nombreux remèdes courants contre le rhume. (Djaoui et al., 2017).



Figure 9: Arbre d'*Eucalyptus globulus* (DLE, 2021)

2.3. Description botanique :

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calyptos » qui signifie « couvert ». Le genre *Eucalyptus* comprend 7 sous-genres et environ 700 espèces. Leur nombre précis évolue au fil des études taxonomiques. Il appartient à la famille des myrtacées qui compte 90 genres et environ 3000 espèces. La description botanique des eucalyptus date de la fin du dix-huitième siècle mais ce n'est qu'au début du vingtième qu'ils ont été utilisés en reboisement (FAO, 1982). L'*Eucalyptus globulus* est un arbre qui peut atteindre une taille du 25 à 30m de hauteur quelquefois plus. C'est un arbre indigène en Tasmanie et au Sud-est du continent australien. Introduit en Algérie en 1854 cet arbre ne dépasse guère 30m. Il se signale par sa croissance rapide (Beloued, 2009).

Cet arbre qui peut atteindre 30 m de haut s'est parfaitement acclimaté chez nous et fait partie de notre paysage. On le trouve partout mais surtout sur les bords des routes (Djerroumi, 2014).

- **Tronc** : droit, à écorce s'exfoliant en grandes bandes verticales laissant apparaître une écorce lisses, bleutées, d'où le nom de gommier (bleu)
- **Rameaux** : quadrangulaires et glauques (juvéniles) puis cylindriques (adulte)

- **Feuilles** : opposées, larges, longues, de 6 à 15 cm, arrondies, glauques (juvéniles) puis alternes, étroites, longues de 15 à 35 cm, vert sombre, brillantes, en forme de faux (adultes).apparaissent lorsque le plant a de 1,80 à 2,50 m de hauteur.
- **Boutons floraux** : en forme de toupie, blanc crème.
- **Floraison** : juin à novembre.
- **Fleurs** : blanches, régulières le plus souvent solitaires
- **Les filets** des étamines sont allongés, les anthères subovales .
- **Fruits** grands sont souvent hémisphériques ou déprimés, turbinés. Ils ont 4, 5 à 3 loges (Annie et al., 2014).

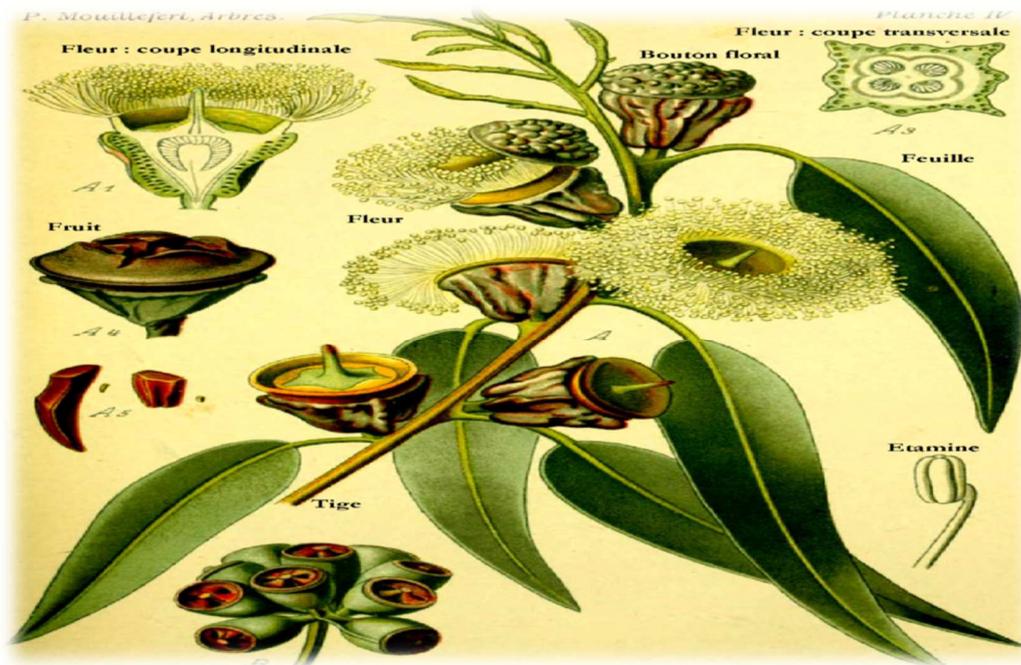


Figure 10: Différents organes d'Eucalyptus (SS, 2021)

2.4. Taxonomie :

Embranchement.....Spermaphytes
 Classe.....Dicotylédones
 Ordre.....Myrtales
 Famille.....Myrtaceae
 Genre.....Eucalyptus

Espèce.....Eucalyptus globulus (**Bouamer, 2004**)

2.5. Utilisation :

2.5.1. Propriétés thérapeutiques d'Eucalyptus:

Il possède des vertus thérapeutiques sur l'appareil respiratoire, dues surtout au cinéol (ou eucalyptol) contenu dans les feuilles. Il est utilisé en phytothérapie pour soigner les bronchites, la toux, les rhumes ou la sinusite. On peut en faire des fumigations, des infusions ou des décoctions, ou encore l'acheter sous forme d'huile essentielle ou de gélules. Il est utilisé dans la fabrication de pastilles ou de pâtes destinées au traitement des maux de gorge (**Beloued, 2009**).

2.5.2. Usages traditionnels et courants :

Eucalyptus globulus est une espèce officinale est connue par ces vertus :

- **Anti-Infectieux** : Les Aborigènes l'employaient contre les infections et les fièvres. Il est désormais utilisé dans le monde entier pour traiter ces affections
- **Antiseptique** : Cette plante est 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
- **Révuksif** Appliquée en friction sur la poitrine ou les sinus, en infusion ou en gargarisme, l'huile essentielle diluée a un effet révuksif et anesthésique qui contribue à soulager les infections respiratoires
- **Antalgique** : Appliquée sur les zones douloureuses l'huile essentielle diluée soulage les rhumatismes (douleurs aiguës raideurs, névralgies, infections cutanées d'origine bactérienne). Le traitement en usage interne de l'huile essentielle ne doit se faire que sur avis médical.

2.5.3. Usage Interne:

Elle est utilisée contre les affections des voies respiratoires (bronchites, grippe, asthme et toux) et les affections des voies urinaires (rhumatismes, des névralgies, influenza Hyperglycémie (**Masso, 2007**)).

2.5.4 Usage Externe :

L'Eucalyptus est utilisé pour soigner les plaies, les brûlures, les affections pulmonaires, la grippe, les sinusites, la pédiculose et les moustiques. Les feuilles de l'Eucalyptus sont utilisées par les aborigènes d'Australie pour panser les blessures (**Morigane, 2007**).

Conclusion

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques remonte à une période très lointaine, soit à l'Antiquité. Les plantes furent utilisées en l'état (racine, feuille, tige) dans plusieurs régions du monde, dont les civilisations chinoises et indienne furent les précurseurs. Plusieurs auteurs se sont intéressés à cette activité depuis l'antiquité gréco-romaine en publiant une banque de données portant sur le potentiel végétatif en usage à l'époque. A partir du 19^{ème} siècle l'activité s'est modernisée grâce aux travaux des chimistes qui ont réussi à isoler les principes actifs des plantes, d'où le concept de phytothérapie (soins à base de plantes). Cette dernière prise en charge par plusieurs acteurs, les producteurs, les herboristes, les laboratoires d'analyse, les pharmacies, a acquis une place importante dans le domaine de la pharmacie. La phytothérapie est fortement valorisée dans plusieurs pays comme les Etats- unis d'Amérique la France le Maroc...

En Algérie malgré un potentiel végétatif important, la filière des PMA connaît un énorme retard comparativement aux autres pays. Le manque de valorisation des plantes à des fins thérapeutiques et l'extraction des principes actifs ont fait de l'Algérie un grand importateur de plantes médicinales. L'Algérie est donc restée en marge de l'évolution du marché mondial des PAM en général et des huiles essentielles en particulier.

Références bibliographiques

1. Acar et coll. Résistance aux antibiotiques : une perspective aux antibiotiques : une perspective écologique à un vieux problème. Bull Soc Fr Microbiol; Paris; 2009.
2. Aghofack, J., Schinzoumka, P. A., & Tatchago, V. (2015). Effets des extraits ou de la poudre de *Spirulina platensis* et *Jatropha curcas* sur la croissance et le développement de la tomate. *Journal of Applied Biosciences*, 90, 8413-842
3. Barbelet, S. (2015). *Le giroflier: historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
4. Bebrone, 2007 Boucetta, Z., Bechiche, H., Merimeche, A., & Yousfi, K. E. (2012). *Production des B-lactamases par les bactéries et mode d'action* (Doctoral dissertation, université de jijel)
5. Beloued, A. (2009). Plantes médicinales d'Algérie (p. 134). *Alger: Office des Publications Universitaires*.
6. Ben Bouamer, S. (2004). Intérêt de la chirurgie endonasale dans les rhinorrhées cérébro-spinales (A propos de deux cas).
7. Benzeggouta, N. (2015). Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées.
8. Bonomo, S. (1999). Mémoires du récit, " La Revue des Lettres Modernes", " Ecritures contemporaines", 1, Paris, Minard, 1998. *Mémoires du récit, " La Revue des Lettres Modernes", " Ecritures contemporaines", 1, Paris, Minard, 1998, 1000-1002.*
9. Bush, V. J., Janu, M. R., Bathur, F., Wells, A., & Dasgupta, A. (2001). Comparison of BD Vacutainer SST™ plus tubes with BD SST™ II plus tubes for common analytes. *Clinica chimica acta*, 306(1-2), 139-143.
10. Decousser J-W, Poirel L, Nordmann P. Recent advances in biochemical and molecular diagnostics for the rapid detection of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae : a focus on β -lactam resistance. *Expert Rev Mol Diagn*. 3 avr 2017;17(4):327- 50.
11. Djaoui, L., & Messaoudene, W. (2017). *Exploitation de la filière des quatre (4) plantes médicinales (Fenugrec; Camomille, Eucalyptus, Thym) à des fins thérapeutiques* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
12. Djerroumi, A., & Nacef, M. (2014). les plantes médicinales d'Algérie. *Houma 159p*.
13. Fajardo A, Linares JF, Martínez JL. Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clin Microbiol Infect* 2009 ; 15 (Suppl 1) : 14-16.
14. Fao. (1982). *Residus de pesticides dans les produits alimentaires 1981: rapport de la reunion conjointe du groupe Fao d'experts des residus de pesticides dans le produits*

- alimentaires et l'environnement et du groupe OMS d'experts des résidus de pesticides tenue à Genève 23 novembre 2 décembre 1981* (Vol. 37). Food & Agriculture Org..
15. Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2010). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*, 8(1), 37-43.
 16. Houchi, S. (2015). *Les Métallo-Beta-Lactamases-Recherche de souches bactériennes productrices-Essais d'inhibition de l'activité enzymatique relative par trois flavonoïdes commerciaux et deux extraits de Terminalia chebula* (Doctoral dissertation).
 17. Letarte, R., Devaud-Felix, M., Pechere, J. C., & Roy, B. (1978). Simultaneous production of two types of Beta-lactamase in *Escherichia coli* and *Providencia stuartii*. *Canadian journal of microbiology*, 24(10), 1153-1157.
 18. Letarte, R., Devaud-Felix, M., Pechere, J. C., & Roy, B. (1978). Simultaneous production of two types of Beta-lactamase in *Escherichia coli* and *Providencia stuartii*. *Canadian journal of microbiology*, 24(10), 1153-1157.
 19. Medfouni, M. N. (2017). Modalisation de la Relation Pluie-débit dans les Bassins versant Algériens—application aux bassins de Cheffia et Zardezas.
 20. Olivier, R., & Annie, F. (2014). Évaluer pour (mieux) faire apprendre. *Dossier de Veille de l'IFÉ*, (94).
 21. Peyclit, L. (2020). Repositionnement de molécules médicamenteuses dans la lutte contre les bactéries multi-résistantes.
 22. Sylvie Carle. La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel*, 2009; 42; 1-16.
 23. <https://monjardinmamaison.maison-travaux.fr/mon-jardin-ma-maison/plantes-par-type/plantes-aromatiques-plantes-par-type/clous-de-girofle-bienfaits-a-connaître-262077.html#item=1>
 24. <https://www.the-passion.fr/blog/wp-content/uploads/2015/05/giroflier.png>.
 25. [https://www.semanticscholar.org/paper/Eucalyptus-globulus-\(Labill.\)-%3A-un-arbre-%C3%A0-essence-Boukhatem-Ferhat/d827e023109467469f42c6a115c301bea8570a0d](https://www.semanticscholar.org/paper/Eucalyptus-globulus-(Labill.)-%3A-un-arbre-%C3%A0-essence-Boukhatem-Ferhat/d827e023109467469f42c6a115c301bea8570a0d)
 26. <https://distillerie-les-essentielles.fr/produit/eucalyptus-globulus/>
 27. <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/microbiologie/bacteriologie/la-resistance-aux-antibiotiques>
 28. https://www.diplomatie.gouv.fr/IMG/png/combinaison_antibiotiques_cle019167.png
 29. https://www.researchgate.net/figure/Architecture-of-B1-B2-and-B3-metallo-b-lactamases-The-common-abba-fold-of_fig4_304000513

30. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiersthematiques/Maladies-inf>
31. <https://www.thelancet.com/action/showPdf?pii=S1473-3099%2818%2930605-4>
32. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiersthematiques/Maladies-infectieuses/Resistance-aux-anti-infectieux/Points-sur-lesconnaissances>
33. http://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf